



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche  
scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR-KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT : Biologie moléculaire et cellulaire

## Mémoire de fin d'études

*Pour l'obtention du diplôme de Master (L.M.D)*

**Filière : Biologie moléculaire et cellulaire**

**Option : Biochimie appliquée**

Thème

**L'extraction des lectines à partir de quelques plantes  
médicinales (*Scilla maritima*, *Saussurea costus*, *Myrtus  
communis*,) et leurs études biologiques**

Présenté par :

MELLAH Khaoula

BOUCHERIT Hamza

Encadré par :

Melle MESSAI Alima

Soutenu le : 15/06/2015

Jury de soutenance :

Président : Melle NADJI Hamida

Univ. Abbes Laghrou- Khenchela

Encadreur : Melle MESSAI Alima

Univ. Abbes Laghrou- Khenchela

Examinatrice : Melle BOUTARFA Soumia

Univ. Abbes Laghrou-Khenchela

Promotion : 2014/2015

---

*Le travail a été réalisé au niveau de laboratoire d'université de Khenchela.*

# REMERCIEMENTS

Nous louons Dieu Tout Puissant pour avoir guide nos pas et permis d'arriver au terme de notre étude.

Nos remerciements s'adressent à :

Melle *Messaï Alima*, notre promoteur, pour l'originalité du sujet et ses orientations.

M. *Benghanem Med El-Moncef* pour son aide et sa disponibilité constante.

Melles *Nadji Hamida et Boutarfa Soumia* pour avoir bien voulu juger notre travail.

Dr *Bakha Hani* pour nous avoir fait les analyses.

Mm. *Fercha Azzeddine, Boutaleb Abdelhak, Zeraïb Azzeddine et Chenaker Hichem* pour leurs collaborations.

Mme *Dellaa Samia* et les personnels des laboratoires,

Ainsi que tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

# *Dedicaces*

Je dédie ce mémoire :

-A mes parents qui m'ont soutenu durant mon cursus et aux moments difficiles,  
et permis d'atteindre le terme de mes études

A mes frères *Walid, Hamza, Bilel et Haroun*

A ma sœur *Anfal hadil*

A mes maîtres et professeurs , particulièrement le Docteur *Bakha Hani* de  
l'Université de Khenchela et *Boutaleb Abdelhak* de l'U.S.T.H.B de Bab  
Ezzouar (Alger)

A mes amis *Boughdiri Abdelmelek, hamzaoui rédha, Abeabsa Nacer,*  
*Abedesslem Fatima Zohra, Hani Khalida, Mâamria Karima et Bouhadida*  
*Selma* pour leurs encouragements

J'exprime ma gratitude à mon oncle *Benghellab Abdelhafidh* pour sa tendresse  
et son affection.

*khaoula*

# *Sommaire*

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## **Partie I : Revue bibliographique**

### **Chapitre I : lectines**

I.1 Généralités.....	3
I.2 Histotique.....	5
I.3 Spécificité des lectines.....	5
I.4 Propriétés Biologiques des lectines.....	6
I.5 Utilisation des lectines.....	8
I.6 Les lectines chez les végétaux .....	9

### **Chapitre II : Les plantes médicinales**

II.1 Définition.....	11
II.2 <i>Scille maritime</i> .....	12
II.3 <i>Myrtus communis</i> .....	15
II.4 <i>Saussurea costus</i> .....	19

### **Chapitre III : Les groupes sanguins**

III.1 Définition .....	21
III.2 Le système ABO.....	21
III.3 Structure chimique.....	22
III.4 Le système RHESUS.....	23
III.5 Les groupes sanguins et les lectines .....	23

## **Partie II : Matériels et méthodes**

### **Chapitre I : L'étude phytochimique**

I.1 prospection et Cueillette des plantes.....	24
I.1.1 Extraction.....	24
I.1.1.1 Préparation de la plante.....	24
I.1.1.2 Extraction par la solution tampon.....	25
I.2 Test d'hémagglutination.....	26

I.3.1 Préparation des hématies à 3% .....	26
I.3.2 Technique d'agglutination.....	26
I.3 Chromatographie sur colonne.....	27
I.4 Spectrophotométrie à UV.....	27

## **Chapitre II : L'étude biologique**

II.1 Limites d'hémagglutination.....	28
II.2 Test d'agglutination avec les hématies humaines ABO.....	28
II.3 Test d'inhibition d'agglutination par des sucres simples.....	28
II.4 Effet de température sur l'hémagglutination.....	29

## **Partie III : Résultats**

### **Chapitre I : L'étude phytochimique**

I.1 Le test d'hémagglutination.....	30
I.2 Chromatographie sur colonne.....	33

### **Chapitre II : l'étude biologique**

II.1 Les limites d'hémagglutination.....	35
II.2 Test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	36
II.3 Test d'inhibition d'agglutination par des sucres simples.....	36
II.4 L'effet de température sur l'hémagglutination.....	37

<b>Partie IV Discussion.....</b>	<b>39</b>
----------------------------------	-----------

<b>Conclusion .....</b>	<b>42</b>
-------------------------	-----------

<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>43</b>
---	-----------

**Annexe**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

# *Liste des tableaux*

## Liste des Tableaux

<b>Tableau n°1</b> représent des plantes médicinales .....	11
<b>Tableau 2</b> : Les lectines spécifiques aux groupes sanguins les plus connus ....	23
<b>Tableau 3</b> : l'agglutination des hématies du lapin par les extraits des 25 plantes médicinales.....	30
<b>Tableau 4</b> : Activité hémagglutinante des extraits de <i>Scilla maritima</i> , de <i>Saussurea costus</i> et <i>Myrtus communis</i> .....	35
<b>Tableau 5</b> : l'agglutination des hématies humaines par des extraits bruts de <i>Scilla maritima</i> , <i>Saussurea costus</i> et <i>Myrtus communis</i> .....	36
<b>Tableau 6</b> : Test d'inhibition des extraits de <i>Scilla maritima</i> , de <i>Saussurea costus</i> et de <i>Myrtus communis</i> par des sucres simples.....	37
<b>Tableau 7</b> : l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits .....	37



# *Liste des figures*

## Liste des Figures

<b>Figure 01</b> : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines glucides .....	04
<b>Figure 2</b> : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO .....	24
<b>Figure 3</b> : Schéma d'extraction des lectines à partir des poudres des différentes plantes.....	25
<b>Figure 4</b> : la filtration de l'extrait de <i>Scilla maritima</i> sur colonne de gel de silice.....	34
<b>Figure 5</b> : la filtration de l'extrait de <i>Saussurea costus</i> sur colonne de gel de silice.....	34
<b>Figure 6</b> : la filtration de l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur colonne de gel de silice .....	35

# *Liste des photos*

## Liste des photos

<b>Photo 1</b> : photo de <i>Scille maritime</i> .....	13
<b>Photo 2</b> : photo de <i>Myrtus communis</i> .....	16
<b>Photo 3</b> : photo de <i>Saussurea costus</i> .....	19
<b>Photo 5</b> : Observation microscopique de l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait de <i>Scilla maritim</i> (plus forte aglutination).....	32
<b>Photo 6</b> : Observation microscopique de l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait <i>Saussurea costus</i> (plus forte aglutination).....	32
<b>Photo 7</b> : Observation microscopique de l'agglutination des hématies du lapin par l'extra0it de <i>Myrtus communis</i> ( forte aglutination).....	33

# *Liste des abréviations*

## **Liste des abréviations**

**Ag** : Antigène

**ELLA** : Enzyme Linked Lectin Assay

**Fru** : Fructose

**G** : Groupe

**Gal** : Galactose

**GalNAc** : N-Acétyl-D-galactosamine

**Glc** : Glucose

**GlcNAc** : N-Acétyleglucosamine

**GS** : Groupe sanguin

**Man** : Mannose

**RIPs** : Ribosomes inactivant les protéines

# *Introduction*

## Introduction

Depuis l'antiquité, les populations ont eu recours aux plantes pour se soigner ou soigner leurs animaux.

Cette pratique se perpétue à nos jours où, malgré les progrès scientifiques réalisés dans le domaine de la médecine, pharmacie, phytochimie, une large frange de gens à travers le monde ne peut se passer de la médecine traditionnelle.

Par ailleurs, plusieurs médicaments sont fabriqués à partir des plantes; ces dernières renferment certains métabolites (alcaloïdes, huiles essentielles, polyphénols, tanins.....) qui leur confèrent les vertus spécifiques thérapeutiques (ou toxiques).

Parmi ces métabolites, les lectines occupent un rôle privilégié dans l'action immunitaire et anti-virale. Ces diverses propriétés sont à la base de leur utilisation dans le domaine biomédical (hématologie, cancérologie immunologie, biologie cellulaire et agronomie), (**Meite *et al.*, 2006**) ; les lectines sont des protéines qui fixent le sucre et se combinent avec les mono et oligosaccharides; elles ont été isolées chez certaines plantes . (**Goldstein, 1978; Pusztai *et al.*, 1983; Kocourek, 1983; Etzler, 1985; Liener *et al.*, 1986**). Elles sont rencontrées dans de nombreux légumes secs (**Rüdiger 2001; Yagi *et al.*, 2002**).

L'objectif principal de notre travail est de chercher la présence des lectines dans les racines et différents organes chez 25 plantes médicinales, leur extraction et leur étude biologique.

Notre travail sera réparti en quatre parties:

La première partie est une étude bibliographique.

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

Nous aborderons, au second chapitre traitant sur les plantes médicinales sur lesquelles nous avons travaillé et leur place en médecine traditionnelle.

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

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

Le premier chapitre a été consacré à l'étude phytochimique. Dans ce chapitre, nous avons fait une extraction des substances à partir des différentes parties étudiées des différentes



# Introduction

---

plantes et cela à l'aide d'une solution tampon, l'extrait brut que nous avons obtenu est d'abord testé sur les hématies,

Le second chapitre porte sur l'étude des plantes médicinales, on donnant des définitions, descriptions botanique, systématique et quelque vertu thérapeutique des différentes plantes.

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

Et enfin une conclusion qui nous permettra de faire une synthèse globale des résultats obtenus.

*Revue*  
*Bibliographique*

***Chapitre I :***  
***Lectines***

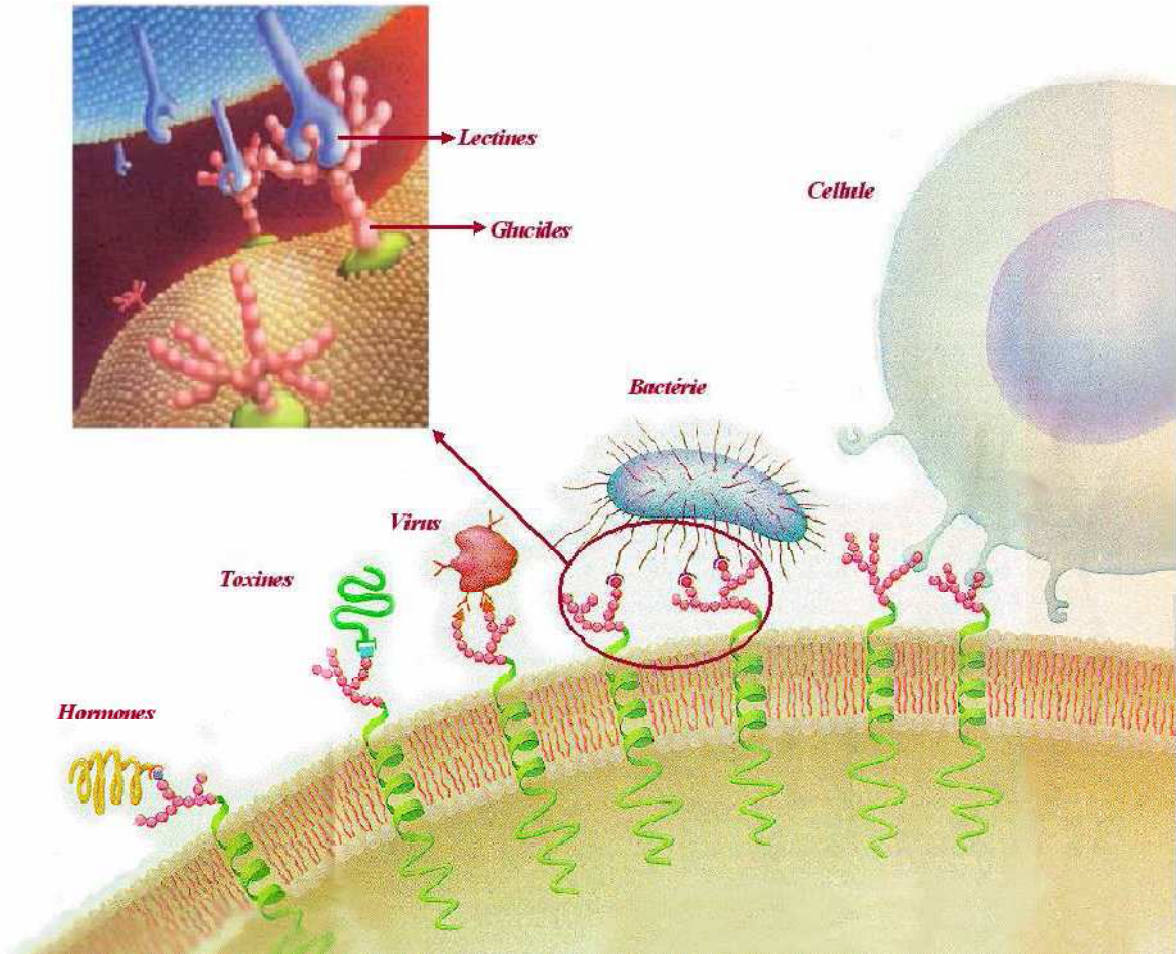
## Chapitre I : lectines

### I-1-Généralités

Les lectines sont des protéines ou des glycoprotéines d'origine virale, bactérienne, végétale ou animale, dépourvues d'activité enzymatique et non synthétisées par un système immunitaire. Elles sont capables de reconnaître spécifiquement des sucres 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 cellules (comme les érythrocytes) et les glycoconjugués. Cette caractéristique très importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes, car elles possèdent au moins deux sites de reconnaissance par molécule, ce qui permet d'expliquer pourquoi elles vont précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et induire l'agglutination de cellules diverses (**Liener *et al.*, 1986**).

