



الجمهورية الجزائرية الشعبية الديمقراطية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

**L'étude de l'activité antioxydante in vitro des lectines extraites
à partir des espèces :**

*Pélargonium graveolens , Pterocladia capillacea , Agaricus
silvicola*

Présenté et soutenu par :

Le : 01 -07-2018

- LAKHEL IMENE
- AMOUCHI OUMAIMA

Jury d'évaluation :

Président de jury : BAALI N.

(BCB. UFM Constantine)

Rapporteur : BAHI A.

(MCA. UFM Constantine)

Examineur : DJEMAI ZOUGHLACHE S.

(MAA. UFM Constantine)

*Année universitaire
2017 / 2018*

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Nous souhaitant adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nous tenant à remercier sincèrement notre encadreur Mlle BAHIM. C à Université des Frères Mentouri Constantine, qui en tant que Directeurs de mémoire, qui est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle est bien voulu nous consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Grand et respectueux remerciement va au madame BAALINACIRA, BCB à Université des Frères Mentouri Constantine , merci d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.

A l'examinatrice Dr DJEMAI ZOUGHLACHE Soumia Maitre assistante à l'université des frère Mentouri, nous somme fière que vous avez acceptez d'examiner et de juger notre travail Enfin, que tous ceux qui nous ont accordé un soutien, une aide technique ou un conseil, tous ceux qui étaient à nos côtés au cœur de cette expérience trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Merci

Dédicace

En tout premier lieu et avant tout choses je remercie DIEU, tout puissant , de m'avoir donné la force pour survivre , ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés .

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, reconnaissance et de remerciement :

A mes chère parents :

Ma mère, tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi .je suis fière de votre présence à mes cotés

Mon père, aucune dédicace ne saurait exprime l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous, rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A mon très chère frères et les meilleurs du monde « Aymen, Rayene , Chihab , Marame »

A mon cher fiancé « Djamel » merci pour tout choses petites ou grandes que vous avez faite pour moi. Sans ton aide, tes encouragements, tes conseils, ce travail n'aurait vu le jour

A toute ma famille

A mes chers oncles et mes tantes

A mes adorables cousins et mes cousines « marwa,halima,chaima,hadjer,houda,anis,habib,lali »

A toutes mes amies, et les vrais amis « sondousa, fanfouna » vous êtes les meilleurs pour moi, Merci d'avoir émerveillé ces années avec tant de souvenirs inoubliables.

A mon amie proche et ma chère sœur « Oumaima » , je suis heureuse d'avoir complété la dernière lettre de mon étude avec vous .

Et enfin à mon encadreur Mlle «bahi ahlam» qui a toujours été là pour nous.

Et à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

A vous tous merci

Imene

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A DIEU, pour m'avoir donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce mémoire.

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

A mes sœurs sofia ryma et hanene son mari bibsem pour avoir été toujours avec moi et pour m'avoir dans le processus de ce mémoire. Merci pour l'appui morale que vous me donnez chaque jour de ma vie.

A mes très chers amis :farida soundous bbiya zineb Sans oublier mes braves amies de la promotion de Biochimie moléculaire et santé.

A mon binôme « IMENE » qui a partagée avec moi les moments difficiles

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Oumaima

Résumé

Les lectines sont des protéines ou glycoprotéines présentes en quantité plus importante chez les végétaux que les animaux

Notre étude est basé sur la recherche d'extraction, et d'étudier les différentes spécificités des lectines contenues dans des espèces médicinales *Pelargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* par le test d'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon.

