



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biologie

Spécialité: Qualité des produits et sécurité alimentaire

Présenté par:

AKHDAR Rayane et HAMITI Siham

Thème

**Potentiel biologique des polysaccharides issus de
Bifurcaria bifurcata R. Ross: Activité anti complément**

Soutenu publiquement

Le: 20/06/2022

Devant le jury:

Président	BOUAL Zakaria	Pr.	Univ. Ouargla
Encadreur	OULD EL HADJ Mohamed Didi	Pr.	Univ. Ouargla
Examineur	TELLI Alia	MCA	Univ. Ouargla

Année Universitaire: 2021/2022

Remerciements

Nos remerciements vont tout d'abord à ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné la volonté, la patience et le courage de réaliser ce modeste travail.

A l'issue de l'actualisation de cette étude, nous tenons à remercier Mr. OULD EL HADJ Mohamed Didi, Professeur au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla pour avoir bien voulu de prendre en charge ce travail. Nous avons eu la chance et le privilège de travailler sous votre direction, de profiter de votre culture scientifique, vos compétences professionnelles incontestables ainsi que vos qualités humaines qui vous valent l'admiration et le respect.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Mr. BOUAL Zakaria, Professeur au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire malgré ses nombreuses charges.

Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à Melle TELLI Alia, Maître de conférences au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nous tenons à lui l'expression de notre grand respect.

De même, nous remercions tous les membres de Laboratoire de la Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah Ouragla et le Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico Chimiques «CARAPC» en particulier son Directeur, Dr BELKHALFA Hakim de nous avoir accueilli au sein du Laboratoire., qui nous avoir aidé à la réalisation de ce travail. Nous adressons notre profonde gratitude à nous famille qui ont nous a toujours soutenu.

Dédicace



*Je commence ma dédicace au nom du Dieu et le salut sur
Mohamed le messenger de Dieu.*

Je dédie ce travail

*À ma famille, elle qui m'a dotée d'une éducation digne. Son
amour a fait de moi ce que **Je suis aujourd'hui**.*

*Particulièrement à **ma mère**, pour le goût à l'effort qu'elle a
suscité en moi de par sa rigueur.*

*À celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant la volonté
fait toujours les grandes femmes, **Mon père**.*

*À mes chères sœurs pour leur aide, soutien moral, leur
encouragement et le support tout au long de mes études. À eux
tous, je souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et succès.*

*À mon encadreur pour sa disponibilité, son encadrement, sa
confiance et les conseils qu'il m'a généreusement prodigués.*

*À tous ceux qui me connaissent de près ou de loin et qui m'ont
encouragée et soutenue.*

À toute ma famille et tous ce qui m'aime et que j'aime.

Rayane



Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur
de ma vie ma mère Meriem qui m'a*

*Apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son
sacrifice et soutien qui*

M'ont donné confiance, courage et sécurité.

*A mon cher père Abd Elrazak qui ma appris le sens de la
persévérance tout au long de mes études,*

Pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

*A mes très chers frères Mohamed lakhdar, Mohamed Nadjib,
Mohamed Elhachmi et ma petite sœur Maisam*

*Ma chère grand-mère, mes oncles et tantes, mes tantes et
oncles, que Dieu les protège et prenne soin d'eux*

Siham

Remerciements	
Dédicace	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Abreviations	
Introduction	1
Chapitre I.-Synthèse Bibliographique	3
I.1.- Généralités	4
I.2.- Classification des polysaccharides	4
I.2.1.- Classification selon la nature	4
I.2.2.- Classification selon leurs sources.....	6
I.2.3.- Classification selon la fonction biologique.....	13
I.3.- Activités biologiques des polysaccharides	15
I.3.1.- Activité antioxydant.....	15
I.3.2.- Activité antivirale.....	15
I.3.3.- Activité anti inflammatoire.....	16
I.3.4.- Activités anti tumorales et immunomodulatrices.....	16
I.3.5.- Activité anti complément	17
I.3.6.- Activité antibactérienne	23
I.3.7.- Activité pré biotique.....	24
I.3.8.- Activité anti diabétique	24
I.4.- Généralités sur <i>Bifurcaria bifurcata</i> (Cystoseiraceae)	25
I.4.1.- Présentation de la famille des Cystoseiraceae	25
I.4.2.- Position systématiques de la famille des Cystoseiraceae	25
Chapitre II.-Matériel et Méthodes	28
II.1.- Principe d'étude	29
II.2.- Matériel d'étude.....	30
II.2.1.- Solvants et réactifs.....	30
II.2.2.- Matériel biologique.....	34
II.3.- Méthodologie d'étude.....	34
II.3.1.- Activité anti complément des polysaccharides par la technique hémolytique AP100	
34	
Chapitre III.-Résultats et discussion	39
III- Activité anti complément des polysaccharides via le test AP100	40
Conclusion et Perspectives.....	44
Références Bibliographiques	46

Références bibliographiques	47
Résumé	58
Annexes	60

Liste des Figures

Figure 1: Structure chimique de la cellulose (ZUGENMAIER, 2008). 7

Figure 2: Structure chimique d'inuline (ALAIS *et al.*, 2008). 8

Figure 3: Structure du glycogène (PAL *et al.*, 2015). 9

Figure 4: Structure chimique de l'acide hyaluronique (ONESIPPE., 2005). 10

Figure 5: Structure du kératane sulfate (FANCIS, 2000). 11

Figure 6: Structure chimique de kappa, lambda et iota carraghénanes (GUIBET, 2007). 12

Figure 7: Structure chimique de l'Alginate (SALISU *et al.*, 2013). 13

Figure 8: Structure primaire des chaînes de fucose α -(1-2) des fucane d'algue brune (GARON-LARDIERE, 2004). 13

Figure 9: Activation de la voie classique (Dragon-DUREY, 2006). 19

Figure 10: Activation de la voie Alterne (DRAGON-DUREY, 2016). 20

Figure 11: Histogramme représente les pourcentages de l'inhibition de la lyse des hématies par le complément contenu dans le sérum humain normal en présence des polysaccharides et en utilisant l'héparine comme contrôle positif 40

Figure 12: Test AP100; Inhibition de la lyse des hématies par le complément contenu dans le sérum humain normal en présence des polysaccharides et en utilisant l'héparine comme contrôle positif. 41

Liste des Tableaux

Tableau 1: Rôles biologiques de quelques homopolysaccharides (GUILLOTON <i>et al.</i> , 2013).	5
Tableau 2: Rôle biologique de quelque hétéropolysaccharides (GUILLOTON <i>et al.</i> , 2013). .5	5
Tableau 3: Les composants du complément dans les différentes voies d'activation (CARROLL, 2004; GASQUE <i>et al.</i> , 1996; DRAGON-DUREY et FREMEAUX-BACCHI, 2006)	21
Tableau 4 : Récepteurs des composants du complément et de leurs produits d'activation (SINGH, 2015).	22
Tableau 5: Origine et type des appareils utilisés au cours de l'expérimentation.	31
Tableau 6 : Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques.....	32
Tableau 7: Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques (suite)	33
Tableau 8: Méthode de dilution des polysaccharides de <i>Bifurcaria bifurcata</i> R. Ross (Cystoseiraceae)	36
Tableau 9 : Les calculs de pourcentage d'inhibition de système de complément via la voie alterne (Répétition 1).	61
Tableau 10 : Les calculs de pourcentage d'inhibition de système de complément via la voie alterne (Répétition 2).	61
Tableau 11 : Les calculs de pourcentage d'inhibition de système de complément via la voie alterne (Répétition 3).	61

ABREVIATIONS

ACP: Tampon de la voie alterne

BHT: Butylhydroxytoluène

BHA: Butylhydroxyanisole

C14H24N2O10: Ethylène Glycol Bis (β -aminoethylether- N, N, N', N'-tetraaceticacid).

CH3OH: Méthanol

CF3COOH: Acide tri-fluoro-acétique.

CR: Complement receptor

C1INH: Inhibiteur du C1

C4-bp: Protéine de liaison C4

CR1: Récepteur 1 du complément

DAF: Decayaccelerating factor

EDTA: Ethylène diamine-tétra acétique

EGTA: L'éthylène glycol-bis [-aminoéthyléther] N, N'-tétraacétique (EGTA)

F B:Facteur B

FD: Facteur D

IgM: Immunoglobuline de classe M

IgG: Immunoglobuline de classe G

IgE: Immunoglobuline de classe

HRF: Facteur de restriction homologue

HSV: Virus herpès simplex.

HCl: Chlorure d'hydrogène.

KCl: Chlorure de potassium.

KH₂PO₄: Dihydrogénophosphate de potassium anhydre.

KH₂PO₄: Phosphate de potassium dibasique.

LPS: Lipopolysaccharide.

MAC: Complexe d'attaque membranaire.

MBL: Mannan Binding Lectin.

MASP: 1, 2 (Mannan-Associated Serine Protéase).

MHC: Major Histocompatibility Complex

MgCl₂ 6H₂O: Chlorure de magnésium hydrate.

NO: Oxyde nitrique.

NaOH: Hydroxyde de sodium.

Na₂HPO₄: Hydrogénophosphatedisodiqueanhydre.

NaCl: Chlorure de sodium.

Na₂HPO₄: Hydrogénophosphate disodique anhydre.

NK: Naturelle killer

PBS: La solution saline tamponnée de phosphate.

PBS: Phosphate Buffer Salin.

PG: Propyl gallate.

ROS: Espèces réactives de l'oxygène.

(RP1, RP1): Deux fractions de polysaccharides.

SRAS: Syndrome respiratoire aigu sévère.

SHN: Sérum humain normal.

TBHQ: Tert-butylhydroquinone.

TFA: Acide tri-fluoro-acétique

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine/

Introduction

Introduction

Depuis les années 1980, les plantes et les algues qui possèdent des propriétés nutritionnelles et médicinales ont fait un retour en force, basé sur les valeurs établies de nos ancêtres testées au fil des années. Plusieurs facteurs expliquent ce regain d'intérêt, comme un coût moindre que les médicaments conventionnels, une relative disponibilité notamment dans les zones reculées, une méfiance vis-à-vis des produits de synthèse ou tout simplement une envie de consommer "bio". Aujourd'hui, même si nous avons assisté à une augmentation fulgurante des médicaments synthétiques, de nombreux pays, même développés, continuent de recourir aux remèdes traditionnels. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que près de 80 % des habitants de la planète utilisent principalement des médicaments traditionnels (WHO, 2004).

Les polysaccharides sont connus et utilisés depuis de nombreuses années en raison de leur abondance, de leur reproductibilité, de leur non-toxicité et de leur biodégradabilité (CHOUANA, 2017). Ils sont les macromolécules les plus abondantes sur terre et dans les océans (WAARAND, 2004). Ces macromolécules sont des éléments structuraux majeurs des parois végétales et peuvent être impliquées dans des mécanismes de reconnaissance de type plante/environnement (EFSTATHIOU & CHRISTIAN., 2008). Les polysaccharides forment une variété de glucides, qui peuvent être classés selon leur origine, c'est-à-dire animale ou végétale, leurs propriétés de réserve ou leur solubilité dans l'eau ou leur digestion dans le système gastro-intestinal humain (PATTERSON, 2008).

Les chercheurs et les membres universitaires du Réseau d'Excellence Européen des Polysaccharides (EPNOE) sont convaincus que les polysaccharides seront au centre de la future production mondiale durable de carburants, d'aliments, de matériaux et de médicaments. Cette vision, soutenue par la plupart des forces politiques, sociales et économiques, a été à l'origine d'un regain de recherche dans le domaine au cours des dernières décennies (PERSIN *et al.*, 2011).

Les polysaccharides sont non seulement utilisés par les organismes comme réserves d'énergie, mais garantissent également de nombreuses fonctions biologiques (fournir un support structurel et envoyer des signaux de communication cellulaire). Ils peuvent être extraits de nombreux organismes tels que les champignons, les algues, les animaux et les végétaux supérieurs (YANG *et al.*, 2009). Ils représentent une classe très intéressante de produits actifs, identifiés comme des composés multifonctionnels aux activités pharmacologiques diverses. Parmi elles se trouvent de nombreuses activités: immunomodulatrices, antivirales, gastroprotectrices, antioxydants, anticoagulantes, anticancéreuses, prébiotiques et hépatoprotectrices, ainsi qu'une activité anti-inflammatoire et anti-complémentaire.

Le complément est un élément important de l'immunité innée et son activation est essentielle à l'homéostasie du système immunitaire. Il offre un large éventail de fonctions; protège contre les organismes étrangers, élimine les complexes immuns de la circulation et

nettoie les débris cellulaires (ZHENG *et al.*, 2018). L'activation inappropriée du propre tissu de la cible complémentaire contribue à la pathologie d'un large éventail de maladies inflammatoires (JIN *et al.*, 2016), les maladies auto-immunes (XIA *et al.*, 2019), et les infections virales; le syndrome de détresse respiratoire aiguë, la fièvre Ebola (WEN *et al.*, 2017), maladie d'Alzheimer, ischémie et lésion de perfusion, lupus érythémateux (CHEN *et al.*, 2016), la grippe H1N1 (WEN *et al.*, 2020), polyarthrite rhumatoïde (SHI, 2016), arthrose, dermatite atopique, inflammation du liquide pulmonaire, lésions athérosclérotiques et allergie (LEE *et al.*, 2003). Il a été démontré qu'un certain nombre de molécules synthétiques, dont le sulfate de dextran, mésilate de nafamostat (FUT-175) et compstatine, inhibent l'activation du système du complément. En outre, de nombreuses études ont également rapporté que les polysaccharides dans les algues brunes peuvent inhiber l'activation du complément (JIN *et al.*, 2016). Des études de structure et d'activité suggèrent que les polysaccharides sont des candidats potentiels pour le criblage des inhibiteurs du système du complément. Les algues contiennent de nombreux polysaccharides différents et non toxiques. De plus, ils contiennent des polyanions, pour la plupart substitués par des sulfates, qui sont différents des polysaccharides des plantes terrestres (JIN *et al.*, 2016).

Les algues marines contiennent principalement des algues rouges, des algues vertes et des algues brunes. Les polysaccharides d'algues brunes contiennent trois principaux types de polysaccharides, à savoir le fucoïdane, le laminarane et l'alginate (JIN *et al.*, 2016). Parmi les principaux polysaccharides constituant les algues brunes, l'alginate représente 40 % de leur poids sec et il est principalement étudié pour ses propriétés gélifiantes (BOUISSIL, 2020). Notre étude est focalisée sur l'étude de l'alginate extrait de l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* R. Ross et d'étudier leur potentiel biologique à savoir l'activité anticomplément, qui n'est pas encore entretenue.

L'objectif de notre travail vise à inhiber le système du complément, *in vitro*, par l'extrait de polysaccharides issus de *Bifurcaria bifurcata* R. Ross, via la voie alterne. Ce document est présenté selon le plan suivant et qui comprend:

- Chapitre 01: une partie bibliographique, rappelant des généralités sur les polysaccharides, les différents types de polysaccharides, les activités biologiques des polysaccharides et des généralités sur l'algue *Bifurcaria bifurcata* R. Ross.
- Chapitre 02: l'une des techniques d'exploration de l'activité anti-complément *in vitro* à l'aide du test d'hémolyse AP100, qui consiste à déterminer la concentration inhibitrice de polysaccharides capables d'inhiber la lyse à 100 % des érythrocytes dans le sérum humain normal (AP100), est discutée.
- Chapitre 03: Les principaux résultats obtenus sont présentés, suivis d'une discussion et d'une interprétation. Les conclusions générales et les observations constituent un ensemble de réflexions qui complètent le travail.

Chapitre I.-
Synthèse Bibliographique

I.1.- Généralités

Les polysaccharides sont appelés polyglycosides ou glycanes. C'est un biopolymère composé d'une ou plusieurs molécules de monosaccharide. Soit des chaînes polymères monosaccharidiques macromoléculaires complexes liées entre elles par des liaisons glycosidiques de configuration α ou β et sans taille moléculaire définie (HAMMAMI *et al.*, 2018; DIMOPOULOU, 2013), ces chaînes pouvant être linéaires, ramifiées avec ou sans substituants, leur position et leur ramification (SINQUIN et COLLIEC-JOUAULT., 2014).

Les polysaccharides peuvent être obtenus à partir de nombreuses sources, y compris les algues, les plantes, les bactéries, les champignons, les insectes, les crustacés et les animaux. Ils peuvent être structurellement ajustés par génie génétique (PRAJAPATI *et al.*, 2014).

I.2.- Classification des polysaccharides

Devant la grande diversité de composition et de structure des polysaccharides, il est difficile d'en établir une classification. Les polysaccharides sont classés selon leurs natures, sources et leurs fonctions biologiques.

I.2.1.- Classification selon la nature

La nature de leurs composants a cependant permis de les diviser en deux classes: les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides. Cette nomenclature proposée par SUTHERLAND dès 1972, a été adoptée et reprise par de nombreux auteurs (BENASLA, 2012).

I.2.1.1.- Homopolysaccharides

Les homopolysaccharides (homoglycanes) résultant de la condensation d'un grand nombre de dérivés d'oses (BRUNETON, 2009). Les homopolysaccharides ne sont constitués que de monosaccharides identiques. Parmi les homopolysaccharides, on trouve les α -glucanes généralement composés de résidus de glucose réunis en α -1,6 et α -1,3; tels que les dextrans produits par *Leuconostoc mesenteroides* et les glucanes par *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sobrinus*. Les lévanes, synthétisés par *Streptococcus salivarius*, sont également des homopolysaccharides, constitués de résidus de fructose liés en β -2,6 (BENASLA, 2012). Les homopolysaccharides ont plusieurs fonctions biologiques, le tableau 1 résume quelques unes.

Tableau 1: Rôles biologiques de quelques homopolysaccharides (GUILLOTON *et al.*, 2013).

Homo-poly-saccharides	Unité osidique et Enchaînement	Nombre d'unités	Rôle biologique
Amidon	(1-4)- α -Glc avec des ramifications (1-6)- α -Glc toutes les trente unités environ	>10000	Réserve de carbone et d'énergie chez les végétaux (composant de l'amidon).
Cellulose	(1-4)- β -Glc	>10000	Polysaccharides de structure des végétaux; présent chez les tuniciers (invertébré marins).
Glycogène	(1-4)- α -Glc avec des ramifications (1-6)- α -Glc toutes les dix unités environ.	>50000	Réserve de carbone et d'énergie chez les animaux les champignons et les bactéries.
Chitine	(1-4)- β -GlcNAc	>10000	Constituant majeur de l'exosquelette des arthropodes et des parois cellulaire des champignons.
Xylane	(1-4)- β -Xyl (xylose).	>10000	Polysaccharides de structure des algues vertes.