Les lectines végétales sont actuellement les seules qui soient couramment utilisées pour caractériser ou fractionner des glycoconjugués d'origines diverses (**Goldstein et Hayes, 1978; Sharon et Lis, 1989**). Très souvent, ces lectines sont classées en fonction du monosaccharide capable d'inhiber la réaction d'agglutination induite par la lectine.

Les méthodes anciennement utilisées pour leur identification consistent à mélanger l'extrait à examiner avec des érythrocytes en solution. L'agglutination ou la précipitation des cellules indique que la solution analysée contient une ou parfois plusieurs molécules agglutinantes. L'abondance de ces molécules et leur relative facilité de purification leur ont permis d'être largement caractérisées et d'être utilisées dans différents domaines de la biologie.



**Figure 01** : Representation schématique d'exemples d'interaction lectines glucides (Varki, 1993).

### I-2-Historique

Depuis la découverte par STILLMARK en 1888, de nombreux travaux ont été consacrés aux lectines (**Renkonen, 1948 ; Boys, 1949 ; Bird, 1951**).

Soixante ans plus tard la spécificité de groupe sanguin humain de quelques lectines fut connue.

Les applications plus élargies aux leucocytes, plaquettes, spermatozoïdes, cellules des tissus, cellules de tumeurs, bactéries, virus, champignons et aux plantes elles même ont apporté un plus grand intérêt à l'étude des lectines (**Nowell, 1960 ; Oikawa, Yanagimachi, et Nicolson, 1973**).

mCertaines lectines se sont révélées être inhibitrices de fertilisation d'ovaires de mammifère (**Oikawa, Yanagimachi, et Nicolson, 1973**).

C'est alors que les lectines deviennent des outils scientifiques pour l'investigation des sites de fixations spécifiques et un modèle pour l'étude des réactions d'agglutinations (**Gold et Balding, 1975**).

Elles permettent les études structurales des polymères de carbohydrates et mmucopolysaccharides et des réactifs spécifiques pour l'isolement de ces substances.

La plus importante de leur utilisation est pour l'investigation de l'architecture des surfaces cellulaires (**Bird, 1954**).

La capacité des lectines à se combiner spécifiquement avec un seul monosaccharide a grandement aidé à élucider la structure des récepteurs cellulaires et à établir la base chimique de l'interaction cellule lectine (**Margan et Watkins, 1953**).

### I-3-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. On peut identifier deux classes de lectines par rapport à leur spécificité : celles qui reconnaissent un monosaccharide spécifique et celles qui reconnaissent exclusivement des oligosaccharides (**Sharon, 2003**).

Les protéines spécifiques pour des monosaccharides sont classifiées en cinq groupes, selon le sucre pour lequel la lectine présente la plus forte affinité : le Mannose (Man), le Galactose(Gal)/N-acétylgalactosamine (GalNAc), le N-acétylglucosamine (GlcNAc), le Fructose (Fruc), l'Acide sialique (acide N-acétylneuraminique, NeuAc) (**Lis et Sharon, 1998**). Cette reconnaissance est souvent désignée comme « la spécificité primaire » des

lectines. Ces monosaccharides et leurs dérivés sont ceux qui sont le plus souvent présents sur les 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).**

Les similarités structurales entre monosaccharides sont déterminantes pour la spécificité des lectines. Par exemple, la plupart des lectines qui reconnaissent le Gal se lient aussi au GalNAc. Ce phénomène est dû à la présence dans ces monosaccharides des trois fonctions hydroxyles qui ont une topologie très similaire. Certaines lectines présentent une spécificité anomérique et peuvent distinguer la configuration en carbone (C 1) de monosaccharides tels que l' $\alpha$ - méthyle-galactoside et le  $\beta$ -méthylegalactoside.

La combinaison de plusieurs techniques expérimentales permet d'élucider la spécificité des lectines **(Park et al., 2008)**. Par exemple, en utilisant les techniques de test ELLA (Enzyme Linked Lectin Assay) et de test « Glycans array » la spécificité d'une lectine peut être déterminée. Ces techniques sont simples, rapides et requièrent de quantités réduites de matériel.

La plupart des lectines sont des protéines multivalentes. Elles sont capables de se lier à plusieurs molécules de glucides. La multivalence peut provenir de la répétition de type « tandem » de domaine lectines dans un polypeptide, de l'association de plusieurs monomères ou de la présentation de plusieurs lectines sur une surface cellulaire. Les interactions multiples entre d'une part les lectines multivalentes et d'autre part les glycoconjugués, sont impliquées dans les processus de reconnaissance **(Lee et Lee, 1995)**.

### **I-4-Propriétés Biologiques des lectines**

Les propriétés biologiques des lectines sont multiples et variées :

#### **a -Liaison avec les sucres**

Elle est spécifique et propre à chaque lectine de sorte que la connaissance du sucre spécifique conditionne la mise en évidence de l'activité de la lectine **(Miyoshi et al., 1982)**.

#### **b -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 à un seul site de reconnaissance ne provoquent pas d'agglutination **(Peumans et al., 1995 ; Wang et al., 1998)**.

## Chapitre I : lectine

---

En outre, on s'est aperçu que les lectines agglutinent plus facilement les cellules malignes par rapport à leurs homologues normales. Des attitudes préférentielles ont été observées également entre cellules embryonnaires et cellules adultes, entre cellules en mitose et cellules en interphase (Wang *et al.*, 1998).

### c -Activité mitogène

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

### d -Effets mimétiques des hormones

Les lectines des graines de 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). De même les lectines des graines de *Momordica charantia* comme diverses autres lectines possèdent des activités antilipolytiques et lipogénique (activités insuline-like) à cause de son interaction avec les récepteurs d'insuline des adipocytes (Wang *et al.*, 1998).

### e -Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses

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

### f -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).

### g -Autres propriétés

Les lectines expriment diverses activités biologiques telles que la précipitation des glycoprotéines, l'activation de la voie alterne du complément et l'agrégation des immunoglobulines (Nachbar *et al.*, 1980), l'induction de la libération de l'histamine à partir



m2des cellules basophiles et des mastocytes (Gomes, 1994), les effets pro et antiinflammatoires (Assreuy, 1997), l'induction de l'apoptose (Kulkarni, 1988).

### I-5-Utilisation des lectines

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

Aujourd'hui les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche, dans le secteur biomédical et dans le domaine agronomique.

#### a. 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 être utilisées 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 immunothérapeutiques (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). Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses tropicales présentent des propriétés anti-inflammatoires (Alencar, 2005).

##### ▪ Cancérologie :

Certaines lectines purifiées à partir d'invertébrés terrestres ou marins sont employées comme marqueurs histochimiques puisque certaines maladies tel le cancer sont associées à une modification des glycanes présents sur les cellules (Guillot *et al.*, 2004 ; Kenoth *et al.*, 2001) rapportent qu'en raison de leur agglutination préférentielle

aux cellules cancéreuses, les lectines sont suggérées comme transporteuses pour diriger drogues et produits pharmaceutiques vers les cellules cancéreuses.

### **b. 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 al.*, 2002**).

Par exemple, la lectine de blé et celle de graine de *Bauhinia purpurea* ont des effets létaux pour deux insectes (*Ostrinia nubilabis* et *Diabrotica undecimpunctata*) se nourrissant sur le maïs, l'action des lectines peut se faire à des concentrations relativement faibles (**Peumans *et al.*, 1995**).

### **I-6-Les lectines chez les végétaux**

Les lectines sont des protéines ubiquitaires. Chez les végétaux, elles sont retrouvées dans la plupart des tissus, et en particulier dans les graines où elles peuvent représenter une grande proportion des protéines totales. La fonction de ces protéines est orientée vers des mécanismes de défense contre les phytopathogènes (**Peumans et Van Damme, 1995 ; Sharon, 2008**). Par exemple, la GNA est reconnue pour ses propriétés insecticides. Son expression dans des plants de tabac ou de riz les rend résistants aux insectes ravageurs (**Zhou *et al.*, 1998**). Des études ont montré que la concentration en lectine peut augmenter en réponse à une infection par des pathogènes (**Babosha, 2008**) et que certaines d'entre elles sont détectables dans le noyau et le cytoplasme uniquement en réponse à un stress (**Van Damme *et al.*, 2004**).

Plus récemment, il a été montré un rôle régulateur de l'expression génique de certaines lectines, comme par exemple la lectine du tabac Nictaba. L'expression de cette lectine est détectable uniquement en condition de stress et peut interagir dans ce cas avec des glycoprotéines nucléaires, et notamment les histones H2B (**Schoupe *et al.*, 2011**).

En raison de la demande croissante d'outils de diagnostic et de nouveaux médicaments anticancéreux et du fait que la qualité des glycanes exprimés à la surface des cellules tumorales est modifiée, les lectines végétales peuvent avoir un rôle important en cancérologie (**De Mejia *et al.*, 2005**). De plus, des études épidémiologiques ont montré qu'un régime alimentaire à base de plantes est fortement associé à la diminution des risques de développer un cancer (**Block *et al.*, 1992**).

Ceci peut être dû au fait que les plantes contiennent des composés actifs qui peuvent altérer les voies de signalisation associées à l'initiation, la promotion ou la progression

## Chapitre I : lectine

---

tumorales. Une des classes de composés végétaux largement étudiés dans ce domaine est celle des lectines (**Liu *et al.*, 2010**).

***Chapitres II :***  
***Plantes médicinales***

## Chapitre II : Les plantes médicinales

### Chapitre II : Les plantes médicinales

#### II- 1- Définition

Les plantes médicinales sont des plantes végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses ; elles peuvent avoir également des propriétés alimentaires ou hygiéniques. Toutes, ou des parties des plantes sont utilisées (**Jose et Rajalakshmi, 2005**).

Les plantes médicinales ont été d'une grande importance pour répondre aux besoins de soins de santé primaires. Beaucoup de gens, à travers le monde, les utilisent comme médicaments. Selon l'Organisation mondiale de la Santé, jusqu'à 80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle (**Bahorun, 1997**).

Les plantes médicinales produisent une variété de composés ayant prouvé des propriétés thérapeutiques (**Duraipandiyar et al ; Harbi, 2012**). Ainsi, les plantes sont plus sûres que les produits synthétiques, ces derniers peuvent être nocifs et dangereux pour l'environnement humain. (**Far et al., 2013**).

Elles sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine ou animale, de différentes manières (décoction, macération, infusion...), et une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées (racine, rhizome, feuilles, fleurs, graines...) (**Bellakhdar, 1978**).

L'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques.