Les résultats montrent que les extraits *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* agglutinent avec tous les types du groupe sanguins humains. Dans le traitement thermique les lectines de ces trois espèces gardent leur activité d'agglutination lors de leur exposition à différentes gammes de traitement thermique de 30 jusqu'à 90°C. L'activité hémagglutinante des lectines de *Pélargonium graveolens* et *l'Agaricus silvicola* reste stable de [1-12] pendant une heure, sauf avec les lectines de *Pterocladia capillacea* qui montrent une agglutination dans le PH 1,3 et 4 et une absence d'agglutination dans le PH 2 et de [5-12]. Un test d'inhibition avec différents monosaccharides qui a montré aucune spécificité avec les lectines de *Pélargonium graveolens* et de *Pterocladia capillacea*. Les lectines de *l'Agaricus silvicola* présentent une spécificité pour un seul sucre qui est l'arabinose. Pour le test des métaux les lectines de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* montrent une agglutination. La purification sur colonne de Sephadex G200 a montré un seul pic correspondre au 1er tube pour l'extrait de *Pélargonium graveolens* et *Pterocladia capillacea* et au 2ème tube pour l'extrait de *l'Agaricus silvicola*. Les résultats l'activité antioxydante in vitro sont: le dosage des protéines et le test du SOD (superoxyde dismutase) et le fer ferrique, L'évaluation de l'activité antioxydante par ces tests, a révélé un grand pouvoir antioxydant surtout pour l'extrait de *pélargonium graveolens*.

Mots clés : Lectines, Extraction, Hémagglutination, Système ABO, Inhibition, Sucres, monosaccharides, glycoprotéines

Abstract

Lectins are proteins or glycoproteins present in larger quantities in plants than animals

Our study is based on extraction research, and to study the different specificities of the lectins contained in the medicinal species *Pelargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* by the haemagglutination test and their biological study. The extraction was done by grinding and maceration in a buffer solution.

The results show that *Pelargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* and *Agaricus silvicola* extracts agglutinate with all types of the human blood group. In the heat treatment the lectins of these three species retain their agglutination activity when exposed to different heat treatment ranges from 30 to 90 ° C. Haemagglutinating activity of *pelargonium graveolens* lectins and *Agaricus silvicola* remained stable for [1 - 12] for one hour, except with *Pterocladia cappilacea* lectins which showed agglutination in pH 1,3 and 4 and an absence of agglutination in PH 2 and [5-12]. An inhibition test with different monosaccharides showed no specificity with *pelargonium graveolens* and *Pterocladia capillacea* lectins. The lectins of *Agaricus silvicola* have a specificity for a single sugar which is arabinose. For the test of metals the lectins of *Pelargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* show agglutination. The column purification of Sephadex G200 showed a single peak corresponds to the 1st tube for *Pelargonium graveolens* and *Pterocladia capillacea* extract and to the 2nd tube for the *Agaricus silvicola* extract. The results in vitro antioxidant activity are: the protein assay and the SOD test (superoxide dismutase) and ferric iron, The evaluation of the antioxidant activity by these tests, revealed a great antioxidant power especially for the *pelargonium graveolens* extract.

Keywords: Lectins, Extraction, Haemagglutination, ABO System, Inhibition, Sugars, Monosaccharides, Glycoproteins

ملخص

اللكتينات هي بروتينات او بروتينات سكرية تتواجد بكميات كبيرة عند النباتات والحيوانات.

يركز هذا العمل على البحث عن استخلاص ودراسة مختلف خصائص اللكتينات المتواجدة في الانواع الطبية الثلاثة:

Agaricus silvicola الفطر Pterocladia capillacea, الطحلب Pélargonium graveolens, النبتة

من خلال اختبار التراص ودراسته البيولوجية .

تم الاستخلاص تم عن طريق الطحن والنقع في محلول ملحي.

أظهرت النتائج ان مستخلصات الانواع الثلاثة أحدثت تراص مع جميع أنواع مجموعات الدم البشري، المعالجة الحرارية للكتينات هذه الأنواع تظهر انها تبقى محافظة على نشاط التراص خلال تعرضها لمختلف درجات الحرارة من 30 الى 90 درجة. نشاط تراص اللكتينات للنوع الأول والأخير يبقى ثابت في درجة الحموضة من [1-12] خلال ساعة لكن في لكتينات الطحلب نلاحظ وجود تراص عند درجة الحموضة 3.1 و4 واختفاء التراص من [5-12]، في اختبار التثبيط مع مختلف السكريات الأحادية اثبت انه لا توجد خاصية مع لكتينات النبتة و الطحلب اما لكتينات الفطر فهي تظهر خصوصية مع سكر واحد وهو الارابينوز، وبالنسبة لاختبار المعادن كل الأنواع أظهرت التراص، الاستخلاص بواسطة هلام السيفادكس 200 اظهر وجود ذروة واحدة توافق الانبوب الأول في النبتة و الطحلب والانبوب الثاني بالنسبة للفطر. الأساليب المستعملة لقياس نشاط مضادات الاكسدة هي فحص البروتينات واختبار الصود (فائق الاكسيد) والحديد الحديدي. تقييم نشاط مضادات الاكسدة من خلال هذه الاختبارات اظهر وجود قوة مضادة للاكسدة كبيرة وخاصة بالنسبة لمستخرج

