



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministre de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHAROUR - KHENCHELA-

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE VIE

DEPARTEMENT : Biologie Moléculaire et cellulaire

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Thème

**Purification Partielle des Lectines des deux Plantes
*d'Astragalus armatus et Ruta montana***

Présenté par :

AIMECHE Selma

Encadré par :

Mme. MESSAI Alima

Soutenu le : 14/06/2018

Jury de soutenance :

Président : Mr. **ABAIDIA Abd Elghafour**

(MAA). Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Encadreur: Mme. **MESSAI Alima**

(MAA). Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Examinatrice : M^{elle}. **BOUTARFA Soumia**

(MAA). Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Année universitaire : 2017/2018

Travail réalisé au niveau du Campus des Laboratoires Pédagogiques, Université de Khenchela.

Remerciements

Au début, je remercie ALLAH le Tout Puissant de m'avoir aidé pour accomplir ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé à la Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université Abbes Laghrour - khenchela, que je remercie « Mme. MESSAI Alima » pour sa gentillesse, ses conseils précieux et sa patience qu'ayant donné vie à ce travail.

Je tiens à remercier Mr. ABAIDIA Abd Elghafour de m'avoir fait honneur de présider le jury de soutenance.

Je remercie vivement M^{elle}. BOUTARFA Soumia d'avoir accepté de juger notre travail.

Ainsi, je tiens à remercier mes enseignants de la faculté de science de la nature et de la vie,

Sans oublier de remercier Maman, les personnels du laboratoire d'univ khenchela pour leur coopération et leur aide et leur compréhension.

J'exprime toute ma reconnaissance à mes amies et nous collègues de La Promotion 2017/2018 et je leur souhaite la réussite et une bonne continuation. Mes remerciements vont enfin à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

À mon Dieu, le tout puissant qui m'a aidé à réaliser ce travail.

À mes parents pour leur soutien infatigable, leur patience admirable et leur affection continuelle, qui m'a beaucoup aidé dans ma vie et durant mes études.

A mes très chères sœurs : Waza, Manar.

A mon très cher frère : Rabie, Mounir, Rafik.

À tous les membres de ma famille.

À tous mes amis.



Selma

TABLE DES MATIERES

Liste des Abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Introduction..... 01

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les lectines

I.1.	Définition des lectines.....	03
I.2.	Historique.....	04
I.3.	Les sites de liaisons des lectines	06
I.4.	Structure des lectines.....	07
	I.4.1. Les lectines simple	07
	I. 4.2. les lectines en mosaïques	07
	I.4. 3. Les assemblages macromoléculaires	08
I.5.	Classification des lectines	09
	I.5.1. Les lectines présentes chez les plantes	09
	I.5.2. Lectines animales.....	11
	I.5.3.Les lectines des microorganismes	12
I.6	Spécificité des lectines	12
I.7	Rôle des lectines	13
I.8	Propriétés Biologiques des lectines.....	14
	I.8.1.Liaison avec les sucres.....	14
	I.8.2.L'agglutination des cellules	14
	I.8.3.L'activité mitogène	15
	I.8.4 .Effets mimétiques des hormones	15
	I.8.5.Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses	15
	I.8.6.Actions antivirales	15
	I.8.7.La propriété antibactérienne	15
	I.8.8Autres propriétés	16
I.9.	Fonction de lectines.....	16
I.10	Utilisations des lectines	17
	I.10.1.Dans le domaine biomédical	17
	I.10.2.Dans le domaine agronomique	18

Chapitre II : Généralités sur les plantes

II.1.	<i>Astragalus armatus</i>	19
II.1.1.	Noms communs.....	19
II.1.2.	Historique.....	19
II.1.3.	Origine.....	19
II.1.4.	Description botanique.....	19
II.1.5.	Classification d' <i>Astragalus armatus</i>	20

II.1.6.	Répartition géographique.....	20
II.1. 7.	Utilisation en médecine traditionnelle.....	21
II.2	<i>Ruta montana</i>.....	22
II.2.1.	Origine du nom.....	22
II.2.2.	Noms communs.....	22
II.2.3.	Description botanique.....	22
II.2.4.	Classification systématique.....	23
II.2.5.	Répartition géographique.....	24
II.2.6.	Usage thérapeutique traditionnel de la plante.....	24

Partie II : Expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1.	Matériel	26
	III.1.1. Matériel végétal	26
	III.1.2. Matériel animale.....	26
III.2.	Méthodes	26
	III.2.1 Extraction.....	26
	III.2.2 Test d'hémagglutination.....	29
	III.2.3 La limite d'hémagglutination	30
	III.2.4 Effet de la température sur l'hémagglutination.....	30
	III.2.5 Test d'inhibition d'hémagglutination par des sucres simples	30
	III.2.6 Précipitation différentielle au sulfate d'ammonium.....	31
	III.2.7 Dialyse des fractions renfermant nos lectines	33

Chapitre IV : Résultats

IV.1.	Le test d'hémagglutination.....	34
IV.2.	La limite d'hémagglutination.....	37
IV.3.	L'effet de la température sur l'hémagglutination.....	38
IV.4.	Test d'inhibition d'hémagglutination par des sucres simples.....	39
IV. 5.	Précipitation différentielle au sulfate d'ammonium.....	40

Chapitre : V Discussion.....	41
-------------------------------------	-----------

Conclusion	44
-------------------------	-----------

Références Bibliographiques.....	45
---	-----------

Annexe

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des Abréviations

Con A :	Concavaline A lectin
ELISA :	Enzyme-Linked Immunosorbent assay
Fuc :	Fucose
Gal :	Galactose
GalNAc :	N-acétylgalactosamine
GlcNAc :	N-acétylglucosamine
HIV :	human immunodeficiency virus
KD :	Kilo Dalton
K₂HPO₄ :	hydrogénophosphate de dipotassium
KH₂PO₄ :	Phosphate mono Potassique
Man :	Mannose
mM :	milli molaire
NaCl :	Chlore de Sodium.
PA-IL:	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> lectin I
PBS :	Phosphate Buffer Saline
RIP :	protéines inactivantes de ribosome
Trs/mn :	Tours par minute
UH :	unité d'hémagglutination
µl :	micro litre
3-D :	tridimensionnelle

Liste des Figures

Figure 01 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides	06
Figure 02 : Représentation graphique d'un monomère de concanavine A de <i>canavalia ensiformis</i> en complexe avec le trimannosoïde.....	07
Figure 03 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique.....	08
Figure 04 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie <i>Escherichia coli</i>	08
Figure 05 : La classification structurale des lectines des plants.....	10
Figure 06 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T).....	11
Figure 07 : la plante d' <i>Astragalus armatus</i>	20
Figure 08 : La répartition géographique de la plante <i>Astragalus armatus</i>	21
Figure 09: Quelques photos de <i>R. montana</i> . (A) la plante entière, (B) les feuilles, (C) les fleurs.....	23
Figure 10: Les racines sèches des deux plantes d' <i>Astragalus armatus</i> (A), <i>Ruta montana</i> (B).....	26
Figure 11: poudre des deux plantes d' <i>Astragalus armatus</i> (A), <i>Ruta montana</i> (B).....	27
Figure 12: Schéma d'extraction des lectines à partir des poudres racinaires des plantes... ..	28
Figure 13 : Schémas de précipitation différentielle au sulfate d'ammonium.....	32
Figure 14: Test d'hémagglutination des hématies du lapin par l'extrait d' <i>Astragalus armatus</i> et <i>Ruta montana</i> (observation à l'œil nu).....	35
Figure 15: observation microscopique d'hémagglutination des hématies du lapin par l'extrait d' <i>Astragalus armatus</i> Gx40.....	36
Figure 16: observation microscopique d'hémagglutination des hématies du lapin par l'extrait de <i>Ruta montana</i> Gx40.....	36
Figure 17: La limite d'hémagglutination d' <i>Astragalus armatus</i> et <i>Ruta montana</i> . (Observation à l'œil nu).	37

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Historique et propriétés des lectines les plus connues.....	05
Tableau 02 : Récapitulatif des structures tridimensionnelles de lectines	09
Tableau 03 : La Spécificité osidique de certaines plantes a lectines	12
Tableau 04 : Rôles physiologiques de quelques lectines dans le monde vivant	14
Tableau 05 : Propriétés et applications des lectines dans le domaine biomédical	18
Tableau 06 : Classification systématique d' <i>Astragalus armatus</i>	20
Tableau 07 : Classification systématique de <i>R. Montana</i>	23
Tableau 08 : Quelques usages traditionnels du <i>Ruta montana</i>	25
Tableau 09 : représente l'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait d' <i>Astragalus armatus et Ruta montana</i>	34
Tableau 10 : L'Activité de la limite d'hémagglutination d' <i>Astragalus armatus et Ruta montana</i>	37
Tableau 11 :L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d' <i>Astragalus armatus ,Ruta montana</i>	38
Tableau 12 : test d'inhibition des extraits d' <i>Astragalus armatus et Ruta montana</i> , par des sucres simples.....	39
Tableau 13 : Agglutination des fractions obtenues par précipitation au sulfate d'ammonium.....	40



INTRODUCTION



Introduction

Les lectines sont des protéines ou des glycoprotéines, dépourvues d'activité enzymatique et non synthétisées par un système immunitaire, Elles sont présentes dans toutes les branches du règne vivant (**Goldstein *et al.*, 1980**). 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 et Lis, 2003**).

De part leur capacité de lier les glucides spécifiques, les lectines se sont révélées être, des outils très utilisés au laboratoire dans les techniques préparatives ou analytiques. L'intérêt était, motivé surtout par leur utilisation dans la détection, l'isolation et la caractérisation d'oligosaccharides, tels que les déterminants de groupes sanguins et de glycoconjugués surtout des glycoprotéines

L'intérêt majeur qui pousse aujourd'hui la recherche sur les lectines est aussi lié sans doute à leur capacité unique de lire l'information biologique qui est codifiée dans la structure tridimensionnelle des sucres. Les lectines sont des récepteurs spécifiques pour les interactions protéine-sucre qui jouent des rôles clé dans une multitude de processus de reconnaissance moléculaire et de signalisation cellulaire.

Par exemple, l'hémagglutinine du virus de la grippe reconnaît et se lie spécifiquement aux oligosaccharides terminés par un acide sialique qui sont situés sur la surface des cellules épithéliales des voies aériennes supérieures (**Wiley et Skehel, 1987**).

De la même façon, les lectines situées sur la surface des bactéries, des virus ou des parasites intestinaux, reconnaissent les glycoconjugués présents sur la surface des cellules épithéliales, et donc facilitent les processus de colonisation et d'infection.

Elles possèdent plusieurs propriétés biologiques notamment: l'agglutination des cellules, l'activité mitogène, l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses, Aujourd'hui elles sont largement utilisées comme outils dans la recherche et dans le secteur biomédical :

-De part leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent être utilisées pour l'identification, la purification de glycoconjugués (**Hirabayashi, 2004**).

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

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

Notre travail sera réparti en deux parties:

- La première partie est une étude bibliographique.

Le premier chapitre est consacré à une revue non exhaustive de la lectine, en particulier une généralité, historique, spécificité, distribution et leur rôle dans l'immunité.

Nous avons ensuite abordé au deuxième chapitre les plantes, on donnant des généralité, descriptions botanique, systématique et quelque vertu thérapeutique des différentes plantes.

- La seconde partie décrit :

Dans le troisième chapitre matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental.

Le quatrième et cinquième chapitre regroupe les principaux résultats obtenus et leur discussion.

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



Partie I : Etude bibliographique





Chapitre I : Généralité sue les lectines



I. Généralité sur les lectines

I.1. Définition des lectines

Les lectines sont dénommées 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 des protéines ou des glycoprotéines d'origine bactérienne, virale, végétale ou animale, dépourvues d'activité enzymatique et non synthétisées par un système immunitaire. Elles sont capables de reconnaître spécifiquement les glucides simples ou des oligosaccharides plus complexes sans les modifier (**Goldstein *et al.*, 1980**).

Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les glycoconjugués et les cellules comme les érythrocytes. Cette caractéristique est très importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalents, car elles possèdent au moins deux sites de reconnaissance par molécule ce qui explique leur pouvoir de précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et entraîner l'agglutination des cellules diverses (**Liener *et al.*, 1986**).

Lorsque certains glucides sont ajoutés à ces protéines lors de l'interaction, leur activité hémagglutinante est inhibée ce qui permet de déterminer leur spécificité (**Van Damme *et al.*, 1998**).

Les lectines sont relativement petites, leurs masses moléculaires étant comprises entre 50 et 120 KD. Elles sont habituellement formées de deux (dimères) ou quatre (tétramères) sous-unités identiques (**Ghopkins et Evrard, 2003**).

Les lectines 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 thermorésistants (**Guillaume, 1993**).

Dans les dernier temps, on a aussi commencé à considérer les lectines comme des molécules bioactives et on s'est de plus en plus intéressé aux rôles biologiques de ces molécules (**Gianluca, 2006**).

Chez les plantes on peut les extraire de différentes parties, surtout les graines et les racines où elles sont très répandues.

I.2. Historique

La première découverte de ces molécules était par Peter Hermann Stillmark en 1888 dans sa thèse de doctorat présentée à l'Université de Dorpat à partir de l'extrait de graines de ricin (*Ricinus communis*) agglutinaient des érythrocytes (**Sharon et lis, 2004**).

Ensuite P. Ehrliche a découvert la même activité dans l'extrait d'*Abrus precatorius* (poids rouge). A partir de ce moment, d'autres substances d'origine végétale possédant une activité hémagglutinante ont été découvertes (**Poiroux, 2011**).

En 1919 James B. Sumner a isolé à partir de haricot (*Canavalia ensiformis*) une protéine cristalline qu'il a appelé la concanavaline A, en obtenant sans le savoir une hémagglutinine pure pour la première fois (**Sumner et Howell, 1936**).

Près de deux décennies se sont écoulées avant que Sumner et Howell (1936) signalent que la concanavaline A agglutine les cellules telles que les érythrocytes et les levures et précipite également le glycogène de la solution. Ils ont montré que l'hémagglutination par la concanavaline A était inhibée par le saccharose, ce qui a été la première fois la spécificité de sucre des lectines (**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 Shapleigh, 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. Le (**tableau 01**) montre l'histoire et les propriétés des lectines les plus connues (**Renato et al., 1991**).