I.2.1.2.- Hétéropolysaccharides

Comme leur nom l'identique, les hétéropolysaccharides comprennent plusieurs types de sucres qui jouent un rôle important dans les tissus de soutien et la matrice extracellulaire des l'organisme. Ce sont soit des chaînes longues indépendantes, soit liées à un noyau protéique (SABLONNIERE, 2006). Les hétéropolysaccharides sont des molécules de haut poids moléculaire contenant au moins deux monosaccharides formant des unités de base polymériques (FABREGUES, 1989). Il existe une grande variété de polysaccharides répertoriés dans la nature, ou l'intérêt manifesté est proportionnel aux propriétés ou aux applications potentielles. Ces polysaccharides peuvent être d'origine végétale comme c'est le cas de l'amidon, de la cellulose, des pectines ou des gommés. Ils peuvent également provenir d'algues, telles que l'alginate, le carraghénane, l'agar ou les fucoïdane, ou encore être d'origine animale (héparine, chondroïtine), ou microbienne (dextranes, xanthanes) (RUFF, 2008). (tableau 2).

Tableau 2: Rôle biologique de quelque hétéropolysaccharides (GUILLOTON *et al.*, 2013).

Hétéropolysaccharide	Unité osidique et Enchaînement	Nombre d'unités	Rôle biologique
Acide hyaluronique	[-4)- β -GlcU-(1 \rightarrow 4)- β -GlcNAc-(1-]	>10000	Composant de la Matrice extracellulaire du tissu conjonctif; constituant du cartilage
Inuline	(2 \rightarrow 1)- β -Fru; le carbone 2 du fructose terminal est uni à une molécule de glucose α par liaison diosidique.	<100	Polysaccharides de réserve des plantes à rhizome (ex: dahlia, iris, topinambour).
Pectine	(1 \rightarrow 4)- α -GalU partiellement estérifié (méthyl); présence de pentose et d'hexoses (<10%).	<1000	Groupe hétérogène de polysaccharides des parois des cellules végétales
Héparine	(1 \rightarrow 4)- α -GlnIdo	Variable	Anticoagulant
Chondritine sulfate	(1 \rightarrow 4)- β -GalNAc-+sulfaté	>10000	Constituant de la matrice extracellulaire

I.2.2.- Classification selon leurs sources

On distingue trois types essentiels de polysaccharides.

I.2.2.1.- Polysaccharides végétaux

I.2.2.1.1.- Amidon

L'amidon est l'un des principaux matériaux de stockage des glucides dans les plants et le premier aliment énergétique pour l'homme. Les granulés d'amidon contiennent deux types de polymères, l'amylose et l'amylopectine (ATALLA *et al.*, 2010).

Il peut atteindre 30 ou 60 % du poids sec des tissus végétaux. Il est abondant dans les graines et les tubercules, mais est également largement distribué dans certaines cellules végétales. L'hydrolyse enzymatique de l'amidon par l'amylase conduit à la formation de maltose. Ainsi, L'amidon est un polymère d' α -glucose avec des liaisons 1-4 (CHETOUANI, 2015).

I.2.2.1.2.- Cellulose

La cellulose est la molécule organique la plus abondante synthétisée sur terre après la photosynthèse, elle joue un rôle crucial dans la structure des végétaux et est le principal

composant des fibres végétales (MAROUF *et al.*, 2009). À l'exception des extrémités, chaque molécule de cellulose possède trois groupes hydroxyle. L'unité répétitive constituée de deux glucoses combinés est appelée cellobiose (ATALLA *et al.*, 2010).

La cellulose est l'un des polysaccharides les plus développés dans divers domaines dont l'industrie alimentaire, l'industrie chimique, la pharmacie, les biocarburants et la production de matières plastiques comme la cellophane (figure 1) (CHOUANA, 2017).

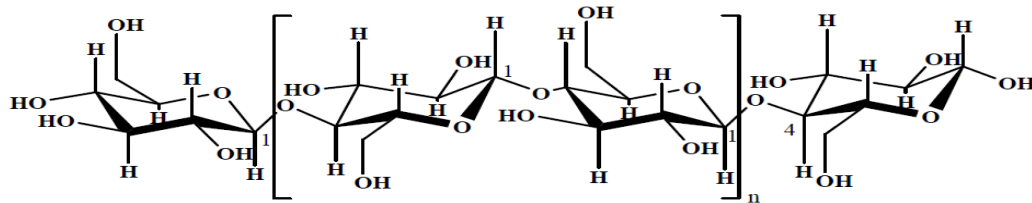


Figure 1: Structure chimique de la cellulose (ZUGENMAIER, 2008).

1.2.2.1.3.- Galactane

Ce sont des composants de substances pectiniques végétales dans lesquelles les unités D-galactose sous forme purine sont maintenues ensemble par des liaisons osidiques β (1 \rightarrow 4), tandis que les galactanes animaux correspondent à des liaisons β (1 \rightarrow 6) et β (1 \rightarrow 3) (BEAUMONT, 2015).

1.2.2.1.4.- Gomme de graines

Ce ne sont pas des gommages diverses, elles ne suintent pas, elles ne produisent pas de sel et ont une structure plus simple. Ils sont extraits des graines moulues en farine (ALAIS *et al.*, 2003).

• La caroube

La structure est constituée de chaînes polymannose bêta (1-4) avec un résidu galactose pour 4 ou 5 résidus mannose. Des résidus d'arabinose sont également présents. Le rapport G/M est important pour les propriétés physiques du caoutchouc. Les succursales éphémères ne sont pas régulières mais localisées régionalement (ALAIS *et al.*, 2003). Il y a aussi des résidus d'arabinose. La caroube est issue des graines du caroubier, un arbre légumineuse du bassin méditerranéen (CHARLES, 2008).

• La gomme Guar

La gomme de guar est principalement composée de galactomannane, une fibre végétale soluble et sans calorie. Le galactomannane est un polymère linéaire constitué d'une chaîne de monomères de mannose ((1,4)- β -D-mannopyranosyle) ramifiés par 1 à 6 unités de pontage galactose. Il est fréquemment utilisé comme épaississant, liant, émulsifiant et stabilisant,

notamment dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. Il est ajouté divers aliments tels que les céréales du petit déjeuner, les produits laitiers, les sauces, les légumes préparés (EMBUSCADO, 2009).

• La gomme Tara

La structure de la gomme est la même, le rapport G/M est de 1/3, il est plus visqueux en raison de son poids moléculaire élevé. Il est utilisé en Amérique du Sud (ALAIS *et al.*, 2003).

1.2.2.1.5.- Inuline

L'inuline est un polysaccharide neutre constitué principalement d'une série d'unités fructosyle fructose liées par des unités β -(2 \rightarrow 1) et glucopyranose terminales. Des études structurales sur l'inuline de chicorée ou de dahlia montrent que selon la source (chicorée ou dahlia), il existe des branches β -(2 \rightarrow 6) représentant respectivement 1 – 2 % et 4 – 5 % des liaisons chimiques. L'agrégation varie de 2 à 70 unités de fructose selon la source (COVIS, 2011).

L'inuline est directement soluble dans l'eau, ne forme pas d'empois et n'est pas colorée par l'iode. L'inulinase est une hydrolase largement réactive. D'autres fructans fractionnés se trouvent dans les monocotylédones; par exemple, la liaison des monomères de fructose est à β (2-6), tandis que la liaison au saccharose est à 6 sur le fructose dans la structure phleana des graminées (figure 2) (ALAIS *et al.*, 2003).

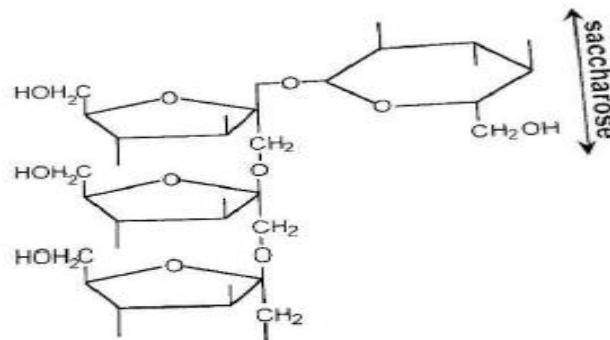


Figure 2: Structure chimique d'inuline (ALAIS *et al.*, 2008).

1.2.2.2.- Polysaccharides animaux

1.2.2.2.1.- Glycogène

Le glycogène est un analogue de l'amidon chez les plantes, parfois appelé amidon animal, avec une structure similaire à l'amylopectine, mais plus ramifiée et compacte que l'amidon. Le glycogène est constitué de nombreuses unités de D-glucose liées en α (1 \rightarrow 4) et

ramifiées en α (1 \rightarrow 6) tous les 8 ou 12 résidus et tous les 20 à 30 résidus dans l'amylopectine (figure 3) (CHOUANA, 2017).

Le glycogène est de forme sphérique, appelée particules bêta, et a un poids moléculaire de 10^7 Da. Sa structure est très similaire à l'amylopectine, mais elle diffère de l'amylopectine par les caractéristiques suivantes:

- C'est la forme que prennent normalement les glucides chez les animaux;
- Ramifications plus fréquentes, environ tous les 10 à 14 résidus;
- Solubilité dans l'eau à température ambiante;

Résistant aux solutions alcalines concentrées (ALAIS *et al.*, 2003).

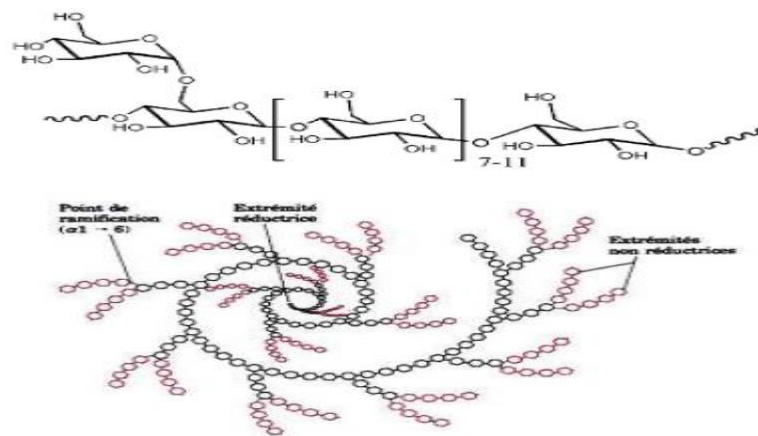


Figure 3: Structure du glycogène (PAL *et al.*, 2015).

I.2.2.2.2.- Acide hyaluronique

L'acide hyaluronique est un polysaccharide naturel qui appartient à la famille des glycosaminoglycanes et est présent dans la matrice intercellulaire de la plupart des conjugués de tissus de vertébrés, y compris la peau. L'acide hyaluronique tire son nom du mot grec hyalos (corps vitré), car il a été isolé pour la première fois de l'humeur vitreuse d'un œil de bœuf par MEYER et PALMER en 1934 (CHOUANA, 2017).

L'acide hyaluronique est constitué d'une série d'unités disaccharidiques composées d'acide glucuronique et de N-acétylglucosamine liées par une liaison α (1-4). C'est l'un des principaux composants de la matrice extracellulaire et du liquide synovial. L'immunoneutralité de cet acide en fait un excellent matériau de construction pour les biomatériaux utilisés en médecine tissulaire et dans les systèmes de délivrance de médicaments (figure 4) (CHETOUANI, 2015).

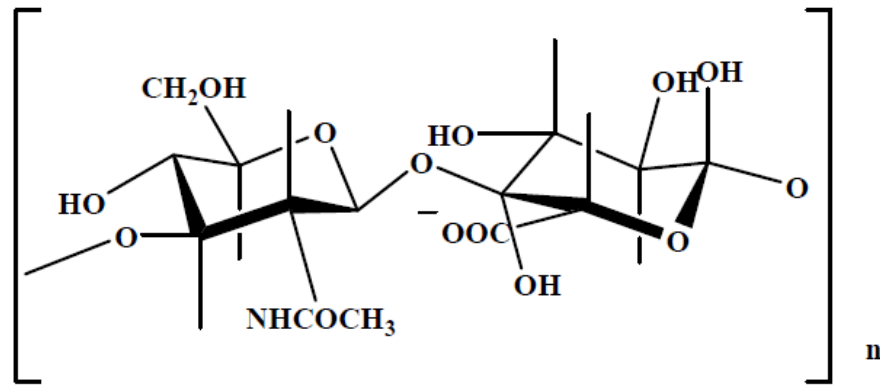


Figure 4: Structure chimique de l'acide hyaluronique (ONESIPPE., 2005).

I.2.2.2. 3.- Héparine

L'héparine peut être biosynthétisée et stockée dans les mastocytes. L'héparine est largement utilisée comme l'un des médicaments les plus anciens en clinique et joue un rôle dans de nombreux processus physiologiques et physiopathologiques tels que l'angiogenèse, l'adhésion cellulaire, la croissance cellulaire, l'inflammation et l'anticoagulation (LI *et al.*, 2018).

Il est principalement utilisé comme anticoagulant très puissant pour le traitement et la prévention des thromboses veineuses et artérielles (Thrombose) (CHOUANA, 2017).

I.2.2.2. 4.- Acide chondroïtine A, B, C

Proches l'un de l'autre; entre A et C, la seule différence est le carbone estérifié. Ce sont les principaux constituants glucidiques du cartilage, de la peau, des tendons, des os, etc. Le poids moléculaire est relativement faible, de l'ordre de 50 000 Daltons (ALAIS *et al.*, 2003).

I.2.2.2. 5.- Kéراتane sulfate

Le sulfate de kéراتane est un glycosaminoglycane largement présent dans la matrice extracellulaire de certains tissus, tels que la cornée, le cartilage et les os. Le sulfate de kéراتane est constitué d'un squelette sulfaté de poly-N-acétyllactosamine. Sa structure est formée par l'alternance d'unités N-acétyl- β -glucosamine à liaison β -galactose 3.

Bien que les deux unités puissent avoir un groupe sulfate à 0-6, cette modification se produit plus souvent dans l'unité N-acétyl- β -glucosamine.

Le sulfate de kéراتane est le seul glycosaminoglycane qui ne porte pas de résidus acides tels que l'acide glucuronique ou l'acide iduronique que l'on trouve couramment dans le sulfate de chondroïtine (figure 5) (POMIN, 2015).

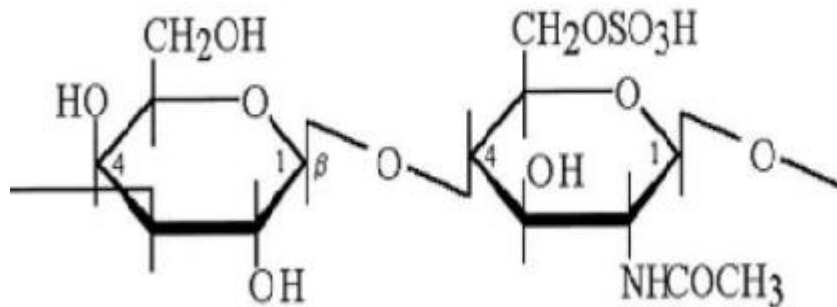


Figure 5: Structure du kératane sulfate (FRANCIS, 2000).

I.2.2.3.- Polysaccharides des algues

Chez les algues, il existe une grande variété d'unités de sucre, qu'elles soient neutres, acides ou aminés, mais un nombre limité d'unités de sucre sont généralement rencontrées dans les polysaccharides d'algues. Leurs monosaccharides sont généralement présents dans des chaînes polysaccharidiques sous forme de pyranose ou de cycles à 6 chaînons (GARON-LARDIERE, 2004).

I.2.2.3.1.- Carraghénane

Le carraghénane est actuellement le plus toxique de l'industrie alimentaire. Ils sont extraits d'algues, traités à l'eau chaude, et le produit purifié traité à l'alcool (ALAIS *et al.*, 2003).

Le carraghénane est un polysaccharide linéaire sulfaté qui constitue la paroi cellulaire des algues rouges et est utilisé comme agent de texture dans l'industrie alimentaire. Leurs squelettes sont constitués de D-galactopyranose reliés alternativement par des liaisons α (1-3) et β (1-4). La structure des motifs disaccharidiques de répétition des carraghénanes varie par la position et le nombre des groupements sulfates. Les carraghénanes ont des structures qui changent suivant les espèces d'algues dont ils sont extraits (figure 6) (CHETOUANI, 2015).

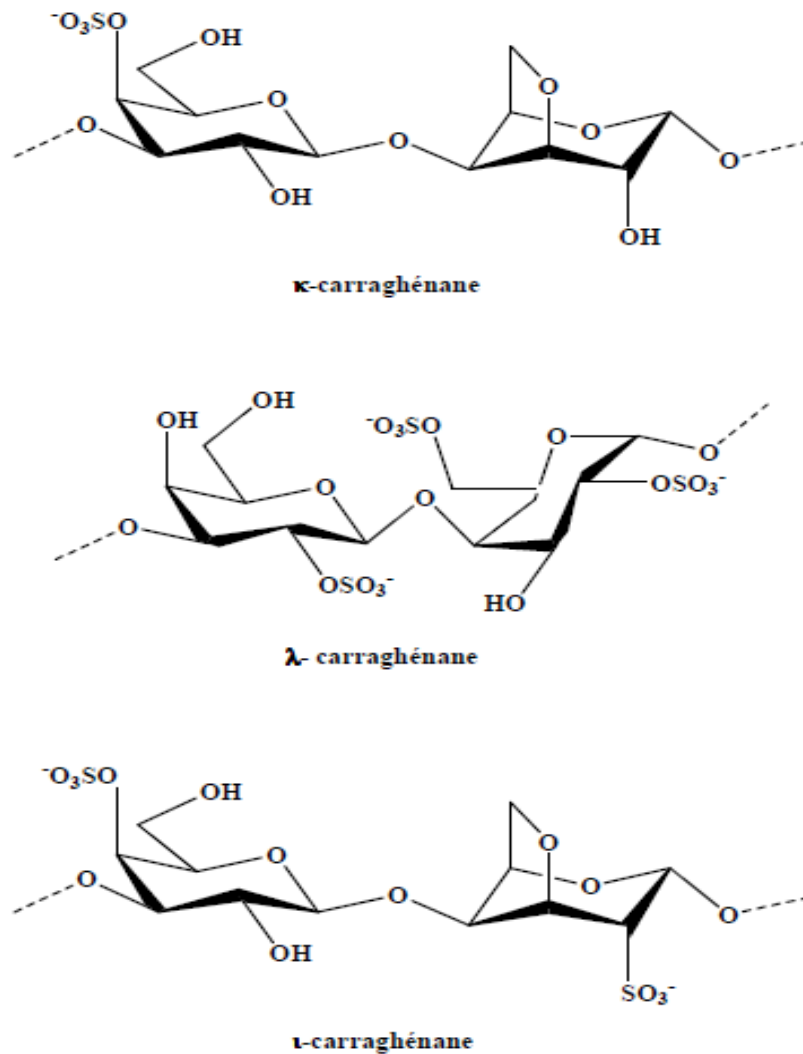


Figure 6: Structure chimique de kappa, lambda et iota carraghénanes (GUIBET, 2007).