للنبتة Pelargonium graveolens

الكلمات المفتاحية: لكتينات, استخلاص نشاط التراص, نظام الزمر الدموية, تثبيط سكريات أحادية, بروتينات سكرية , نشاط مضادات الاكسدة, الصود , الحديد الحديدي .

SOMMAIRE

Sommaire

- ❖ Résumé
- ❖ Liste des abréviations
- ❖ Liste des tableaux
- ❖ Liste des figures
- ❖ Liste des photos
- ❖ Introduction

Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les lectines

1. Définition des lectines	1
2. Historique.....	2
3. La structure des lectines	4
4. Les sites de liaisons des lectines.....	6
5. La spécificité et l'affinité des lectines.....	7
6. La Classification des lectines	8
7. Distribution des lectines dans le monde de vivant.....	10
8. Fonction biologique des lectines.....	13
9. Propriétés des lectine.....	14
10. L'intérêt des lectines.....	16
11. Le rôle des lectines dans l'immunité.....	18

Chapitre II : Le système sanguin

1. Historique.....	20
2. Le système ABO.....	20
3. Facteur rhésus.....	20
4. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	21
5. Détermination du groupe sanguin.....	22

Chapitre III : Généralités sur les plantes

1. Pélargonium graveolens.....	23
2. Pterocladia capillacea.....	25
3. Agaricus silvicola.....	27

Chapitre VI : Le stress oxydant

1. Définition.....	30
2. Les espèces réactives de l'oxygène.....	31
3. Les cibles biologiques du stress oxydant.....	32
4. Le stress oxydant et les pathologies.....	36
5. Systèmes de défenses antioxydan.....	36

Matériels et méthodes

1. Le matériel.....	41
2. Les méthodes.....	41
2.1. La préparation de matériel végétal.....	41
2.2. Le Test d'hémagglutination.....	44
2.3. La limite d'hémagglutination.....	44

2.4. L'effet de la température sur l'héماغglutination.....	45
2.5. L'effet de pH sur l'héماغglutination.....	45
2.6. Le test d'inhibition d'héماغglutination par des saccharides.....	45
2.7. Le test de la limite d'inhibition d'héماغglutination par les saccharides.....	45
2.8. Le Test des métaux (oligoéléments).....	46
2.9. Le test d'agglutination sur les héماغties humaines ABO.....	46
2.10. L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G200....	46
2.11. L'activité antioxydante des lectines in vitro.....	47

Résultats et discussion

1. Le test d'héماغglutination	48
2. La limite d'héماغglutination	48
3. Test de la température.....	50
4. L'effet du pH sur l'héماغglutination	50
5. L'effet d'inhibition d'héماغglutination par des saccharides.....	52
6. Test de la limite d'inhibition.....	53
7. L'effet des métaux (oligoéléments)	54
8. L'effet d'agglutination sur les héماغties humaines ABO	55
9. L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G200	56
10. Etude de l'activité antioxydante in vitro	58
<u>Conclusion et perspective</u>	61
<u>Références bibliographiques</u>	62
<u>Annexe</u>	76

Liste des abréviations

% = pourcent

4-HNE = 4-hydroxynonéal

ADN = acide désoxyribonucléique

Ca⁺⁺ = Ion calcium

DPPH = 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EDTA = Ethylene diamine tetraacetic