Tableau 01 : Historique et propriétés des lectines les plus connues (Renato *et al.*, 1991).

Année	Auteur	Découvertes
1888	Stillmark	Activité hémagglutinante de la graine de <i>Ricinus communis</i> toxicité de la graine de <i>Croton tiglium</i>
1891	Hellin	Activité hémagglutinante de la graine d' <i>Abrus precatorius</i>
1897	Elfstrand	Introduction du terme d'hémagglutinine
1919	Sumner	Isolement et cristallisation de la Concanavaleine A
1926-1927	Marcusson-Begun/Siever	Application des lectines sur les groupes sanguins
1947-1949	Boyd & Reguera /Renkonen	Spécificité groupe de sang des plantes à Hémagglutinines
1949	Liener and Jaffe	Inactivation Thermique des hémagglutinines de <i>Phaseolus vulgaris</i>
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 lectines
1960	Nowell	La stimulation mitogénique des lymphocytes par la lectine de <i>Phaseolus vulgaris</i>
1965	Agrawal & Golstein	Chromatographie d'affinité pour la purification des lectines
1966	Boyd	Lectines dans les algues
1981	Reinsner et al.	L'utilisation de lectines dans les greffes de moelle osseuse
1990	Yamauchi & Minamikawa	Expression de Con A dans les cellules d' <i>Escherichia coli</i>

I.3. Les sites de liaisons des lectines

Le site de liaison d'une lectine est généralement constitué par un creux sur la surface de la protéine, dont la forme ne varie pas beaucoup après la liaison du ligand (**Figure 01**). La lectine interagit avec le ligand par un réseau de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes (**Goldstein et Poretz, 1986**).

Les interactions de type salin ne sont généralement pas impliquées dans les interactions 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**).

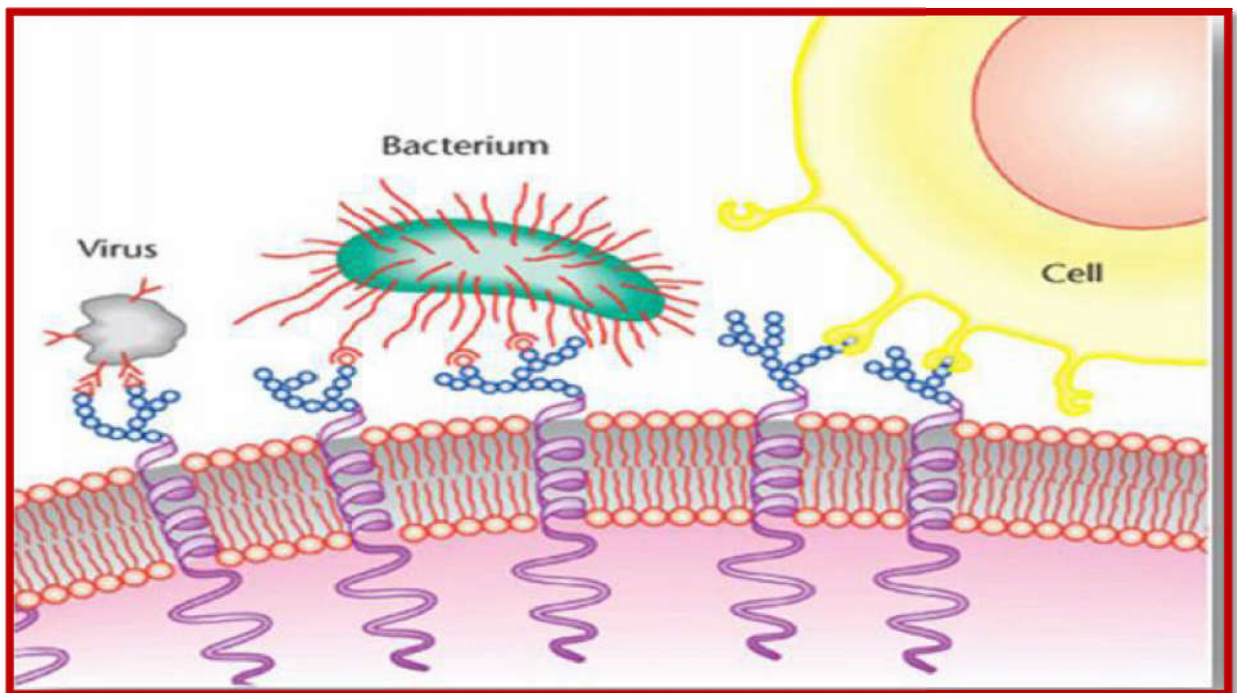


Figure 01 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides
(**Sharon et Lis, 1993**)

I.4. La Structure des lectines

Selon leur topologie, les lectines sont classées en trois grandes classes :

I.4.1. Les lectines simple

Ces lectines sont formées de plusieurs monomères (pas forcément identiques), dont la masse moléculaire généralement ne dépasse pas 40KD. Cette classe comprend pratiquement toutes les lectines végétales (**Figure 02**), les lectines bactériennes solubles et les galectines (une famille de lectines animales spécifique pour le galactose) (**Lenka et al., 2006**).

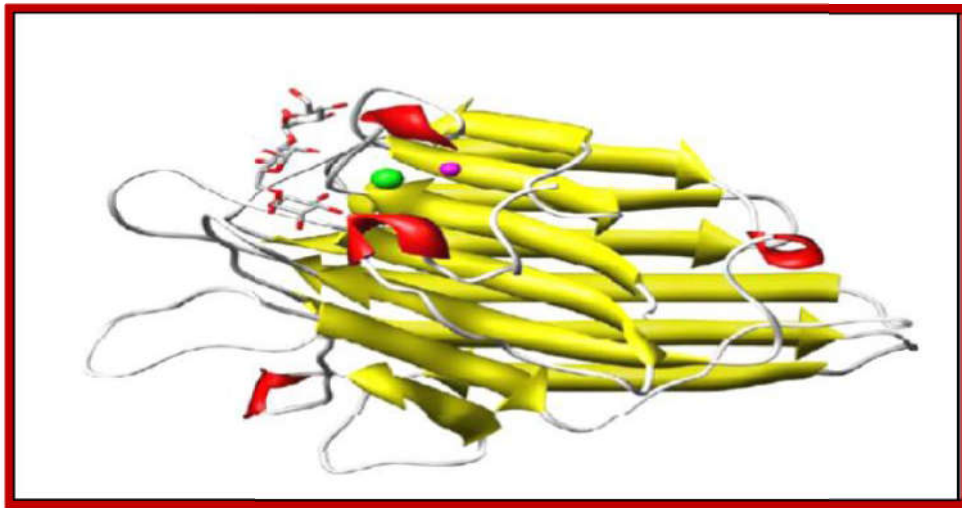


Figure 02 : Représentation graphique d'un monomère de concanaviline A de *canavalia ensiformis* en complexe avec le trimannosoïde (**Lenka et al., 2006**)

La protéine est représenté par un ruban rouge pour les hélices α , un ruban jaune pour les brins β et un fil pour les autres zones. Le sucre est représenté sous forme de bâton et les cations en boule (**Lenka et al., 2006**).

I. 4.2. Les lectines en mosaïque

Ce groupe comporte diverses protéines de différentes sources : virus (**Figure 03**), animaux. Il s'agit de molécules complexes qui sont composées de plusieurs types de modules ou domaines, dont un seul possède le site de liaison (**Lenka et al., 2006**).

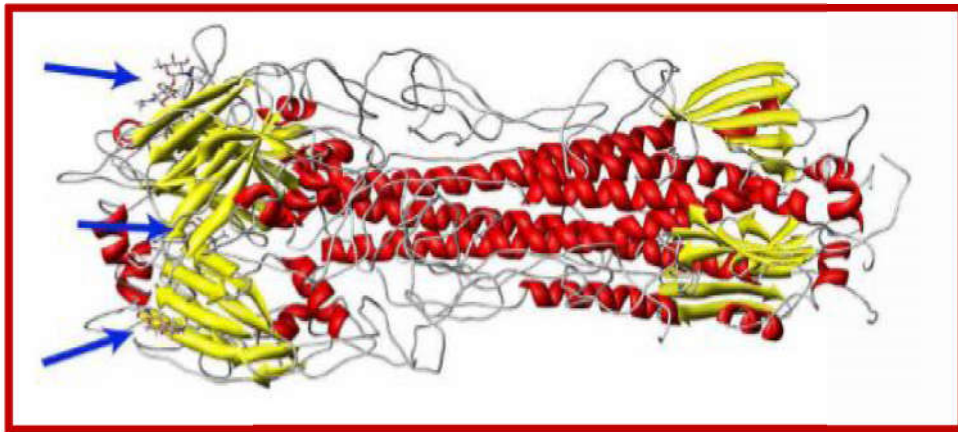


Figure 03 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (**Lenka et al., 2006**)

I.4. 3. Les assemblages macromoléculaires

Les lectines de ce type sont fréquemment trouvées chez les bactéries (**Figure 04**) ou elles forment des structures filamenteuses de 3 à 7 nm de diamètres et de 100 nm de longueur, appelés fimbriae ou pili. La plus grande partie d'un filament fimbrial est formée par polymérisation d'une unité prédominante, qui ne joue qu'un rôle structurale. Seul un type des unités généralement une composante minoritaire possède le site de liaison pour les glucides, donc il est responsable à l'adhésion fimbrial (**Lenka et al., 2006**).

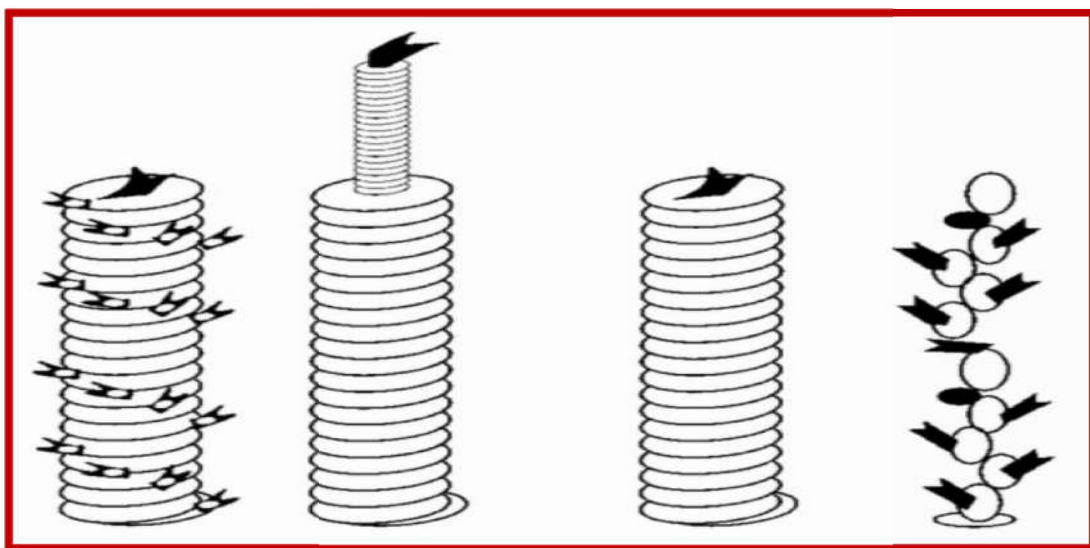


Figure 04. Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *Escherichia coli* (**Lis et Sharon, 1998**)

I.5. Classification des lectines

Les lectines sont des protéines ubiquitaires, présentes dans tous les organismes vivants. Il existe une grande variété de lectines qui présentent une très grande diversité structurale. Le nombre de structures cristallographiques de lectines est toujours en croissance, et on connaît aujourd'hui la structure tridimensionnelle d'environ 770 lectines.

La banque de lectines comprend ainsi 48 familles structurales différentes dont 6 d'origine végétale, 10 d'origine bactérienne, 18 d'origine animale, 5 familles d'origine virale, 8 d'origine fongique et 1 famille d'algues sont illustrées dans le (Tableau 02).

Tableau 2 : Récapitulatif des structures tridimensionnelles de lectines (Karoline, 2008).

Origine	Exemples de Lectines	Native	Complexé	Total
Plantes	ConA Ricine	106	201	307
Bactéries	PA-IL de <i>Pseudomonas</i> Toxine de cholera	37	79	116
Animaux	E-selectin <i>Helix pomatia</i> agglutinin	80	152	232
Virus	Hemagglutinin de virus Capside de rotavirus	43	25	68
Champignons	lectine de mousseron	17	23	40
Algues	Griffithsin	2	7	9
Total		285	487	772

I.5.1. Les lectines présentes chez les plantes

Selon la classification de Peumans et Van Damme (1995), quatre types majeurs de lectines sont présentés chez les plantes (Figure 05).

✓ Les mérolectines

Les mérolectines sont de petits peptides, formées d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides, dit monovalentes exemple : (héveine, protéines d'Orchidées). Les mérolectines 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 qu'ils contiennent deux domaines (ou plus) de liaison aux glucides quasi-identiques ou du moins très homologues. Les hololectines peuvent précipiter les glycoconjugués ou agglutiner les cellules. La majorité des lectines de plantes connues sont des hololectines (**Peumans et Van Damme, 1995**).

✓ **Les chimérolectines**

Les chimérolectines possèdent un ou plusieurs domaines de liaison aux glucides ainsi qu'un domaine ayant 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 conduisent comme des mérolectines (exemple : chitinase classe I) ou comme des hololectines (exemple : type 2-Rip *Ribosom Inactivating Proteine* : Protéine Inactivant les Ribosomes comme la ricine) (**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 structuralement et fonctionnellement (**Van Damme et al., 1998**).