**Tableau n°1** représent des plantes médicinales (**Deysson-G, 1979**)

Nom latin	Famille	Nom français	Nom arabe
Juniperus phoenicea	Cupessaceae	Genévrier	العراعر
Thapsia garganica L	Apiaceae	Thapsia	بونافع
Narcissus tazetta	Amaryllidacées	Narcisse à bouquet	البليري
Alpinia purpurata	Zingibéracées	Alpinia	الخنجلان
Artemisia herbe blanche	Asteraceae	Armoise blanche	الشيح
Myristica fragrans	Myristicaceae	Noix de muscade	جوزة الطيب
Ricinus communis	Euphorbiaceae	Ricin	الخروع
Mustum ardens	Brassicaceae	Moutarde	زريعة الخردل

## Chapitre II : Les plantes médicinales

Foeniculum vulgare	Apiaceae	Fenouil	زريعة البسباس
Eruca sativa	Asteraceae	Chicorée	الهندباء
Curcuma longa	Zingiberaceae	Curcuma	الكرم
Lilium verum	Liliaceae	Anis étoilé	نجمة الارض
Thuja orientalis	Cupressaceae	Thuya/ thuja	العفص
Eruca sativa	Brassicaceae	Roquette	زريعة الجرجير
Zingiber officinale	Zingiberaceae	Gingembre	الزنجبيل
Myrtus communis	Myrtaceae	Myrte	الريحان
Citrus linifolius	Légumineuse	Cytise	شحمة العنروس
Ruta chelepensis	Rutaceae	Rue	الفجل
Capparis spinosa L.	Capparidaceae	Câprier	الكبار
Senna alexandrina	Fabaceae	Séné	سن المكي
Humulus lupulus	Cannabaceae	Houblon grim pant	حشيشة الدينار
Peganum harmala	Zygophyllaceae	Harmel	الحرمل
Scilla maritima L.	Liliaceae	Scille/Bçal al far	العنصل
Saussurea costus ou lappa	Asteraceae	Le costus marin	القسط البحري
Saussurea costus	Asteraceae	Le costus indien	القسط الهندي

### II-2- Scille maritime ou *Drimia maritima* (L)

#### II-2-1-Généralités

La *Scille maritime* (*Scilla maritima* ou *Urginea maritima* L.; en arabe : العنصل) : est une Liliacée qu'on ne trouve que sur les bords de la méditerranée; ses énormes bulbes peuvent avoir jusqu'à 20 cm de diamètre. C'est en automne qu'apparaissent les feuilles, qui sont larges, lancéolées, entières et dressées. C'est en septembre-octobre que se montrent les fleurs sous la forme d'un épi serré de fleurs blanches d'un mètre de haut et davantage.

## Chapitre II : Les plantes médicinales

---

Elles sont très serrées et disposées en spirales. La corolle est blanche, mais veinée de vert à l'extérieur (Merad, 1991).

C'est l'espèce de Scilla, la plus commune parmi les 3 existantes en Europe même si elle reste menacée par l'urbanisation du littoral ainsi que par la cueillette à des fins médicinales/pharmaceutiques. Sur le littoral français, sa présence est en effet assez résiduelle et sa survie rendue précaire alors qu'en Corse, elle paraît bien installée (Coste, 1900-1906).

Habitat : En France, elle croît en abondance sur les rivages sablonneux de la Méditerranée, de l'Océan et de la Manche, en Bretagne et jusqu'en Normandie. On la trouve surtout en Algérie: Souk-Ahras, Guelma, Nord de Constantine, etc. en Espagne, en Sicile, dans le Levant, etc (Denis, 2009).



Photo n°1 : photo de *scille maritime*

### II-2-2- Position systématique

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Monocotylédones
<b>Ordre</b>	Liliflores
<b>Famille</b>	Liliaceae

## Chapitre II : Les plantes médicinales

---

**Genre** Scilla (Urginea ou Drimia )

**Espèce** *Scilla maritima*. (Deysson, 1979).

### II-2-3-Description botanique

La scille est une plante méditerranéenne, vivace par un bulbe énorme dont le diamètre atteint 20 à 30 cm et le poids, 5 à 7 kg ; il est en forme d'écailles emboîtées que l'on appelle également tuniques ou squames, de couleur blanchâtre ou rougeâtre suivant les variétés. Les écailles externes sont unies et membraneuses, les écailles moyennes sont épaisses et charnues (Hammiche *et al.*, 2013).

Il existe deux variétés de scille: la rouge et la blanche, correspondant à deux "races chimiques". La scille rouge possède, en plus de la scille blanche, des pigments anthocyaniques et un hétéroside particulier: le scilliroside (Paris et Moysse, 1981).

L'inflorescence est une longue grappe dressée vert pâle ou pourpre, à pédicelles alternes, minces, accompagnés d'une bractée linéaire à base éperonnée; la hampe florale peut atteindre 1 à 2 mètres; elle n'apparaît qu'en fin d'été alors que les feuilles sont desséchées.

Les fleurs sont disposées serrées tout le long de la grappe. La fleur a un réceptacle court, sur lequel sont insérés 6 sépales étalés en étoile, subégaux, légèrement unis à la base, ovales-aigus, blanc ou teintés de vert; les trois sépales inférieurs sont imbriqués.

Elles sont formées de 6 tépales blancs, nervure unique verte ou brun-rose, à peine soudés à la base et disposés en étoile d'environ 1 cm; 6 étamines à filet blanc entourent l'ovaire de couleur verte (Hammiche *et al.*, 2013).

Le fruit est une capsule brun-orange à maturité dont les 3 loges renferment, chacune, 3 à 4 graines membraneuses, d'un demi-centimètre environ, larges, subaiguës aux deux bouts.

Les Graines de couleur noirâtre et dilatées en aile de chaque côté, sont aplaties, ce caractère permet de distinguer le genre *Urginea* *Drimia* du genre *Scilla* dont les graines sont globuleuses (Quezel et Santa, 1962).

Les feuilles sortent en touffe au printemps, elles sont entières, allongées, étroitement oblongues, lancéolées, d'un vert foncé, glabres, épaisses, quelque fois ondulées et mesurant de 50 à 80 cm de long (Paris et Moysse, 1967).

Le bulbe mérite une description plus détaillée puisqu'il est le seul responsable de l'activité de la plante, Il est pyriforme, et peut atteindre 15 à 30 cm de diamètre et son poids peut aller jusqu'à 3 à 4 kg, L'odeur est nulle, la saveur âcre et amère (Hammiche *et al.*, 2013).



## Chapitre II : Les plantes médicinales

---

### II-2-4- Utilisation médicinale

La scille est une drogue très ancienne, connue des Egyptiens, des Grecs et des Arabes. Discorde, Pline et Galien connaissaient ses effets cardiotoniques et diurétiques par action cardiovasculaire comme la digitale mais aussi par action rénale directe: elle augmente le débit sanguin au niveau du rein (**Gemmill, 1974**).

Les bufadienolides pourraient jouer un rôle dans l'immunomodulation, en relation avec les systèmes cardiovasculaire et nerveux (**Ternes *et al.*, 2001**).

En médecine traditionnelle maghrébine, la scille reste assez utilisée (**Boulos, 1983 ; Bellakhdar, 1997**), la décoction du bulbe dans l'huile d'olive est utilisée pour ses propriétés antiasthmatiques et expectorantes dans les affections respiratoires, car elle augmente toutes les sécrétions, notamment les sécrétions bronchiques.

En fumigations vaginales, le bulbe, broyé dans l'huile d'olive et mélangé à d'autres ingrédients, est prescrit pour traiter la stérilité et comme abortif. Toujours en fumigations, il est utilisé comme antiseptique intra-utérin pour soigner les affections gynécologiques et en post-partum; le même mode d'administration est recommandé dans le traitement des crises hémorroïdaires. Les squames, appliquées en pansement sur les plaies infectées, favorisent la guérison.

Elle est, parfois, employée comme aphrodisiaque. (**Le Floc, 1983**). Le liquide, extrait du bulbe broyé, est utilisé pour traiter les tumeurs cutanées et les verrues (**Mitiche, 1987**).

La Scille maritime contient une toxine appelée Scillarénine, et quelques autres voisines; l'action de cette toxine s'apparente de celle de la digitaline et on en extrait de plus un remède puissamment diurétique, de maniement dangereux (**Paris et Moyses, 1967**).

Les effets de la scille rappellent ceux de la digitale, toutefois ils sont moins intenses et procèdent d'un mécanisme assez différent, entraînant des troubles du rythme et de la conduction, pouvant conduire à un arrêt circulatoire; ceux-ci sont habituellement précédés par des troubles digestifs et neurosensoriels.

Le contact des scilles fraîches provoque une inflammation et une rubéfaction importantes de la peau et des muqueuses.

### II-3-- *Myrtus communis* L

#### II-3-1-Généralités

La Famille des myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 3800 espèces réparties en 133 genres.

## Chapitre II : Les plantes médicinales

Ce sont des arbustes à feuilles entières et opposées; fleurs axillaires hermaphrodites; Calice cupuliforme. Etamines très nombreuses, insérées avec les pétales au sommet du tube calycinal. Gynécée infère ou semi-infère à 5 carpelles uniloculaires, à ovules nombreux, à placentation axile. Fruit bacciforme bleuâtre, globuleux, de 5-8mm de diamètre (**Quezel et Santa, 1963**). *M. communis* est rencontré dans les bois, les garigues, les maquis notamment dans le Roussillon, Languedoc, Provence et en Corse. Il est également, spontané en Europe méditerranéenne, en Afrique septentrionale et en Asie occidentale.



**Photo 2 :** photo de *Myrtus communis* L.

### II-3-2 -Position systématique

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Sous-règne :</b>	Eucaryotes
<b>Embranchement :</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Dicotylédones
<b>Ordre :</b>	Myrtales
<b>Famille :</b>	Myrtaceae
<b>Genre :</b>	Myrtus
<b>Espèce :</b>	<i>Myrtus Communis</i> L. ( <b>Quezel et Santa, 1963</b> ).
<b>Nom vernaculaire :</b>	Rayhan , Mersin.

## Chapitre II : Les plantes médicinales

---

### II-3-3. Description botanique

*Myrtus communis* L., familles des myrtacées pousse spontanément et en abondance dans les régions méditerranéennes, commune dans le Tell et sur le littoral du centre (**Baba Aissa, 1999 ; Mimica-Dukic et al., 2010**).

C'est un arbuste de un à deux mètres de hauteur ; en buissons denses d'un vert brillant.

Il se remarque par ses fleurs blanches très ouvertes et ses nombreuses étamines en touffes ébouriffées. Son odeur aromatique forte et particulière est l'un de ses traits de caractère.

La plante renferme de nombreuses poches sécrétrices surtout au niveau des feuilles.

Les feuilles sont ovoïdes lancéolées, 2 à 3 fois plus longue que larges, à nervation pennée persistantes, opposées, à très court pétiole, coriaces et d'un vert brillant.

Les fleurs apparaissent au début de l'été ; elles sont grandes 10-15 mm ; solitaires sur un long pédoncule à l'aisselle des feuilles et très odorantes et pourvues à la base de bractées très petites, rapidement caduques.

Les fruits sortent à l'automne, ce sont des baies ovoïdes 6-8 mm noires bleuâtres à peau charnue, conservant à leur partie supérieure les restes du calice. Ces fruits sont comestibles mais âpres et astringents.

Les rameaux sont de taille fine de couleur verte qui se transforme rapidement en brun orangé, pubescents dans leur jeunesse (**Quezel et Santa, 1963**).

### II-3-4-Utilisation médicinale

En Tunisie, d'après (**Boukef, 1986**) le myrte est utilisé dans le Nord du pays où les fruits sont recommandés (à l'état frais ou sous forme de décoction) pour soulager l'ulcère et les douleurs gastriques. La même décoction est préconisée en gargarisme pour traiter les gingivites. La décoction de fleurs est proposée pour arrêter les diarrhées aiguës et comme traitement de la toux et des rhinites. L'huile fixe issue des fruits est utilisée pour atténuer les douleurs rhumatismales en application locale.

En Algérie, (**Beloued, 2003**), le myrte est utilisé comme remède contre les affections des voies respiratoires et des voies urinaires. Les préparations à base de cette plante sont préconisées contre les bronchites, les sinusites, les otites, les diarrhées et les hémorroïdes. Les fruits constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies.

Au Maroc, (**Bellakhdar, 1997**), l'infusion et la décoction sont utilisées comme remèdes des affections respiratoires et des diarrhées. L'infusion est également préconisée en bains d'yeux dans les conjonctivites. Le décocte sert à imbiber les compresses à appliquer sur les plaies, les abcès, les furoncles et les hémorroïdes saignants. Le décocte concentré est donné

## Chapitre II : Les plantes médicinales

---

aux femmes dans les hémorragies de la délivrance. Le fruit est mâché contre les gingivites et les aphtes.

### II- 4 - *Saussurea costus*

#### II-4-1- Généralités

Le costus marin (*Saussurea costus*, ou *S.lappa*) est une plante herbacée et vivace se présentant sous forme d'une tige dressée de 1 à 2 m de haut de la famille des Astéracées. Les feuilles, sont grandes à la base de la tige (plusieurs dizaines de cm), les plus petites en haut. Les fleurs sont de couleur violette à noire, et en forme de boule. Les fruits sont des akènes recourbés (8 mm de long). Les racines sont de couleur marron foncé ou grises et mesurent jusqu'à 40 cm de long.

Originaire d'Asie (Himalaya, Cachemire, Inde, Pakistan), présente entre 2000 et 5000 m d'altitude et souvent cultivée pour ses propriétés médicinales, en médecine traditionnelle chinoise et en médecine ayurvédique. Les racines sont recueillies en Septembre et Octobre et vendu sur le marché sur la forme de petites pièces (**Duraipandiyar *et al*; Harbi, 2012**).

Dans l'islam : Selon Anas (un compagnon du prophète Mohamed (QSSL) : le Prophète (QSSL) considère le costus comme remède à être utilisé en tant que traitement médical, vu ses nombreux bénéfices.