ERO = espèces réactives de l'oxygène

FTC = thiocyanate de fer

H₂O₂ = peroxyde d'hydrogène

HO[°] = radical hydroxyle

KD = kilodalton

LH = hydrogène du l'acide gras

Mg⁺⁺ = Ion Magnisium

Mn⁺⁺=Ion Manganèse

MDA = malondialdéhyde

ml = Millilitre

Mg /ml = Milligramme/ Millilitre

Nm = Nanomètre

O₂^{°-} = anion superoxyde

O₂^{°-} = anion radicalaire superoxyde

1O₂ = oxygène singulet

PH = potentiel Hydro isoélectrique

PBS = la solution tampon phosphate di-sodique

ROS =reactive oxygen species

RL = radicaux libres

ROO° = les radicaux peroxyes

SOD = superoxyde dismutase

μl = Microlitre

Liste des figures

Figure 01 : Représentation graphique d'un monomère de concanaviline A de <i>canavaliensiformis</i> en complexe avec le trimannosoïde.....	5
Figure 02 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique.....	6
Figure 03 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie d' <i>Escherichia coli</i>	6
Figure 04 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides.....	7
Figure 05 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le SialylLewisX (PDB 1G1T)	11
Figure 06 : Tétramère de la protéine ConM de <i>Canavaliamaritima</i> complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6)	12
Figure 07 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	21
Figure 08 : Le Géranium rosat (<i>pélargonium graveolens</i>).....	23
Figure 09 : l'algue rouge <i>Pterocladia capillacea</i>	26
Figure 10 : le champignon <i>Agaricus silvicola</i>	28
Figure 11 : Stress oxydant.....	30
Figure 12 : Schéma modifié de l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologique.....	32
Figure 13 : Réactions de la peroxydation lipidique.....	33
Figure 14 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire.....	34
Figure 15 : Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires.....	35
Figure 16 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.....	37
Figure 17 : Schéma résume le mécanisme de détoxification enzymatique.....	38
Figure 18 : <i>Pélargonium graveolens</i> (A) ; <i>Pterocladia capillacea</i> (B) ; <i>Agaricus silvicola</i> (C).....	41
Figure 19 : schéma d'extraction des lectines à partir des poudres des plantes.....	43

Figure 20 : la filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G 200 de l'extrait de <i>Pélarгонium graveolens</i>	56
Figure 21 : la filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G 200 de l'extrait de <i>Pterocladia capillacea</i>	56
Figure 22 : filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G 200 de l'extrait <i>Agaricus silvicola</i>	57

Liste des Tableaux

Tableau 01 : les lectines et leurs applications.....	1
Tableau 02 : Historique de la découverte des lectines.....	3
Tableau 03 : La Specificite osidique de certaines plantes a lectines.....	8
Tableau 04 : La classification structurale des lectines des plantes.....	10
Tableau 05 : Les Lectines spécifiques des groupes sanguins.....	22
Tableau 06 : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut de <i>Pélargonium graveolens</i> , <i>Pterocladia capillacea</i> , <i>Agaricus silvicola</i>	48
Tableau 07 : L'activité hémagglutinante des extraits, <i>Pélargonium graveolens</i> , <i>Pterocladia capillacea</i> , <i>Agaricus silvicola</i>	49
Tableau 08 :L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits de <i>Pélargonium graveolens</i> , <i>Pterocladia capillacea</i> , <i>Agaricus silvicola</i>	50
Tableau 09 : l'effet du PH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de <i>Pterocladia capillacea</i> , <i>Pélargonium graveolens</i> , , <i>Agaricus silvicola</i>	50
Tableau 10 : test d'inhibition de l'activité hémagglutinante par des sucres simples.....	52
Tableau 11 : le test de la limite de l'inhibition de <i>l'agaricus silvicola</i> avec le sucre d'inhibition.....	53
Tableau 12 : Résultats du test des métaux avec l'extrait de <i>Pelargonium graveolens</i> , <i>Pterocladia capillacea</i> , <i>Agaricus silvicola</i>	54
Tableau 13 : L'agglutination des hématies humaines (A, B, AB, O)par l'extrait de <i>Pélargonium graveolens</i> , <i>Pterocladia capillacea</i> , <i>Agaricus silvicola</i>	55
Tableau 14 : résultats des tests de l'activité anti oxydante de <i>Pélargonium graveolens</i> , , <i>Pterocladia capullacea</i> , <i>Agaricus silvicola</i>	58
Tableau15 : résultats du test de dosage des protéines des plantes <i>Pélargonium graveolens</i> <i>Pterocladia capillacea</i> <i>Agaricus silvicola</i>	60