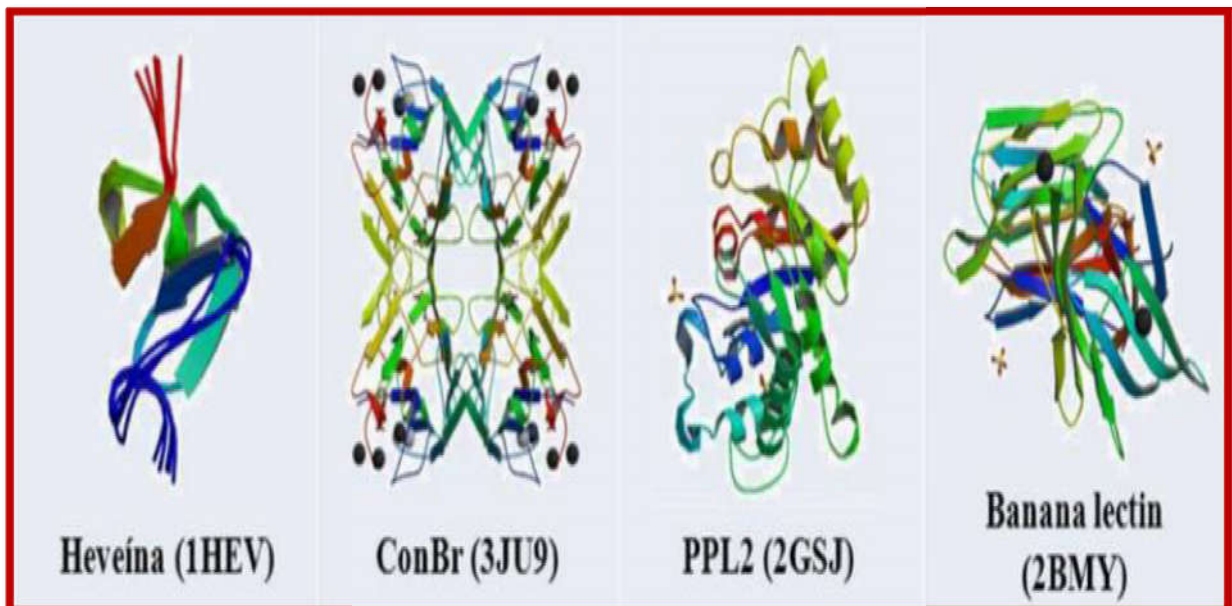


Figure 05 : La classification structurale des lectines des plants (**Van Damme et al., 1998**)

I.5.2 Lectines animales

Les lectines animales sont des protéines qui se lient aux glucides exprimées dans une variété de tissus. Ils sont excrétés sous forme de protéines membranaires (**Bianchet *et al.*, 2009**).

Les lectines animales sont réparties dans des familles très différentes. Les trois familles les plus étudiées sont les *galectines*, les lectines de *type C* et les *siglecs*. On peut les regrouper dans deux principaux groupes :

- **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 essentiels dans le trafic intracellulaire, l'adressage des glycoprotéines ou encore dans leur dégradation (**Chabrol *et al.*, 2012**).

- **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**).

Un exemple de la structure tridimensionnelle (3-D) d'une lectine du type C est la E-selectine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (**Somers, *et al.*, 2000**), (**Figure 06**).

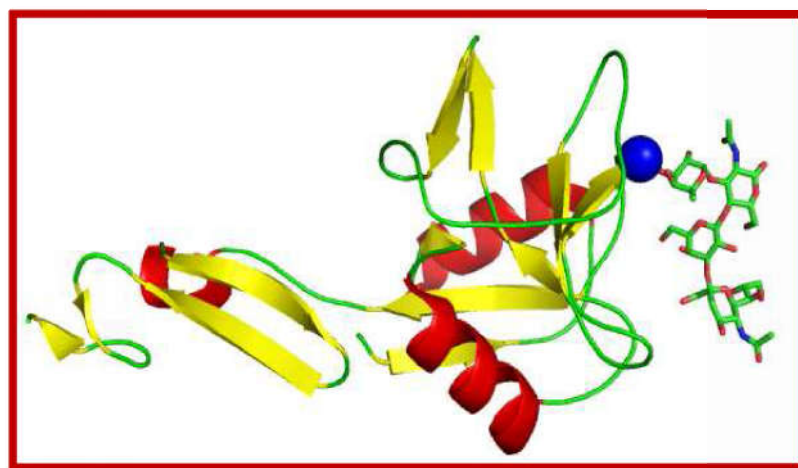


Figure 06 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (**Somers, *et al.*, 2000**)

Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

I.5.3. Lectines des micro-organismes

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

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

I.6. Spécificité des lectines

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 (**Tableau 03**). 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**).

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

ESPECES	SPECIFICITE
<i>Abrus precatorius</i> Gal	Gal
<i>Adenia digitata</i>	Gal
<i>Aleuria aurantiaca</i>	L-Fuc
<i>Canavalia brasiliensis</i>	Man > Glc
<i>Canavalia ensiformis</i>	Man > Glc
<i>Dolichos biflorus</i>	GalNAc
<i>Phaseolus vulgaris</i>	GalNAc
<i>Vicia sativa</i>	Man
<i>Ulex europaeus I</i>	L Fuc
<i>Momordica charantia</i>	GalNAc
<i>Cytissus sessilifolia</i>	GlcNAc >Fuc >Gal
<i>Datura stramonium</i>	GlcNAc

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 et Brewer, 2002).**

La plupart des lectines peuvent se lier à des monosaccharides, mais leur affinité sera en général plus forte pour certains oligosaccharides, leur constante de dissociation pour les monosaccharides est de l'ordre du millimolaire (mM), Par contre pour les oligosaccharides elle est de l'ordre de la micromolaire (μM) **(Dam et Brewer, 2002).**

I.7. Rôles des lectines

L'intérêt majeur qui pousse aujourd'hui la recherche sur les lectines est lié sans doute à leur capacité unique de « lire » l'information biologique qui est codifiée dans la structure tridimensionnelle des sucres **(Wiley et Skehel, 1987).**

Les lectines peuvent interagir avec des systèmes biologiques et développer une diversité d'événements et des fonctions dans ces organismes vivants **(Tableau 4)** .Ces interactions ont une grande importance car elles se retrouvent impliquées dans les processus biologiques ainsi que dans les processus pathologiques **(Lis et Sharon, 1998).**

- ✚ Les lectines situées à la surface des bactéries, des virus ou des parasites intestinaux reconnaissent les glycoconjugués présents sur la surface des cellules épithéliales et donc facilitent les processus de colonisation et d'infection **(Rudiger et Gabius, 2001).**
- ✚ Les rôles joués par les lectines des plantes restent toujours un mystère. Une hypothèse très probable est le rôle de défense du végétal contre les phytopathogènes ou contre les animaux qui peuvent se nourrir de la plante **(Rudiger et Gabius, 2001).**
- ✚ Les lectines jouent un rôle très important dans le système immunitaire, dont elles reconnaissent les carbohydrates qui se fixent exclusivement sur les agents pathogènes ou celle qui sont inaccessible dans les cellules hôtes **(Renata et al., 2015).**
- ✚ Elles contrôlent les niveaux des protéines dans le sang **(Rydz et al., 2013)** car elles sont responsables au transport des protéines, peptides et les médicaments natifs **(Sutapa et Gopa, 2013).**
- ✚ Pendant les processus de fertilisation, la reconnaissance s'effectue par l'interaction entre une lectine du spermatozoïde (spermadhesine) et un glycoconjugué présent sur la surface des ovocytes **(Topfer-Petersen et al., 1998).**

Tableau 4 : Rôles physiologiques de quelques lectines dans le monde vivant (**Gianluca, 2006**).

Lectine	Rôles
Bactéries	
Lectines fimbriales	Adhésion, infection
Lectines solubles	Adhésion, infection, formation de biofilm
Toxines	Adhésion, infection
Virus	
Influenza haemagglutinine	Adhésion, infection
Plantes	
Légumineuses	Défense, symbiose avec les bactéries fixant l'azote
Animaux	
Calnexine	Contrôle de la biosynthèse des glycoprotéines
M-type	Dégradation des protéines dans le RE

I.8. Propriétés Biologiques des lectines

Les propriétés biologiques des lectines sont multiples et variées.

I.8.1. Liaison avec les sucres

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 lectine (**Jeyaprakash et al., 2003**). La partie non glycanique des glycoconjugués peut également interagir avec les acides aminés avoisinant la cavité de reconnaissance (**Jeyaprakash et al., 2003**).

I.8.2 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 al., 1995 ; Wang et al., 1998**).

I.8.3 L'activités mitogène

Une des propriétés les plus étonnantes des lectines réside dans leur pouvoir de transformer les petits lymphocytes du sang en cellules blastiques. Cette transformation lymphoblastiques résulte du pouvoir mitogène des lectines mais en général elle ne s'exerce que sur les lymphocytes (**Nachbar et Oppenheim, 1980 ; Falasca, 1989 ; Babosa, 2001**).

I.8.4 Effets mimétiques des hormones

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

I.8.5 Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses

Les travaux de Valentier et coll. (2003) suggèrent que les lectines pourraient inhiber la croissance cellulaire des cellules du cancer du sein de l'homme *in vitro*. Quant à Banwell et coll. (1983), ils montrent que les lectines des graines de haricot rouge provoquent l'inhibition de la migration des cellules cancéreuses (**Ramata, 2010**).

I.8.6 Actions antivirales

Les lectines peuvent avoir des actions antivirales comme celles observées par les RIPs (Ribosomes inactivant les protéines) (**Wang et al., 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 tortifolious* (**Lopez, 2003**).

I.8.7. La propriété antibactérienne

Les lectines sont des outils de régulation de la migration et l'adhésion des cellules bactériennes (**Tanne et Neyrolles, 2010**). Les lectines de type C 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**).

I.8.8 Autres propriétés

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

I.9. Fonctions de lectines

✚ Les fonctions des lectines dans la plante

Depuis de nombreuses années, des études sont consacrées à la mise en évidence des fonctions physiologiques des lectines végétales :

Les premiers travaux sur les lectines sont principalement dirigés vers les protéines des graines, mais leur distribution ne se limite pas seulement à cet organe de réserve. Des lectines sont détectées aussi bien dans les feuilles, que dans les tiges ou les racines. (**Sauvion, 1995**).

Des nombreuses fonctions ont été proposées pour les lectines végétales tel que la protection contre les pathogènes et les insectes, le transport et le stockage des glucides et la reconnaissance cellulaire (dans la cellule, entre les cellules ou entre organismes). (**Pustzai, 1991**).

✚ Fonctions de lectines 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 (**Goker et al., 2008**).

Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses présentent des propriétés anti-inflammatoires (**Alencar et al., 2005 ; Gomes et al., 2012**). Elles contrôlent les niveaux des protéines dans le sang (**Rydz et al., 2013**) car elles sont responsables au transport des protéines, peptides et les médicaments natifs (**Sutapa et Gopa, 2013**).

Les lectines ont la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses, La récente découverte suggère que les cellules malignes sont plus facilement agglutinées par des lectines que les cellules normales. Ces agglutinations sélectives pourraient être utilisées dans le traitement du cancer (**Voet et Voet, 2005**).

I.10. Utilisation des lectines

Les lectines peuvent interagir avec des systèmes biologiques et développer une diversité d'évènements et fonctions dans ces organismes vivants. Ces interactions ont une grande importance car elles se retrouvent impliquées dans des processus biologiques ainsi que dans des processus pathologiques (**Lis et Sharon ,1998**). Aujourd'hui les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche, dans le secteur biomédical (**Tableau05**) et dans le domaine agronomique.

I.10.1 Dans le domaine biomédical

Hématologie

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

Immunologie

De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent et réutilisées pour l'identification et la purification des glycoconjugués aussi bien que pour leur caractérisation (**Hirabayashi, 2004**)

Les lectines mitogènes sont employées pour déceler les allergies médicamenteuses, pour reconnaître les déficiences immunologiques congénitales ou acquises, pour étudier les sensibilisations dues aux maladies infectieuses et pour juger des effets de diverses manipulations immunosuppressives et immun thérapeutiques (**Jaffe, 1980**).

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**).

Cancérologie

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

Tableau 05 : Propriétés et applications des lectines dans le domaine biomédical (Murdock et Shade, 2002).

<i>Propriétés</i>	<i>Applications</i>
Agglutination spécifique des globules rouges selon le groupe sanguin	-typage du sang -identification de nouveaux groupes Sanguins
Induction de la mitose	- étude de la constitution chromosomique de la cellule et détection des anomalies
Agglutination cellulaire	- recherche sur l'architecture des membranes externes cellulaires, leurs changements et transformations, - phagocytose et motilité. Diminution de la croissance des cellules tumorales.
Précipitation des polysaccharides et des glycoprotéines	- isolement, purification et études structurales des glucides, - purification des glycoconjugués (enzymes, hormones) - modèles pour la réaction antigène-anticorps (test ELISA, etc.)
Liaison aux sucres	- études des sites de liaison spécifique des protéines et glycoprotéines, - structure et fonctionnement des membranes

I.10.2 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 Shade, 2002).



Chapitre II : Généralités sur les plantes



Généralités sur les plantes

II.1 *Astragalus armatus*

II.1.1. Noms communs

- ✚ **Nom botanique:** *Astragalus armatus* et plusieurs autres espèces du genre botanique *Astragalus* (*A. gyzensis*, *A. tenuifolius*, *A. membraneuses*, *A. lusitanicus*)
- ✚ **Nom vernaculaire:** est le suivant « Gdad », « El Guendoul », « Chouk edderban »
- ✚ **Nom français :** Astragale vulnérant

II.1.2. Historique

Le mot astragale est d'origine grecque; il signifie l'un des os de l'articulation, tibiotarsienne. Cette dénomination vient de la ressemblance du bruit des grains séchés de la plante avec celui de l'os, quand ils tombent sur une surface solide (**James et al., 1981**).

II.1.3. Origine

Le genre constitue un groupe taxonomique très élevé estimé à plus de 3000 espèces (**Scherson et al., 2008**). Le centre d'origine le plus probable est le sous continent Hindou-Persique (**Lock et Simpson ,1991; Podlech ,1986**), d'où il s'est diversifié dans un premier temps vers la zone circum-méditerranéenne et ensuite, vers le continent nord et sud Américain (**Wojciechowski et al., 1999**).