Que le prophète (ص) avait dit : « *Ne torturez pas vos enfants avec El-Ghamz et ayez recours au costus* ». En outre, Zeid Ibn Arkam a raconté que Le Prophète (صَلَّى اللهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ) avait dit : « *Soignez-vous de la pleurésie avec le costus maritime et l'huile* ».

## Chapitre II : Les plantes médicinales



Photo 3 : photo de *Saussurea costus*.

### II- 4 -2 Position systématique

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asteridae
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Saussurea</i>
Espèce :	<i>Saussurea costus</i> (Zourou, 2015).

### II-4-3- Description botanique

*Saussurea costus* est une plante vivace se présentant sous forme d'une tige dressée de 1 à 2 m de haut.

## Chapitre II : Les plantes médicinales

---

Feuilles: elles sont grandes à la base de la tige et mesurent plusieurs centimètres de long, et sont plus petites en haut; elles sont irrégulièrement dentées.

Fleurs: elles sont de couleur violette à noire et forment des capitules.

Fruits : sont des akènes recourbés de 8 mm de long et surmontés d'un pappus.

Racines: sont de couleur marron foncé ou grises et mesurent 40 cm de long (**Jose et Rajalakshmi, 2005**).

### II-4-4-Utilisations médicinales

La plante *Saussurea costus* est utilisée, principalement dans et les Indes et l'Himalaya, d'où il est originaire, pour traiter affection de toutes sortes, à usage interne et externe :

- Pommade pour tous types de massages : le costus est mélangé avec l'huile d'olive et laissé en macération pendant 15 jours en mélangeant la bouteille quotidiennement : indiqué pour les taches de rousseur, douleurs de dos, maladies de la peau
- Compresse: mélangé avec de l'eau et du miel et laissé fermenter, indiqué pour tous types de brûlures et blessures.
- Bain avec de l'eau mélangée à du costus pour lutter contre les champignons et bactéries de la peau.
- Le costus est inspiré moulu dans le traitement des maladies de l'appareil respiratoire, asthme, tuberculose, pleurésie, inflammation de la gorge, fièvre.
- Bu avec de l'eau pour le traitement des fusions du caillot, règles douloureuses, problèmes de fécondation, douleurs après l'accouchement, maladies urinaires, maladies des reins, le foie,..
- Maladies occultes : Mélanger le costus à de l'huile d'olive coranisée, et le mettre dans le nez à l'aide d'un spray nasal (**Zourou, 2015**).

***Chapitre III :***  
***Groupes sanguins***

### Chapitre III : Les groupes sanguins

#### III-1- Définition

Les groupes sanguins érythrocytaires, représentent une classification d'Ag présents à la surface des hématies. Ils sont génétiquement induits et génétiquement indépendants. Ces Ag peuvent être de nature glucidique ou protéique, et leurs rôles physiologiques ne sont pas tous connus. On rassemble habituellement les groupes sanguins en deux familles selon leurs caractéristiques: Système ABO et Système Rhésus (**Lo et al, 1998 ; Chiaroni et al., 2005**).

#### III-2-Le système ABO

Le système ABO est le système majeur de l'immunologie transfusionnelle. Il est le plus important de tous les systèmes de groupes sanguins sur le plan clinique.

Le système ABO est le mieux connu des groupes sanguins (**Reviron et Reviron, 1984 ; Cartron, 1993 ; Yamamoto et al., 1995 ; Alisson, 1999**).

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

Historiquement, le système ABO a été découvert en 1900 par Landsteiner qui avait observé que le sérum de certains sujets agglutinait les hématies d'autres sujets.

Ainsi il a identifié les deux antigènes principaux (les antigènes A et B) avec leurs sérums respectifs (anti-A et anti-B). Les hématies non agglutinées sont appelées O (zéro).

Il conclut qu'il existe à la surface des hématies des déterminants antigéniques reconnus par des anticorps dirigés contre les antigènes absents.

En 1902, le phénotype AB a été décrit par les élèves de Landsteiner. C'est le seul système dont la définition repose sur l'existence concomitante d'antigènes membranaires et d'anticorps plasmatiques. Les antigènes membranaires dont les principaux sont les antigènes A et B sont portés par des oligosaccharides. Les deux antigènes principaux (A et B) définissent quatre groupes sanguins :

Le groupe A, si l'antigène A est seul présent sur les hématies.

Le groupe B, si l'antigène B est seul présent sur les hématies.

Le groupe AB, si les antigènes A et B sont tous présents.



## Chapitre III : Les groupes sanguins

Le groupe O, si aucun antigène n'est présent (ni l'antigène A, ni l'antigène B). (karl.L , 1901).

### III-3-Structure chimique

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

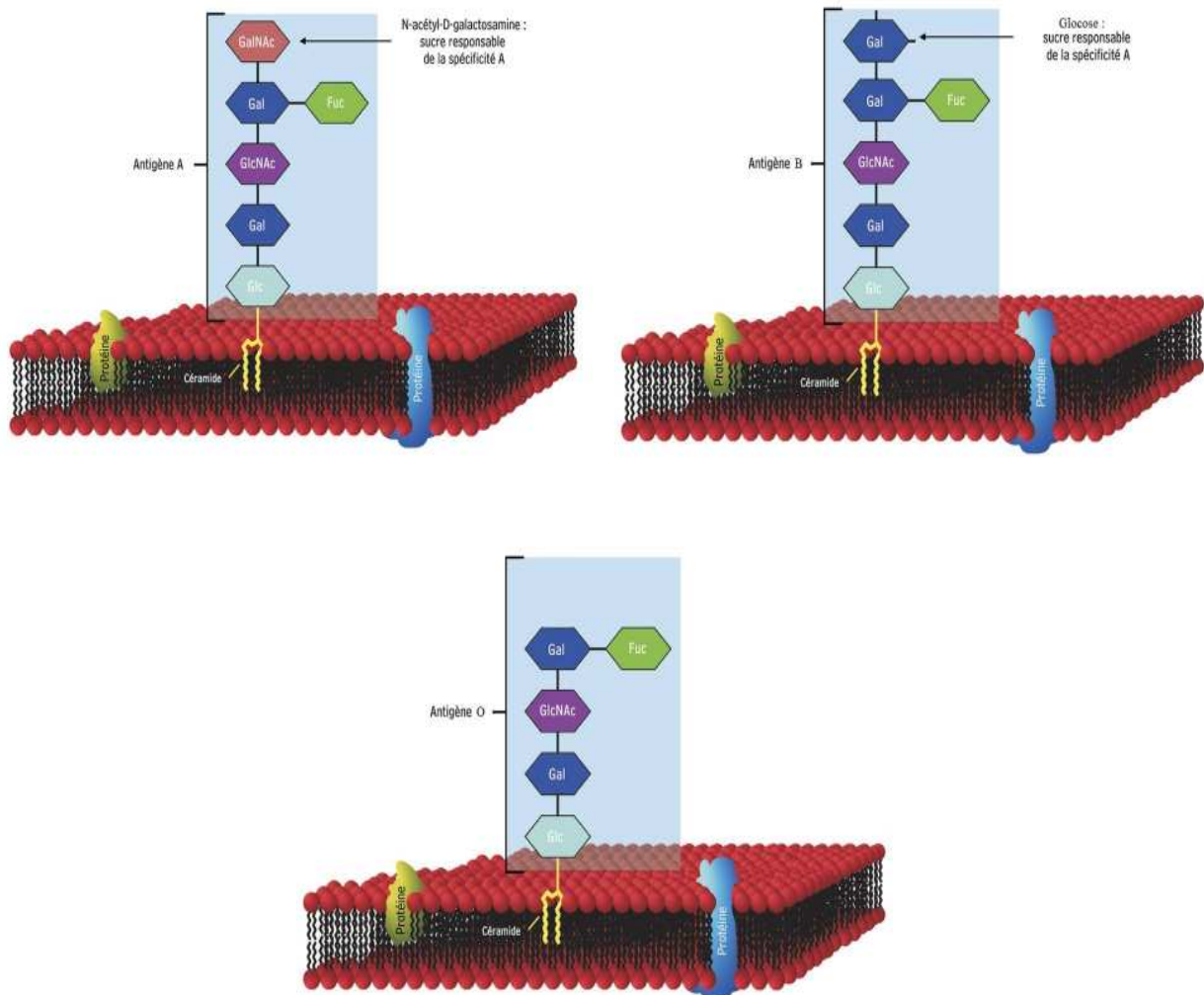


Figure 2 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Parham, 2000).

## Chapitre III : Les groupes sanguins

### III-4-Le système Rhesus

Ce système se classe parmi les systèmes immunogènes. C'est l'un des plus importants systèmes de groupes sanguins après le système ABO.

Les antigènes de système Rh sont aussi importants que ceux de système ABO. Le facteur Rh (rhésus). Ainsi nommé parce qu'il a d'abord été étudié dans le sang du singe Rhésus. Est un système composé principalement des antigènes C, D et E (**Ganong, 2005**).

Les personnes dans le sang desquelles cet antigène est sont dites Rh+, tandis que les autres sont Rh- (**Boucher, 2008**).

Certains accidents transfusionnels comme la maladie hémolytique du nouveau-né, par incompatibilité fœto-maternelle, les anémies hémolytiques par autoanticorps peuvent être dus aux conflits immunologiques provoqués par les antigènes rhésus. Le système rhésus est le système le plus immunogène et le plus polymorphe de tous les systèmes de groupes sanguins érythrocytaires connus chez l'homme (**Avent et Reid, 2000**). C'est surtout l'extrême polymorphisme qui caractérise ce système. La découverte du système rhésus est historiquement associée à la première description de la maladie hémolytique du nouveau-né.

### III-5-Les groupes sanguins et les lectines

Plusieurs lectines agglutinent les hématies, des fois avec une spécificité de groupe sanguin (**Bird, 1974**).

La spécificité des lectines aux groupes sanguins est présentée dans le tableau 1 (**Doumbia, 2004**).

**Tableau n°2** : Les lectines spécifiques aux groupes sanguins les plus connus (**Doumbia, 2004**)

Groupe spécifique	Source de la lectine	Noms
Anti-A	Plante	<i>Phaseolus limensis</i>
Anti-B	Algue	<i>Ptita plumosa</i>
Anti-A+B	Plante	<i>Crotalaria striata</i>

# *Matériels et Méthodes*

### **Partie II : Matériels et méthodes**

#### **Chapitre I : L'étude phytochimique**

##### **I.1 prospection et Cueillette des plantes**

Une prospection globale a été faite sur plusieurs régions de l'est algérien, afin de choisir la plante suspecte d'avoir contenir des lectines sujet de notre étude.

Lors d'une sortie scientifique avec les étudiants géologues de l'université de Bab Ezzouar, on a profité de l'occasion et on a prospecté plusieurs régions commençant par le mont de Tébesa, Guelma et nous avons fini par un balayage d'une grande partie de la région d'ettaref spécialement le parc tonga ainsi que Messida et Oum Teboul, toutes ces régions ont un climat humide sauf la région de Tébesa a un climat semi-aride.

Les plantes sélectionnées ont été cueillies suivant leur classe botanique ou bien suivant leur disponibilité soit aussi suivant leurs vertus thérapeutiques.