I.2.2.3.2.- Alginates

Les alginates sont une classe de polymères anioniques naturels qui peuvent être extraits des parois cellulaires des algues brunes, notamment *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum*. L'alginate est un polysaccharide linéaire composé d'unités répétitives de résidus d'acide β-d-mannuronique lié en 1,4 (M) et d'acide 1,4-α-l-guluronique (G) (figure 7) (LI *et al.*, 2018).

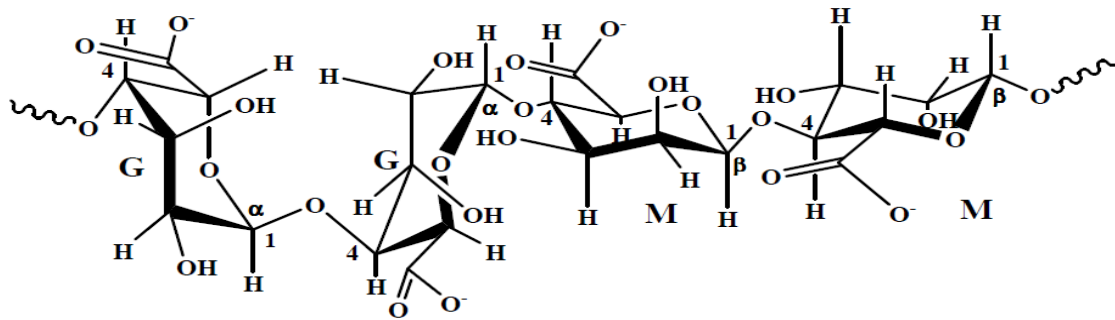


Figure 7: Structure chimique de l'Alginate (SALISU *et al.*, 2013).

I.2.2.3.3.- Fucane

Les fucanes, ou fucoïdanes, constituent une famille hétérogène de polymères à base d'unités L-fucose liées en α -(1-2) et sulfatées en 4, dont la composition va du fucose riche varie d'une molécule à une molécule pauvre. Galactose, xylose et même acide uronique (figure 8) (GARON-LARDIERE, 2004).

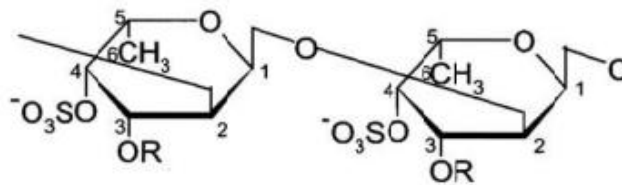


Figure 8: Structure primaire des chaînes de fucose α -(1-2) des fucane d'algue brune (GARON-LARDIERE, 2004).

I.2.2.3.4.- Agar agar

C'est un polysaccharide extrait d'algues rouges (*Chondroglobus*) et constitué d'unités D' et L-galactose associées en (1-3). Ce polysaccharide est un galactane complexe, qui est un mélange en deux parties d'agarose et d'agaropectine.

L'agar-agar est inscrit dans la catégorie des agents autorisés et utilisé par l'industrie agroalimentaire (BRUNETON, 2009).

I.2.3.- Classification selon la fonction biologique

I.2.3.1.- Polysaccharides de réserve

Les polysaccharides de réserve sont une ressource calorifique. Le plus célèbre d'entre eux est l'amidon (également appelé féculé dans certains cas), qui ne peut être synthétisé que par les plantes (RUFF, 2008).

I.2.3.1.1.- Amidon

L'amidon est un polysaccharide d'origine végétale et la principale forme de stockage du carbone végétal, constitué d'unités de glucose $C_6H_{12}O_6$. L'amidon est la principale substance glucidique de stockage des plantes supérieures. L'amidon représente une part importante des matières premières agricoles (HENNEN, 2001). L'amidon est la principale source d'énergie pour la vie animale et la moitié de l'amidon produit industriellement est consommé par l'homme. L'amidon est constitué de deux glucanes structurellement distincts, l'amylose et l'amylopectine (MARGHEM, 2009).

I.2.3.1.2.- Glycogène

Le glycogène est équivalent à l'amidon chez les animaux. Il est présent dans toutes les cellules, mais en plus grande proportion dans les cellules musculaires squelettiques et dans le foie, où il fonctionne comme un réservoir d'énergie sous forme de granules cytoplasmiques. Sa structure est similaire à l'amylopectine, sauf qu'elle est plus ramifiée et répète les 8 à 12 résidus de glucose le long de la chaîne principale en α -(1→4) (RUFF, 2008).

I.2.3.2.- Polysaccharides de structure

I.2.3.2.1.- Cellulose

La cellulose est un homoglycane formé de séquences de résidus de glucose liés en β (1→4). Cette liaison rigide donne au polymère une structure secondaire en forme de feuille, permettant l'établissement de réseaux de liaisons hydrogène intramoléculaires et intermoléculaires. Ces forces de liaison hydrogène provoquent la cristallisation des chaînes polymères pour former des fibres tridimensionnelles. En raison de cette cristallinité, malgré la nature hydrophile des monomères qui composent la cellulose, la cellulose est extrêmement résistante et insoluble dans l'eau (RUFF, 2008). Chez les végétaux supérieurs, la cellulose est synthétisée au niveau de la membrane cytoplasmique par un complexe intermembranaire appelé rosettes constitué de 36 cellulose synthésases (SOMERVILLE, 2006; COSGROVE, 2005). Les molécules de cellulose peuvent contenir plus de 10 000 résidus de glucose et atteindre des poids moléculaires de 200 000 Daltons sur une longueur de 6 à 8 μ m.

C'est le composant principal des parois cellulaires des plantes et la matière organique la plus abondante sur terre. Le coton est composé de fibres de cellulose presque pures. Combinée à d'autres polymères tels que la lignine et l'hémicellulose, la cellulose forme le bois (RUFF, 2008).

I.2.3.2.2.- Chitine

La chitine est un homopolymère de N-acétylglucosamine à liaison β (1 → 4) avec des propriétés similaires à la cellulose. Il forme la structure des coquilles d'insectes et de crustacés. Il est également présent dans les parois des champignons (RUFF, 2008).

I.2.3.2.3.- Pectine

La pectine est constituée d'une séquence de résidus d'acide galactopyranoïque liés en α (1 \rightarrow 4). Le rapport des groupes fonctionnels acides aux groupes fonctionnels ester et des groupes fonctionnels alcool aux groupes acétyle est variable. Par exemple, la pectine est le polysaccharide responsable de la texture du fruit. Au fur et à mesure que le fruit vieillit, la pectine se dégrade en ses constituants essentiels et n'exerce plus son rôle d'entretien. Les fruits ramollissent (RUFF, 2008).

I.3.- Activités biologiques des polysaccharides

I.3.1.- Activité antioxydant

Lors d'un stress oxydatif, des molécules spécifiques appelées espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont produites. Par conséquent, une organisation cellulaire endommagée peut être observée en raison de l'effet des (ROS) sur les macromolécules biologiques telles que les lipides, les protéines et les acides nucléiques (HALLIWELL et AUROMA., 1991). Maladies inflammatoires qui entraînent de nombreuses maladies telles que le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives et des lésions tissulaires graves (SALEH, 2021).

Pour lutter contre les dommages oxydatifs, des molécules antioxydants sont souvent utilisées pour protéger les cellules humaines en régulant la quantité de ROS produites. Généralement, dans l'industrie alimentaire, on utilise des antioxydants chimiques tels que le butylhydroxytoluène (BHT), la tert-butylhydroquinone (TBHQ), le gallate de propyle (PG) ou le butylhydroxyanisole (BHA) (QI *et al.*, 2005).

Les polysaccharides d'origine végétale sont des candidats prometteurs en raison de leur forte activité antioxydante, peut protéger le corps des radicaux libres et réduire les complications de diverses maladies. En raison de leur importance biologique, les propriétés chimiques des polysaccharides végétaux ont été largement étudiées pour leur large éventail d'applications, telles que les activités antitumorales, immunostimularices et antioxydantes. De plus, la présence d'antioxydants naturels capables de piéger ces (ROS) serait d'une grande aide à cet égard.

C'est le cas des polysaccharides, dont il a été démontré qu'ils protègent et inhibent les maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires causées par les radicaux libres en raison de leur activité antioxydante (SALEH, 2021).

I.3.2.- Activité antivirale

Les maladies infectieuses virales mettent gravement en danger la santé humaine. Dans la recherche de médicaments antiviraux efficaces, les chercheurs ont découvert que les polysaccharides avaient une bonne activité antivirale. Le polysaccharide, en tant que composant antiviral efficace et peu toxique, a de larges perspectives médicales et mérite des recherches plus approfondies (CHEN et HUGAN, 2018).

Les polysaccharides ont été démontrés depuis les années 1950, et les polysaccharides sulfatés d'algues ont été établis pour inhiber la réplication des virus enveloppés, y compris le virus de l'herpès simplex (HSV), le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le cytomégalovirus humain, le virus de la dengue et le virus respiratoire syncytial. Différentes espèces de microalgues peuvent produire des exopolysaccharides sulfatés, qui jouent des rôles biologiques importants en tant qu'agents antiviraux. Les polysaccharides de la médecine traditionnelle chinoise sont également utilisés depuis longtemps comme agents antiviraux, car ils peuvent améliorer et renforcer le système immunitaire en activant les macrophages pour augmenter leur capacité phagocytaire et en induisant la sécrétion d'IL-2, d'IFN- γ et d'anticorps. Les polysaccharides de microalgues possèdent également de nombreuses propriétés biologiques, telles que des activités antioxydants, antibactériennes et antivirales (SALEH, 2021).

I.3.3.- Activité anti inflammatoire

La réponse inflammatoire est un modèle de réponse de l'organisme à une attaque infectieuse, immunitaire, de type tumoral, etc. Cette réponse est généralement bénéfique, mais endommage parfois les cellules et les tissus. Le système du complément est un ensemble de protéines sériques impliquées dans la phagocytose et la lyse bactérienne (RIOUX., 2010).

Les polysaccharides naturels ont été largement utilisés dans les nanomatériaux pour contrôler la pathologie inflammatoire, et leur activité anti-inflammatoire a été testée expérimentalement. L'effet anti-inflammatoire des polysaccharides peut passer par l'un de ces mécanismes, tels que, L'activité anti-inflammatoire des polysaccharides de la médecine traditionnelle chinoise est principalement due à l'inhibition de l'expression des chimiokines et des facteurs d'adhésion, ainsi qu'aux activités des enzymes clés du processus inflammatoire. D'autres polysaccharides ont des effets inhibiteurs sur les médiateurs liés à l'inflammation tels que les cytokines (IL-1b, IL-6, TNF-a) et NO (Oxyde Nitrique), Et pour réduire l'infiltration des cellules inflammatoires, les polysaccharides sulfatés dérivés d'algues présentent des effets anti-inflammatoires en interférant avec la migration des leucocytes vers les sites d'inflammation (SALEH, 2021).

I.3.4.- Activités anti tumorales et immunomodulatrices

L'immunomodulation est l'une des activités biologiques les plus importantes des polysaccharides naturels, qui peuvent être utilisés comme immunomodulateurs ou modificateurs de la réponse biologique. Les polysaccharides immunitaires font l'objet d'une attention croissante en raison de leur large éventail de sources (y compris les champignons, les plantes et les animaux) et de leurs rôles spécifiques, et leur toxicité faible ou nulle. L'activité immunomodulatrice des polysaccharides est affectée (YUAN, 2020).

Le cancer est un problème de santé majeur et l'une des principales causes de décès dans le monde. L'activité antitumorale peut être trouvée dans de nombreux polysaccharides végétaux et marins. Une variété de polysaccharides naturels se sont révélés être des agents anti-tumoraux efficaces. Il a été rapporté que les conjugués polysaccharide-protéine ont une

activité antitumorale et peuvent également améliorer l'activité des médicaments chimiothérapeutiques conventionnels. Récemment, de nombreuses études ont démontré l'activité immunosuppressive des polysaccharides sur la croissance tumorale. Les polysaccharides d'algues sont également très importants en raison de leurs diverses activités pharmacologiques, notamment une activité antitumorale. Les polysaccharides activent les cellules effectrices telles que les macrophages, les cellules T, les cellules B, les cellules tueuses naturelles pour exprimer des cytokines telles que le TNF- α , L'IFN- γ et L'IL-1 β , qui sont toujours antiprolifératives, provoque l'apoptose et la différenciation des cellules tumorales et sécrète de l'azote réactif, des intermédiaires oxygénés, des interleukines et d'autres produits. Les nanoparticules enrobées de sucre ont montré une durée de vie de circulation plus élevée dans le sang. De plus, ils s'accumulent de manière significative dans les tissus tumoraux (SALEH, 2021).

I.3.5.- Activité anti complément

I.3.5.1.- Système de complément

Le système du complément a été découvert à la fin du 19^e siècle en tant que composant sérique sensible à la chaleur qui amplifie (ou complète) les propriétés bactéricides du sérum (MALE *et al.*, 2017). Le système de complément fait partie intégrante de la réponse immunitaire innée et agit comme un pont entre l'immunité innée et acquise (SPILLER *et al.*, 2012).

C'est un groupe de protéines synthétisées par le foie qui circulent dans le plasma et sont présentes à la surface de nombreux types de cellules en tant que récepteurs membranaires (ABUAF *et al.*, 2018).

Il reconstitue ou aide les anticorps et les phagocytes à éliminer les agents pathogènes et les cellules endommagées, favorise l'inflammation et attaque la membrane plasmique des agents pathogènes. Les protéines impliquées dans le système du complément fonctionnent ensemble comme une cascade biologique; une séquence de réactions, chacune catalyseur de la suivante (SINGH, 2015).

I.3.5.2.- Protéines du complément

Des différences existent entre les protéines spécifiques de chaque voie activée, les protéines des complexes d'attaque membranaire (complexes de clivage), les récepteurs et les protéines régulatrices (tableau 3).

I.3.5.3.- Synthèse et génétique des protéines du complément

Les protéines du complément sont principalement synthétisées par les hépatocytes, les monocytes et les macrophages, les cellules épithéliales du tube digestif et de l'appareil génito-urinaire, et les fibroblastes les demi-vies de C₃, C₄ et B sont d'environ 24 heures. Par conséquent, le complément à une synthèse rapide, reflétant une consommation permanente. Les composants C₂, C₄ et B sont codés par des gènes situés dans le gène MHC et comme les

autres composants (C₃, C₆ et C₇). La plupart des composants et certains inhibiteurs présentent des défauts génétiques (DRAGON-DUREY et FREMEAUX-BACCHI, 2006).

I.3.5.4.- Récepteurs du complément

Les récepteurs des différents composants du complément et des produits d'activation sont présentés dans le tableau 4.

I.3.5.5.- Activation du complément

L'activation du complément se fait par trois voies: La voie classique, alterne et celles des lectines. Les premières étapes du système du complément varient selon différentes voies. Cependant, toutes les voies forment des complexes enzymatiques. La convertase C3, qui clive C3 en C3a et C3b et la convertase C5, qui clive C5 en C5a et C5b. Le C3b ainsi formé se lie à la convertase C3 pour former la convertase C5. La convertase C5 produite par la voie alternative, classique ou de la lectine initie l'activation des composants tardifs du système du complément, formant des Complexes d'Attaque Membranaire (MAC) et tuant finalement les agents pathogènes. Cela se produit de trois manières: la voie classique, qui est activée par une réponse antigène-anticorps, la voie alternative, qui est activée à la surface des cellules microbiennes, et la voie des lectines liant le mannose, qui est activée par les lectines plasmatiques qui se lient aux résidus de mannose sur le micro-organisme (SINGH, 2015).

I.3.5.5.1.- Voie classique

La voie classique est initiée par des complexes antigène/anticorps IgM ou IgG liés à C1q (la première protéine de la cascade) conduisant à l'activation de C1r, qui à son tour clive C1s. Cela active à son tour les sérines protéases, conduisant au clivage de C4 et C2, entraînant la formation de C4b2a (C3 convertase), qui à son tour clive C3 en C3a et C3b. Alors que C3a agit comme un recruteur de cellules inflammatoires (anaphylatoxine), C3b se lie au complexe C4b2a pour former la convertase C5 (C4b2a3b). La convertase C5 initie la formation du Complexe d'Attaque Membranaire (MAC), qui s'insère dans la membrane en formant des pores fonctionnels dans les membranes bactériennes, conduisant à son clivage. La voie classique peut également être activée par d'autres signaux de danger tels que les protéines C- réactive, les protéines virales, les polyanions, les cellules apoptotiques et l'amyloïde, ce qui prouve que la voie classique peut être activée indépendamment des anticorps (figure 9) (SPILLER *et al.*, 2012).

I.3.5.5.2.- Voie des lectines

La voie des lectines est activée par les sucres terminaux des glycoprotéines exprimées à la surface d'une grande variété de microorganismes (mannose, N-acetyl glucosamine, fucose, glucose). Il existe une similitude avec la voie classique. La protéine de reconnaissance est ici la protéine MBL (Mannan Binding Lectin) et est associée à des sérines estérases appelées MASP 1, 2 (Mannan-Associated Serine Protéase) qui présentent une forte homologie avec C1s et C1r. L'activation suite à sa liaison à la surface d'un microorganisme, la MBL subit un changement

conformationnel, qui induit l'activation des MASPs. Une fois activées, les MASP acquièrent la capacité de cliver les protéines C4 et C2 et participent à la formation d'une C3 convertase, C4b2a, identique à celle formée à l'issue d'une activation par la voie classique. L'activation de la cascade suit alors le même cheminement que celui observé dans la voie classique (SELANDER, 2006).