II.1.4. Description botanique

Astragalus armatus C'est un arbrisseau de 80cm de hauteur, à épines blanchâtres, Les pétioles sont durs et aigus (**Ozenda, 2004**). Les feuilles forment d'abord un bouquet serré puis elles s'éloignent de la tige, en séchant les folioles tombent. Il ne reste plus qu'une longue épine. Les fleurs sont blanches et nombreuses tout autour de la tige. Le calice est poilu et renflé. Il contient le fruit. Les gousses sont uniloculaires, demeurent enfermées dans le calice fortement accrescent, à parois parcheminées, glabres réticulées (**Quezel et Santa, 1962**) (**Figure 07**).



Figure 07 : la plante d'*Astragalus armatus* (Saoudi, 2008)

II.1.5. Classification d'*Astragalus armatus*

La classification systématique d'*Astragalus armatus* est représentée dans le (Tableau 06) (Ozenda, 2004).

Tableau 06 : Classification systématique d'*Astragalus armatus*.

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermaphyte</i>
Sous embranchement	<i>Angiosperme</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Fabale</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Genre	<i>Astragalus</i>
espèce	<i>Astragalus armatus</i>

II.1.6 Répartition géographique

Astragalus armatus se présente en colonies dans la zone prédésertique du Sahara septentrional (Quezel et Santa, 1962). Dans les pays du bassin méditerranéen cinq cents espèces, ont été décrites dont une cinquantaine en Afrique du Nord (Raynaud, 1982; Johandiez et Maire, 1932). Au Sahara algéro-marocain, une quinzaine d'espèces sont identifiées (Ozenda, 2004) (Figure 08). La croissance des espèces du genre *Astragalus*, se produit de l'automne au printemps. Les feuilles demeurent vertes pendant l'hiver quand

l'herbe est peu disponible. Chez certaines espèces, les graines peuvent maintenir leur vitalité pendant quarante ans (**James et al., 1981; Nielson, 1978**).

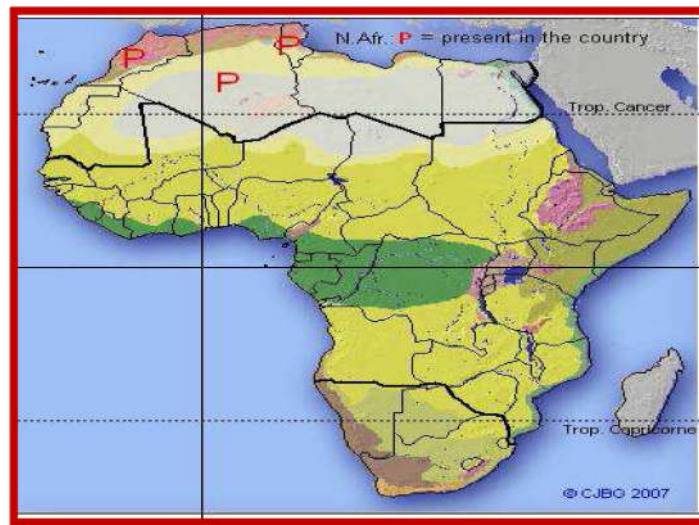


Figure 08 : La répartition géographique de la plante *Astragalus armatus* (**Greuter et al., 1989**)

II.1.7. Utilisation en médecine traditionnelle

Les espèces du genre *Astragalus* sont utilisées dans la médecine traditionnelle dans le monde entier comme des herbes médicinales contre l'ulcère de l'estomac, la toux, la bronchite chronique, l'hypertension, les troubles gynécologiques, le diabète et les piqures venimeuses de scorpion (**Bellakhdar, 1997**).

Plusieurs constituants des astragales pharmacologiquement actifs, tels que les saponines et les polysaccharides, ont des effets hépatoprotecteurs, immunostimulants et antiviraux (**Rios et al., 1997**).

A Ghardaïa, l'écorce et les graines d'*Astragalus armatus* sont fréquemment utilisés pour le traitement de différents types de blessures et des problèmes d'estomac, la douleur, la fièvre et la constipation (**Voisin, 1987**).

Les parties aériennes fraîches broyées d'*Astragalus armatus* sont utilisées pour traiter les morsures de serpents et de scorpions dans le sud du Maroc (**El Rhaffari et Zaid, 2002**).

Dans la médecine traditionnelle turque, les extraits aqueux de quelques espèces d'*Astragalus*, sont employés pour traiter la leucémie aussi bien que pour la cicatrisation des blessures (**Calis et al., 2008**).

II.2. Espèce *Ruta montana*

II.2.1. Origine du nom

Le genre *Ruta* appartient à la famille des Rutaceae. Ce genre a été découvert par C. Von Linné. Le *Ruta* est aussi connu par son nom français rue ou grec « Ρύτη » dont la signification fait allusion à ses vertus emménagogues (**François et Niestlé, 2000**). Les synonymes recensés sont rue fétide, rue puante, péganion, herbe de grâce (**Clevely et Richmond, 1997**).

II.2.2. Noms communs

- ✚ **Nom botanique:** *Ruta montana* et plusieurs autres espèces du genre botanique. *R. montana* (Clus) L, *R. chalepensis* L. ; *R. angustifolia* (pers) P. cout et *R. latifolia* (Salib) Lindb.
- ✚ **Noms vernaculaires:**
- ✚ **Arabe** «Fidjel el djebel»,
- ✚ **Berbère** « Awermi»
- ✚ **français** : Rue de montagne

II.2.3 Description botanique

Ruta montana est une plante médicinale méditerranéenne bien connue qui pousse à l'état spontané dans les rocailles et les pâturages du Tell. C'est une espèce commune dans les zones montagneuses jusque sur l'Atlas saharien. C'est une plante vivace, herbacée de la famille des rutacées (**Quezel et Santa, 1963**). Basse, à tiges grêles, qui ne dépassent pas, 40cm. Ses feuilles, d'un vert glauque, blanchâtre, sont profondément découpées en segments linéaires, le terminal étant un peu plus large. Les fleurs, groupées en grappes serrées, sont de petite taille et leurs pétales spatulés sont à peine dentés sur les bords. La capsule, portée par un pédoncule court, ne dépasse pas 4 mm; elle est globuleuse et se termine par 4 ou 5 lobes arrondis, apparents (**Victoria et al., 2013**). Elle a l'inconvénient de dégager une odeur forte et très désagréable. La plante est originaire de l'Europe méridionale et occidentale et de l'Afrique du sud (**Bezanger et al., 1986**).

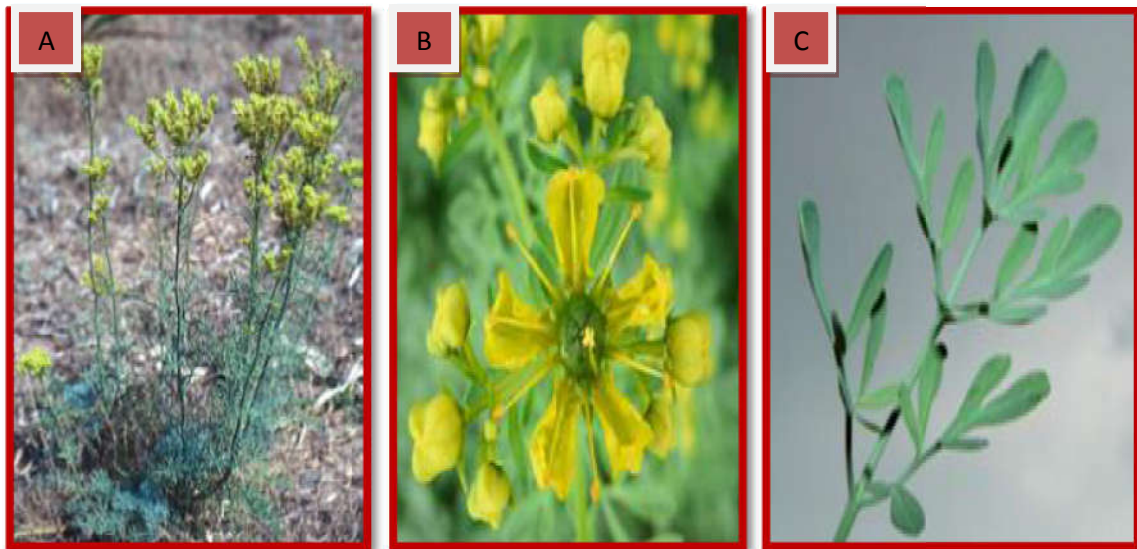


Figure 09: Quelques photos de *R. montana*. (A) la plante entière, (B) la fleur, (C) les feuilles (Benkiki, 2006)

II.2.4 Classification systématique

La classification systématique de *R. Montana* est représentée dans le (Tableau 07) (Quezel et Santa, 1963).

Tableau 07 : Classification systématique de *R. Montana*

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i> (plantes vasculaires)
Super division	<i>Spermatophyta</i> (plantes à graines)
Division	<i>Magnoliophyta</i> (plantes à fleurs)
Sous division	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (Dicotylédons)
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Super ordre	<i>Rutanae</i>
Ordre	<i>Rutales</i>
Sous-ordre	<i>Rutineae</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Sous-famille	<i>Rutoidées</i>
Genre	<i>Ruta</i>
espèce	<i>Ruta montana</i>

II.2.5. Répartition géographique

R. montana pousse dans les régions tempérées et chaudes, Elle vit à l'état spontané dans les rochers, collines sèches et elle est abondante dans les terrains calcaires dans le bassin méditerranéen (**Quezel et Santa, 1963**), Sur les lieux arides de presque toute la France, l'Europe méridionale et l'Afrique du nord. En Algérie, elle est rencontrée dans les zones montagneuses de l'intérieur sur l'Atlas Saharien et les pelouses arides (**Clevely et Richmond, 1997**).

II.2.6. Usage thérapeutique traditionnel de la plante

La rue est une plante utilisée depuis longtemps pour des usages thérapeutique et culinaires (épice) (**Benziane, 2007**); dans l'antiquité en Grèce et en Egypte, elle est employée pour provoquer des avortements et pour améliorer l'activité visuelle (**Larousse, 1997**).

Le Rue est utilisé contre les courbatures, myalgie, stérilité dysménorrhée, spasme digestif, algies articulaires, vertiges (**Maiza et al., 1993**).

Au Nord Sahara (Mzab et Taghit), la plante est souvent préconisée pour traiter la stérilité féminine, le traitement, dont la posologie et la durée sont très codifiées, comprend soit des décoctions, soit des infusions accompagnées de galettes réalisées avec la plante pile mélangée à de la semoule, à absorber aune période très précise du cycle (**Victoria et al., 2013**).

Au Maroc, la poudre de *Ruta montana*, avec une posologie de deux cachets de 0,50 g/j, pendant trois semaines, a été utilisée, avec succès, dans une dizaine de cas de paralysie faciale, après échec des traitements conventionnels sans qu'il soit possible de rattacher cette activité à l'un des constituants de la plante (**Abrous, 1982**)

Le **tableau 08** récapitule les utilisations traditionnelles du *Ruta montana* en médecine traditionnelles.

Tableau 08 : Quelques usages traditionnels du *Ruta montana* (Frontquer, 1962 ; Forment et Roques, 1941)

Espèce	Pays	Partie utilisée	Voie	Usages
<i>R. montana</i>	Espagne	Plante entière	Orale	Fièvre Emménagogue abortive, Antispasmodique contre les vers intestinaux
	Algérie	Parties aériennes		Emménagogue Antispasmodique Rubéfiant, poudre écharrotique



Partie II : Expérimentale





Chapitre III : Matériel et Méthodes



Matériel et Méthodes

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétal

Les racines d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana* ont été récoltées de la de la montagne de Ain Mimoune, Khenchela au mois de mars2018.

III.1.2. Matériel animale

Les hématies utilisées sont issues de sang du lapin pour réaliser les tests d'hémmaglutination.

III.2. Méthodes

III.2.1 Extraction

III.2.1.1 Préparation des plantes

- ✚ **Séchage** : Les racines des plantes ont été séchées à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil à température ambiante.



Figure 10: Les racines sèches des deux plantes d'*Astragalus armatus*(A), *Ruta montana* (B).

- ✚ **Broyage** : Les racines ont été coupées minutieusement, puis ils sont broyées dans un mortier-pilon jusqu'à l'obtention d'une poudre, cette dernière a été tamisé et conservé dans un emballage en verre fermé.



Figure 11: poudre des deux plantes d'*Astragalus armatus*(A), *Ruta montana* (B).

III.2.1.2 L'extraction des lectines par la solution tampon

✚ 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) à pH=7,2.

✚ Technique

30 ml du tampon PBS (0,01 M pH 7,2) (**Annexe 01**) a été ajouté à 6 g de poudre des racines, l'ensemble est agité, et laissé pendant 24 h à 4 °C, après la centrifugation de cette suspension à 9000 tour /minute pendant 40 minutes à 4 °C.