Parmi toutes ces plantes on a sélectionné quatre plantes susceptibles de contenir des lectines et cela suite à une minutieuse analyse par le biais des tests d'agglutinations effectués sur l'ensemble des extraits des plantes choisies :

*-la membrane de Scilla maritima*

*- Les racines de la Saussurea costus*

*-Les grains du Myrtus communis*

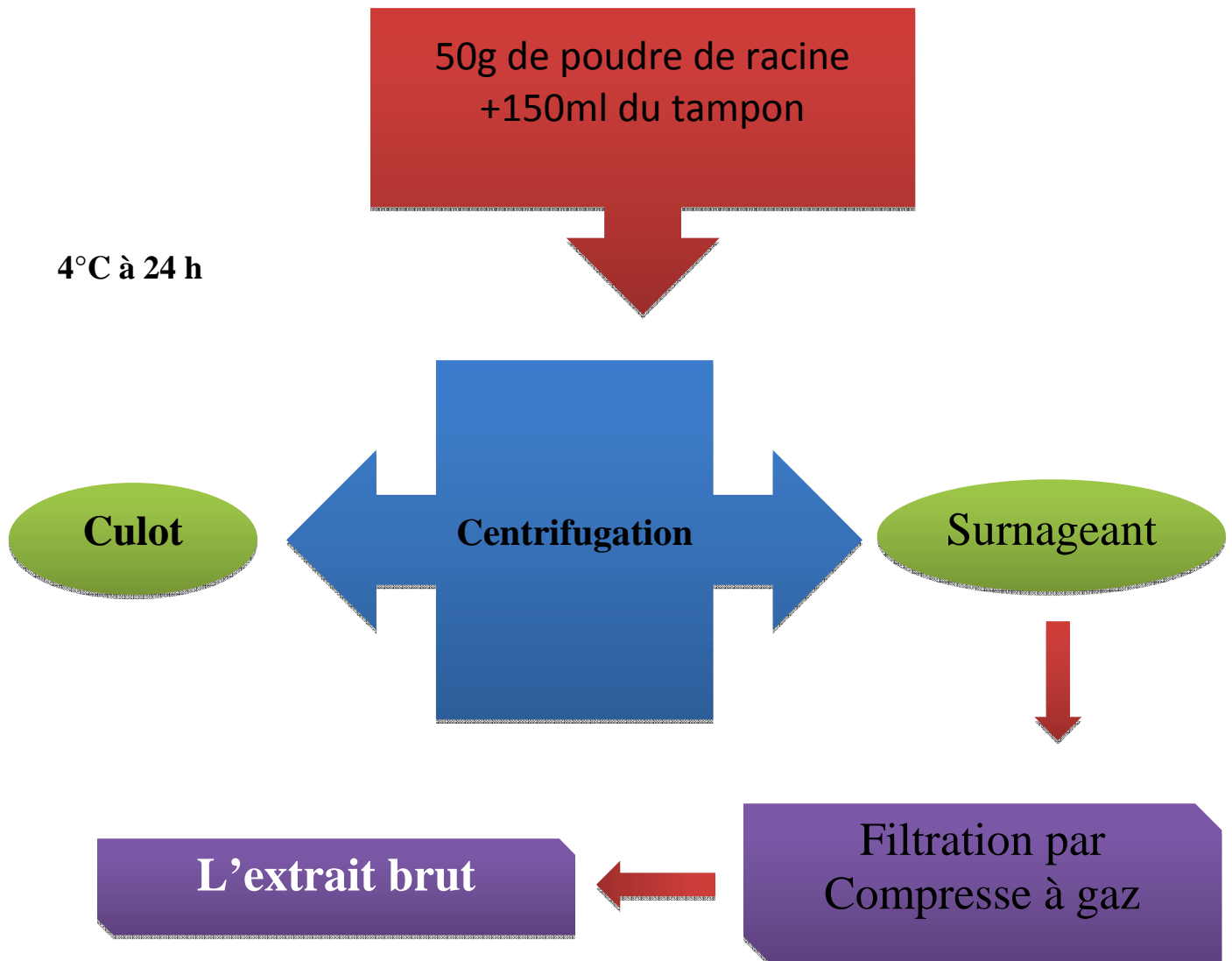
##### **I.1.1 Extraction**

###### **I.1.1.1.Préparation des plantes**

###### **- Broyage**

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

I.1.1.2 Extraction par la solution tampon



**Figure 3:** Schéma d'extraction des lectines à partir des poudres des différentes plantes.

## Matériels et Méthodes

---

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

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

### **I.2 Test d'hémagglutination**

Ce test a été porté sur les hématies du lapin : Les hématies utilisées sont issues de sang du lapin provenant d'élevage de ferme, Ce test est basé sur l'observation de l'agglutination, et donc de la précipitation des érythrocytes en présence de lectine. Il a été réalisé afin d'effectuer la présence des lectines. (**Annexes**).

#### **I.2.1 Préparation des hématies à 3%**

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

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

##### **I.2.1.1 Lavage des hématies**

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

##### **I.2.1.2 Dilution des hématies**

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

### **I.2.2 Technique d'hémagglutination**

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

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

### **I.3 Chromatographie sur colonne**

Cette étape a été réalisée pour éliminer les impuretés, et améliorer la pureté de notre extrait. Le gel de silice a été percolé jusqu'à la moitié de la colonne, et lavé avec de tampon pH 7,2. Ensuite l'extrait brut a été versé lentement et en petites fractions dans la colonne. Enfin l'extrait a été recueilli par l'élution avec le tampon (pH= 7,2) dans des tubes secs (5 ml par tube).

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

### **I.4 Spectrophotométrie à UV**

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

## Chapitre II : L'étude biologique

### II.1 Limites d'hémagglutination

Ce test permet de déterminer le pouvoir agglutinante, et en déduire le titre en lectine. Dans une première étape, 50 $\mu$ l de tampon ont été déposés dans chaque puits, ensuite, un volume de 50 $\mu$ l d'extrait a été ajouté au premier puits, puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants. Un volume de 50 $\mu$ l des hématies a été ajouté aux 50 $\mu$ l d'extrait dans chaque puits.

La lecture d'activité hémagglutinante a été réalisée après 1 heure à température ambiante. L'activité hémagglutinante est exprimée en titre qui est la réciproque du plus grand rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination.

### II.2 Test d'agglutination avec les hématies humaines ABO

L'étude a été effectuée sur les hématies humaines :

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

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

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

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

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

Dans un puits d'une microplaque, 50 $\mu$ l de solution de sucre (glucose, Galactose, Maltose, fructose, lactose) (100mg du sucre dissout dans 1ml d'eau distillée) sont ajoutées à 50 $\mu$ l d'extrait, le mélange est incubé pendant 1h à température ambiante, cela permet à la lectine de reconnaître le sucre, ensuite 50 $\mu$ l des hématies du lapin ont été ajoutées. Après 1h la lecture est faite à l'aide d'un microscope optique (Grossissement  $\times 1000$ ).

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



### **II.4 Effet de la température sur l'hémagglutination**

Sept tubes à essai, contenant chacun une aliquote de l'extrait brut ont été incubé à des températures différentes (50, 60, 70, 80, 90, 95°C) dans un bain marie pendant une heure de temps. Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à la température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été fait.

# *Résultats*

# Résultats

## Partie III : Résultats

### Chapitre I : étude phytochimique

#### I.1 Le test d'hémagglutination

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

**Tableau 3** : l'agglutination des hématies du lapin par les extraits des 25 plantes médicinales

Les plantes	Test d'agglutination
<i>Juniperus phoenicea</i>	+
<i>Thapsia garganica</i> L	-
<i>Narcissus tazetta</i>	++
<i>Alpinia purpurata</i>	+
<i>Artemisia herba alba</i>	+
<i>Myristica fragrans</i>	+
<i>Ricinus communis</i>	+++
<i>Mustum ardens</i>	+
<i>Foeniculum vulgare</i>	+
<i>Eruca sativa</i>	-
<i>Curcuma longa</i>	+
<i>Illicium verum</i>	++
<i>Thuja orientalis</i>	-
<i>Eruca sativa</i>	-

## Résultats

Zingiber officinale	-
Les grains Myrthus communis	+++
Citrus linifolius	++
Ruta chelepensis	-
Capparis spinosa L.	-
Senna alexandrina	-
Humulus lupulus	++
Peganum harmala	+
Scilla maritima L	+++
costus marin	+++
Costus indien	++

+ : faible agglutination

++ : forte agglutination

+++ : très forte agglutination

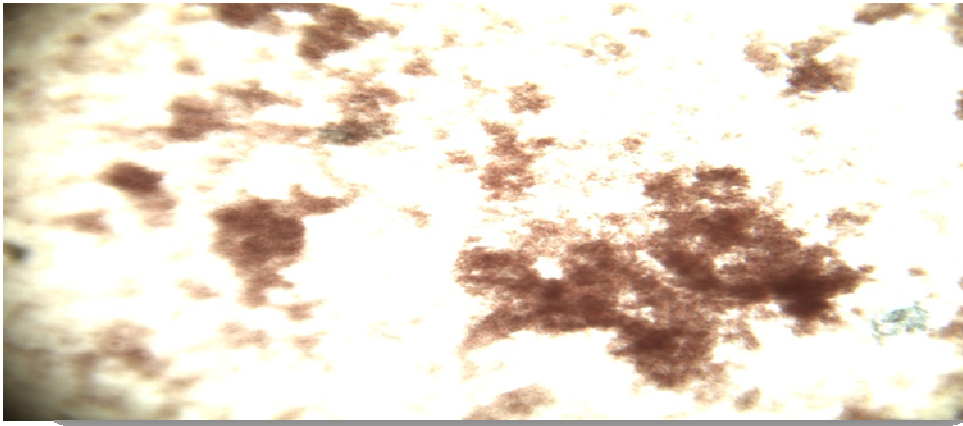
- : absence d'agglutination

Parmi les extraits de ces 25 plantes utilisées, nous en avons choisi 3, qui sont fortement agglutinées par les hématies (*Scilla maritima*, *Saussurea costus* et *Myrtus communis*). L'autre extrait n'a donné aucune agglutination décelable, ni à l'œil nu ni au microscope optique (**Tableau:2**)

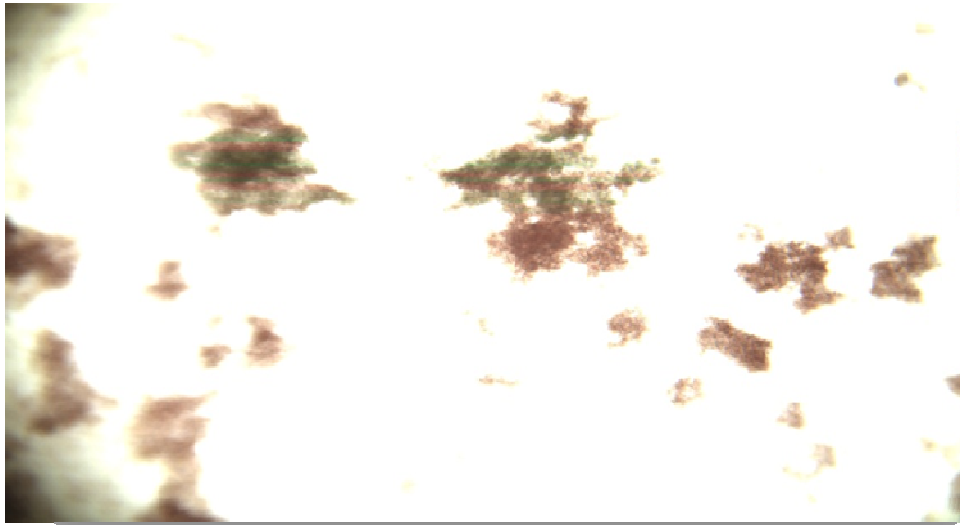
**Les Photos 05 , 06 et 07** montrent l'observation microscopique de l'agglutination de trois extraits qui nous ont donné un test positif.

## Résultats

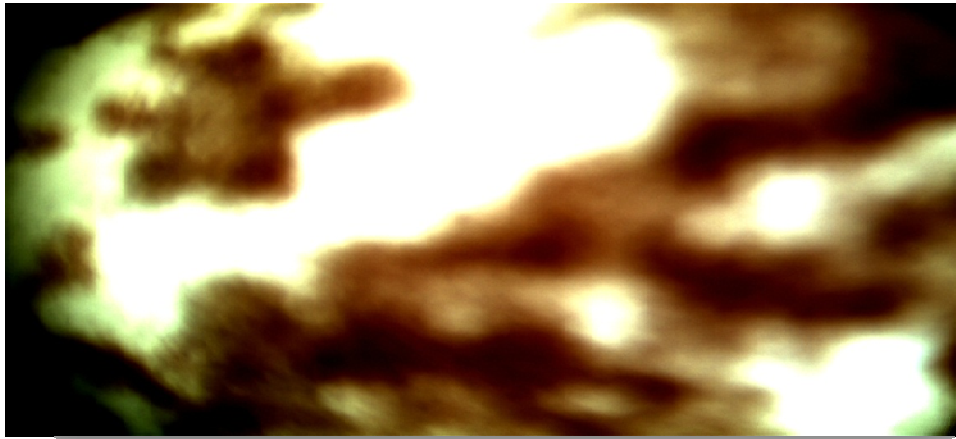
---



**Photo n° 5** Observation microscopique de l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait de *Scilla maritima* (plus forte agglutination)



**Photo n° 6** Observation microscopique de l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait *Saussurea costus* (plus forte agglutination)



**Photo n° 7** Observation microscopique de l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait de *Myrtus communis* (forte agglutination).

### I.2 Chromatographie sur colonne

#### 1-*Scilla maritima*

La figure n° 3 nous a montré la courbe d'Absorbance de l'extrait de *Scilla maritima* après leur passage à travers la colonne de la chromatographie.

La valeur maximale d'Absorbance à 280 nm se trouve dans le tube n° 4. (Figure:3).

#### 2- *Saussurea costus*

La figure : n°4 nous a montré la courbe d'Absorbance de l'extrait de *Saussurea costus* après leur passage à travers la colonne de la chromatographie.

La valeur maximale d'Absorbance à 280 nm se trouve dans le tube n° 3. (Figure:4).