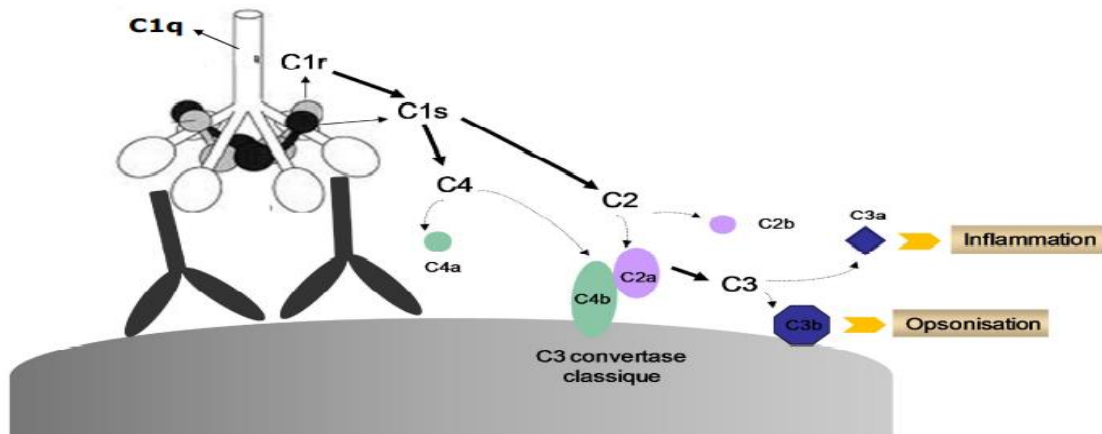


Figure 9: Activation de la voie classique (Dragon-DUREY, 2006).

I.3.5.5.3.- Voie alternative

Cinquante ans après la découverte de l'activation de la voie classique, PILLEMER *et al.* (1954) ont proposé une voie d'activation alternative très controversée. Initialement, cela a été rejeté par la communauté scientifique et n'a été accepté que plus d'une décennie plus tard. L'hypothèse de PILLEMER était basée sur des observations selon lesquelles le système du complément pouvait être activé par liaison directe de bactéries et de levures indépendamment de l'interaction avec les anticorps. Elle s'appelait à l'origine la «Voie de la Properdine» et est maintenant connue sous le nom de voie alternative (SPILLER *et al.*, 2012).

La voie alterne est activée par des substances d'origine bactérienne telles que le Lipopolysaccharide (LPS) des bactéries Gram négatives, par des bactéries Gram positives, des virus ou des cellules infectées ou transformées. Les interactions des protéines de la voie alterne aboutissent à la formation de la C3 convertase alterne (ABUAF *et al.*, 2018).

Lorsqu'une bactérie pénètre dans le corps hôte, à la suite d'une inflammation, les compléments atteignent le site, où les molécules C3 touchent directement l'antigène et deviennent actives. Dans cette voie, le sérum C3 contenant une liaison thioester instable subit une lente hydrolyse spontanée pour donner C3a et C3b (SINGH, 2015).

Lors du clivage de C3 en C3a et C3b, C3b se lie de manière covalente aux surfaces cibles par le biais de sa fraction thioester réactive. La liaison C3b est amplifiée par génération de convertases C3 sur la surface ciblée. Pour former des convertases C3 (de la voie alternative), le facteur pro-protéase B (FB) se lie à C3b lié à la surface, donnant la pro-convertase C3bB. Par la

suite, le facteur de protéase D (FD) clive C3bB, ce qui entraîne la libération du fragment pro-peptide Ba donnant le complexe C3bBb. Le complexe C3bBb est une convertase C3 qui clive C3 en C3a et C3b, ce qui amplifie l'attachement de C3b à la surface ciblée en produisant C3b localement sur la surface (GROS, 2008)

L'hydrolyse de C3 en C3 (H₂O) donne une molécule qui est fonctionnellement homologue à C3b. Autrement dit, avec FB et FD, C3(H₂O) génère C3(H₂O) Bb, qui fonctionne également comme une convertase C3. Cette convertase est considérée comme responsable du mécanisme de Tick-Over. La formation de C3(H₂O) Bb et C3bBb est indépendante des surfaces propres et étrangères. Par conséquent, l'hôte a besoin de régulateurs du complément pour protéger les cellules et les surfaces hôtes saines (SJOBERG *et al.*, 2009).

La C3 convertase alterne est un complexe enzymatique très labile qui peut être stabilisé en s'associant avec la properdine. Le premier dépôt covalent de C3b se fait de façon aléatoire mais cette voie d'activation est capable d'une auto-amplification qui est très importante pour la reconnaissance et l'élimination des pathogènes en l'absence d'anticorps spécifiques (figure 10) (CESBRON *et al.*, 2015).

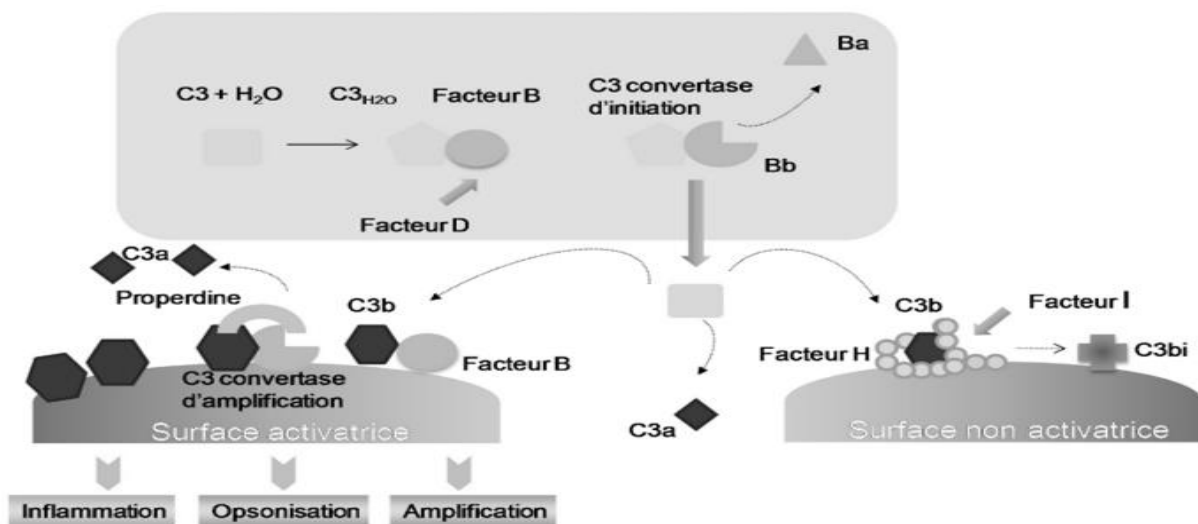


Figure 10: Activation de la voie Alterne (DRAGON-DUREY, 2016).

Tableau 3: Les composants du complément dans les différentes voies d'activation (CARROLL, 2004; GASQUE *et al.*, 1996; DRAGON-DUREY et FREMEAUX-BACCHI, 2006)

Voie d'activation	Composant C	Composant C activé	Régulateur C	Déclencheur/ Initiateur C
Voie classique	C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, C5, (C6, C7, C8, C9)	C1r, C1s, C2a, C3b, C4b, C5b	C1INH, C4-bp, CR1, DAF, MCP (CD46)	FI, C1q
Voie alterne	C3H2O, FB, FD, P, C5, (C6, C7, C8, C9)	C3b, Bb	FI, FH, CR1, DAF, MCP(CD46)	C3H2O
Voie de lectines	MBL, Ficolins, MASP-1, MASP2, C4, C2, C5, (C6, C7, C8, C9)	MASP-1, MASP-2, C4b, C2a, C5b	C1INH, C4-bp, CR1, DAF, MCP (CD46)	FI, FH, MBL/ ficolins
Terminal communlytique	C5b, C6, C7, C8, C9	C5b	Protein S (vitronectine) clusterine, protectine (CD59), HRF	C5b
			<ul style="list-style-type: none"> i. C1INH: inhibiteur du C1; ii. C4-bp: Protéine de liaison C4; iii. MBL: Mannose/ mannan binding lectin; iv. MASP: MBL-associated serine protease; v. DAF: Decay accelerating factor; vi. MCP: Membrane cofactor protein; vii. HRF: Facteur de restriction homologue; viii. CR1: Récepteur 1 du complément. 	

Tableau 4: Récepteurs des composants du complément et de leurs produits d'activation (SINGH, 2015).

Récepteur C (CR)	Exprimé sur	Nature	Ligand Composant C/ produit d'activation
CR1 (CD35)	Érythrocytes, granulocytes, cellules B, lymphocytes T, FDC, podocytes glomérulaires.	Glycoprotéine membranaire poly-morphe de 160-280 kDa	C3b, C4b, iC3b
CR2 (CD21)	Cellules B, thymocytes, FDCs, cellules épithéliales	Glycoprotéine de 140 kDa	iC3b, C3dg, C3d, C3b
CR3 (CD11b/ CD18)	Monocytes, neutrophiles, éosinophiles, lymphocytes, macrophages tissulaires, érythrocytes, cellules NK	Hétérodimère d'une chaîne α (165 kDa) et d'une chaîne β (95 kDa) associées de manière non covalente.	iC3b, C3dg, C3d
CR4 (CD11c/ CD18)	Neutrophiles, monocytes, éosinophiles, lymphocytes B et Tc activés, macrophages tissulaires, cellules NK.	Hétérodimère de chaîne α (150 kDa) et de chaîne β (95 kDa) associées de manière non covalente.	iC3b, C3dg
CR5	Neutrophiles, plaquettes	Protéine de 95 kDa	C3d, C3dg dimère
C1qRp	Monocytes, neutrophiles, lymphocytes, plaquettes	Glycoprotéine de 126 kDa	Fragment de collagène C1q
gC1Qr	Plaquettes, cellules endothéliales, éosinophiles	Glycoprotéine de 33 kDa	Tête globulaire de C1q
cC1Qr	Cellules Raji	Glycoprotéine de 60 kDa	Queue collagène C1q
C3a/4aR	Basophiles, mastocytes, éosinophiles, cellules musculaires lisses, cellules B	Protéine de 57kDa	C3a, C4a
C5aR (CD88)	Basophiles, mastocytes, éosinophiles, neutrophiles, cellules musculaires lisses, cellules T, hépatocytes, cellules endothéliales	Oligomères de glycolprotéine de 47 kDa	C5a, C5a des Arg
FHR	Cellules B, monocytes, neutrophiles	Protéine de 170 kDa	FH

Le système du complément est l'un des systèmes de défense immunitaire importants du corps humain, mais une activation excessive peut entraîner diverses maladies, telles que la polyarthrite rhumatoïde, le Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS), etc. Jusqu'à présent, il n'y a pas de médicament de sur activation du système du complément idéal. Des inhibiteurs du complément à haute efficacité et à faible toxicité sont nécessaires de toute urgence dans la pratique clinique (JIN, 2016).

Il existe de nombreuses études sur les inhibiteurs naturels du complément tels que les polysaccharides, les acides phénoliques, les protéines, les flavonoïdes et les stéroïdes isolés à partir de produits animaux, végétaux et microbiens. Il a été démontré qu'un certain nombre de molécules synthétiques, notamment le sulfate de dextran, le mésilate de nafamostat (FUT-175) et la compstatine, inhibent l'activation du système du complément. En outre, de nombreuses études ont également rapporté que les polysaccharides sulfatés dans les algues brunes inhibent l'activation du complément. Des études de structure et d'activité suggèrent que les polysaccharides sulfatés sont des candidats potentiels pour le criblage des inhibiteurs du système du complément. Les algues contiennent de nombreux polysaccharides différents et non toxiques. De plus, ils contiennent également des polyanions, majoritairement substitués par des sulfates, qui sont différents des polysaccharides des plantes terrestres (JIN, 2016).

Dès 1989, un polysaccharide à effet anti-complémentaire évident de *Bupleurum* a été obtenu. Un nouveau polysaccharide, D3-S1, a été obtenu, qui a également un effet anti-complémentaire significatif sur *Bupleurum*. D3-S1 a un fort effet inhibiteur sur l'activation de la voie classique du complément et de la voie alternative du complément, et son effet anti-complément est significativement plus fort que celui de l'héparine et n'a pas d'effet anti-coagulation, indiquant que le polysaccharide D3-S1 a une bonne perspective d'application. De plus, un acide galacturonique polysaccharide rhamnose acide avec une activité de fixation du complément a été obtenu à partir de *Panax notoginseng*, et un -glucane avec une certaine activité anti-complément a été isolé à partir de lichen. Trouver des composés bioactifs anti-complément à partir de polysaccharides naturels est devenu un autre point chaud de la recherche (SHI, 2016).

Le terme activité anti-complémentaire se rapporte à l'inhibition induite par l'hémolyse due à l'interaction entre les protéines du complément et un principe actif.

En général, ces tests ne font pas la distinction entre l'activation ou l'inhibition du système du complément, mais ils démontrent que le système du complément est affecté par certains composants actifs tels que les polysaccharides (KRAUS et FRANZ., 1992).

I.3.6.- Activité antibactérienne

Le terme "agent antibactérien" fait référence à toute substance utilisée pour détruire ou empêcher la croissance de micro-organismes, y compris les agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies infectieuses et prévenir les infections (CCE, 2001). Les modes d'action de ces agents sur les bactéries peuvent être: bactériostatique, lorsque la substance inhibe la reproduction bactérienne ou

bactéricide: lorsque la substance détruit complètement la bactérie. En général, les bactéries GRAM- sont plus résistantes que les bactéries GRAM+ en raison de la structure de leur membrane interne (OUIS, 2015).

I.3.7.- Activité prébiotique

Le terme prébiotique a été récemment introduit par GIBSON et ROBERFROID pour désigner des additifs ou des composants alimentaires non digestibles qui ont des effets bénéfiques sur l'hôte en stimulant sélectivement la croissance ou l'activité de certaines bactéries dans le côlon (DUPONT, 2011).

Par conséquent, le concept de prébiotiques est défini par certains critères, tels que la résistance à l'acide gastrique, l'hydrolyse par les enzymes du tube digestif des mammifères et l'absorption gastro-intestinale (SAAD *et al.*, 2013). Ou comme LAPARRA et SANZ (2010) mentionnent trois critères pour mesurer l'efficacité des prébiotiques:

- (1) La résistance à l'acidité de l'estomac et aux activités enzymatiques du système digestif.
- (2) La possibilité d'être fermenté par les micro-organismes de la flore intestinale.
- (3) La modulation et la stimulation de la croissance des bactéries bénéfiques au niveau de l'intestin.

I.3.8.- Activité anti diabétique

Environ 415 millions de personnes vivaient avec le diabète en 2015, et ce nombre devrait atteindre 640 millions d'ici 2040, ce qui en fait l'un des problèmes médicaux les plus insolubles au monde. Il s'agit d'une maladie métabolique multifactorielle caractérisée par une hyperglycémie due à une sécrétion anormale d'insuline (ZHANG *et al.*, 2017).

Un certain nombre d'inhibiteurs de l'alpha-glucosidase disponibles dans le commerce (Acarbose et Miglitol) sont utilisés pour traiter cette maladie (PASCALE *et al.*, 2018; SHONEKAN *et al.*, 2018).

Le diabète est la maladie (ou syndrome) endocrinienne la plus fréquente. Le diabète non insulino-dépendant (type 2, adipodiabète ou personnes âgées) apparaît plus tardivement et est largement équilibré par des glucides hypocaloriques avec ou sans prise de médicaments associés. Le dernier type de diabète peut être traité avec des plantes médicinales (GBEKLE *et al.*, 2017).

Les traitements oraux couramment utilisés peuvent être subdivisés en deux catégories: les hypoglycémiantes (sulfonylurées et dérivés de l'acide benzoïque) et les antihyperglycémiantes (biguanides, inhibiteurs de l'alpha-D-glucosidase et thiazolidinediones) (BISHT *et al.*, 2013).

L' α -D-glucosidase de mammifère, située sur la bordure en brosse de la surface de la membrane cellulaire intestinale, est l'enzyme clé qui catalyse la dernière étape du processus de digestion des glucides. Par conséquent, les inhibiteurs de l' α -D-glucosidase peuvent

retarder la libération de glucose à partir des glucides complexes alimentaires et retarder leur absorption, réduisant ainsi la glycémie postprandiale et supprimant l'hyperglycémie postprandiale (ZHANG et LI., 2015).

Parmi ces inhibiteurs: l'Acarbose, le Miglitol et le Voglibose sont des inhibiteurs compétitifs de l'alpha-D glucosidase intestinale, en retardant la digestion et l'absorption de l'amidon et des disaccharides dans le diabète de type 2 Abaisse la glycémie postprandiale. Cependant, ces inhibiteurs se caractérisent par leurs effets secondaires tels que flatulences, diarrhée, douleurs abdominales, élévation des enzymes hépatiques et malnutrition (BISHT *et al.*, 2013).

I.4.- Généralités sur *Bifurcaria bifurcata* (Cystoseiraceae)

I.4.1.- Présentation de la famille des Cystoseiraceae

Cystoseira appartenait à 1820 par AGARDH dans ses espèces d'algues. Le nom vient d'une caractéristique morphologique, la présence de flotteurs (Cysto-) sont disposés en chaînes (-Seira) sur les cellules de ces algues. Néanmoins, le descriptif d'AGARDH s'appuie uniquement sur la copie d'éléments, et ne détaillait que les caractères majeurs des réceptacles. Types connus aujourd'hui *Fucus concatenatus* L. par *Cystoseira fœniculacea* (Linnaeus) GREVILLE en 1829 par BACHELOT de la Pylaie (JEGOU, 2011).

I.4.2.- Position systématiques de la famille des Cystoseiraceae

La position systématique du genre Cystoseira ne s'est guère stabilisée au cours des deux derniers siècles. Inclus à l'origine dans un groupe très large, les « Fucophytes », puis les Sargassoaceae. Après un aller-retour taxonomique, le genre a été retiré pour intégrer une nouvelle famille, et lui a donné le nom: Cystoseiraceae. Des travaux récents en biologie moléculaire l'ont à nouveau réintégré dans les Sargasses (JEGOU, 2011).

D'autre part, cette famille constitue plusieurs genres comme nous avons décrit précédemment, et parmi ces genres on trouve: *Bifurcaria* et *Cystoseira*.