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,

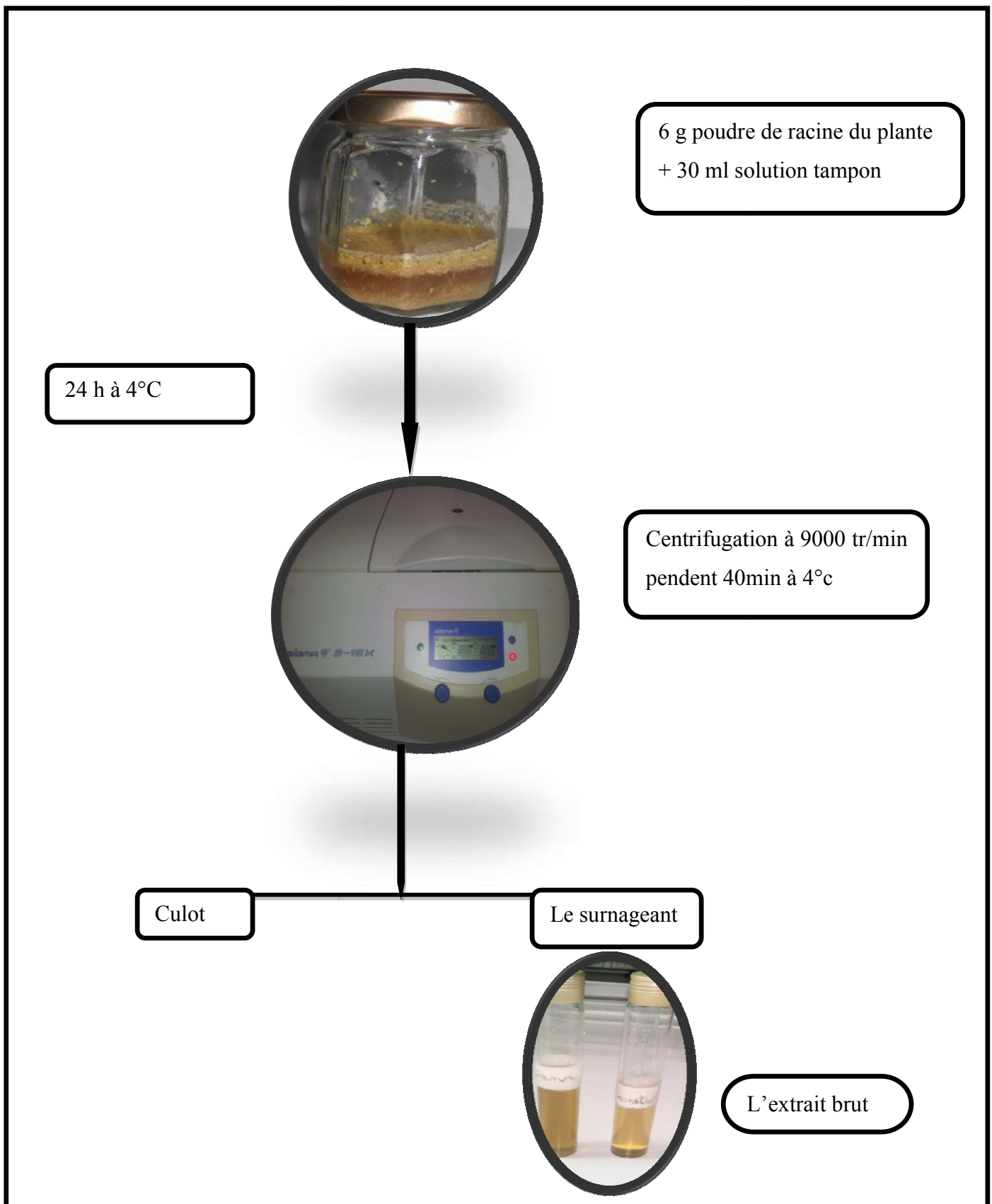


Figure 12 : schéma d'extraction des lectines à partir des poudres racinaires des plantes

III.2.2 Test d'hémagglutination

Le teste d'hémagglutination a été effectuée pour la mise en évidence la présence des lectines dans les extraits. 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. La mesure d'activité hémagglutinante est le test d'interaction le plus largement utilisé pour la détection des lectines et leur caractérisation. Cette technique repose sur la capacité des lectines à former un réseau avec des érythrocytes par interaction avec leurs glycoconjugués de surface. Cette interaction se traduit par une phase gélatineuse visible à L'œil nue. (Zitouni, 2015).

III.2.2.1 Préparation des hématies de lapin à 4 %

La préparation de suspension d'hématies est effectuée selon la méthode de (Meite *et al.*, 2008) Les hématies utilisées sont issues de sang de lapin. Le sang de lapin est recueilli dans des tubes héparinés. Les hématies du lapin sont collectées pour la mise en évidence la présence des lectines dans les extraits, 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 4000tr /min pendant 10 min le surnageant résultant est versé et une solution de Na Cl 0.9% est ajouté au culot ; après avoir bien mélangé le tube est soumis à nouveau à une centrifugation .l'opération est répété 3 fois jusque l'obtention d'un surnageant claire.

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 36 ml de Na Cl 0.9% afin d'obtenir des hématies à 4 %.

III.2.2.2 La technique d'hémagglutination

Dans chaque puits d'une microplaque 50 µl des hématies 4 % du lapin ont été ajouté à 50µl d'extrait brut de chaque plante. Après 1 heure l'agglutination est observée par l'œil nu et à l'aide d'un microscope optique (G×40).

III.2.3 La limite d'hémagglutination

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

Technique

50 μ L de tampon PBS sont placés dans chaque puits de la microplaque, puis 50 μ L d'extrait brut sont ajoutés dans le premier puits, et une double dilution en série est réalisée. Ensuite, 50 μ L de la suspension d'érythrocytes à 4 % en solution saline (NaCl 150 mM) sont ajoutés et mélangés à chaque puits.

La lecture de l'activité hémagglutinante est réalisée après 1 heure d'incubation à température ambiante. En cas d'un résultat positif, les hématies forment un tapis qui couvre le fond du puits de la plaque de microtitration. Contrairement à un résultat négatif ou l'hémagglutination n'a pas eu lieu, on observe que tous les érythrocytes précipitent au fond du puits, et un point rouge peut être observé. Cependant, des précautions doivent être prises afin de ne pas confondre entre hémolyse et hémagglutination. La différence entre ces deux phénomènes peut être simplement observée, si les puits sont examinés par le côté : Dans le cas d'une hémagglutination, le tapis d'hématies ne couvre que le fond du puits, alors que le surnageant reste translucide. S'il y'a une hémolyse, l'ensemble du puits est rempli avec une solution rouge.

La plus petite concentration en extrait brut pour laquelle une hémagglutination est encore visible est appelée point d'équivalence et la concentration en extrait de ce puits correspond à une unité d'hémagglutination (UH).

III.2.4 Effet de la température sur l'hémagglutination

Le test se fait par une incubation de l'extrait brut d'*Astragalus armatus*, *Ruta montana* à différentes températures (40°, 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 95°C) dans un bain marie pendant une heure de temps puis refroidi directement à 4°C. Le test d'hémagglutination est ensuite réalisé sur chaque échantillon.

III.2.5 Test d'inhibition d'hémagglutination par des sucres simples

L'inhibition de l'hémagglutination représente une des premières techniques utilisées pour étudier les interactions sucre-lectine (Mastouri, 2013)

La spécificité osidique des lectines est défini en terme de concentration minimale de sucre nécessaires pour inhiber l'agglutination ou la réaction de précipitation induite par ces molécules (Torche, 2015).

Les sucres utilisés sont : le Glucose ; Galactose ; Lactose ; fructose ; sucrose et xylose à des concentrations chacun de 400 Mm de Na Cl 0,9%)

50µl d'extrait de lectines sont déposés dans chaque puits suivis de 50µl de solution de sucre le mélange est incubé pendant 1h à température ambiante, 50µl des hématies de lapin à 4% ont été rajoutées, la lecture a été effectuée après 1h à température ambiante à l'œil nu.

III.2.6 Précipitation différentielle au sulfate d'ammonium

Technique

Le fractionnement proteique est effectué sur 10 ml d'extrait brut d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana* a différentes concentrations de sulfate d'ammonium (pourcentage de saturation) :(0-25%, 25-50%, 50-75%, 75-100%) (**Annexe 02**);afin de séparer les protéines en différentes fractions.

Une saturation initiale à 25% a été réalisée en ajoutant progressivement du sulfate d'ammonium à l'extrait brut placé dans un bécher,

Le tout est soumis à une faible agitation mécanique à froid, pendant 3 à 4h, Apres un repos d'une heure environ,

Après centrifugation à 9000tr /min pendant 40min, le précipite est recueilli dans 2mL d'eau distillée et a servi pour la dialyse. Cette solution représente la première fraction protéique F1 (0-25%).

Le surnageant obtenu est resoumis pour une autre précipitation au sulfate d'ammonium avec une saturation de 25 à 50% en suivant la même procédure.

L'opération se poursuit jusqu'à une saturation à 100% de l'extrait en sulfate d'ammonium. Les 4 fractions protéiques ainsi obtenues F1 (0-25%), F2 (25-50%), F3 (50-75%), F4 (75-100%) sont ensuite dialysées afin d'éliminer le sulfate d'ammonium résiduel.

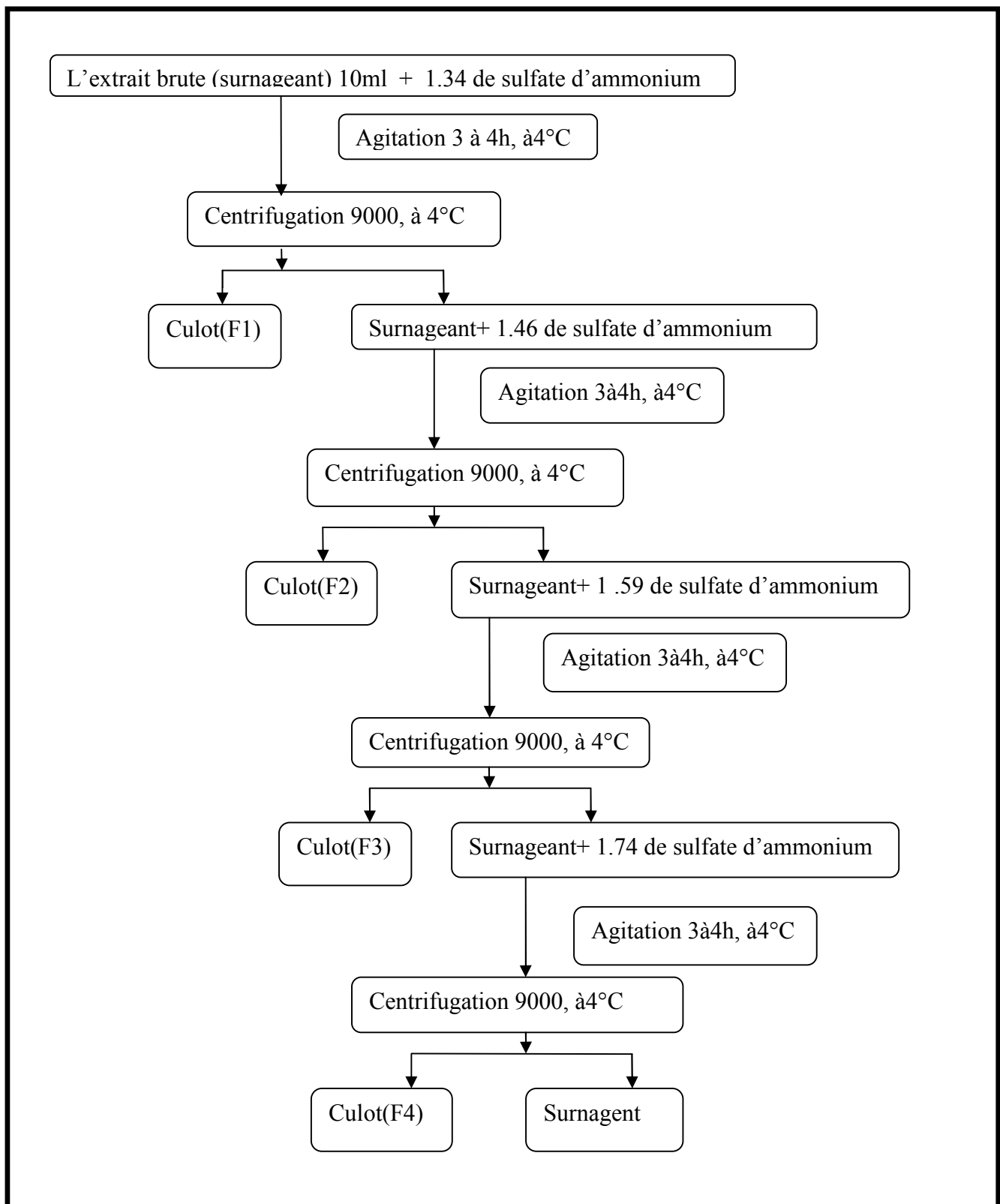


Figure 13 : Schémas de précipitation différentielle au sulfate d'ammonium.

III.2.7 Dialyse des fractions renfermant nos lectines

Sachant que les protéines de l'extrait sont de grosses molécules, une dialyse a été effectuée afin d'éliminer le maximum de petites molécules et le sel.

Principe

Elle est l'opposé de l'osmose c'est à dire les ions quittent le milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré.

Mode Opérateur

La dialyse est réalisée à l'intérieur de sac de dialyse contre une eau distillée, sous une faible agitation à 4°C, pendant 3 jours en prenant soin de changer l'eau chaque jour.

Les échantillons sont ensuite stockés à 4°C.

Les fractions sont récupérées pour le test d'héماغglutination.



Chapitre IV: Résultats



IV. Résultats

IV.1. Le test d'héماغglutination

La plupart des lectines sont capables d'interagir avec des globules rouges. Si une solution des hématies est placée dans un puits, la sédimentation naturelle conduit à un dépôt des hématies au fond du puits.

L'ajout d'une lectine permet la formation d'un réseau entre les hématies et les lectines, ces interactions forment une suspension gélatineuse homogène, ceci correspond au phénomène d'héماغglutination.