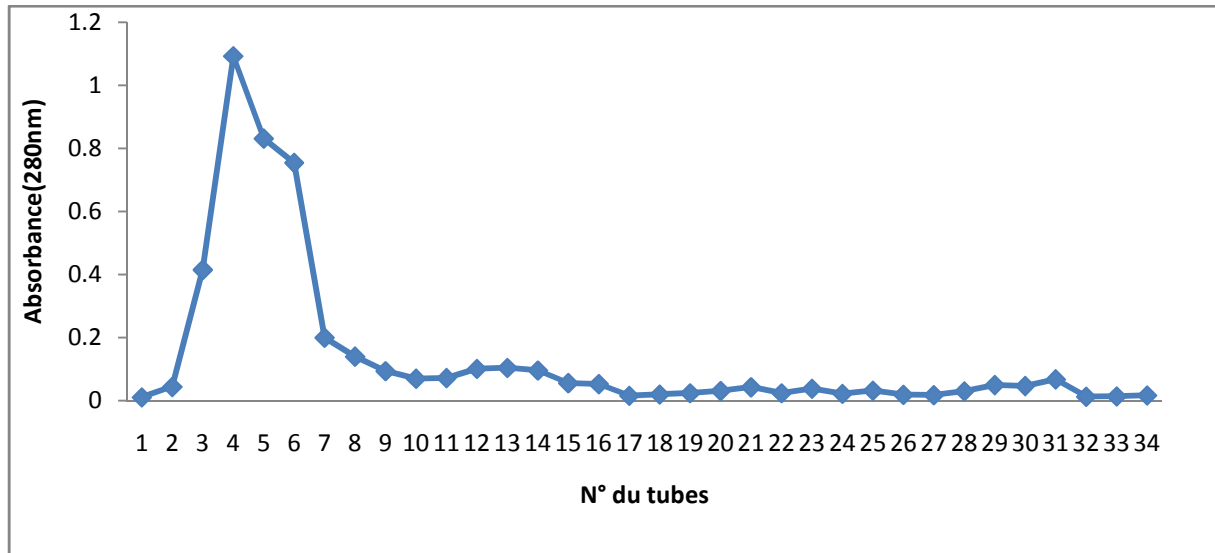
#### 3- *Myrtus communis*

La figure : n° 5 nous a montré la courbe d'Absorbance de l'extrait de *Myrtus communis* après leur passage à travers la colonne de la chromatographie.

La valeur maximale d'Absorbance à 280 nm se trouve dans les tubes de 5 à 9. (Figure:5)

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

## Résultats

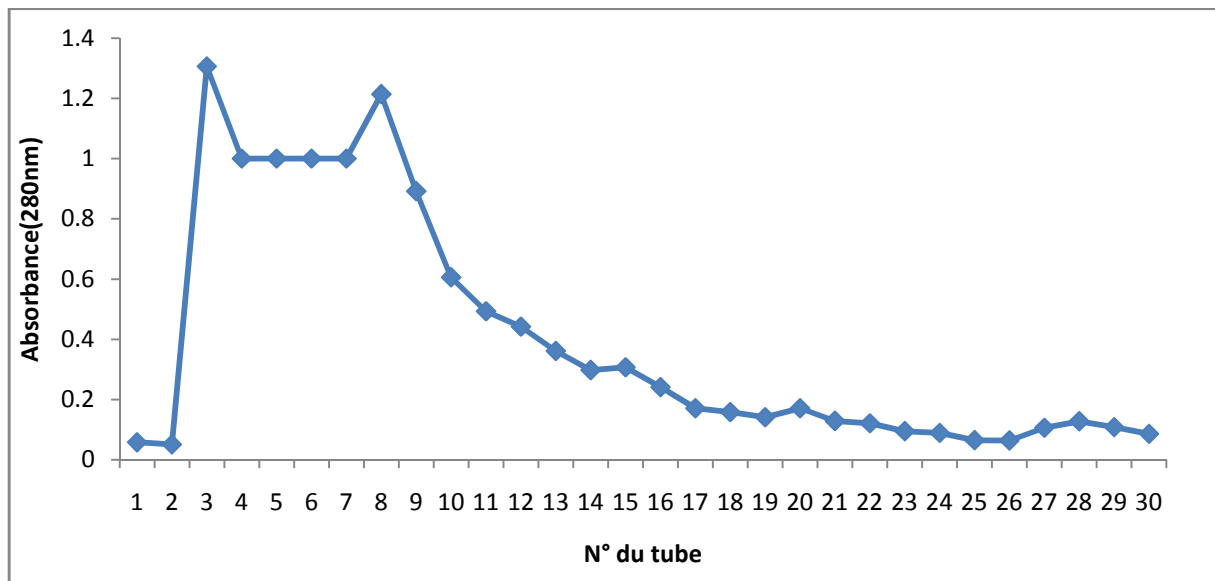


**Figure 4** : la filtration de l'extrait de *Scilla maritima* sur colonne de gel de silice.

Eluant était : BPS pH 7,2

Absorbance à 280nm

La taille de la fraction était : 5ml.



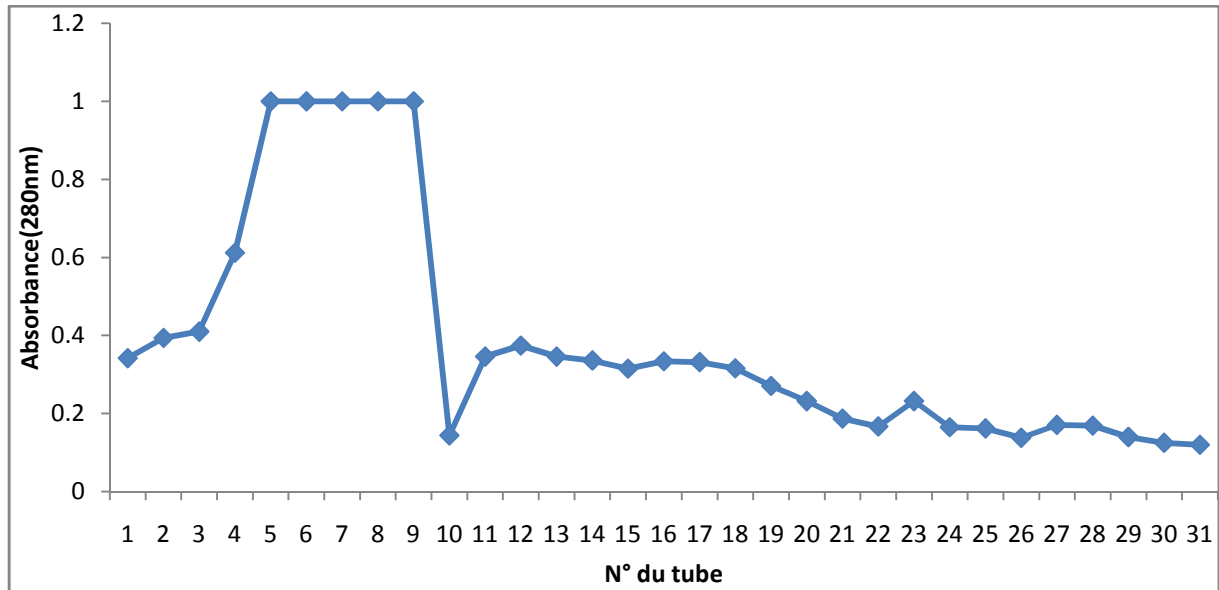
**Figure 5** : la filtration de l'extrait de *Saussurea costus* sur colonne de gel de silice.

Eluant était : BPS pH 7,2

Absorbance à 280nm

La taille de la fraction était : 5ml

## Résultats



**Figure 6** : la filtration de l'extrait de *Myrtus communis* sur colonne de gel de silice.

Eluant était : BPS pH 7,2

Absorbance à 280nm

La taille de la fraction était : 5ml.

## Chapitre II : l'étude biologique

### II.1 Les limites d'hémagglutination

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

**Tableau n° 4** : Activité hémagglutinante des extraits de *Scilla maritima*, *Saussurea costus* et *Myrtus communis*.

dilution \ extrait	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 34	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512	1 : 1024	1 : 2048
<i>Scilla maritima</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	--	--	--
<i>Saussurea costus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	--	--	--	--
<i>Myrtus communis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	--	--	--

+++ : très forte agglutination

+ : faible agglutination

++ : forte agglutination

- : absence d'agglutination



## Résultats

L'activité hémagglutinante d'extrait de *Scilla maritima* a été 1:8(256)

L'activité hémagglutinante d'extrait de *Saussurea costus* a été 1:7(128)

L'activité hémagglutinante d'extrait de *Myrtus communis* a été 1:9(512).

### II.2 Test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

**Tableau n° 5** : l'agglutination des hématies humaines par des extraits bruts de *Scilla maritima*, *Saussurea costus* et *Myrtus communis*.

GS Les plantes	A+	A-	B+	B-	O+	O-	AB+
<i>Scilla maritima</i>	-	-	-	-	+	+	-
<i>Saussurea costus</i>	+	-	+	-	+	-	+
<i>Myrtus communis</i>	+	-	+	+	+	-	+

L'extrait de *Scilla maritima* n'agglutine que le groupe O.

L'extrait de *Saussurea costus* n'agglutine que les groupes positifs.

L'extrait de *Myrtus communis* agglutine les groupes positifs et aussi le groupe B.

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

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

L'agglutination ne se fait pas dans le cas où la lectine va fixer l'inhibiteur plutôt que les hématies, les résultats obtenus ont été décrit dans **le tableau n°6**.

## Résultats

**Tableau n°6** : Test d'inhibition des extraits de *Scilla maritima*, de *Saussurea costus* et de *Myrtus communis* par des sucres simples.

Sucre \ Extrait	Glucose	Galactose	Fructose	Maltose	Lactose	saccharose
<i>Scilla maritima</i>	+	-	-	+	+	+
<i>Saussurea costus</i>	-	-	+	-	+	-
<i>Myrtus communis</i>	+	+	+	+	+	+

+ : inhibition

- : pas d'inhibition

L'extrait de *Scilla maritima* a été inhibé par le glucose, le maltose, le lactose et le saccharose.

L'extrait de *Saussurea costus* a été spécifiquement inhibé par le fructose et le lactose.

L'extrait de *Myrtus communis* a été inhibé par tous les sucres utilisés.

### II.4 L'effet de température sur l'hémagglutination

Les résultats obtenus après l'exposition de nos extraits à différentes températures ont été présentés dans le **tableau n°7**.

**Tableau n° 7** l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits.

Température (°C) \ Extrait	50	60	70	80	90	95
<i>Scilla maritima</i>	+++	+++	+++	++	+	+
<i>Saussurea costus</i>	+++	+++	++	+	-	-
<i>Myrtus communis</i>	+++	+++	+++	++	++	++

+++ : très forte agglutination

++ : forte agglutination

+ : faible agglutination

- : absence d'agglutination.

## Résultats

---

Le traitement thermique d'extrait de *Scilla maritima* à 80°C a réduit leur activité hémagglutinante.

Le traitement thermique d'extrait de *Saussurea costus* à 70°C a réduit significativement leur activité hémagglutinante. Lorsque le chauffage a atteint 90°C, l'activité hémagglutinante de *Saussurea costus* est devenue nulle.

Le traitement thermique d'extrait de *Myrtus communis* à 80°C a réduit leur activité hémagglutinante.

# *Discussion*

### Partie IV Discussion

Le travail que nous avons réalisé, consiste en la recherche des lectines et la maîtrise de toutes les techniques d'extraction et ainsi qu'une étude poussée de point de vue biologique afin de déterminer leur pouvoir phytoagglutinant.

Dans un premier temps, nous avons testé l'existence de lectines sur quatre plantes médicinales. Nous avons utilisé le sang de lapin, nous avons procédé à une incubation à plusieurs températures; ces incubations sont faites sur les extraits bruts que nous avons préparé à partir des plantes à l'aide d'une solution tampon selon le schéma que nous avons décrit ci-dessus. Une fois cette présence des lectines confirmée, nous avons procédé à la chromatographie sur colonne, pour faire une séparation dans le but d'essai d'identifier ces lectines; ensuite une fois cette étape est établie d'autres tests biologiques seront effectués. Cette méthode est établie pour la découverte des capacités agglutinantes des lectines vis-à-vis des érythrocytes; elle reste toujours la méthode la plus simple et la plus pratique pour détecter leurs présences (**Laija et al., 2010**).

Nous avons pu observer l'activité hémagglutinine des extraits de quatre plantes médicinales, dont trois ont donné un test positif, il s'agit des extraits de *Scilla maritima*, *Saussurea costus* *Myrtus communis*, en occurrence l'extrait de la *Thapsia garganica* a donnée un test d'agglutination négatif.

Ces résultats indiquent que la *Scilla maritima*, *Saussurea costus* et la *Myrtus communis* contiennent effectivement des substances à activité agglutinante sur les hématies.

Les extraits bruts de *Scilla maritima* et de *Saussurea costus* ont pratiquement les mêmes degrés d'agglutination sur les hématies du lapin.

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

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

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

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

## Discussion

---

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

L'activité hémagglutinante d'extrait de *Scilla maritima* est 256, et l'extrait de *Saussurea costus* est 128. Tandis que l'activité hémagglutinante d'extrait de *Myrtus communis* est 512.

L'activité hémagglutinante d'extrait de *Saussurea costus* est faible par rapport à celle des extraits de *Scilla maritima* et de *Myrtus communis*.