I.4.2.1.- Genre *Bifurcaria*

Le genre *Bifurcaria* est peu différencié, avec seulement 3 espèces enregistrées, qui sont endémiques à la région. Ainsi, *Bifurcaria galapagensis* (PICCONE & GRUNOW) WOMERSLEY est endémique des îles Galapagos (WOMERSLEY, 1964), et *Bifurcaria brasicaeformis* BARTON ne se trouve qu'en Afrique du Sud (CHO *et al.*, 2006) et une troisième espèce du genre *Bifurcaria bifurcata* R. Ross se trouve uniquement sur la côte atlantique de l'Europe et de l'Afrique du Nord-Ouest (KLERVI, 2014).

Le genre *Bifurcaria* est particulier parmi les Cystoseiraceae car son rhizome fixateur est vivace et adhère aux rochers par de petits disques. De ce rhizome basal naissent des branches dressées et cylindriques avec un motif de ramification caractéristique. Tous les autres genres à axe végétatif dressé ont perdu leur rhizome au cours de leur évolution

(Cystoseira) et les genres à rhizomes (Acystis, Platithalia, Stolonophora) ont des ramifications fortement comprimées (AINANE, 2011).

Le genre *Bifurcaria* comprend trois espèces:

- *Bifurcaria bifurcata*, présente en Atlantique nord.
- *Bifurcaria brassicaeformis*, qui est endémique d'Afrique du sud.
- *Bifurcaria galapagensis*, qui est endémique des îles Galapagos.

Ces espèces se distinguent par la forme de leurs ramifications, mais toutes ont une organisation radiale. Elles se développent dans la zone littorale inférieure (AINANE, 2011).

I.4.2.1.1.- *Bifurcaria bifurcata*

I.4.2.1.1.1.- Synonymies

Fucus tuberculatus, *Fucus bifurcatus*, *Pycnophorus tuberculatus*, *Cymaduse tuberculata*, *Fucodium tuberculatum*, *Bifurcaria tuberculata* et *Bifurcaria rotunda* (AINANE, 2011).

I.4.2.1.1.2.- Description

Les thalles cylindriques, de couleur verdâtre à brune, non iridescents et pouvant atteindre 45 cm de long s'élèvent à partir d'un rhizome rampant tuberculeux fixé par des disques circulaires de petite taille. Simples dans leur partie inférieure, ils se ramifient vers le haut. Les rameaux ainsi formés apparaissent subdichotomes ou alternés distiques. Ils se terminent en général par des réceptacles cylindriques et boursouflés. C'est une algue vivace qui fructifie en général de novembre à janvier. Toutes ces caractéristiques sont sujettes à variations car le développement de *Bifurcaria bifurcata* est influencé par divers facteurs.

La saison est le facteur le plus déterminant, mais la position bathymétrique et géographique intervient également, provoquant des décalages dans les différents stades (AINANE, 2011).

La période de reproduction de *B. bifurcata* se situe durant la période hivernale, les réceptacles se forment à l'extrémité des rameaux durant l'automne. L'espèce est monoïque, et présente des conceptacles hermaphrodites (Observations personnelles), (KLERVI, 2014).

I.4.2.1.1.3.- Caractérisation de *Bifurcaria bifurcata*

Bifurcata est une algue, dans laquelle ses frondes (partie dressée d'une macroalgue) adhèrent aux rochers au moyen d'un petit disque. Il a une taille moyenne (30 à 50 cm), formant des touffes de couleur brun jaunâtre. Affiche une forme cylindrique, contenant des branches à ramification dichotomique.

Parfois, l'un des segments est plus grand que l'autre, en raison d'une croissance irrégulière. Les extrémités des branches se transforment, au printemps, en réceptacles où sont renfermés les réceptacles hermaphrodites (PEREIRA, 2009; JULIEN, 2008).

C'est une algue propre, car exempte d'épiphytes. Il forme des populations denses dans son habitat naturel, de couleur brun jaunâtre. Lorsqu'il est sec, il a une teinte foncée, due à la perte de pigmentation résultant du processus de séchage.

Déshydratation. Cette espèce est pérenne, étant très abondante sur la côte portugaise, en particulier sur la côte nord et centre. En termes de distribution mondiale, c'est une espèce que l'on trouve sur la côte atlantique, du Maroc (limite sud) à l'Irlande du Nord.

Du fait de sa large répartition, on constate qu'il s'agit d'une espèce résistante, du fait des diverses conditions climatiques qu'elle peut supporter (EL HATTAB *et al.*, 2008; MARIE SKEWES, 2008).

En termes d'habitat, *B. bifurcata* peut être trouvée dans la zone supra littorale dans les endroits semi-exposés et dans la zone médiolittorale dans les bassins de marée (PEREIRA, 2009; CAMPBELL et NICHOLLS., 1994).

I.4.2.1.1.4.- Classification botanique

Domaine: Biota Endl. (D.Don)

Règne: Chromista Cavalier-Smith, 1981

Sous-Règne: Harosa Cavalier-Smith, 2010

Infra-Règne: Heterokonta Cavalier-Smith, 1986

Phylum: Ochrophyta Cavalier-Smith, 1995

Sous-Phylum: Phaeista Cavalier-Smith, 1995

Infra-Phylum: Limnista Cavalier-Smith, 1995

Super-Classe: Fucista Cavalier-Smith, 1995

Classe: Phaeophyceae Kjellman, 1891

Sous-Classe: Fucophycidae Cavalier-Smith, 1986

Ordre: Fucales Bory, 1827

Famille: Cystoseiraceae, 1843

Genre: *Bifurcaria* Stackh, 1809

Espèce: *Bifurcaria bifurcata* R. Ross, 1958

Chapitre II.-
Matériel et Méthodes

II.- Matériel et méthodes

II.1.- Principe d'étude

Le système du complément fonctionne principalement comme la première ligne de défense contre les infections pathogènes (NORIS et REMUZZI., 2013). L'activation incontrôlée ou involontaire de ce système via la voie alternative, et avec manque des traitements, peut causer des divers pathologies compliquées (VALENZUELA *et al.*, 2000). Depuis l'introduction du médicament le plus cher au monde; Eculizumab; dans la thérapie de nombreuses maladies impliquant la physiopathologie de la voie alternative du complément (ACP), le besoin non satisfait de réaliser des tests ACP simples et abordables pour tous les pays est devenu l'un des défis majeurs de la médecine contemporaine (KERBOUA et DJENOUHAT., 2020). Pour cette raison la recherche vise de nouveaux principes actifs d'origine naturelle comme les substances isolées à partir des plantes et des algues, puisque ces substances représentent près de 60 % des médicaments dont nous disposons (SHI, 2016). Parmi ces biomolécules les polysaccharides qui jouent des rôles multiples et possèdent un immense potentiel dans les secteurs de la santé, de l'alimentation et des cosmétiques, en raison de leurs effets thérapeutiques et de leur toxicité relativement faible (SHI, 2016). Ils ont une variété d'activités biologiques, y compris l'activité anti tumorales, antivirales et anti-inflammatoires (SHI, 2016), immun modulateur (HUO *et al.*, 2020), antioxydants, anticoagulant, hypoglycémiant (BOUAL *et al.*, 2015) anti-ulcère, immunostimulante et anti-complément (CHEN *et al.*, 2010).

La recherche sur le complément est généralement effectuée dans le sérum et repose sur deux types de tests: l'analyse immunochimique qui permet de quantifier divers composants du complément et les tests fonctionnels basés sur la recherche sur la réaction hémolytique sur l'activité hémolytique de l'ensemble ou des composantes du complément (FREMEAUX-BACCHI *et al.*, 1994). Et compte tenu de ces propriétés pharmacologiques des polysaccharides ils peuvent être utilisés dans le domaine de la phytothérapie du système immunitaire comme des anti-compléments pour valoriser ces substances bioactives des algues traditionnellement utilisées comme médicaments pour diverses maladies (XIA *et al.*, 2019). Cette étude recherche l'activité anti-complément des polysaccharides extraits d'une algue. Il s'agit de *Bifurcara bifurcata* R. Ross. L'étude de l'activité anti-complément des polysaccharides *in vitro* vise à déterminer la capacité de ces biomolécules à inhiber la lyse des globules rouges causée par le complexe d'attaque membranaire formée après l'activation de la voie alterne du complément.

L'objectif de notre étude est de montrer le pouvoir inhibiteur obtenus des polysaccharides isolés de *Bifurcara bifurcata* vis-à-vis le système du complément et de confirmer que ces molécules inhibent la voie alterne du complément d'une manière dose dépendante comme le cas de plusieurs études antérieures afin d'avoir une idée sur les limites de la plage des concentrations correspondantes aux taux d'inhibition optimales expérimentalement.

II.2.- Matériel d'étude

II.2.1.- Solvants et réactifs

La nature, l'origine, la masse molaire, la densité, la pureté des solvants et des réactifs et le matériel utilisés au cours de ce travail sont indiquées dans le tableau 5-6.

II.2.1.1.- Solutions tampons

Les solutions utilisées dans ce test, (ACP); tampon de la voie alterne qui contient le PBS/EGTA/Mg⁺⁺ dont les portions (10/1/1 V/V) d'un pH neutre (JEONG *et al.*, 2004), (PBS); solution saline tamponnée au phosphate (ETAL, 1991).

La nature, la concentration, le rôle, la composition et la méthode de préparation des solutions, de MgCl₂, et d'HCl, NaOH et EGTA utilisées dans la préparation des solutions tampons sont indiquées dans le tableau 7.

II.2.1.1.1.- Tampon de la voie alterne (ACP), pH neutre

Est du PBS contenant 100mM d'acide éthylène glycol-bis (β-aminoéthyl éther) N, N', N'-tétraacétique (EGTA) et 7 mM MgCl₂; La voie alterne ne nécessite pas des ions Ca²⁺ pour l'activation, mais elle nécessite des ions Mg²⁺ (JEONG *et al.*, 2004; KERBOUA et DJENOUHAT., 2020). Ainsi, l'activation de la voie alternative se fait en présence de Mg⁺⁺/EGTA, qui chélate les ions de Ca²⁺, donc la voie classique est bloquée par ce réactif (JEONG *et al.*, 2004).

II.2.1.1.1.1.- Mode opératoire

1. Dans un bécher contenant 500ml du PBS ajouter 50ml d'EGTA à concentration 100 mM et 50ml de MgCl₂ à concentration 7mM pour obtenir l'ACP: PBS/EGTA/ MgCl₂ dont les portions **10/1/1 V/V**;
2. Marquer toutes les bouteilles clairement, en écrivant l'état de stérilité (stérile/non stérile) et la date de préparation sur l'étiquette;
3. Stocker à température ambiante.

II.2.1.1.2.- Tampon PBS, PH 7,4

La solution saline tamponnée de phosphate (PBS) est une solution isotonique qui est utilisée dans de nombreuses applications de recherches biologiques. Elle est composée de 8g Chlorure de sodium NaCl (137Mm), 0,2g de Chlorure de potassium KCl (2,7mM), 0,2g de Dihydrogénophosphate de potassium anhydre KH₂PO₄ (1,5mM), et 0,92g d'Hydrogénophosphate disodique anhydre Na₂HPO₄ (8,1mM) (SERVAIS *et al.*, 1991; YOUNG *et al.*, 2012).

II.2.1.1.2.1.-Mode opératoire

Le tampon PBS (Phosphate Buffer Salin) PH:7,4 est préparé selon YOUNG *et al.* (2012) et SERVAIS *et al.* (1991), comme il est indiqué ci-dessous.

1. Peser tous les sels et placer dans un bécher et introduire le barreau magnétique;
2. Ajouter 800ml d'eau distillée aux sels;
3. Placer le bécher sur l'agitateur magnétique et une fois que tous les sels sont dissous, ajuster le volume de la solution au volume 1000ml;
4. Ajuster le pH de la PBS à pH 7,4 avec de l'HCl 1N;
5. Répartir le PBS dans des bouteilles et autoclaver à 121°C pendant 20 minutes et marquer toutes les bouteilles clairement, en écrivant l'état de stérilité (stérile/non stérile) et la date de préparation sur l'étiquette;
6. Stocker à température ambiante.

II.2.1.2.- Gel d'agarose

II.2.1.2.1.- Mode Opérateur

Le gel d'agarose est préparé selon (KERBOUA et DJENOUHAT., 2020; VALENZUELA *et al.*, 2000), comme il est indiqué ci-dessous;

1. Chauffer le stock d'agarose à 2 % et, à l'aide d'une pipette stérile prélever un volume de 12,25 ml dans des flacons et conserver à 56°C;
1. Ajouter les 9.8ml du tampon ACP réchauffé (56°C) à chaque bouteille d'agarose fondu et laisser refroidir l'agarose dilué à 45°C.

Tableau 5: Origine et type des appareils utilisés au cours de l'expérimentation.

Appareils	Fournisseur	Type	Fabrication
Agitateur magnétique	VELP CSIENTIFICA	F20520162	EUROPE
Autoclave	WEBECO	WEBECKE. P: 2.5BAR, T:138Oc	/
Bain marie	MEMMERT	MEMMERTGMBH. NENNTEMP;95 0C	GERMANY
Balance	OHAUS	DISCOVERY DV 215CD OHAUS	USA.
Etuve	MELAG	MELAG815.220V, 50HZ, 12.3A, 2700w.	GERMANY
Hotte	TEL STAR	TELSTAR AV-100. MODELE50/60 HZ, 0.6KW.	SPAIN
Micropipette	SOCOREX	ACURA 821. 200-1000ML	SWIS
pH mètre	WTW	WTW.D-82362. PH 1970.	GERMANY

Tableau 6 : Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques

Produits	Fournisseur	Caractéristiques				
		Forme	Formule chimique	M. molaire g/mol	Densité g/cm ³	Pureté %
Chlorure de magnésium hydrate	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Poudre	MgCl ₂ 6H ₂ O	203,30	2.32	98
Chlorure de potassium	EDEN LABO	Poudre	KCl	74.55	1.98	99
Chlorure de sodium	SIGMA ALDRICH	Poudre	NaCl	58.44	2.16	99.5
Hydroxyde de sodium	EDEN LABO	Poudre	NaOH	39.997	2.13	99
Méthanol	SCHARLAU	Poudre	CH ₃ OH	32.04	0.79	99.9
Acide tri-fluoro-acétique(TFA)	SIGMA ALDRICH	Liquide	CF ₃ COOH	114,02	1,49	99.8
Phosphate de potassium dibasique	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Poudre	KH ₂ Po ₄	136.09	2.338	99
Hydrogénophosphatedisodiqueanhydre	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Poudre	Na ₂ HPo ₄	141,96	1.63	99.5
Chlorured'hydrogène	SIGMA- ALDRICH	Liquide	HCl	36,458	1.19	37
Ethylène Glycol Bis (β-aminoethylether)-N, N, N', N'-tetraaceticacid)	SIGMA- ALDRICH	Poudre	C ₁₄ H ₂₄ N ₂ O ₁₀	380,35	1.4	97
Gel d'agarose		Liquide				

Tableau 7: Caractéristiques physicochimiques et origine des produits chimiques (suite)

Solution	Molarité	Nature	Etat	Rôle	Méthode de préparation
EGTA	100Mm	Acide	Stérile	Ethylène Glycol Bis (β -aminoethylether)-N, N, N', N'-tetraaceticacid) avec des ions Mg^{2+} ne chélate que le Ca^{2+} et bloque spécifiquement la voie classique.	Ajouter 3,8g à environ 20ml d'eau distillée dans un bécher, placer le bécher sur l'agitateur magnétique puis compléter jusqu'à le volume final de 100ml. Ajuster le pH avec l'HCl à pH 8. Stériliser à l'autoclave, et marquer les bouteilles clairement, en écrivant l'état de stérilité et la date de préparation sur l'étiquette. Stocker à température de 4°C pendant ~1 mois (MORGAN, 2000).
HCl	1N	Acide	Non Stérile	Ajustement de PH	Cette solution est préparée en mélangeant 4,165 ml de l'HCl (12N) avec 45,835ml de l'eau distillée.
NaoH	0,1M	Base	Nom stérile	Ajustement de PH	Pour la préparation de 100ml de solution d'hydroxyde de sodium 0,1M il est nécessaire de dissoudre 0,4g de NaoH dans un 100ml d'eau distillée.
MgCl₂6H₂O	7Mm	Saline	Stérile	Source des ions Mg^{++}	Dissoudre 0,1423g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ de masse molaire dans 80ml d'eau distillée et ajuster le volume à 100ml. Répartir en aliquotes et autoclaver.

II.2.2.- Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé est constitué des polysaccharides isolés d'une algue, *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. Le sang est prélevé à partir des individus sains.

II.2.2.1.- Sang

Le sang est prélevé à partir des volontaires sains, âgé de 20 à 50 ans (CHUNG *et al.*, 2011; XI *et al.*, 2012), le jour même de son utilisation au niveau de laboratoire AMEL à OUARGLA. L'absence d'antigène HBs, d'anticorps anti-VIH et d'anticorps anti-VHC est vérifiée. Ainsi, le groupage des patients est confirmé (CHUNG *et al.*, 2011; XI *et al.*, 2012).

II.3.- Méthodologie d'étude

II.3.1.- Activité anti complément des polysaccharides par la technique hémolytique AP100

II.3.1.1.- Principe du test

La technique d'AP100 est une technique hémolytique réalisée sur gel et utilise les érythrocytes humain, afin d'explorer la fonction de la voie alterne du complément par la mesure de la lyse des érythrocytes humain causée par le sérum humain normal; SHN (ROSAIN *et al.*, 2014; SERVAIS *et al.*, 1991). Le dosage d'AP100 apprécie l'activité fonctionnelle globale de la voie alterne sur des boîtes d'agarose- érythrocytes humain, en mesurant la lyse des érythrocytes en présence du sérum contenant les éléments du complément dans des conditions expérimentales limitée où seulement la voie alterne est initiée et étudiée (FREMEAUX-BACCHI *et al.*, 2012). Les dosages hémolytiques y' compris l'AP100 permettent de mesurer l'activité fonctionnelle des protéines du complément (FREMEAUX-BACCHI *et al.*, 2012). Les tests hémolytiques consistent à déterminer le volume du sérum de patient capable d'entraîner un certain taux de lyse d'un nombre donné de globules rouges estimé à partir des zones d'hémolyse après la diffusion radiale (FREMEAUX-BACCHI *et al.*, 2012). En ce qui concerne l'AP100, le taux de lyse des érythrocytes par les éléments de la voie alterne du complément est de 100 % comme le nom l'indique (FREMEAUX-BACCHI *et al.*, 2012). Le dosage hémolytique par la technique AP100 nous permet d'évaluer la capacité de certaines substances d'origine naturelle ayant des activités biologiques, comme les polysaccharides, à moduler la voie alterne de système du complément.