Le tableau 09 : représente l'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana*

Plante	Test d'agglutination
<i>Astragalus armatus</i>	+++
<i>Ruta montana</i>	+++

+++ : très forte agglutination

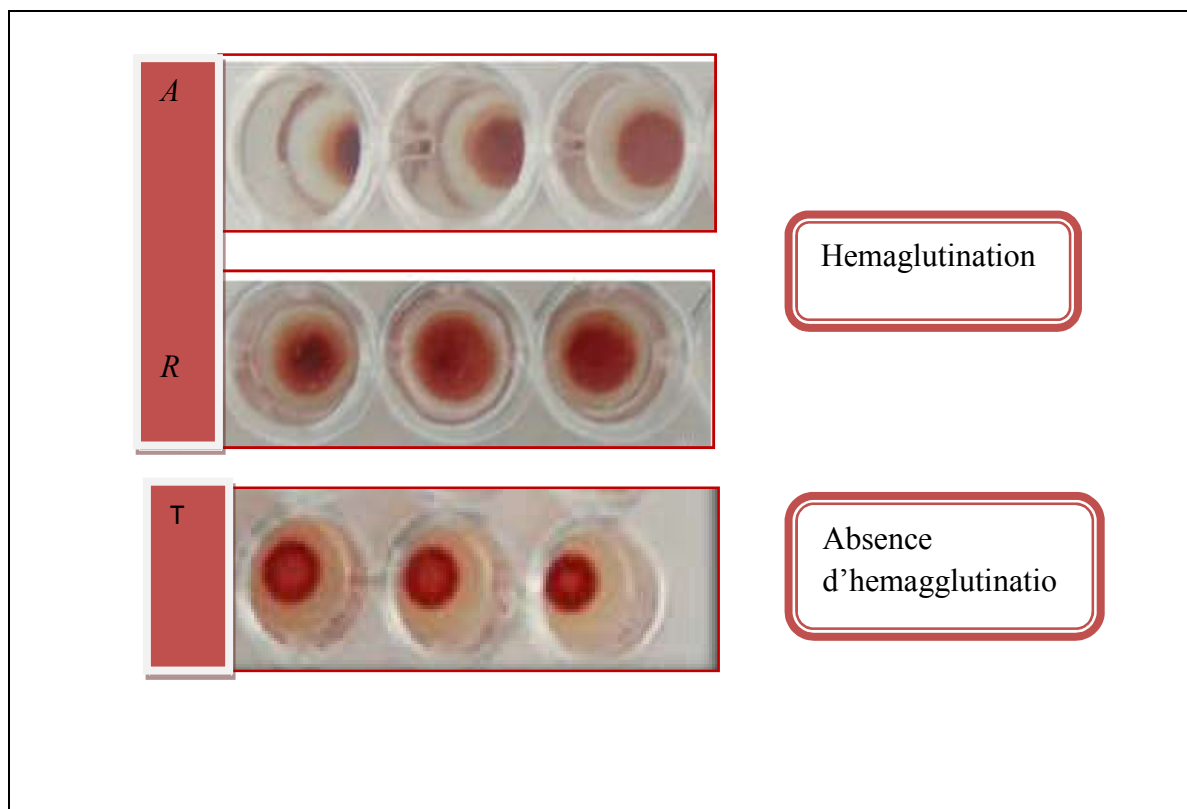


Figure 14: Test d'hémagglutination des hématies du lapin par l'extrait d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana* (observation à l'œil nu).

A : *Astragalus armatus*

R : *Ruta montana*

T : Témoin

L'extrait d'*Astragalus armatus* ; *Ruta montana* (racine) montre une très forte agglutination vis-à-vis les hématies du lapin. Cette agglutination a été observée à l'œil nu et au microscope qui prouve que notre plantes contient des lectines,

En absence de lectines, les cellules se précipitent au fond des puits où elles s'accumulent en un bouton rouge dense: l'hémagglutination est dite négative.

Figure 15 et 16 montrent l'observation microscopique de l'agglutination de deux extraits d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana*.

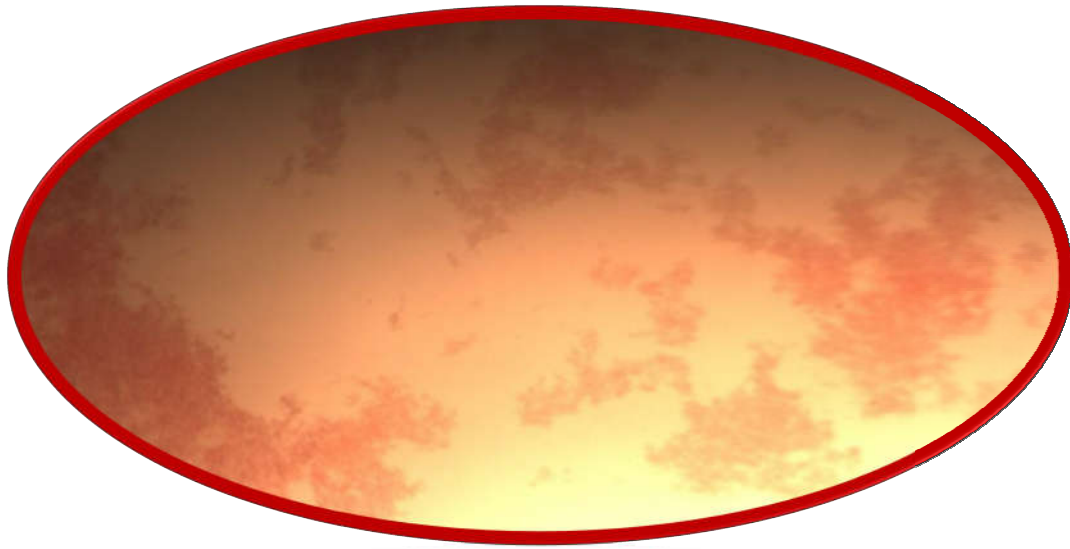


Figure 15: observation microscopique d'hémagglutination des hématies du lapin par l'extrait d'*Astragalus armatus* Gx40



Figure 16: observation microscopique d'hémagglutination des hématies du lapin par l'extrait de *Ruta montana* Gx40

IV.2. La limite d'hémagglutination

La limite d'hémagglutination est exprimée en fonction du rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination.

Tableau 10 : L'Activité de la limite d'hémagglutination d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana*.

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>A</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
<i>R</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-	-

+++ : Très forte agglutination
 ++ : Forte agglutination
 + : Faible agglutination
 _ : Absence d'agglutination

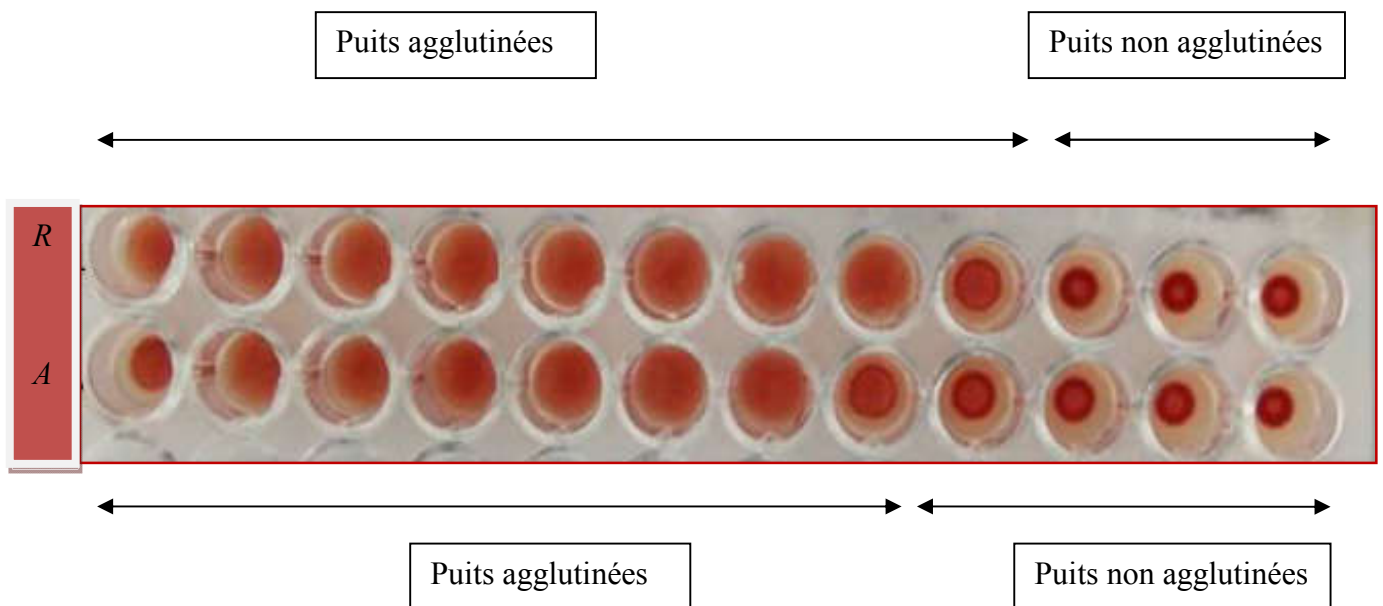


Figure 17: La limite d' hémagglutination d' *Astragalus armatus* et *Ruta montana*.

(Observation à l'œil nu)

A: *Astragalus armatus*

R: *Ruta montana*.

L'extrait d'*Astragalus armatus* a montré une très forte agglutination vis-à-vis des globules rouges lors de sa dilution de 1^{ère} jusqu'à 6^{ème} puit (64), alors qu'elle diminue au niveau des 2 puits qui suivent, et disparaît complètement au niveau des puits suivants (9→12) ce qui donne une concentration de (256UH.ml⁻¹).

Tandis que l'extrait de *Ruta montana* a montré une très forte agglutination vis-à-vis des globules rouges lors de sa dilution de 1^{ère} jusqu'à 7^{ème} puit (128), alors qu'elle diminue au niveau des 2 puits qui suivent, et disparaît complètement au niveau des puits suivants (10→12) ce qui donne une concentration de (512UH.ml⁻¹).

IV. 3. L'effet de la température sur l'héماغglutination

Le traitement thermique des extraits bruts des racines d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana* à différentes températures de 40,50, 60, 70,80, 90,95°C pendant 1h sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : L'effet de la température sur l'activité héماغglutinante de l'extrait d'*Astragalus armatus*, *Ruta montana*

Température Extrait	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C	95°C
<i>Astragalus armatus</i>	+++	+++	++	-	-	-	-
<i>Ruta montana</i>	+++	+++	+++	++	-	-	-

+++ : Très forte agglutination.

++ : Forte agglutination.

+ : Faible agglutination.

- : Absence d'agglutination.

L'activité héماغglutinante de l'extrait brut d'*Astragalus armatus* qui reste stable jusqu'à une température 50°C, au delà l'activité commence à diminuer progressivement jusqu'à disparaître à une température de 70 °C.

Tandis que l'extrait brut de *Ruta montana* qui reste stable jusqu'à une température 60°C, au-delà l'activité commence à diminuer progressivement jusqu'à disparaître à une température de 80 °C.

IV.4. Test d'inhibition d'hémagglutination par des sucres simples

Le test d'inhibition a été effectué avec certains sucres simples (glucose, galactose, fructose, Sucrose, lactose, xylose) pour déterminer la spécificité des extraits en sucre. L'agglutination ne se fait pas dans le cas où la lectine va fixer l'inhibiteur plutôt que les hématies, les résultats obtenus ont été décrit dans le tableau (12).

Tableau 12 : test d'inhibition des extraits d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana*, par des sucres simples

Sucre Extrait	glucose	galactose	fructose	sucrose	lactose	xylose
<i>Astragalus armatus</i>	-	-	-	+	-	-
<i>Ruta montana</i>	+	+	-	-	-	-

+ : inhibition et absence d'agglutination

- : pas d'inhibition et présence d'agglutination.

L'extrait de l'*Astragalus armatus* a été spécifiquement inhibé par le sucrose.

L'extrait de *Ruta montana* a été inhibé par le glucose et le galactose.

Pour le (fructose, lactose, xylose) L'extrait ne présente aucune spécificité pour ces sucres simples ce qui résulte par une agglutination aux hématies de lapin.

IV. 5. Précipitation différentielle au sulfate d'ammonium

Tableau 13 : Agglutination des fractions obtenues par précipitation au sulfate d'ammonium

Fractions	Fraction 1	Fraction 2	Fraction 3	Fraction 4
Pourcentage de saturation de Sulfate d'ammonium	0-25%	25-50%	50-75%	75-100%
<i>Astragalus armatus</i>	++	+++	+	-
<i>Ruta montana</i>	+++	++	-	-

+++ : Très forte agglutination.

++ : Forte agglutination.

+ : Faible agglutination.

- : Absence d'agglutination.

Après précipitation différentielle de l'extrait brut d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana* sur 4 paliers de concentration (F1 [0-25%], F2 [25-50%], F3 [50-75%], F4 [75-100%]) et dialyse des différentes fractions obtenues,

Le test d'hémagglutination de l'extrait brut d'*Astragalus armatus* montre que les 3 premières fractions **F1**, **F2**, **F3** contiennent des hémagglutinines, particulièrement la fraction **F2 [25-50%]**, Celle-ci est suivie par ordre décroissant de celles des fractions **F1 [0-25%]** ; **F3 [50-75%]**; Et dernière fraction **F4 [75-100%]** ne possèdent aucune activité hémagglutinante.

Alors que, le test d'hémagglutination de l'extrait brut de *Ruta montana* montre que les 2 premières fractions **F1**, **F2**, contiennent des hémagglutinines, particulièrement la fraction **F1 [0-25%]**, et la fraction **F2 [25-50%]** ; et les dernières fractions **F3 [50-75%]**; et **F4 [75-100%]** ne possèdent aucune activité hémagglutinante.



Chapitre V : Discussion



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

Elles sont utilisées dans différentes applications en microbiologie (**Sumner, 1919**), ainsi que utilisées comme outils dans la recherche, dans le secteur biomédical et dans le domaine agronomique (**Boyd et Sharpleigh, 1954**).

Le nombre de travaux publiés sur les lectines a vu une grande croissance principalement grâce à l'abondance des lectines dans tous les organismes vivants, Au cours des vingt dernières années, plusieurs centaines de lectines principalement extraites de plantes, ont été purifiées et caractérisées (**Liener, 1976**).

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

Nous avons commencé le travail par le test de la présence des lectines au niveau des racines de deux plantes et pour cela nous avons utilisé les érythrocytes du lapin qui rester toujours la méthode la plus simple et la plus pratique avec l'extrait brut des plantes récupéré à l'aide d'une solution tampon.

Les extraits bruts (d'*Astragalus armatus* et *Ruta montana*) donnent un résultat positif (présence d'agglutination) et les mêmes degrés d'agglutination sur 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 (**Necibet al., 2014**).

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

L'activité hémagglutinante d'extrait d'*Astragalus armatus* a une activité hémagglutinante 1 :8 (256).

Tandis que l'extrait du *Ruta montana* a une activité hémagglutinante 1 :9 (512),

L'activité hémagglutinante d'extrait d'*Astragalus armatus* est faible par rapport à celle de l'extrait de *Ruta montana*.

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

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

L'extrait d'*Astragalus armatus* qui reste stable jusqu'à une température 50°C pendant 60 min. Ce résultat est en accord avec celle de :

La lectine de *Vigna mungo* est stable à 50°C pendant 60min. (Suseelan *et al.*, 1997).