Liste des photos

- Photo 01** : L'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de *Pélargonium graveolens* (A), *Pterocladia capillacea* (B), *agaricus silvicola* (C).....48
- Photo 02** : la limite d'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de *Pélargonium graveolens* (A), *Pterocladia capillacea* (B), *Agaricus silvicola* (C).....49
- Photo 03**: l'effet de la température sur L'activité hémagglutinante de l'extrait *Pélargonium graveolens*(A), *Pterocladia capillacea*(B), *Agaricus silvicola* (C).....50
- Photo 04** : l'effet du ph sur L'activité hémagglutinante de l'extrait de *Pterocladia capillacea* (A), *Pélargonium graveolens* (B), *Agaricus silvicola* (C).....51
- Photo 05** : Observation microscopique (G40) d'agglutination de *Pterocladia capillacea* (A), *Pélargonium graveolens* (B) à PH 2.....51
- Photo 06** : l'effet des sucres Lactose (1), Fructose (2), Galactose (3), Arabinose (4), Maltose (5), Glucose (6) sur l'activité agglutinante des extraits de *Pélargonium graveolens*(A), *Pterocladia capillacea*(B), *Agaricus silvicola* (C).....52
- Photo 07** : la limite d'agglutination de l'inhibition de l'*Agaricus silvicola* avec l'arabinose.....53
- Photo 08** : L'effet d'EDTA sur l'activité hémagglutinante des extraits de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus bisporus* A l'œil nu.....54
- Photo 09** : l'effet des métaux *MnCl2* (1), *CaCl2* (2), *FeCl2* (3), *MgCl2* (4), sur l'activité agglutinante des extraits *Pélargonium graveolens*(A), *Pterocladia capillacea*(B), *Agaricus silvicola* (C).....54
- Photo 10** : l'agglutination des hématies humaines par l'extrait de *Pélargonium graveolens* (A), *Pterocladia capillacea*(B), *Agaricus silvicola* (C) a l'œil nu.....55

INTRODUCTION

Introduction

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

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

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

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

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

Section I
SECTION

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

« *Les lectines* »

Chapitre I : Généralités sur les lectines

1. Définition des lectines

Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire capables de reconnaître des glucides complexes de manière spécifique et réversible. Ces protéines ne montrent aucune activité enzymatique vis-à-vis de leur ligand (**Lis and Sharon 1998**). Cette classe des protéines est dénommée par Boyd en 1954, sous le nom « lectine » dérivée du mot latin «lectus» qui est le participe passé du verbe «légère», qui veut dire «sélectionner» ou «choisir» (**Lieneret al., 1986**). Les lectines sont relativement petites, leurs masses moléculaires étant comprises entre 50 et 120 KD. Elles sont habituellement formées de deux (dimères) ou quatre (tétramères) sous-unités identiques (**Ghopskins et Evrard, 2003**). Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les cellules (comme les érythrocytes) et les glycoconjugués. Cette caractéristique importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes, car elles possèdent au moins deux sites de reconnaissances par molécule, ce qui permet d'expliquer pourquoi elles vont précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et induire l'agglutination de cellules diverses (**Liener et al., 1986**). Les lectines provoquent l'hypertrophie de l'intestin grêle et du pancréas et l'atrophie de la rate et de thymus. Ces effets néfastes des lectines sont inactivés (principalement) par leur traitement thermique dont l'efficacité est fonction de la température et de la durée de traitement (**Meiteet al., 2006**). Bien qu'il existe des lectines thermorésistants (**Guillaume, 1993**). Quelques lectines importantes sont énumérées dans le tableau 1

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

Lectines	Exemple et commentaire
Lectine de légumes	ConcanavolineA, lectine de pois
Agglutinine de germe de blé	Fréquemment utilisée dans l'étude des surfaces ou membranaires de cellules normales ou cancéreuses
Ricine	Glycoprotéines cytotoxiques provenant des graines de ricine
Toxines bactériennes	Entérotoxine thermolabile d'E.coli et toxine du choléra

Généralités sur les lectines

Hémagglutinine de virus de la grippe	Responsable de l'attachement à la cellule hôte et de la fusion membranaire
Lectine de type S	Lectine animales se lient le B-galactose, elles ont des rôles dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire

2. Historique

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

En 1919, James B. Sumner, de l'université Cornell (Ithaca, New York), isole à partir du pois (*Canavalia ensiformis*) la première hémagglutinine pure, la concanavaleine A (Sumner, 1919). Il fallut patienter presque vingt ans et les travaux de Sumner et Howell en 1936 pour que la spécificité de ces protéines pour les sucres soit mise en évidence avec l'inhibition de l'hémagglutination de la concanavaleine A par des saccharoses (Sumner et Howell, 1936).