II.3.1.2.- Mode opératoire

II.3.1.2.1.- Prélèvement du sang

Selon (MEDAILLE *et al.*, 2005), les principales étapes de prélèvement sanguin sont les suivants;

1. Repérer la veine, nettoyer la peau à l'alcool à 70°;

2. Piquer dans la veine puis perforer le bouchon du tube pour y recueillir le sang;
3. Dès que le sang commence à couler dans le 1^{er} tube, relâcher le garrot;
4. Retourner le tube 2 ou 10 fois pour mélanger le sang à l'anticoagulant ou à l'activateur de coagulation et éviter l'hémolyse;
5. Eliminer l'aiguille dans un container rigide pour objet contaminés piquants ou tranchants;
6. Bien comprimer la veine au niveau de la ponction et poser un pansement;
7. Identifier les tubes.

II.3.1.2.2.- Préparation des hématies pour le test AP100

Les hématies sont obtenues selon la méthode décrite par (SERVAIS *et al.*, 1991; YOUNG *et al.*, 2012; KERBOUA et DJNOUHAT., 2020). Prélever 4 ml du sang des volontaires sains âgés de 20-50 ans;

1. Verser le sang dans le flacon ou dans les tubes à centrifugation contenant l'anticoagulant et faire tourner doucement le tube pour mélanger le sang;
2. Remplir le flacon avec le tampon ACP et mélanger doucement;
3. Centrifuger à 500g pendant 10minutes pour sédimenter les globules rouges;
4. Aspirer le surnageant le jeter;
5. Remplir le flacon ou le tube à centrifugation avec l'ACP;
6. Remettre les cellules en suspension et centrifuger à nouveau pendant 10minutes à 500g, jeter le surnageant et remplir le tube à centrifugation par l'ACP;
7. Mélanger doucement pour remettre les cellules en suspension et centrifuger pendant 10minutes à 500g, aspirer le surnageant, et le jeter;
8. Ajouter 6 ml d'ACP au culot de globules rouges pour obtenir une suspension finale de globules rouges de 10 %;
9. Mélanger doucement pour remettre les globules en suspension, transférer la suspension de globules rouges dans une bouteille avec bouchon à vis, l'étiqueter et la stocker à 4°C.
10. Lors de l'utilisation des hématies, placer la suspension cellulaire dans un bain-marie à une température de 46°C.

II.3.1.2.3.- Obtention des sérums

Les sérums humains sont établis à partir des volontaires sains (âgés de 23-53 ans) par ponction lieu, sans additifs. Après 30 mn à 37°C, le coagulum est formé. Le sérum est séparé de la coagulation par centrifugation à 2000 rpm pendant 10 mn (MICHAELSEN *et al.*, 2000).

II.3.1.2.4.- Préparation de solution mère et dilution des polysaccharides

Une solution mère de concentration 1mg/ml de l'extrait des polysaccharides issus de l'algue étudiée est préparée par l'ajout de 1ml de l'hydrolysate de concentration 10mg/ml à 9ml de l'eau distillée. Les dilutions des polysaccharides 200 µg/ml, 400 µg/ml, 600 µg/ml, 800 µg/ml, et 1000 µg/ml sont par la suite préparées dans le tampon ACP, voir tableau 8.

Tableau 8: Méthode de dilution des polysaccharides de *Bifurcaria bifurcata* R. Ross (Cystoseiraceae)

Concentration (µg/ml)	0	200	400	600	800	1000
Solution mère (µl)	0	200	400	600	800	1000
Tampon ACP (µl)	1000	800	600	400	200	0

II.3.1.3.- Technique hémolytique AP100 et étude de l'activité anti complément

II.3.1.3.1.- Préparation des boîtes d'AP100

1. Mélanger le gel, avec 2ml de la suspension de globules rouge 10% préparée précédemment à 45°C;
2. Verser le mélange dans les boîtes Pétri et éliminez les bulles;
3. Refroidir les boîtes à 4°C pendant 10minutes et percer des trous à l'aide d'une pipette pasteur à au moins 1cm de distance à fin d'obtenir 7puitts et conserver les boîtes à 4°C au réfrigérateur.

L'étude de l'inhibition de la voie alterne du système de complément par les polysaccharides en utilisant la technique hémolytique AP100 basée sur l'incubation dans des boîtes de Pétri, est précédée par trois étapes essentiel.

II.3.1.3.2.- Préparation du contrôle négative, SHN

Le contrôle négatif représenté par le sérum humain normal (SHN) prélevé à partir des donneurs adultes en bonne santé comme source du système du complément (HUO *et al.*, 2020; JIN *et al.*, 2020).

II.3.1.3.3.- Préparation du contrôle positif, héparine

Les polysaccharides sulfatés notamment l'héparine, modulent un certain nombre de fonctions biologiques et présentent des activités antiadhésives et anti-inflammatoires. Les propriétés anti-inflammatoires des polysaccharides sulfatés sont médiées en partie par leur capacité à interférer avec la fonction du système de complément où l'héparine inhibe l'activation des deux voies classiques et alterne. L'héparine est un glycosaminoglycane poly

anionique (BLONDIN *et al.*, 1994; JIN *et al.*, 2020). utilisé comme contrôle positif en raison de ses fortes propriétés anti complément in vitro (LIU *et al.*, 2018).

La solution d'héparine utilisée pour notre étude est d'une concentration de 1000 µg/ml et qui est sa dose inhibitrice de la voie alterne du complément (WANG *et al.*, 2016). La solution de contrôle positif est préparée par dilution d'une solution initiale de 50 mg/ml en utilisant le tampon ACP: PBS/EGTA/Mg⁺⁺.

III.3.1.4.- Exploration du test anti complément AP100

III.3.1.4.2.- Incubation

L'incubation des mélanges réactionnels du test anti complément; polysaccharides, héparine et SHN est effectuée dans des boîtes Pétri d'AP100 déjà préparées (GAO *et al.*, 2013). Les boîtes du test hémolytique AP100 contenant les mélanges réactionnels; polysaccharides avec SHN, héparine avec SHN et tampon avec SHN ont été ensuite incubés dans une chambre humide à la température ambiante pendant 24 heures pour permettre une meilleure diffusion radiale des composants du sérum sur le gel (GAO *et al.*, 2013).

Les puits dans chaque boîte d'AP100 ont été préparés avec les quantités suivantes pour;

1. Echantillon: 25µl de solution des polysaccharides de *Bifucaria bifurcata* R. Ross.
2. Contrôle positif: 25µl de l'héparine; 1000µg/ml;
3. Contrôle négatif: 25µl du SHN.

III.3.1.4.3.- Calcul

Les zones de lyse obtenues après l'incubation sont mesurées en utilisant un pied à coulisse électronique pour effectuer les mesures de surface de lyse, pourcentage de lyse et taux d'inhibitions.

1. Surface de la lyse

La surface de la lyse est calculée selon l'équation $S = r^2 \times \pi$ où; **D**: diamètre des zones de lyse, **r**: le rayon des zones de lyse ($r = D/2$), π : 3,14.

$$S = r^2 \times \pi$$

2. Pourcentage de la lyse

Le Pourcentage de la lyse est calculé en multipliant x 100 le résultat de division de la surface lyse de chaque mélange sur la surface de lyse du SHN

$$\% \text{ de lyse} = (S_{\text{polysaccharides ou héparine}} / S_{\text{SHN}}) \times 100$$

3. Taux d'inhibitions

Les % de l'inhibition sont calculés comme suivant: 100% - % de lyse de la voie alterne de complément pour chaque fraction des polysaccharides testée.

$$\% \text{ d'inhibition} = 100\% - \% \text{ de lyse polysaccharides ou héparine}$$

Chapitre III.-

Résultats et discussion

III- Activité anti complément des polysaccharides via le test AP100

Le test hémolytique AP100 explore la fonction de la voie alterne du complément en mesurant la lyse des érythrocytes humain; par le complément; en présence de sérum humain normal dont le but est de déterminer la dilution de sérum capable de provoquer 100% de la lyse des hématies (FREMEAUX-BACCHI *et al.*, 2012). Le test anti complément via la technique AP100 vise à déterminer la concentration des polysaccharides capable d'inhiber 100% la lyse des hématies provoquée par le complément contenu dans le SHN en utilisant l'héparine comme contrôle positif.

Les pourcentages de l'inhibition de la lyse des hématies provoquée par l'activation de la voie alterne du complément en présence des polysaccharides issus de *Bifurcaria bifurcata* et l'héparine sont représentés dans la figure 11.

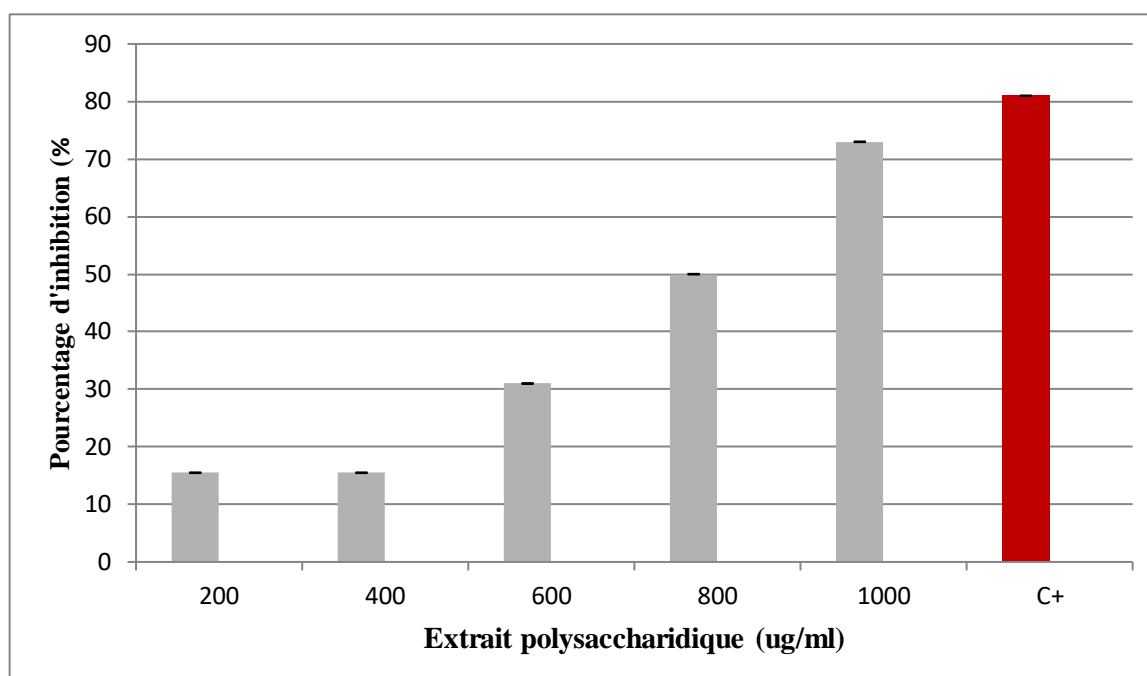


Figure 11: Pourcentages de l'inhibition de la lyse des hématies par le complément contenu dans le sérum humain normal en présence des polysaccharides et en utilisant l'héparine comme contrôle positif

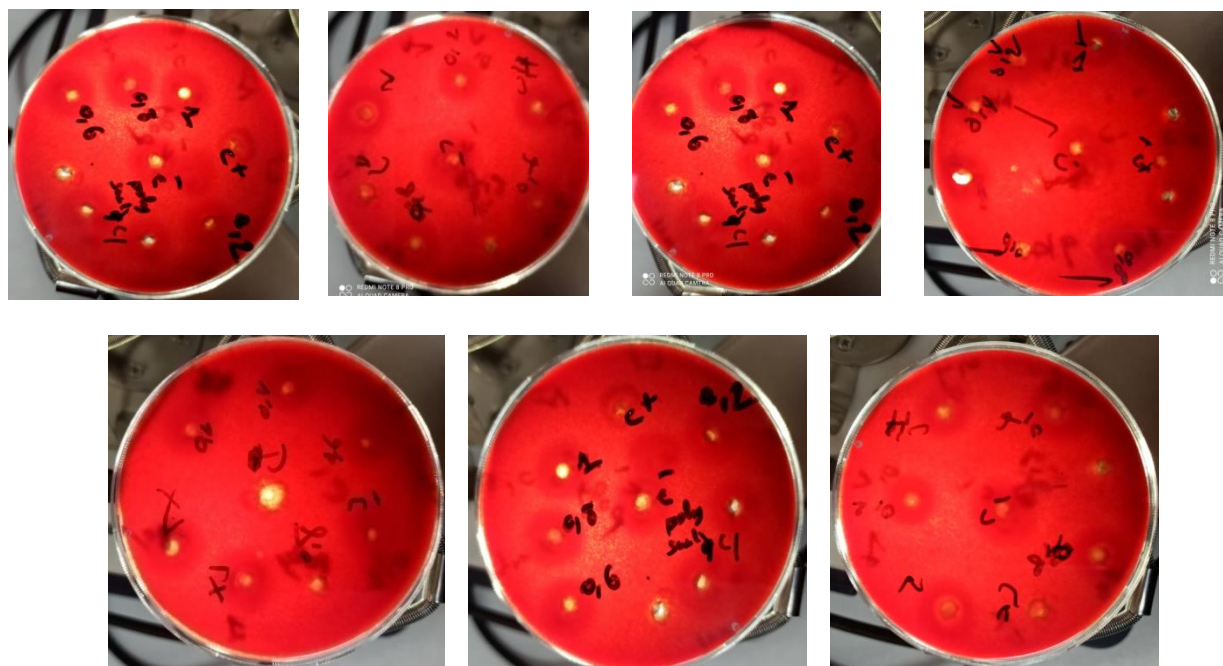


Figure 12: Test AP100; Inhibition de la lyse des hématies par le complément contenu dans le sérum humain normal en présence des polysaccharides et en utilisant l'héparine comme contrôle positif.

Les résultats obtenus avec le test de détermination du pouvoir de l'inhibition de l'activité de complément via la voie alterne en utilisant la technique hémolytique fonctionnelle AP100 montrent que les polysaccharides extraits de *Bifurcaria bifurcata*, présentent une activité anti-complément. Où l'effet des polysaccharides issus de l'hydrolyse de *Bifurcaria bifurcata* sur l'activation de système du complément humain par la voie alterne a été examiné dans le SHN dilué à 1:6 et l'héparine a été utilisée comme référence. Les polysaccharides ont bloqué l'hémolyse des érythrocytes de manière dose-dépendante dont les pourcentages d'inhibition obtenus sont de l'ordre de 15,5 %, 31 %, 50 % et 73 % correspondant respectivement aux concentrations 200 µg/ml, 400 µg/ml, 600 µg/ml, 800 µg/ml, 1000 µg/ml. Le contrôle positif; l'héparine a bloqué aussi la lyse des hématies et a présenté une inhibition de 81 % avec la concentration de 1000 µg/ml. Le taux d'inhibition de la voie alterne du complément par l'héparine semble relativement élevé à celle des polysaccharides de *Bifurcaria bifurcata* à 1000 µg/ml.

Au vu des études antérieures de l'activité anti-complémentaire des polysaccharides étaient réalisées en milieu liquide par la technique AP50, le même principe étant de déterminer la concentration du polysaccharide provoquant 50% d'inhibition de l'hémolyse. XIE *et al.* (2007) ont montré que l'héparine avec une concentration 150 µg/ml est capable d'inhiber 69% de l'hémolyse en milieu liquide. Ce pourcentage est inférieur à ce de l'héparine testé dans cette étude, soit 81% à 200 µg/ml. D'autre part, l'étude de XU *et al.* (2007) montre que l'héparine à une concentration 150 µg/ml capable de bloquer l'hémolyse des érythrocytes de manière dose-dépendant avec un pourcentage très élevée de 96%.

Selon les résultats obtenus de l'étude de WANG *et al.* (2017), montre que l'héparine à 150 µg/ml capable d'inhiber 95.15% de l'hémolyse des érythrocytes et ce pourcentage est très proche de l'étude de XU *et al.* (2007).

L'héparine de concentration 150 µg/ml capable d'inhiber 60% d'après l'étude de ZHANG *et al.* (2015), ce résultat est très proche des résultats de XIE *et al.* (2007).

En comparant nos résultats aux études antérieures, l'inhibition de l'activité de complément via la voie alterne en utilisant la technique hémolytique fonctionnelle AP100 montrent que le contrôle positif; l'héparine a bloqué aussi la lyse des hématies et a présenté une inhibition de 81% avec la concentration de 1000 µg/ml. Le taux d'inhibition de la voie alterne du complément par l'héparine semble relativement moyen à celle des études antérieures de XIE *et al.* (2007); XU *et al.* (2007); WANG *et al.* (2017); ZHANG *et al.* (2015).

Cette différence peut s'expliquer par l'effet anticoagulant de l'héparine est moins net en plasma riche en plaquettes qu'en plasma dépourvu de plaquettes. Ce la tient au fait que les plaquettes activées relèguent, à partir de leurs granules α , le facteur 4 plaquettaire (F4P). Le F4P possède une forte affinité pour l'héparine et il en neutralise l'activité, selon HAMEDA BENCHEKROUN (2010).

Des études précédentes ont rapporté une grande variation dans l'activité anticomplément des polysaccharides hydrosolubles de *Kjellmaniella crassaifolia* (Laminariaceae), algue brune, les résultats de ZHANG *et al.* (2015) ont montré le grand pouvoir anticomplémentaire avec pourcentage d'inhibition de l'hémolyse en présence de polysaccharides est de 92% pour une concentration de 200 µg/ml de l'extrait polysaccharidique. Cette valeur est très élevée par rapport à la valeur que nous avons obtenue à une concentration de 200 µg/ml, soit 15.5%, par contre l'étude de LING (1995) sur les extraits de l'herbe *Ephedra sinica* présenté une inhibition de 16% avec la concentration 200 µg/ml, ce pourcentage est proche du pourcentage d'inhibition de *Bifurcaria bifurcata*.

ZHANG *et al.* (2015) ont signalé que les polysaccharides issus de l'algue brune *Kjellmaniella crassifolia* (Laminariaceae) ont des pourcentages d'inhibition très élevée soit 92% pour une concentration 400 µg/ml. Et JIN *et al.* (2020) trouve que l'extrait polysaccharidique de macroalgue brune *Sargassum hemiphyllum* aussi a un fort pouvoir inhibiteur de l'activité anticomplément via la voie alterne, qui a montré une inhibition de 90%

à une concentration de 400 µg/ml. Cette inhibition est plus supérieure à celle des polysaccharides de *Bifurcaria bifurcata*, soit 15.5% pour la concentration de 400 µg/ml.