La lectine de *Bryopsis plumose* qui restent natives à 50°C, avec une perte totale d'activité à et 60°C (Han *et al.*, 2010).

L'extrait de *Ruta montana* qui reste stable jusqu'à une température 60°C pendant 60 min, le résultat est en accord avec celle de :

la lectine de *Pterocladia capillacea* qui reste stable à 60°C pendant 30min. (Oliveira *et al.*, 2002),

Les lectine de *Phaseolus vulgaris* qui reste native à 60°C, avec une perte totale d'activité à 80°C (Andrew *et al.*, 2014).

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

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

Les lectines ont une spécificité de glucides précis et peuvent être bloqués par les sucres simples et les oligosacchrides (Laija *et al.*, 2010).

Pour déterminer la spécificité de nos extraits vers une structure glucidique particulière, on a réalisé un test d'inhibition.

L'extrait de l'*Astragalus armatus* est spécifiquement inhibé par le sucrose

L'extrait de *Ruta montana* est inhibé par glucose et galactose, ce résultat est en accord avec

Les études réalisés sur les lectines de 12 plantes permis elles les lectines de *Abrus precatorius*, qui sont inhibés par le galactose, les lectines de *Adenia digitata* qui sont inhibés par le glucose, (**Renato et al., 1991**)

Les lectines des racines d'*Astragalus monghlicus* qui présentent une spécificité pour le D-galactose (**Lam et Ng, 2011**).

Ce teste aussi a été effectué sur muqueuse de cuir de l'espèce animale *Clarias gariepinus* (*catfish*), il a montré une spécificité pour le galactose (**Odekanyin et Kuku, 2014**).

Cette inhibition est due à des interactions multiples entre d'une part les lectines et d'autre part les glycoconjugués, qui sont impliquées dans les processus de reconnaissance,

Dans le but d'éliminer les impuretés afin d'améliorer l'activité hémagglutinante de l'extrait brut, nous avons procédé à la purification par précipitation au sulfate d'ammonium : Le test d'hémagglutination de précipitation au sulfate d'ammonium a donné trois fractions **F1**, **F2**, **F3** contiennent des hémagglutinines, particulièrement la fraction **F2 [25-50%]**, pour l'extrait d'*Astragalus armatus*

Tandis que le test d'hémagglutination de l'extrait brut de *Ruta montana* montre que les 2 premières fractions **F1**, **F2**, contiennent des hémagglutinines, particulièrement la fraction **F1 [0-25%]**,

L'activité hémagglutinante de ces fractions est moindre par rapport à l'extrait brut.

Une étude a montré que La lectine des graines de *phaseolus vulgaris* de la famille des *Fabaceae* précipitée à 70% (**Basheer et al., 2013**).

Une étude a montré que la lectine des graines d'*Artocarpus sp* de la famille des *Moraceae* est précipitée à 90% par le sulfate d'ammonium (**Vijaya Bhaskara Reddy, 2016**).

Une autre étude de l'activité hémagglutinante des lectines isolées de la graine d'*Abrus precatorius L.* est précipitée de 40 à 70% de saturation de sulfate d'ammonium (**Ramata, 2010**).

Alors que la lectine des feuilles d'Aloe vera est précipitée à 50% (**Ozsoy et al., 2012**).



CONCLUSION



Conclusion

Dans le cadre de ces travaux de recherche nous nous sommes intéressés à la purification partielle des lectines contenues dans les racines des deux plantes (*Astragalus armatus* et *Ruta montana*).

Nous avons commencé par extraire en premier lieu les lectines en mettant en évidence leur forte activité hémagglutinante sur les hématies de lapin, L'effet du traitement thermique indique que les lectines des racines des deux plantes (*Astragalus armatus* et *Ruta montana*) élimine l'effet hémagglutinante de lectine dans des températures faibles, Le test d'inhibition réalisé avec différents sucre simple, montre que les lectines de L'extrait d'*Astragalus armatus* est inhibé par le sucrose, alors que L'extrait de *Ruta montana* est inhibé par le glucose et galactose, Cette affinité de lectine pour ces sucres peut être utilisée pour sa purification, La précipitation au sulfate d'ammonium des fractions obtenues suivit de la dialyse diminue le degré d'agglutination

Perspective

Pour bien approfondir cette étude, il sera probable d'élargir le spectre de recherche notamment par l'étude structurale et fonctionnelle des lectines. Une purification complète par des techniques chromatographiques d'affinité est nécessaire, aussi bien pour la détermination du poids moléculaire de ces lectines, et la réalisation de différents tests biologiques (test d'activité antimicrobien, anti- inflammatoire, immunomodulation, et anticancéreux).



Références Bibliographiques



Références bibliographiques

A

Abrous A. (1982). Traitement de la paralysie faciale par la *Ruta montana*. Le pharmacien du Maghreb, spécial n°: 2, 48.

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

Andrew SA, Randy CF, 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.

Assreuy AMS. (1997). Anti-inflammatory effect of glucose-mannose binding lectins isolated from Brazilian beans. *Mediators of inflammation*, 6: 201-210.

B

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

Bellakhdar J. (1997). La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle, Ibis Press, Paris, France.

Benkiki N. (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes: *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*, thèse de doctorat d'état en chimie, université El-Hadj Lakhdar Batna : 12-75.

Benziane MM.(2007). Screening photochimique de la plante *Ruta Montana*. Extraction de l'huile essentielle et de la rutine. Activité antioxydant de la plante. Thèse de Magister en Chimie Organique ; Université D'oran ES-SENIA : 41.

Bezanger BL, Pinkas M, Torck M. (1986). Les plantes dans la Thérapeutique Moderne.

Bianchet MA, Ahmed H, Vasta GR, Amzel LM. (2009). Structural aspects of lectin ligand interaction In Vasta G0 R, Amzel L. M. *Animal lectins: a functional view*. Taylor & francis, II: 13-14.

Boyd WC, Shapleigh E. (1954). Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins). *Science*, 119 : 419.

C

Calis I, Donmez AA, Perrone A, Pizza C, Et Piacente S. (2008). Cycloartane glycosides from *Astragalus campylosema* Boiss. ssp. *Campylosema*. *Phytochemistry*, 69: 2634–2638.

Cao X, Sun Y, Wang C, Zeng B. (2010). Purification and characterization of a new D-galactose specific lectin from the housefly, *Musca domestica*, and its antiproliferative effect on human K562 and MCF-7 tumorcells. *Journal of Insect Science*, 10(79): 1-12.

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

Clevely A, Richmond K. (1997). *Plantes Et Herbes Aromatiques, Connaître Et Préparer*, Larousse, Paris.

Cuq JL. (1992). Qualité de nos aliments et technologies In *Alimentation et nutrition humaines*. ESF: 1240.

D

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

Daoudi A, Abdel-Satter E, Aarab L. (2014). The Relationship Between Lectin Compounds and Immunomodulatory Activities of Protein Extracted From Plants. *Journal of Plant Studies*, 3(1): 56-64.

E

Eckert R, Randall D, Burgrgren W. (1999). *Physiologie animal : mécanismes et adaptations*. Fourth édition. DE BOECK. Paris: 90.

El Rhaffari L, Zaid A. (2002). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet) : Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Des sources de savoir aux médicaments du futur, in : 4ème Colloque Européen d'Ethnopharmacologie, Paris, IRD Editions, institut de Recherche pour le Développement, Société française d'ethnopharmacologie, 1 : 293-318.

F

Falasca AI. (1989). Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz. *Febs Lett*, 246(1-2) : 159 -162.

Forment M, Roques H. (1941). *Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie*, Ed. OFALAC : 59.

François CD, Niestlé SA. (2000). *Dictionnaire Etymologique de Botanique*, Ed. Lausanne (Switzerland), Paris.

Frontquer P. (1962). *Plantes Médicales El Discorides Renovado*, Ed Hebon S.A Barcelona: 426.

G

Gabius HJ, Springer WR, Barondes SH. (1985). Receptor for the cell binding site of discoidin I. *Cell*. (42): 449-456.

Ghopkins W, Evrard CM. (2003). *Physiologie Végétale*. DE BOECK, 1^{ère} édition:104-105.

Gianluca C. (2006). Etude structure-fonction de glycoconjugués et de lectines bactériennes et fongiques. *Biochimie*. Université Joseph-Fourier. France : 15-37.

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

Goldstein IJ, Hughes RC, Monsigny M, Osawa T, Sharon N. (1980). What should be called a lectin?. *Nature*, 285: 66.

Goldstein IJ, Poretz RD. (1986). Isolation physico-chimical, characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins In Liener I. *The lectin: properties, function and applications in biology and medicine*. ELSEVIER. INC: 49-50.

Gomes BS, Siqueira ABS, Maria RCC, Teisceira VGEH, Anuda FVS, Naximmento KSD, De Lima AN, Souza-Motta M, Porto ALF. (2012). Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion. *Braz. J. Microbiol* 43(2), 770-778.

Gomes JC (1994). Histamine release induced by glucose (mannose) specific lectins isolated from Brazilian beans. Comparison 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 .

Greuter W, HM Burdet , G Long.(1989). *Med-Checklist- Conservatoire & Jardin botaniques de la Ville de Genève* : 4-35.

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

Guillot J, Guerry M, Konska G, Caldefie-Chezet F, De Latour M, Penault-Llorca F. (2004). Modification des glycoconjugués au cours du processus de cancérisation : cas des carcinomes mammaires. *Bull Cancer*, 91: 141-158.

H

Han HJ, Jung MG, Kim MJ, Yoon SK, Lee PK, Kim GH. (2010). Purification and characterization of a D-mannose specific lectin from the green marine alga, *Bryopsis plumosapre*. *Phycological Research*, 58: 143–150.

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

Hung Y, Tan JM, Wang ZYISW, Hung X, Wang W, Ren Q. (2014). Cloning and characterization of two different L-type lectin genes from the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Dev. Comp. Immunol*, 46 : 255–266.

I

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

Imberty A, varrot A. (2008). Microbial recognition of human cell surface.

J

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

Jaffe WG. (1980). hemagglutinins (Lectins). In toxic constituents of plant foodstuffs. New – York, Academic Press: 502.

James LF, Hartely WJ, Van Kampen KR. (1981). Syndromes of *Astragalus* poisoning in livestock. *Journal of the American Veterinary Medical Association*:178, 146.

Jeyaprakash AA, Katiyar S, Swaminathan CP, 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.

Johandiez E, Maire R. (1932). Catalogue des plantes du Maroc Tome 2. Imprimerie Minerva, Alger : 406.

K

Karoline SA. (2008). Études structure –fonction de lectines (Disc I et Disc II) de *Dictyostelium discoideum*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de docteur de l'université Joseph Fourier. Université Grenoble 1- Joseph Fourier.

Khalfallah A, Karioti A, Berrehal D, Kabouche A., Lucci M., Bilia AR, Kabouche Z. (2014). A new flavonol triglycoside and other flavonol glycosides from *Astragalus armatus* Willd. (Fabaceae). *Records of Natural Products*, 8:12-18.

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

L

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

Lam SK, Ng TB. (2011). Lectins: production and practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 89: 45-55.

Larousse. (1997). Encyclopédie des plantes médicinales. Bordas Ed : 262-263.

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

Liener IE. (1976). Phytohaemagglutinins (Phytolectins). *Annu. Rev. Plant Physiol* 27: 291–319.

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

Lis H, Sharon N. (1998). Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. *Chem. Rev.* 98: 637-674.

Lock JM, Simpson K. (1991). Legumes of West Asia, a check list. Royal Botanical Gardens, Kew.

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

M

Maiza K, Brac-Laperr A, Hammiche V. (1993). Pharmacopée traditionnelle saharienne laboratoire de botanique médicale, département pharmacie, INESSW Alger : 170-171.

Mastouri A. (2013). Étude des phénomènes de reconnaissance moléculaire spécifique aux interfaces biologiques par AFM : investigation de l'influence de la multivalence sur les interactions sucre-lectine. Sciences de l'ingénieur physique. Université de Technologie de Compiègne. France : 68- 74.

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

Meite A, Kouame K, Offoumou M. (2008). Evaluation de l'activité hématagglutinante des lectines graines de trois espèces de *cucurbitaceae* couramment consommées en Côte d'Ivoire. *Science et Nature*, 5: 199-204.

Mukherjee S, Zheng H, Derebe MG, Callenberg KM, Partch CL, Rollins D, Propher DC, Jiang QX. (2014). Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin. *Nature*. 505: 103–107.

Murdockl L, Shade RE (2002). Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insectes. *J.Agric. food. Chem*, 50 (22): 6605-6611.

N

Nachbar MS, Oppenheim JD. (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.

Necib Y, Bahi A, Merouane F, Bouadi H, Boulahrouf K. (2014). Comparative Study of a new lactin extracted from roots of plants: *Cyperus rotundus*, *Pistacia lentiscus* and *Ruta Graveolens*, 4 (1): 1720-1733.

Nielson DB. (1978). The economic impact of poisonous plants on the range livestock industry in the 17 western states. *J. Range Mana*, 31: 325- 328.

O

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

Oliveira SRM, Nascimento AE, Lima YFMM, Benevides NMB. (2002). Purification and characterisation of a lectin from the red marine alga *Pterocladia capillacea* (S. G. Gmel). *Santel Hommers. Revista Brasil*, 25(4) : 397-403.

Ozenda P. (2004). Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris : 622.

Ozsoy N., Candoken E., Akev N. (2012). Purification and antioxidant activity of *aloe vera* leaf lectin. *J. Fac. Pharm. Istanbul*, 42(1):1-11.

P

Peumans WJ, Vandamme JM. (1995). lectine as plant defense proteins. *Plant Physiol*, 109: 347-352.

Podlech D. (1986). Taxonomic and phytogeographical problems in *Astragalus* of the Old World and South West Asia. *Proc Roy Soc*, 89: 37-43.

Poiroux GM. (2011). Evaluation du potentiel de lectines végétales dans le ciblage de médicaments anticancéreux: Application à la Photochimiothérapie. *Biologie cellulaire et Biochimie. Université Toulouse. France* : 35-45.