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

L'extrait de *Scilla maritima* a montré une spécificité pour les globules rouges de type O. En effet, de nombreux auteurs ont déjà montré que les lectines pouvaient discriminer des groupes sanguins humains (**Saint-Paul, 1961**). Ce résultat indique que nous pourrions utiliser la lectine de *Scilla maritima* comme réactif pour le groupage.

L'extrait de *Saussurea costus* a agglutiné spécifiquement les groupes sanguins positifs, nous pouvons alors classer la *Saussurea costus* dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes des groupes sanguins humains positifs.

L'extrait de *Myrtus communis* a montré une spécificité pour les globules rouges de type B, et aussi pour tous les groupes positifs. Ces résultats indiquent que nous pourrions utiliser la lectine de *Myrtus communis* comme réactif pour le groupage B, et nous pouvons aussi la classer dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes des groupes sanguins humains positifs.

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 *Scilla maritima* a été inhibé par le glucose, maltose, lactose et le saccharose, et cette inhibition due à l'occupation du site de reconnaissance par les sucres cités. Par conséquent, il est possible d'utiliser ces sucres comme ligands dans la matrice d'affinité pour leur purification.

L'extrait de *Saussurea costus* a été spécifiquement inhibé par le fructose et le lactose, et cette inhibition due à l'occupation du site de reconnaissance par le fructose et aussi le lactose.

## Discussion

---

Par conséquent, il est possible d'utiliser ces sucres comme ligands dans la matrice d'affinité pour leur purification.

L'extrait de *Myrtus communis* a été inhibé par tous les sucres utilisés, donc il est possible d'utiliser ces sucres comme ligands dans la matrice d'affinité pour leur purification.

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.

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

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

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

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

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

L'extrait de *Scilla maritima* est stable à des températures jusqu'à 95°C pendant 60 min. Ce résultat n'est pas en accord avec les études de plusieurs auteurs.

L'extrait de *Saussurea costus* est stable à des températures jusqu'à 80°C pendant 60 min. Ce résultat n'est pas en accord avec les études de plusieurs auteurs.

L'extrait de *Myrtus communis* est stable à des températures jusqu'à 95°C pendant 60 min. Ce résultat n'est pas en accord avec les études de plusieurs auteurs.

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.

# *Conclusion*



## Conclusion

---

### Conclusion

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

Au terme de nos investigations ayant porté sur les extraits de quatre plantes, trois ont donné une activité hémagglutinante, il s'agit de ceux de *Scilla maritima*, *Saussurea costus* et de *Myrtus communis*.

L'extrait de *Scilla maritima* a montré une spécificité de groupe sanguin O. L'extrait de *Saussurea costus* a montré leur pouvoir à agglutiner tous les groupes sanguins positifs dans le système ABO. Par contre l'extrait de *Myrtus communis* a montré une spécificité de groupe sanguin B et aussi une spécificité d'agglutiner tous les groupes sanguins positifs.

L'extrait de *Scilla maritima* est inhibé par le glucose, maltose, lactose et le saccharose, cette affinité de la lectine pour ces sucres peut être utilisée pour leur purification. L'extrait de *Saussurea costus* est inhibé par le fructose et le lactose. Tandis que l'extrait de *Myrtus communis* est inhibé par tous les sucres utilisée, et cette affinité de la lectine pour ces sucres peut être utilisée pour leur purification.

Les extraits de *Myrtus communis* et de *Scilla maritima* sont thermorésistants et plus résistants à la température par rapport à l'extrait de *Saussurea costus*.

Nous souhaitons la poursuite de la recherche des lectines dans d'autres plantes disponibles localement.

*Références  
Bibliographiques*

### Références Bibliographiques

- **Alisson.D.S** (1999). Cours immuno-hématologie du 11 au 15 Oct 1999 à Dia-Med, Cressier, Suisse : 1785.
- **Avent et Reid** (2000). Rh blood group system : common alleles of RH loci. *Blood*, 95 : 375.
- **Alencar.N.M.N** (1999). Leguminous lectins as tools for studying the role of sugar residues in leucocyte recruitment. *Mediators of inflammation*, 8 : 107-113.
- **Assreury.A.M.S** (1997). Anti-inflammatory effect of glucose-mannose binding lectins isolated from Brazilian beans. *Mediators of inflammation*, 6 : 201-210.
- **Avato.P, Fanizzi.F.P, Rosito.I** (2001). The genus *Thapsia* as a source of petroselinic acid. *Lipids*, 36: 845-50.
- **Baba Aissa.F** (1999). Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident : 181.
- **Babosa.T** (2001). In vivo lymphocyte activation and apoptosis by lectins of the diocleinae subtribe. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 95 (5) : 673-678.
- **Babosha.A.V** (2008) .Inducible lectins and plant resistance to pathogens and abiotic stress. *Biochemistry (Mosc)*, 73: 812-825.
- **Bahorun.T** (1997). Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* : 83.
- **Banwell.J.G** (1983). Phytohaemagglutinins derived from red kidney bean : a cause for intestinal malabsorption associated with bacterial overgrowth in the rat. *Gastroenrology*, 84 : 506-515.
- **Bellakhdar.J** (1978). Medecine traditionnelle et toxicologie ouest-saharienne. Contribution it l'etude de la pharmacopee marocaine. Edition techniques nord-africaines, Rabat.
- **Bellakhdar.J** (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press, Paris.
- **Beloued.A** (2003). Plantes medicinales d'Algerie. Office des Publications Universitaires,Alger.

## Références Bibliographiques

---

- **Bird.G** (1951). plant and other agglutinins in the study of human red corpuscles in extract of *Dolichos biflorus* *cun sci* : 20-29.
- **Bird.G** (1964). And T in peanuts – *Vox sang* : 9,748.
- **Block.G, Patterson.B, Subar.A** (1992) .Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* : 1-18.
- **Boucher.C** (2008). Une brève histoire des idées de Galilée à Einstein. *FIDES*: 94-95.
- **Boukef.M.K** (1986). Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Agence de coopération culturelle et technique, Paris.
- **Boulos.L** (1983). Medicinal plants of North Africa. Publications Inc, Algonac, Michigan.
- **Boyd.W.C and Shapleigh.E** (1954). Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins). *Science* : 119, 419.
- **Boys.W.F and Reguera** (1949). Hemagglutinating substances for human cell in various plants. – *J Immunol*, 62, 33. Flammarion, Médecine- sciences (Paris) : 187-238.
- **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 tumor cells. *Journal of Insect Science* 10(79) :1-12.
- **Cartron.J.P**(1993). Les groupes sanguins. In : *Traité d'immunologie*.
- **Chiaroni.J et al**(2005). Groupe sanguins érythrocytaires. EMC France.
- **Coste** (1900-1906). Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. Librairie Scientifique et Technique Albert Blanchard, Paris : 3 volumes.
- **Cuq J-L** (1992). Qualité de nos aliments et technologies In *Alimentation et nutrition humaines*. ESF : 1240.
- **Dam.T.K and Brewer.C.F** (2002). Thermodynamics of lectin-carbohydrate interactions by isothermal titration calorimetry. *Chem. Rev*, 102 : 387-429.
- **De Mejia.E.G, Prisecaru.V.I** (2005). Lectins as bioactive plant proteins: a potential in cancer treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 45: 425-445.
- **Denis Blaizot** (2009). *La Scille maritime* (*Scilla maritima*. L., *Urginea Scilla*.)... Supplément à La Nature N° 2689 - 17 octobre 1925. dimanche 15 février 2009.

## Références Bibliographiques

---

- **Deysson.G** (1979). Organisation et classification des plantes vasculaires, édition SEDES-PARIS5.
- **Doumbia.M** (2004). Etudes de l'activité hémagglutinante des lectines extraites des graines de la flore malienne. Thèse Pharmacie, FMPOS : 84.
- **Duraipandiyar et Al-Harbi** (2012). Ignacimuthu and C. Muthukumar, "Antimicrobial activity of sesquiterpene lactones isolated from traditional medicinal plant, *Costus speciosus* (Koenex. Retz.) Sm.," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(13) : 2-6.
- **Eckert.R, Randall.D, Burggren.W** (1999). Physiologie animal : mécanismes et adaptations. Fourth édition. DE BOECK. Paris : 90.
- **El-far.A.H et Abou – Ghanema.I.I** (2013). Biochemical and hematological evaluation of *Costus speciosus* as a dietary supplement to Egyptian buffaloes," *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(42) : 2774-2779.
- **Etzler.M.E** (1985). Plant lectins: Molecular and Biological aspects. *Annu. Rev. Plant Physiol*, 36:209-234.
- **Falasca.A.I.** (1989). Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maximowicz. *FEBS Lett*, 246(1-2) :159 -162.
- **Ganong.W.F** (2005). Physiologie médicale. 2ème édition, DE BOECK : 507.
- **Gemmill.C.L** (1974). Pharmacology of squill. *Bull NY Acad Med*, 50: 747-750.
- **Gold.E.R and Balding** (1975). Receptor-specific proteins: plant and animal lectins, *Excerpta Medica*, Amsterdam.
- **Goldstein.I.J & Hayes.C.E** (1978). The lectins: carbohydrate binding proteins of plant and animals. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem*, 35:127-340.
- **Goldstein.I.J, Hughes.R.C, Monsigny.M, Osawa.T, Sharon.N** (1980). What should be called a lectin? *Nature* : 285, 66.
- **Gomes.J.C** (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.A.C, 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.

## Références Bibliographiques

---

- **Guillot.J, Guerry.M, Kanska.G, Caldefie-Chezet.F, Delatour.M and Penault-Llorca.F** (2004). Modification des glycoconjugués au cours du processus de cancérisation : cas des carcinomes mammaires. *Bull Cancer*, 91 : 141-158.
- **Hammiche.V et al** (2013). *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen* © Springer-Verlag France, Paris.
- **Hayes.C.E, Goldstein.I.J** (1974). *J. Biol. Chem*, 249 : 1904-1914.
- **Hirabayashi.J** (2004). Lectin-based structural glycomics: glycoproteomics and glycan profiling. *Glycoconj. J.*, 21 : 35-40.
- **Jaffe.W.G** (1980). hemagglutinins (Lectins). In toxic constituents of plant foodstuffs. New – York., Academic Press : 502 .
- **Jose.J et Rajalakshmi.R** (2005). *Medicinal and Aromatic Plants: Essential Oils and Pharmaceutical Uses*, New Delhi.
- **karl landsteiner (1901)** : l'article fondateur de la connaissance des groupes sanguins date du 14 novembre 1901, dans le N°46 (volume 14, pages 1132-4) de la *Wiener klinische Wochenschrift*,
- **Kenoth.R, et al** (2001). Thermodynamic and kinetic analysis of porphyrin binding to *Trichsanthes cucumerina* seed lectin. *Eur.J. Biochem*, 268 : 5541-5549.
- **Kocourek.J and Horejsl.V** (1983). A note of the recent discussion of definition of the term "Lectin". In T. C. Bog-Hansen, & G. A. Spengler, (Eds). *Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry. Proceedings of the 5th Lectin Meeting. Vol. 3*, Walter de Gruyter Berlin-New York.
- **Kulkarni.G.V** (1998). Role of mitochondrial membrane potential in concanavalin A induced apoptosis in human fibroblast. *Experimental cell.Research*, 245 :170-178.
- **Laija.S.N, Mahesh.S, Smitha.L.S, Remani.P** (2010). Isolation and partial characterization of two plant lectins. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2(4): 232-237.
- **Le Floc'h.E** (1983). *Contribution a une etude ethnobotanique de la flore tunisienne*. Imprimerie Officielle, Tunis.
- **Lee.Y.C and Lee.R.T** (1995). Carbohydrate-protein interactions: basis of glycobiology. *Acc. Chem. Res.*, 28 : 321–327.

## Références Bibliographiques

---

- **Liener.I.E** (1976). Phytohaemagglutinins (Phytolectins). *Annu. Rev. Plant Physiol*, 27 : 291–319.
- **Liener.I.E, Sharon.N and Goldstein.I.J** (1986). *The Lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine*. Academic Press, Orlando, FL : 600.
- **Lis.H and Sharon.N** (1998). Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. *Chem. Rev.*, 98 : 637-674.
- **Liu.B, Bian.H.J, Bao.J.K** (2010). Plant lectins: potential antineoplastic drugs from bench to clinic. *Cancer Lett*, 287: 1-12.
- **Lo et al** (1998). Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum : implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet*, 62(4):768-75.
- **Lopez.S** (2003). Anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) activity of lectins from *Narcissus* species. *Planta medica*, 69 (2) : 109-112.
- **Margan.W.T.J** (1953). The inhibition of the haemagglutinins in plant seeds by human blood group substances and simple sugars, *Bi I Exp Pathol* : 34-94.
- **Merad.R**(1991). Centre Anti-Poisons.CHU Bab-El-Oued Bd Said Touati. Alger.
- **Mimica-Dukic.N, Bugarin.D, Couladis.M et al** (2010). Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules*, 15(4): 2759-70.
- **Mitiche.A** (1987). *Plantes medicinales de la region de Boghni (Kabylie)*. Memoire DES Biologie. Tizi-Ouzou (Algerie).
- **Murdock.L.L and Shade.R.E** (2002). Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insectectes. *J.Agric. food. Chem*, 50 (22) : 6605-6611.
- **Myoshi.M et al** (1982). The lethal protein from kintoki beans (*Phaseolus vulgaris*) identified as a lectin. *J. Nutr. Sci. vitaminol*, 28 : 255-264.
- **Nachbar.M.S and Oppenheim.J.D** (1980). Lectin in the United States diet: a survey of lectins in commonly consumed foods and a review of the literature. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 33 : 2238 -2345.
- **Nouvell.P.C** (1960). Phytohemagglutinins: An initiator of mitonis in cultures of normal human leucocytes, *Cancer Res* : 20- 462.
- **Oikawa.T, Yanagimachi, Micolson** (1973). Wheat germ agglutinin blocko mammalion fertilization, *Nature* : 24-356.