XU (2007) montre que le D3-S1, polysaccharide issus des racines de *Bupleurum smithii* a un fort pouvoir inhibiteur. Cette inhibition est de 96.33% à la concentration de 600 µg/ml. Les activités anti-complémentaires du polysaccharide homogène (D3-S1) et de l'héparine sur la voie alternative sont tous deux bloqué l'hémolyse des érythrocytes de manière dose-dépendante. D3-S1 a probablement montré la même puissance que l'héparine pour inhiber la voie alternative, cette résultat est très proche de LING (1995), qui a montré que l'extrait de l'herbe *Ephedra sinica* capable d'inhiber 98% de l'hémolyse à concentration de 600 µg/ml, par contre l'extrait polysaccharidique a cette concentration de *Bifurcaria bifurcata* inhibe 31% de l'activité anticomplément via la voie alterne.

D'après WANG (2017) le polysaccharide EAP20-1 extrait de l'herbe médicinale *Eclipta prostrate* bloque l'hémolyse des érythrocytes de manière dose-dépendante a concentration 1000 µg/ml qui ont entraîné une inhibition de 88 %. De plus, EAP20-1 est aussi efficace que l'héparine pour inhiber le complément par la voie alterne. Ce pourcentage et proche de ce de *Bifurcaria bifurcata* à 1000 µg/ml.

Selon les résultats obtenus, on a constaté que les polysaccharides extrait de *Bifurcaria bifurcata* R. Ross ont un effet inhibiteur important sur le complément via la voie alternative.

Conclusion et Perspectives

Conclusion

Le test de l'activité anticomplémentaire révélé par la mesure du pouvoir inhibiteur de l'activité anticomplément via la voie alterne, montre que l'extrait polysaccharidique de *Bifurcaria bifurcata* R. Ross présente un pouvoir inhibiteur modéré par rapport à l'héparine considéré comme contrôle positif. Il est de 73% pour une concentration maximale de 1000 µg/ml d'extrait polysaccharidiques. Il est remarqué que pour cet extrait polysaccharidique, les pourcentages d'inhibitions augmentent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations, donc à dose dépendante.

Malgré des recherches intensives sur ses polysaccharides, il existe encore peu d'études comparant leurs grandes quantités. Il sera donc intéressant d'identifier et de caractériser de nouvelles activités biologiques des polysaccharides, notamment ceux d'origine algale, pour accroître leur utilisation en médecine naturopathique et en alimentation.

À la fin de notre étude, nous espérons utiliser nos découvertes pour participer à la promotion de la médecine traditionnelle afin de fournir des anti-inflammatoires à base d'algues efficaces et facilement disponibles.

Grâce à cette enquête, nous fournissons de nouvelles données préliminaires importantes sur les propriétés anti-complémentaires des polysaccharides dérivés des *Bifurcaria bifucata* R. Ross. Par conséquent, d'autres études sont nécessaires pour mieux comprendre et expliquer le mécanisme d'action de ces biomolécules.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- 1) **Abuaf N.**, Adotévi O., Amé-Thomas, P., André, C., Arnulf, B., Aucouturier, P., & Weiss, L., 2018.- Immunologie fondamentale et immunopathologie: Enseignements thématique et intégré-Tissu lymphoïde et sanguin/Immunopathologie et immuno-intervention. Elsevier Health Sciences.
- 2) **Addoun N.**, 2020.- Caractérisation et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Septentrional Est Algérien).
- 3) **Ainane T.**, 2011.- Valorisation de la biomasse algale du Maroc: Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*.
- 4) **Alais C.**, Linden G & Miclo L., 2003.- Chapitre 3: Glycannes. Biochimie Alimentaire. Ed, Dunod, Paris. p: 33-51.
- 5) **Alais C.**, Linden G., et Miclo L. 2008.- Biochimie alimentaire. 6eme Ed: Dunod. P: 40.
- 6) **Atalla R.**, Isogai. A.- «Celluloses», Comprehensive Natural Products II, (2010), 6(16), pp.493-539.
- 7) **Barbosa A.**, M Dekker R. F., & Giese E. C. 2010.- Bioactive oligosaccharides production, biological functions and potential commercial applications. Biotechnology in Agriculture, Industry and Medicine Binding: Softcover, 60.
- 8) **Benchekroun N. H.** 2010.- Héparines et héparinoïdes: données de littérature (Doctoral dissertation).
- 9) **Benaoun F.**, Delattre C., Boual Z., Ursu A., Vial C., Gardarin C., *et al.* 2017.- Structural characterization and rheological behavior of a heteroxylan extracted from *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) seeds. Carbohydrate polymers 175:96-104.
- 10) **Benaoun F.**, 2018.- Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) et *Urgine anoctiflora* Batt.Trab.
- 11) **Benasla A.**, 2012.- Production d'exopolysaccharides par des souches de lactobacilles. thèse de magister .université d'Oran .80p.
- 12) **Bisht S.**, Kant r et Kumar V., 2013.- α -d-Glucosidase inhibitory activity of polysaccharide isolated from *Acacia tortilis* gum exudate. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 59: 214–220.
- 13) **Blondin C.**, Fischer E., Boisson-Vidal C., Kazatchkine M. D., & Jozefonvicz J., 1994. - Inhibition of complement activation by natural sulfated polysaccharides (fucans) from brown seaweed. Molecular immunology, 31(4), 247-253.
- 14) **Beamont S.**, 2015.- Biochimie. UA1. 1 ère année santé. 4ème Ed: Ediscience. P:52.

- 15) **Boual Z.**, Kemassi A., Michaud P., & Ould el hadj I M. D., 2011.- Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*asphodelus tenuifolius* cavan (liliaceae): Effet prébiotique des oligosaccharides issus de l'hydrolyse des polysaccharides. Algerian journal of arid environment.
- 16) **Boual Z.**, Chouana T., Kemassi A., Hamid Oudjana A., Daddi Bouhoun M., Michaud P., *et al.* 2015.- Chemical composition et bioactivity of water-soluble polysaccharides from leaves of *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae).
- 17) **Bruneton J.**, 2009.- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4eme Ed. P: 40-59.
- 18) **Bruneton J.**, 2009.- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème Ed: Lavoisier.P: 45.
- 19) **CCE.**, 2001.- Commission des Communautés Européennes: propositions de la commission en matière de lutte contre la résistance antimicrobienne. Bruxelles, vol 885.
- 20) **Charles A.**, Guy L et Laurent M., 2008.- Biochimie alimentaire .2eme édition. Dunot, Paris pp41-45.
- 21) **Chen L.**, & Huang G., 2018.- The antiviral activity of polysaccharides and their derivatives. International journal of biological macromolecules, 115, 77-82
- 22) **Chen M.**, Wu J., Shi S., Chen Y., Wang H., Fan H., & Wang S., 2016.- Structure analysis of a heteropolysaccharide from *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz. and anticomplementary activity of its sulfated derivatives. Carbohydrate Polymers, 152, 241-252.
- 23) **Chen R.**, Meng F., Liu Z., Chen R., & Zhang M., 2010.- Antitumor activities of different fractions of polysaccharide purified from *Ornithogalum caudatum* Ait. Carbohydrate Polymers 80(3):845-851.
- 24) **Chérif W.**, El Bour M., Dali Yahia-Kefi O., & Ktari L., 2011.- Screening de l'activité anti-microfouling d'algues vertes récoltées sur la côte nord tunisienne. Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô, Vol. 38, 2011.
- 25) **Chetouani A.**, 2015.- Elaboration et Bio évaluation de nouvelles classes d'hydrogels à base de pectine avant et après son oxydation par le periodate et/ou par le chlore actif et étude de leurs effets sur les comportements physico-chimiques et biologiques de la gélatine et du ch.
- 26) **Chouana T.**, 2017.- Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge* (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne (2017-2020)).
- 27) **Chouana T.**, 2019.- Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge*.
- 28) **Chung I.M.**, Kim E.H., Kim J.J., & Moon H.I., 2011.- Inhibition effects of the classical pathway complement of isolated compounds from *Quercus glauca*. Human & experimental toxicology 30(9):1415-1419.

- 29) **Cosgrove D.J.**, 2005.- Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6: 850-861.
- 30) **Covis.**, 2011.- Chapitre1: Les polysaccharides neutres. Synthèse de polysaccharides amphiphiles à partir de dextrane et application à la stabilisation d'émulsions directe et inverses. Ed, Nncy Université INPL. P 27.
- 31) **Dawson A .E. E.**- Some observations on *Cystoseira foeniculacea* (L.) Grev. Emend. Sauvageau. *New Phytologist*, 1941, 40, 316-325
- 32) **Diallo D.**, Paulsen B., Liljebäck T., & Michaelsen T., 2001.- Polysaccharides from the roots of *Entada africana Guill.* ET Perr., (Mimosaceae), with complement fixing activity. *Journal of Ethnopharmacology* 74(2):159-171.
- 33) **Dimopoulou M.**, 2013.- Les polysaccharides de la bactérie lactique *Oenococcus oeni*, de l'élucidation de leurs structures et voies de biosynthèse à leur valorisation technologique (Doctoral dissertation, Bordeaux 2).
- 34) **Dragon-Durey M-A.**, Fremeaux-Bacchi V., 2006.- Déficits en protéines du complément en pathologie humaine. *La Presse Médicale* 35(5):861-870.
- 35) **Dupont C.**, 2011.- Probiotiques et prébiotiques. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*. Vol: 14(2). P: 77-81.
- 36) **Dupont F.**, Guignard J.L., 2012.- Botanique: Les familles des plantes. Elsevier Masson, 15ème édition, 336 p.
- 37) **Du D.**, Lu Y., Cheng Z., & Chen D., 2016.- Structure characterization of two novel polysaccharides isolated from the spikes of *Prunella vulgaris* and their anticomplement activities. *Journal of ethnopharmacology* 193:345-353.
- 38) **Embuscado M. E.**, Huber K. C.; -«Edible Films and Coatings for Food Applications». Springer. New York. 2009, pp. 82.
- 39) **Ezzariga N.**, 2015.- Applications thérapeutiques et effets secondaires.
- 40) **Fabregues B.**, 1989.- Le dromadaire dans son milieu naturel. *Revue Elev. Médit. Vét. Pays trop.* 42 (1)., 127-132 p.
- 41) **Feldmann J.**- Les algues marines de la côte des Albères. *Revue Algologique*, 1937, 9, 1-197.
- 42) **Forneris F.**, Ricklin D., Wu J., Tzekou A., Wallace R. S., Lambric J. D., & Gros P. 2010.- Structures of C3b in complex with factors B and D give insight into complement convertase formation. *Science*, 330(6012), 1816-1820.
- 43) **Francis J. K.**, and Matthew H. W. T. 2000.- Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. *Biomaterials*, vol (21): 2589-2598.

- 44) **Frémeaux-Bacchi V.**, Ngo S., Bordereau P., Poulain N., Roncelin S., Blouin J., Roumenina LT., Dragon-Durey M-A. 2012. Exploration du complément: actualités 2012. *Revue Francophone des Laboratoires* 2012(444):31-37.
- 45) **Garon-lardiere S.**, 2004.- Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales), thèse de doctorat université de Bretagne occidentale. 211p.
- 46) **Gao H.W.**, Zhang M.m., Liu Y.l., Xu Q.m., & Yang S.I., 2013. Anticomplement activity of ginsenosides from *Panax ginseng*. *Journal of Functional Foods* 5(1):498-502.
- 47) **Gbekley E. H.**, Agbodeka K ., Karou S. D., Anani K., Adjrah Y., Toudji G., Ameyapoh B., Simpore J., And Gbeassor M., 2017.,- «Composés bioactifs isolés des plantes à propriété anti-diabétique: Revue de littérature /Isolated bioactive plant compounds with anti-diabeticproperty». *International Journal of Innovation and Applied Studies*, Vol. 19:839-849.
- 48) **Guibet M.**, -«Analyse structurale des carraghénanes par hydrolyse enzymatique», (2007), Thèse de Doctorat. Université de Bretagne Occidentale. France.
- 49) **Guilloton M.**, Quintard B et Gallet P. 2013.- *Biochimie*. 3eme Ed: Dunod, Paris. P: 100-104.
- 50) **Gros P.**- The complement system1.
- 51) **Hammami N.**, Bengara A., Bargougui K., Ayedi H., Ben abdalleh F., Belghith K. 2018.- Improved in vitro antioxidant and antimicrobial capacities of polysaccharides isolated from *Salicornia arabica* vol 120: 2123–2130.
- 52) **Hennen G.** 2001.- Chapitre 2: Les matériaux biologique de base. *Biochimie 1er cycle cours et questions de révision*. Ed, DUNOD. Paris. P 14-18.
- 53) **Halliwell B.**, Auroma O.I., 1991.- DNA damage by oxygen-derived species. *FEBS Letters* 28: 9-19.
- 54) **Jeong S.C.**, Cho S.P., Yang B.K., Gu Y.A., Jang J.H., Huh T.L., *et al.* 2004.- Production of an anti-complement exo-polymer produced by *Auricularia auricula-judae* in submerged culture. *Biotechnology Letters* 26(11):923-927.
- 55) **Jégou C.**, 2011.- Étude du genre *Cystoseira* des côtes bretonnes: taxinomie, écologie et caractérisation de substances naturelles (Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale).
- 56) **Jin W.**, Zhang W., Liang H., & Zhang Q., 2015.- The structure-activity relationship between marine algae polysaccharides and anti-complement activity. *Marine drugs*, 14(1), 3.

- 57) **Jin W.**, Zhang W., Liang H., Zhang Q., 2016.- The structure-activity relationship between marine algae polysaccharides and anti-complement activity. *Marine drugs* 14(1):3.
- 58) **Jin W.**, Fang Q., Jiang D., Li T., Wei B., Sun J., & Zhong W., 2020.- Structural characteristics and anti-complement activities of polysaccharides from *Sargassum hemiphyllum*. *Glycoconjugate Journal*, 37(5), 553-563.
- 59) **Kerboua K.**, & Djenouhat K., 2020.- Semi-solid phase assay for the alternative complement pathway activity assessment (AP100). *Journal of Immunoassay and Immunochemistry* 41(2):144-151.
- 60) **Kouassi M.C.**, 2017.- Polysaccharides fonctionnalisés par des composés d'origine naturelle aux propriétés antioxydantes et antibactériennes.
- 61) **Kraus J.**, Franz G., 1992.- Immunomodulating Effects of Polysaccharides from Medicinal Plants. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 319: 299-308.
- 62) **Laparra J.M.**, Sanz Y., 2010.- Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *Pharmacological Research* 61: 219-225.
- 63) **Le Lann K.**, 2014.- Etude de la biodiversité des Sargassaceae (Fucales, Phaeophyceae) en milieux tempéré et tropical: écologie, chimiotaxonomie et source de composés bioactifs.
- 64) **Lee S. M.**, Kim J. H., Zhang Y., An R. B., Min B. S., Hyouk J., & Hyeong Kyu L., 2003.- Anti-complementary activity of protostane-type triterpenes from *Alismatis rhizoma*. *Archives of pharmacal research*, 26(6), 463-465.
- 65) **Lee S.**, Lee H., Kim S., & Shin K.S., 2018.- Immunostimulatory and anti-metastatic activity of polysaccharides by products of the corn starch industry. *Carbohydrate polymers* 181:911-917.
- 66) **Li M.**, Wang K., Wen X., Chen X., He Z., Ni Y., 2018.- Optimization of ultrasound-assisted extraction of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) polysaccharides based on response surface methodology and antioxidant activity. *Int J Biol Macromol* .Vol:114. P: 1056-1063.
- 67) **Ling M.**, Piddlesden S. J., & Morgan B. P., 1995.- A component of the medicinal herb *Ephedra* blocks activation in the classical and alternative pathways of complement. *Clinical & Experimental Immunology*, 102(3), 582-588.
- 68) **Liquan Y.**, & Li-Ming Z., 2009.- Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*.
- 69) **Li Q.**, Niu Y., Xing P., & Wang C. 2018.- Bioactive polysaccharides from natural resources including Chinese medicinal herbs on tissue repair. *Chinese medicine*, 13(1), 1-11.

- 70) **Liu H.**, Wang J., Zhang Q., Zhang H., 2018.- The effect of different substitute groups and molecular weights of fucoidan on neuroprotective and anticomplement activity. *International journal of biological macromolecules* 113:82-89.
- 71) **Male D.**, Brostoff J., Roth D.B., et Roitt I., 2007.- Immunologie. Elsevier, 7 édition, 587p.
- 72) **Marouf A.**, Gérard T.R., 2009.- Abrégé de biochimie Appliqué .Edition EDP science: 20- 21.
- 73) **Mao W.J.**, Fang F., Li HY., Qi XH., Sun HH., Chen Y., Guo S.D., 2008.- Heparinoid-active two sulfated polysaccharides isolated from marine green algae *Monostroma nitidum*. *Carbohydrate Polymers*. 74:834–839.
- 74) **Margham R.**, 2009.- Chapitre 1: Les glucides des végétaux. Élément de la biochimie végétale. Ed, Bahaeddine. Constantine. P 13-40.
- 75) **Médaille C.**, Briend-Marchal A., & Braun J.-P., 2005.- Prélèvement sanguin. *EMCVétérinaire* 2(1):1-13.
- 76) **Mel Hattab M.**, Ben Mesaaoud M., Daoudi A., Ortalo-Magné G., Culioli R., Valls L., Pioveti., 2008.- ‘‘Trihydroxylated linear diterpenes from the brown alga *Bifurcaria bifurcata* (Fucales, Phaeophyta)’’, *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol 36, pp 484-489.
- 77) **Michaelsen T.**, Gilje A., Samuelsen A., Høgåsen K., & Paulsen B., 2000.- Interaction between human complement and a pectin type polysaccharide fraction, PMII, from the leaves of *Plantago major* L. *Scandinavian Journal of Immunology* 52(5):483-490.
- 78) **Mohammed A.S.A.**, Naveed M., & Jost N., 2021.- Polysaccharides; classification, chemical properties, and future perspective applications in fields of pharmacology and biological medicine (a review of current applications and upcoming potentialities). *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8), 2359-2371.
- 79) **Munoz J.**, Culioli G., & Kock M., 2012.- Linear diterpenes from the marine brown alga *Bifurcaria bifurcata*: a chemical perspective. *Phytochem Rev* (2013) 12:407–424.
- 80) **Nesargikar P.**, Spiller B., & Chavez R., 2012.- The complement system: history, pathways, cascade and inhibitors. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 2(2), 103-111.
- 81) **Nizamuddin M.**- Classification and the Distribution of the Fucales. *Botanica Marina*, 1962, 4, 191-203.
- 82) **Noris M.**, & Remuzzi G., 2013.- Overview of complement activation and regulation. In *Seminars in nephrology* (Vol. 33, No. 6, pp. 479-492). WB Saunders.
- 83) **Onesippe C.** -«Etude des systèmes polyelectrolyte /tensioactif en phase aqueuse et a l’interface liquide / gaz», (2005), Thèse de Doctorat. Université Montpellier II. France.
- 84) **Ouis N.**, 2015.- Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil, et de persil. thèse doctorat. Université Oran1.