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

Pusztai A. (1991). plant lectins chemistry and pharmacology of natural products cambridge (gbr) .cambridge University press: 253.

Q

Quezel P, Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS Paris, 1 et 2 : 1170.

Quezel P, Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome II, Ed. CNRS, Paris : 590-593.

R

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 : 8-56.

Raynaud C. (1982). Eléments pour une flore pratique du Maroc, légumineuses, tribu des galega. Ecole Nationale Forestière des Ingénieurs, Salé, Maroc : 76.

Renato De A, Moreira. (1991). Plant lectins, chemical and biological aspects. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* Rio de Janeiro, 86 (2): 211-218.

Renata. OD, Leandro SM, Ludovico M, Octavio LF. (2015). Insights into Animal and Plant Lectins with Antimicrobial Activities. *Molecules*, 20: 519-541.

Ringe P. (2009). Structure et fonction des protéines. DE BOECK , 27.

Ríos JL, Waterman PG. (1997). *Phytother. Res*, 11 : 411-418.

Rudiger H, Gabius HJ. (2001). Plant lectins: Occurrence, biochemistry, functions and application. *Glycoconj. J.* 18: 589-613.

Rydz N, Swystun LL, Notley C, Paterson AD, Riches JJ, Sponagle K, Boonyawat B, Montgomery RR, James PD, Lillcrap D. (2013). The c-type lectin receptor clec4m binds, internalizes, and clears von wille brand factor and contributes to the variation in plasma von willebrand factor levels. *Blood*, 121: 5228–5237.

S

Saint-Paul M. (1961). Les hémagglutinine: transfusion, 1: 3-37.

Saoudi M. (2008). Les bactéries nodulant les legumineuses (B.N.LP): caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus armatus*. Mémoire de Magister, Génomique et Techniques Avancées des Végétaux. Université Mentouri de Constantine, Constantine : 29.

Sauvion. (1995). Effets et modes d'actions de deux lectines à mannose sur le puceron du pois. *Acyrtosiphonpisum (harris)*. Potentiel d'utilisation des lectines végétales dans une stratégies de création de plantes transgéniques résistantes aux pucerons, 64 (9) : 45-47.

Scherson RA , Vidal R, Sanderson MJ. (2008). Phylogeny, biogeography and rates of diversification of New World *Astragalus (Leguminosae)* with an emphasis on South American radiations. *Am J Bot*, 95: 1030-1039.

Schwarz F, Deep K , Rama G, Bhat S , Avadhessa S .(1993). Thermodynamics of Monosaccharide Binding to ConcanavalinA , Pea (*Pisum sativum*) Lectin, and Lentil (*Lens culinaris*) Lectin .*Bio Chy*: 7668-7677.

Semmar N, Tomofumi M, Mrabet Y, Lacaille-Dubois MA. (2010). Two new acylated tridesmosidic saponins from *Astragalus armatus*. *Helvetica Chimica Acta*, 93: 870-876.

Shaista R, Sakeena Q, Ishfak HW, Showkat AG, Akbar M, Rabia H. (2014). Purification and partial characterization of a Fructose-binding lectin from the leaves of *Euphorbia helioscopia*. *Pak. J. Pharm. Sci*, 27(6): 1805-1810.

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

Sharon N, 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 lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*, (14) : 53-62.

Silva ALC, Horta ACG, Moreira RAM. (2001). Isolation and partial characterization of a lectin from *Bauhinia pentandra*(bong) vog. Ex. steua. *R. Bras. Fisiol. Veg*, 13(3): 262-269.

Sumner JB. (1919). The globulins of the jack bean.*Canavalia Ensiformis*. *Journal of Biological Chemistry*, 37 (1): 137-142.

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

Suseelan KN, Bhatia CR, Mitra R. (1997). Purification and characterization of two major lectins from *Vingo mungo* (blackgram). *J. Biosci*, 22: 439-455.

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

T

Tanne A, Neyrolles O. (2010). C-type lectins in immune defense against pathogens: Themurine dc-sign homologue signr3 confers early protection against mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence*. 1, 285–290.

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

Torche I, Chekakta M. (2015). Extraction des lectines à partir des plantes médicinales (*Anacyclus Pyrethrum L, Brassica napus L, Calycotome spinosa L, link et Urtica dioica L*) avec des tests biologiques. . *Biochimie Moléculaire et santé*. Université des Frères Mentouri Constantine. . Algerie : 26-31.

V

Vandamme EJ, Peumans WJ , 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.

Victoria H, Rachida M, Mehamed A. (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Paris : 197,222, 283, 342.

Voet D, Voet JG. (2005). Biochimie. 2^{ème} édition. DE BOECK ,378 .

Voisin A. (1987). Utilisation des plantes médicinales dans le souf au 19^{ème} siècle. Le Sahara, 1^{er} trimestre, 100: 25-28.

W

Wang H, Ng TG. (1998). Ribosome inactivating protein and lectin from bitter melon (*Momordica charantica*) seeds: sequence comparaison with related protein. *Biochemical and biophysical research communication*, 253: 143- 146.

Wiley DC, Skehel JJ. (1987). The structure and function of the hemagglutinin membraneglycoprotein of influenza. *Annual. Review. Biochemistry*, 56: 365-394.

Wojciechowski MF, Sanderson MJ, Hu JM. (1999). Evidence on the monophyly of *Astragalus* (Fabaceae) and its major subgroups based on nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA trnL intron data. *Syst Bot*, 24: 409-437.

X

Xu S, Wang L, Wang XW, Zhao YRBIWJ, Zhao XF , Wang JXL. (2014).Type lectin from the kuruma shrimp *Penaeus japonicus* promotes hemocyte phagocytosis. *Dev. Comp. Immunol*, 44 : 397–405.

Z

Zhang H, Peatman E, Liu H , Feng T , ChenL , 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*, 32 : 598-608.

Zitouni A. (2015). Extraction, purification, caractérisation et effet immuno-modulateur des lectines fongiques de *Terfèzia boudiéri* (Truffe Blanche du Sahara).Thèse de doctorat. Université Frère Mentouri Constantine. Algerie: 21-38.

ANNEXE

Annexe 01 : Le tampon phosphate di-sodique (PBS) (0.01 M pH 7,2)

Composants	Quantité
NaCl	8,0 g
KCl	0,2 g
Na ₂ HPO ₄	1.15 g
KH ₂ PO ₄	0,2 g
L'eau distillée	1 litre

Mode opératoire

Les composants sont ajoutés à l'eau distillée et le volume est amené jusqu'à 1000 ml.
Après l'agitation et la dissolution de tous les composants, le pH est ajusté à 7,28

Préparation du NaCl 0,9 M :

NaCl	L'eau distillée
0.9 g	100 ml

Annexe 02 : Tableau de précipitation au sulfate d'ammonium

% de saturation en sulfate d'ammonium à 0°C

	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
grammes de sulfate d'ammonium à ajouter à un litre de solution:																		
106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697	0	0
79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	405	444	484	526	570	615	662	5	5
53	81	109	139	169	200	233	266	301	337	374	412	452	493	536	581	627	10	10
26	54	82	111	141	172	204	237	271	306	343	381	420	460	503	547	592	15	15
0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	427	469	512	557	20	20
	0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	395	436	478	522	25	25
		0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	362	402	445	488	30	30
			0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	329	369	410	453	35	35
				0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	40	40
					0	29	59	90	123	156	190	226	263	302	342	383	45	45
						0	30	60	92	125	159	194	230	268	308	348	50	50
							0	30	61	93	127	161	197	235	273	313	55	55
								0	31	62	95	129	164	201	239	279	60	60
									0	31	63	97	132	168	205	244	65	65
										0	32	65	99	134	171	209	70	70
											0	32	66	101	137	174	75	75
												0	33	67	103	139	80	80
													0	34	68	105	85	85
														0	34	70	90	90
															0	35	95	95
																0	100	100

% saturation initiale en sulfate d'ammonium (à 0°C)

Purification Partielle des Lectines des deux Plantes *d'Astragalus armatus* et *Ruta montana*

Résumé

Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire capable de reconnaître des glucides et possèdent la capacité bien connue d'agglutiner les érythrocytes. Elles sont présentes dans toutes les branches du règne vivant. Le but de ce travail est de chercher la présence des lectines dans les extraits racinaires de deux plantes (*Astragalus armatus*, *Ruta montana*) par le test d'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon. Les lectines extraites de ces racines ont donné une très forte activité hémagglutinante sur les hématies de lapin. L'activité hémagglutinante d'extrait *d'Astragalus armatus* a été 1 :8(256) tandis que *Ruta montana* a été 1 :9 (512). Le traitement thermique modifie l'activité hémagglutinante des extraits bruts : *Astragalus armatus* a été stable jusqu'à 50°C. Tandis que *Ruta montana* a été stable jusqu'à 60°C. Un test d'inhibition a été réalisé avec différents sucres qui a montré que les lectines d'extrait de l'*Astragalus armatus* a été spécifiquement inhibé par le sucrose. Par contre les lectines d'extrait de *Ruta montana* a été inhibé par galactose et glucose. La précipitation au sulfate d'ammonium des fractions obtenues suivit de la dialyse diminue le degré d'agglutination.

Mots clés : *Astragalus armatus*, *Ruta montana*, Lectine, Extraction, Hémmagglutination.

Partial Purification of Lectins from Both *Astragalus Armatus* and *Ruta Montana* Plants

Abstract

Lectins are proteins of non-immune origin capable of recognizing carbohydrates and possess the well-known ability to agglutinate erythrocytes. They are present in all branches of the living kingdom. The purpose of this work is to search for the presence of lectins in the root extracts of two plants (*Astragalus armatus*, *Ruta montana*) based on the hemagglutination test, and there biological study. The extraction was realized by grinding and maceration in a buffer solution. The lectins extracted from these roots gave a very strong haemagglutinating activity on the rabbit red blood cells. The haemagglutinating activity of *Astragalus armatus* extract was 1: 8 (256) while *Ruta montana* was 1: 9 (512). The heat treatment modifies the haemagglutinating activity of the crude extracts: *Astragalus armatus* was stable up to 50 ° C. While *Ruta montana* has been stable up to 60 ° C. An inhibition test was performed with various sugars which showed that the extract lectins of *Astragalus armatus* were specifically inhibited by sucrose. In contrast, *Ruta montana* extract lectins were inhibited by galactose and glucose. The ammonium sulphate precipitation of fractions obtained followed by dialysis decreases the degree of agglutination

Key words: *Astragalus armatus*, *Ruta montana*, Lectin, Extraction, Hemagglutination.

تنقية جزئية للكيتينات نباتين *Ruta montana* و *Astragalus armatus*

ملخص

الكيتينيات هي بروتينات من أصل غير مناعي لها القدرة على التعرف على الكربوهيدرات والارتباط بها وتمتلك القدرة المعروفة على ترصص كريات الدم الحمراء. تتواجد في جميع فروع العالم الحي. الهدف من هذا العمل هو البحث عن وجود الكيتينيات في مستخلصات جذور نباتين (*Ruta montana*، *Astragalus armatus*) بواسطة اختبار الترصاص الدموي ودراسهم بيولوجيا. الاستخلاص يكون عن طريق طحنها و نقعها في محلول ملحي. الكيتينيات المستخلصة من هذه الجذور أعطت انتقائية عالية جدا على الكريات الدموية الحمراء للأرنب. نشاط الترصاص لمستخلص *Astragalus armatus* هو 1:8 (256) بينما عند *Ruta montana* هو 1:9 (512). المعالجة الحرارية غيرت نشاط الترصاص للمستخلصات: *Astragalus armatus* مستقرة إلى حتى 50 درجة مئوية. في حين أن *Ruta montana* مستقرة حتى 60 درجة مئوية. تم إجراء اختبار التثبيط مع مختلف السكريات، والذي بين أن الكيتينيات المستخلصة من *Astragalus armatus* تثبط من قبل السكروز. في المقابل أن الكيتينيات المستخلصة من *Ruta montana* تثبط من قبل الجلاكتوز والجلوكوز. الترسيب بكبريتات الأمونيوم للكسور التي تم الحصول عليها متبوعة ب dialyse يقلل من درجة الترصاص.

الكلمات المفتاحية: *Ruta montana* , *Astragalus armatus* , كيتين , استخلاص , ترصاص

Présenté par :
AIMECHE Selma

Date De Soutenance :
14/06/2018

Thème : Purification Partielle des Lectines des deux Plantes *d'Astragalus armatus* et *Ruta montana*

Option : Biochimie Appliquée

Résumé

Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire capable de reconnaître des glucides et possèdent la capacité bien connue d'agglutiner les érythrocytes. Elles sont présentes dans toutes les branches du règne vivant. Le but de ce travail est de chercher la présence des lectines dans les extraits racinaires de deux plantes (*Astragalus armatus*, *Ruta montana*) par le test d'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon. Les lectines extraites de ces racines ont donné une très forte activité hémagglutinante sur les hématies de lapin. L'activité hémagglutinante d'extrait *d'Astragalus armatus* a été 1 :8(256) tandis que *Ruta montana* a été 1 :9 (512). Le traitement thermique modifie l'activité hémagglutinante des extraits bruts : *Astragalus armatus* a été stable jusqu'à 50°C, Tandis que *Ruta montana* a été stable jusqu'à 60°C. Un test d'inhibition a été réalisé avec différents sucres qui a montré que les lectines d'extrait de *Astragalus armatus* a été spécifiquement inhibé par le sucrose. Par contre les lectines d'extrait de *Ruta montana* a été inhibé par galactose et glucose. La précipitation au sulfate d'ammonium des fractions obtenues suivit de la dialyse diminue le degré d'agglutination.

Mots clés : *Astragalus armatus*, *Ruta montana*, Lectine, Extraction, Hémmagglutination.

Laboratoire De Recherche: laboratoire de l'université Abbes Laghrour-Khenchela

Jury de soutenance :

Président : Mr. ABAIDIA Abd Elghafour (MAA). Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Encadreur: Mme. MESSAI Alima (MAA). Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Examinatrice : M^{elle}. BOUTARFA Soumia (MAA). Univ. Abbès Laghrour - Khenchela