## Références Bibliographiques

---

- **Oliveira.S.R.M, Nascimento.A.E, Lima.Y.F.M.M, Benevides.N.M.B** (2002). Purification and characterisation of a lectin from the red marine alga *Pterocladia capillacea* (S. G. Gmel). *Santel&Hommers. Revista Brasil*, 25(4) : 397-403.
- **Parham.P** (2000). Le système immunitaire. De BOECK Université : 340.
- **Paris.R.R et Moyse.H** (1967). Précis de matière médicale, éd Masson, Paris.
- **Paris.R.R et Moyse.H** (1981). Précis de matière médicale, tome II, éd Masson, Paris.
- **Park.S, Lee.M.R and Shin.I** (2008). Chemical tools for functional studies of glycans. *Chem. Soc. Rev.*, 37 : 1579-1591.
- **Perret.E et Paris.R** (1971). Les plantes médicinales. Presses universitaires de France. Paris.
- **Peumans.W.J and van Damme.E.J** (1995). The role of lectins in plant defence. *Histochem J*, 27 : 253-271.
- **Peumans.W.J and Van Damme.J.M** (1995). Lectine as plant defense proteins. *Plant Physiol.*, 109 : 347-352.
- **Pusztai.A, Croy.R.R.D, Grant.G & Stewart.J** (1983). Seed lectins, distribution, location and biochemical role. In J. Daussant; J. Mosse, & J. Vaugham, (Eds). *Seed Proteins*, Academic Press, New York.
- **Quezel.P et Santa.S** (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris.
- **Quezel.P, Santa.S** (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; Tome II, CNRS, Paris.
- **Ramé.A, Naccache.P** (2001). Transfusion sanguine. LAMARRE: 05.
- **Renkonen.K.O** (1948). Studies on the hemagglutinins present in seeds of some representatives of the family of Leguminosae. *Ann. Med. Exp. Fenn. (Helsinki)* : 26-66.
- **Reviron.J et Reviron.M** (1984). Les groupes sanguins érythrocytaires humains. *Encycl-Med- Chir. (Paris, France), sang 13000M50, Tome1*: 8 -11.
- **Ringe.P** (2009). Structure et fonction des protéines. DE BOECK : 27.
- **Rudiger.H and Gabius.H.J** (2001). Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconj J*, 18 : 589-613.
- **Saint-Paul.M** (1961). Les hémagglutinine: transfusion. *T. I. V 1*: 3-37.



## Références Bibliographiques

---

- **Schouppe.D, Ghesquiere.B, Menschaert.G, De Vos.W, Bourque.S, et al** (2011). Interaction of the tobacco lectin with histone proteins. *Plant Physiol.*
- **Sharon.N** (2008). Lectins: past, present and future. *Biochem Soc Trans*, 36: 1457-1460.
- **Sharon.N, Lis and Halima** (2003). *Lectins*. Kluwer Academic Publishers.
- **Sharon.N, Lis.H** (1989). *Lectins*. Chapman and Hall, London.
- **Silva.A.L.C, Horta.A.C.G, Moreira.R.A.M** (2001). Isolation and partial characterisation of a lectin from *Bauhinia pentandra*(bong) vog. Ex. steua. *R. Bras. Fisiol. Veg*, 13(3) : 262-269.
- **Suseelan.K.N, Bhatia.C.R, Mitra R** (1997). Purification and characterization of two major lectins from *Vingo mungo* (blackgram). *J. Biosci*, 22: 439-455.
- **Terness.P, Navolan.D, Dufter.C et al** (2001). The T-cell suppressive effect of bufadienolides: structural requirements for their immunoregulatory. *International Immunopharmacol*: 119-34.
- **Valentiner.U et al** (2003). The influence of dietary lectins on the cell proliferation of human breast cancer cell lines in vitro. *Anticancer Res.*, 23 (2B) : 1197-1206.
- **Van Damme.E.J, Lannoo.N, Fouquaert.E, Peumans.W.J** (2004). The identification of inducible cytoplasmic/nuclear carbohydrate-binding proteins urges to develop novel concepts about the role of plant lectins. *Glycoconj J*, 20 : 449-460.
- **Varki, A. (1993)** Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology*, 3, 97-130.
- **Wang.H, Ng.T.G** (1998). Ribosome inactivating protein and lectin from bitter melon (*Momordica charantica*) seeds: sequence comparison with related protein. *Biochemical and biophysical research communication*, 253 :143- 146.
- **Yagi.F, Iwaya.T, Haraguchi.T and Goldstein.I.G** (2002). The Lectin from leaves of Japanese cycad. *Cycas revolute* Thumb. (Gymnosperm) is a member of the jacalin-related family. *Eur. J. Biochem.*, 269: 4335-4341.
- **Yamamoto et al**(1995). ABO blood group system : common alleles of ABO locus. *Glycobiology*, 5 : 51.

## Références Bibliographiques

---

- **Zhou.Y, Tian.Y, Wu.B, Mang.K** (1998). Inhibition effect of transgenic tobacco plants expressing snowdrop lectin on the population development of *Myzus persicae*. *Chin J Biotechnol*, 14: 9-16.
- **Zourou.M.** *Le costus marin et ses bienfait*, blog : [//topbioshop.wordpress.com](http://topbioshop.wordpress.com) : consulté le 20/05/2015.

# *Annexes*

## Annexe

### Les différents types d'agglutinations



- = pas d'agglutination.



+ = faible agglutination.



+ + = forte agglutination.



**+++ = très forte agglutination**

## Résumé

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

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

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

L'activité héماغglutinante d'extrait de *Scilla maritima* a été 1:8(256), et de *Saussurea costus* 1 :7(128) .Et celle de *Myrtus communis* a été 1:9(512).

Les lectines des extraits de *Scilla maritima* ont données une forte sélectivité sur les hématies du groupe O. l'extrait de *Saussurea costus* a montré la capacité d'agglutiner tous les groupes sanguins positifs. Par contre l'extrait de *Myrtus communis* a montré une spécificité de groupe sanguin B et aussi une spécificité d'agglutiner tous les groupes sanguins positifs.

Le glucose, le maltose, le lactose et le saccharose inhibent l'activité héماغglutinante des lectines de *Scilla maritima*.

Le fructose et le lactose inhibent l'activité héماغglutinante des lectines de *Saussurea costus*.

Tous les sucres utilisés inhibent l'activité héماغglutinante des lectines de *Myrtus communis*.

L'activité héماغglutinante des extrait de *Scilla maritima* et de *Myrtus communis* a été stable jusqu'à 95°C pendant une heure. Tandis que de *Saussurea costus* a été stable jusqu'à 80°C pendant une heure.

**Mots clés :** *Scilla maritima* L, *Saussurea costus* L, *Myrtus communis* L, Lectine, Extraction, Héماغglutination.

## Abstract

Lectins are proteins substances extracted from plants or animals.

The objective of this study was to investigate the presence of lectins in extracts of four medicinal plants by the haemagglutination test, extract lectins and their biological study. The extraction was made by crushing and macération in a buffer solution was followed by chromatography column.

The hemagglutinating activity of extract of *Scilla maritima* was 1: 8 (256), and *Saussurea costus* 1: 7(128) .And that of *Myrtus communis* was 1: 9 (512).

Lectins extracts of *Scilla maritima* have given a highly selective on group O erythrocytes. *Saussurea costus* extract showed the ability to clump all positive blood types. As against the extract of *Myrtus communis* showed a specificity of blood group B and also specificity of agglutinating all the red blood cells that are positive.

Glucose, maltose, lactose and sucrose inhibe the haemagglutinating activity of *Scilla maritima* lectins.

Fructose and lactose inhibe the haemagglutinating activity of *Saussurea costus* lectins. Sugars used inhibe the haemagglutinating activity of *Myrtus communis*.

The extract *Scilla maritima* and *Myrtus communis* was stable up to 95°C. The extract *Saussurea costus* was stable up to 80°C.

**Key words:** *Scilla maritima* L, *Saussurea costus* L, *Myrtus communis* L, Lectin, Extraction, Haemagglutinating.



## ملخص

الحيوانات أو النباتات من مستخلصة بروتينية مواد هي اللكتينات

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

الاستخلاص يكون عن طريق طحنها و نقعها في محلول ملحي ثم تمريرها عبر الكروماتوغرافي العمودي.

بالنسبة لمستخلص *Scilla maritima* نتيجة نشاط التراص كانت ( 256 ) 1 : 8 , ومستخلص *Saussurea c*

*costus* كانت ( 128 ) 1 : 7 , أما بالنسبة لمستخلص *Myrtus communis* فكانت ( 512 ) 1 : 9 .

اللكتينات المستخلصة من *Scilla maritima* أعطت انتقائية عالية على الكريات الدموية الحمراء للمجموعة O. و مستخلص *Saussurea costus* تكون عملية التراص على كل الكريات الدموية الحمراء الموجبة. بينما مستخلص *Myrtus communis* تكون عملية التراص على الكريات الدموية الحمراء للمجموعة B وأيضاً تكون على الكريات الدموية الحمراء الموجبة.

الغلوكوز، اللاكتوز، المالتوز، والسكراروز لديهم القدرة على تثبيط عملية ترص اللكتين المستخلص من *Scilla*

*.maritima*

من بين السكريات المستعملة فقط الفروكتوز واللاكتوز لديهم القدرة على تثبيط عملية ترص اللكتين المستخلص من *Saussurea costus*.

كل السكريات المستعملة لديها القدرة على تثبيط عملية ترص اللكتين المستخلص من *Myrtus communi*.

عملية التراص للمستخلصين *Scilla maritima* و *Myrtus communis* مستقرة عند درجة الحرارة 95°C لمدة

ساعة. أما بالنسبة لمستخلص *Saussurea costus* فهي مستقرة عند درجة الحرارة 80°C لمدة ساعة.

الكلمات المفتاحية : *Scilla maritima* L, *Saussurea costus* L, *Myrtus communis* L , لكتين , استخلاص , ترص.

**NOM ET PRENOM**

MELLAH Khaoula  
BOUCHERIT Hamza

**DATE DE SOUTENANCE**

15/06/2015

**Thème :** L'extraction des lectines à partir de quelques plantes médicinales (*Scilla maritima*, *Saussurea costus*, *Myrtus communis*, *Thapsia garganica*) et leurs études biologiques

**Option :** Biochimie Appliquée

**Résumé**

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

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

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

L'activité hémagglutinante d'extrait de *Scilla maritima* a été 1:8(256), et de *Saussurea costus* 1 :7(128) .Et celle de *Myrtus communis* a été 1:9(512).

Les lectines des extraits de *Scilla maritima* ont données une forte sélectivité sur les hématies du groupe O. l'extrait de *Saussurea costus* a montré la capacité d'agglutiner tous les groupes sanguins positifs. Par contre l'extrait de *Myrtus communis* a montré une spécificité de groupe sanguin B et aussi une spécificité d'agglutiner tous les groupes sanguins positifs.

Le glucose, le maltose, le lactose et le saccharose inhibent l'activité hémagglutinante des lectines de *Scilla maritima*.

Le fructose et le lactose inhibent l'activité hémagglutinante des lectines de *Saussurea costus*.

Tous les sucres utilisés inhibent l'activité hémagglutinante des lectines de *Myrtus communis*.

L'activité hémagglutinante des extraits de *Scilla maritima* et de *Myrtus communis* a été stable jusqu'à 95°C pendant une heure. Tandis que de *Saussurea costus* a été stable jusqu'à 80°C pendant une heure.

**Mots clés :** *Scilla maritima* L, *Saussurea costus* L, *Myrtus communis* L, Lectine, Extraction, Hémagglutination.

**LABORATOIRE DE RECHERCHE:** *laboratoire de l'université Abbes Laghrour-Khenchela*

**Président :** Melle NADJI Hamida  
**Examineur :** Melle BOUTARFA Soumia  
**Encadreur :** Melle MESSAI Alima

**Université Abbes Laghrour –Khenchela**  
**Université Abbes Laghrour –Khenchela**  
**Université Abbes Laghrour –Khenchela**