- 85) **Oucif H.**, 2018.- Valorisation des algues de la cote ouest algérienne: potentiel antioxydant et hormonal.
- 86) **Pascale R.**, Bianco G., Cataldi T., Kopplin P., Bosco F., Vignola L., Jenny U., Lucio M. and Milella L., 2018.- Mass spectrometry-based phytochemical screening for hypoglycemic activity of *Fagioli di Sarconi* beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, vol. 242:497-504.
- 87) **Patterson C.**, 2008.- Polysaccharide (d'origine végétale) pour la santé de l'intestin. A. Agriculture et Agroalimentaire Canada., 1-3 p.
- 88) **Pandey R.**, 2014.- Molecular and Ayurvedic biology of inflammation 2014. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 5(2), 129.
- 89) **Pal A.**, Das D., Sarkar A. K., Ghorai S., Das R., & Pal S., 2015.- Synthesis of glycogen and poly (acrylic acid)-based graft copolymers via ATRP and its application for selective removal of Pb²⁺ ions from aqueous solution. *European Polymer Journal*, 66, 33-46.
- 90) **Persin Z.**, Stana-Kleinschek K., Foster T.J., Van Dam J.E.G., Boeriu C.G., Navard P., 2011.- Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. *Carbohydrate Polymers*. 84 (2011) 22–32.
- 91) **Petera B.**, 2017.- Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de *Cereus triangularis*.
- 92) **Prajapati V. D.**, Maheriya P. M., Jani G. K., & Solanki H. K., 2014.- RETRACTED: Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate polymers*, 105, 97-112.
- 93) **Pomin V. H.**, 2015.- Sulfated glycans in inflammation. *European journal of medicinal chemistry*, 92, 353-369.
- 94) **Puissochet S.**, 2016.- Rôles des défenses immunitaires associées au système du complément dans les pathologies buccales (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- 95) **Qingxia Y.**, Hong L., Ziyi W., Kunling L., Chenghai G., Yonghong L., *et al.* 2020.- Isolation, structures and biological activities of polysaccharides from *Chlorella*: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2204.
- 96) **Qi H.**, Zhang Q., Zhao T., Chen R., Zhang H., Niu X., 2005.- Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) *in vitro*. *International Journal of Biological Macromolecules* 37: 195-199.
- 97) **Rioux L. E.** 2010.- Caractérisation structurale et évaluation de l'activité biologique de polysaccharides extraits de *Saccharina longicuris*.

- 98) **Rousseau F.**, Leclerc M. & De Reviere B. -Molecular phylogeny of *European Fucales* (Phaeophyceae) based on partial large-subunit rDNA sequence comparisons. *Phycologia*, 1997, 36, 438-446.
- 99) **Rousseau F.** & De Reviere B.- Phylogenetic relationships within the *Fucales* (Phaeophyceae) based on combined partial SSU+LSU rDNA sequence data. *European Journal of Phycology*, 1999, 34, 53-64.
- 100) **Ruff Y.**, 2008. Biopolymers dynamiques: oligo-et polysaccharides. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg. 308 p.
- 101) **Samuelsen A.**, Paulsen B., Wold J., Knutsen S., & Yamada H., 1998.- Characterization of a biologically active arabinogalactan from the leaves of *Plantago major* L. *Carbohydrate polymers* 35(3-4):145-153.
- 102) **Sablonnière B.**- Avec des enseignants de médecine et le collège national des facultés. 2006.- Biochimie et biologie moléculaire. Omniscience. P: 78-79.
- 103) **Salisu A.**, Naim A. A., Sanagi M. M., -«Chemical Modification of Marine Polysaccharide (Alginate) By Free-Radical Graft Copolymerization— a Short Review». *Journal of Applied Chemistry*, 2013, 4(3), pp. 39-44.
- 104) **Saad N.**, Delattre C., Urdaci M., Schmitter J. M., & Bressollier P. 2013.- An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 1-16.
- 105) **Selander B.**, Mårtensson U., Weintraub A., Holmström E., Matsushita M., Thiel S., Jensenius J.C., Truedsson L., Sjöholm A.G., 2006.- Mannan-binding lectin activates C3 and the alternative complement pathway without involvement of C2. *The Journal of clinical investigation* 116(5):1425-1434.
- 106) **Servais G.**, Walmagh J., & Duchateau J., 1991.- Simple quantitative haemolytic microassay for determination of complement alternative pathway activation (AP50). *Journal of immunological methods* 140(1):93-100.
- 107) **Singh A.**, 2015.- Immunology and Medical Microbiology. Kalyani Publishers, New Delhi.
- 108) **Sinquin C.** Collic-jouault S., 2014.- Les polysaccharides marins et leurs applications dans le domaine de la santé. Vol: 50(9). P: 2964-2970.
- 109) **Shi L.**, 2016.- Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International journal of biological macromolecules*, 92, 37-48.
- 110) **Shonekan O. O.**, Coker H.A. and Robert N., 2018.- Antioxidant and glucosidase inhibition activities of the mushroom: “phaeogyroporus portentosus”. *J. Chem Soc. Nigeria*, vol. 43: 15-23.

- 111) **Sjoberg L.A.**, Trouw A.M., Blom., 2009.- Complement activation and inhibition: a delicate balance. *Trends Immunol.* 30:83-90.
- 112) **Soukaina B.**, Zainab E. L., Guillaume P., Halima R., Philippe M., Cherkaoui E. M., & Cédric D., 2020.- Radical depolymerization of alginate extracted from Moroccan brown seaweed *Bifurcaria bifurcata*. *Applied Sciences*, 10(12), 4166.
- 113) **Somerville C.**, 2006.- Cellulose synthesis in higher plants. *Annual Review Cell Developmental Biology* 22: 5378.
- 114) **Tan Y.**, Chang S. K., & Zhang Y. 2016.- Comparison of α -amylase, α -glucosidase and lipase inhibitory activity of the phenolic substances in two black legumes of different genera. *Food Chemistry*.
- 115) **Théo E.**, Christian N.- 2008. Article Analyse des polysaccharides: 3326.
- 116) **Valenzuela J.**, Charlab R., Mather T., & Ribeiro J., 2000.- Purification, cloning, and expression of a novel salivary anticomplement protein from the tick, *Ixodes scapularis*. *Journal of Biological Chemistry* 275(25):18717-18723.
- 117) **Valls R.**, Véronique M., Pellegrini M., Pellegrini L., & Banaigs B., 2013.- Variation de la composition en diterpènes de *Bifurcaria bifurcata* sur les côtes atlantiques françaises. *Acta Botanica Gallica*.
- 118) **Vincent E. C.**, O., & Fang L., 2000.- Immunomodulation and Anti-Cancer Activity of Polysaccharide-Protein Complexes. *Current Medicinal Chemistry*, 2000, 7, 715-729.
- 119) **Warrand J.**, 2004.- Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum usitatissimum* L.) (Doctoral dissertation, Amiens).
- 120) **Warrand J.**, 2004.- Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitatissimum*). Thèse de Doctorat. Université de Picardie Jules Verne, 238 p.
- 121) **Wang P.**, Zhang L., Yao J., Shi Y., Li P., & Ding K., 2015.- An arabinogalactan from flowers of *Panax notoginseng* inhibits angiogenesis by BMP2/Smad/Id1 signaling. *Carbohydrate polymers*, 121, 328-335.
- 122) **Wang H.**, Li N., Zhu C., Shi S., Jin H., & Wang S., 2017.- Anti-complementary activity of two homogeneous polysaccharides from *Eclipta prostrata*. *Biochemical and biophysical research communications*, 493(2), 887-893.
- 123) **Who.**, 2004.- Who Guide lines on Safety Monitoring of Herbal Medicines in Pharmacovigilance Systems.
- 124) **Wen Q.**, Lu Y., Chao Z., & Chen D. F., 2017.- Anticomplement triterpenoids from the roots of *Ilex asprella*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27(4), 880-886.
- 125) **Wen Q.**, Jin X., Lu Y., & Chen D. F., 2020.- Anticomplement ent-labdane diterpenoids from the aerial parts of *Andrographis paniculata*. *Fitoterapia*, 142, 104528.

- 126) **Wu Y.**, Cui S., Tang J., Wang Q., & Gu X., 2007.- Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited *Sterculia* seeds. *Carbohydrate polymers* 70(4):437-443.
- 127) **Xie G.**, Schepetkin I. A., & Quinn M. T., 2007.- Immunomodulatory activity of acidic polysaccharides isolated from *Tanacetum vulgare* L. *International immunopharmacology*, 7(13), 1639-1650.
- 128) **Xi Z.**, Chen W., Wu Z., Wang Y., Zeng P., Zhao G., *et al.* 2012.- Anti-complementary activity of flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don. *Food chemistry* 130(1):165-170.
- 129) **Xia L.**, Li B., Lu Y., & Chen D., 2019.- Structural characterization and anticomplement activity of an acidic polysaccharide containing 3-O-methyl galactose from *Juniperus tibetica*. *International journal of biological macromolecules*, 132, 1244-1251.
- 130) **Xia L.**, Zhu M., Chen D., & Lu Y., 2020.- *Juniperus pingii* var. *wilsonii* acidic polysaccharide: Extraction, characterization and anticomplement activity. *Carbohydrate polymers* 231:115728.
- 131) **Xu H.**, Zhang Y., Zhang J., & Chen D., 2007.- Isolation and characterization of an anti-complementary polysaccharide D3-S1 from the roots of *Bupleurum smithii*. *International immunopharmacology*, 7(2), 175-182.
- 132) **Yichun S.**, 2014.- Biological activities and potential health benefits of polysaccharides from *Poria cocos* and their derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- 133) **Yang L.**, & Zhang L. M., 2009.- Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate polymers*, 76(3), 349-361.
- 134) **Young M.**, Alders R., Grimes S., Spradbrow P., Dias P., da Silva A., *et al.* 2012.- Le Contrôle de la Maladie de Newcastle chez les poulets de village: un manuel de laboratoire. 2e éd. Monographie ACIAR No. 87a. Centre Australien International pour la Recherche Agricole: Canberra. 153 p.
- 135) **Zhang S.**, et Li X-Z., 2015.- Inhibition of α -D-glucosidase by polysaccharides from the fruit hull of *Camellia oleifera abel*, *Carbohydrate Polymers*, vol. 115: 38-43.
- 136) **Zhang W.**, Jin W., Sun D., Zhao L., Wang J., Duan D., & Zhang Q., 2015.- Structural analysis and anti-complement activity of polysaccharides from *Kjellmaniella crsaaifolia*. *Marine Drugs*, 13(3), 1360-1374.
- 137) **Zheng H. C.**, Lu Y., & Chen D. F., 2018.- Anticomplement compound from *Polygonum chinense*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 28(9), 1495-1500.
- 138) **Zitouni H.**, 2015.- Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires. 108-Zugenmaier P.; «Crystalline cellulose and cellulose derivatives, characterization and structure». Springer series in wood science. Germany, 2008, pp. 8.

- 139) **Zhang M.**, Wu W., Ren Y., Li X., Tang Y., Min T., Lai F., and Wu H., 2017.- Structural Characterization of a Novel Polysaccharide from *Lepidium meyenii* (maca) and Analysis of Its Regulatory Function in Macrophage Polarization in vitro. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 65: 1146-1157.

Résumé

A la recherche de nouvelles réponses thérapeutiques pour pallier l'inefficacité ou l'absence de certains traitements, le monde océanique reste un formidable lieu de découverte et un important réservoir de molécules. Avec l'essor des glycosciences et des biotechnologies marines, le rôle clé des polysaccharides dans différents systèmes biologiques et le potentiel des polysaccharides marins dans le domaine de la santé sont mis en évidence. Le présent travail est consacré à l'étude de l'activité anti-complément des polysaccharides issus de macroalgue *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. (Cystoseiraceae); le test AP100 vise à déterminer la concentration des polysaccharides capable d'inhiber 100% de la lyse des hématies. Le test est effectué dans des boîtes d'agarose-érythrocytes avec une série de dilution de polysaccharides et de sérum humain normale à 1:6 comme contrôle négatif et de l'héparine à 1000µ/ml comme contrôle positif. L'effet de polysaccharide montre un pourcentage d'inhibition de la voie alterne de complément dose dépendante, allant de $15,5 \pm 0,06\%$ à 200ug/ml jusqu'au $73,00 \pm 0,06\%$ à 1000ug/ml, ce dernier semble proche de ce de l'héparine, soit $81 \pm 0,00\%$. Ces résultats suggèrent que les polysaccharides issus de *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. Ayant une puissante activité anti complément pourraient être un bon succédané de médicaments synthétiques.

Mots clés: *Bifurcaria bifurcata*, Polysaccharides, Anti-complément, Voie alterne, AP100.

Abstract

In the search for new therapeutic responses to compensate for the ineffectiveness or absence of certain treatments, the oceanic world remains a formidable place of discovery and an important reservoir of molecules. With the rise of marine glycosciences and biotechnologies, the key role of polysaccharides in different biological systems and the potential of marine polysaccharides in the field of health are highlighted. This work is devoted to the study of the anti-complement activity of polysaccharides from macroalgae *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. (Cystoseiraceae); the AP100 test aims to determine the concentration of polysaccharides capable of inhibiting 100% of the lysis of red blood cells. The test is carried out in agarose-erythrocytes plates with a series of dilution of polysaccharides and normal human serum at 1:6 as negative control and heparin at 1000µg/ml as positive control. The polysaccharide effect shows a percentage inhibition of the alternative complement pathway dose dependent, ranging from $15.5 \pm 0.06\%$ at 200ug/ml to $73.00 \pm 0.06\%$ at 1000ug/ml. the latter seems close to that of heparin $81 \pm 0.00\%$. These results suggest that polysaccharides from *Bifurcaria bifurcata* R. Ross with potent anti-complement activity could be a good candidate for anti-complement drugs.

Key words: *Bifurcaria bifurcata*, Polysaccharides, Anti-complement, Alternative pathway, AP100

الملخص

في البحث عن استجابات علاجية جديدة للتعويض عن عدم فعالية أو عدم وجود علاجات معينة ، يظل العالم المحيطي مكاناً رائعاً للاكتشاف و خزاناً مهماً للجزيئات. مع ظهور علوم السكريات البحرية والتقنيات الحيوية ، يتم تسليط الضوء على الدور الرئيسي للسكريات في النظم البيولوجية المختلفة وإمكانات السكريات البحرية في مجال الصحة. تم تخصيص هذا العمل لدراسة النشاط المضاد للتكميل للسكريات من الطحالب الكبيرة *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. (Cystoseiraceae) ؛ يهدف اختبار AP100 إلى تحديد تركيز السكريات القادرة على تثبيط تحلل خلايا الدم الحمراء بنسبة 100%. يتم إجراء الاختبار في علب agarose-erythrocytes مع سلسلة تخفيف من متعدد السكريات ومصل بشري طبيعي عند 1:6 كعنصر تحكم سلبي والهيبارين عند 1000 µ / ml كعنصر تحكم إيجابي. يظهر تأثير متعدد السكريات نسبة مئوية تعتمد على الجرعة لتثبيط المسار التكميلي البديل ، يتراوح من $15.5 \pm 0.06\%$ عند 200 ميكروغرام / مل إلى $73.00 \pm 0.06\%$ عند 1000 ميكروغرام / مل ، ويبدو الأخير قريباً من الهيبارين ، أي $81 \pm 0.00\%$. تشير هذه النتائج إلى أن متعدد السكريات من *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. لها نشاط قوي مضاد للمكملات, يمكن أن تكون بديلاً جيداً للأدوية الاصطناعية.

الكلمات المفتاحية: *Bifurcaria bifurcata*، متعدد السكريات, مضاد للمتم، المسار التكميلي البديل, تقنية

AP100.

Annexes

Annexe 1: (Tableau 9) Les calculs de pourcentage d'inhibition de système de complément via la voie alterne (Répétition 1).

Répétition 1	Moyenne de diamètre (D)	Rayon (r)	Surface de la lyse	Pourcentage de la lyse %	Pourcentage d'inhibition %	
Contrôle négatif	1.4	0.7	1.53	76.5	23.5	
Contrôle positif	0.7	0.35	0.38	19	81	
polysaccharides µg/ml	200	1.4	0.7	1.53	76.5	23.5
	400	1.5	0.75	1.76	88	12
	600	1.4	0.7	1.53	76.5	23.5
	800	1.2	0.6	1.13	56.5	43.5
	1000	0.9	0.45	0.63	31.5	68.5

Annexe 2: (Tableau 10) Les calculs de pourcentage d'inhibition de système de complément via la voie alterne (Répétition 2).

Répétition 2	Moyenne de diamètre (D)	Rayon (r)	Surface de la lyse	Pourcentage de la lyse %	Pourcentage d'inhibition %	
Contrôle négatif	1.5	0.75	1.76	88	12	
Contrôle positif	0.7	0.35	0.38	19	81	
polysaccharides µg/ml	200	1.5	0.75	1.76	88	12
	400	1.4	0.7	1.53	76.5	23.5
	600	1.3	0.65	1.32	66	34
	800	1.1	0.55	0.95	47.5	52.5
	1000	0.8	0.4	0.50	25	75

Annexe 3: (Tableau 11) Les calculs de pourcentage d'inhibition de système de complément via la voie alterne (Répétition 3).

Répétition 3	Moyenne de diamètre (D)	Rayon (r)	Surface de la lyse	Pourcentage de la lyse %	Pourcentage d'inhibition %	
Contrôle négatif	1.4	0.7	1.53	76.5	23.5	
Contrôle positif	0.7	0.35	0.38	19	81	
polysaccharides µg/ml	200	1.5	0.75	1.76	88	12
	400	1.5	0.75	1.76	88	12
	600	1.3	0.65	1.32	66	34
	800	1.1	0.55	0.95	47.5	52.5
	1000	0.8	0.4	0.50	25	75