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

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

Généralités sur les lectines

Année	Auteur	Découvertes
1884	Warden&Waddel /Bruyllant&Venneman	Toxicite de la graine d'Abrus Precatorius
1886	Dixson	Toxicite de la graine de Ricinuscommunis
1888	Stillmark	Activitehemagglutinante de la graine de Ricinuscommunis Toxicite de la graine de Croton triglium
1890	Erlich	Utilisation de l'abrine et la ricine dans les recherches immunologiques
1891	Hellin	Activitehemagglutinante de la graine de AbrusPrecatorius
1897	Elfstrand	Introduction du terme d'hemagglutinine
1902	Landsteiner	La reversibilite de l'hemagglutination par la Chaleur
1919	Sumner	Isolement et cristallisation de la Concanavalina A (Con A)
1926-7	Marcusson-Begun/Siever	Application des lectines sur les groupes sanguins
1947-9	Boyd & Reguera / Renkonen	Specificite groupe de sang des plantes a Hemagglutinines

Généralités sur les lectines

1949	Liener	Inactivation Thermique des hemagglutinines de Phaseolusvulgaris
1949	Jaffe	Inactivation Thermique des hemagglutinines de Phaseolusvulgaris
1952	Watkins &Morgan	L'inhibition de lectines par les sucres simples Demonstration avec l'aide de lectines que les sucres sont des déterminants de groupe sanguin
1954	Boyd&Sharpleigh	Introduction du terme de lectine
1960	Nowell	La stimulation mitogenique des lymphocytes par la lectine de Phaseolusvulgaris
1965	Agrawal &Golstein	Chromatographie d'affinité pour la purification des lectines
1966	Boyd	Lectines dans les algues
1981	Reinsner et al.	L'utilisation de lectines dans les greffes de moelle osseuse
1990	Yamauchi&Minamikawa	Expression de Con A dans les cellules d'Escherichia coli

3. La structure des lectines

Les lectines sont classées en trois grandes classes :

3.1. Les lectines simple

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

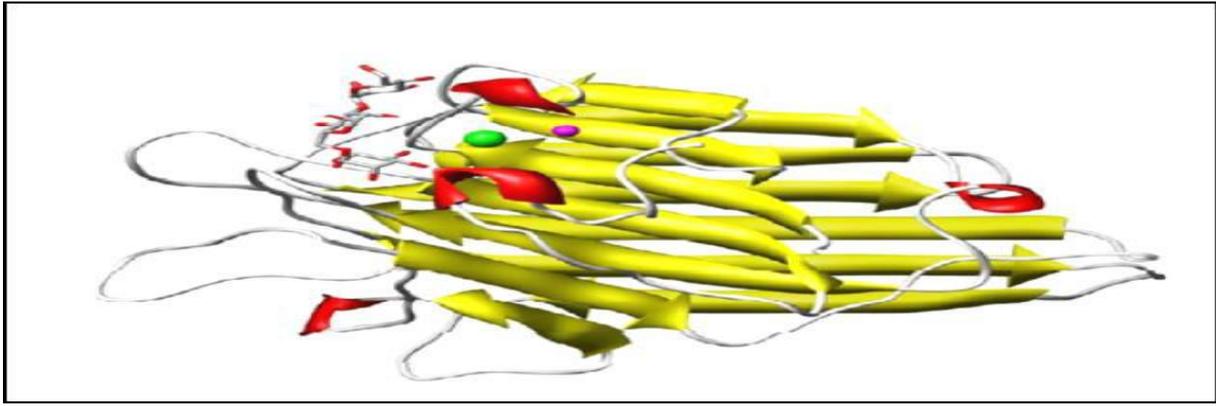


Figure 01 : Représentation graphique d'un monomère de concanavaline A de *canavaliensiformis* en complexe avec le trimannosoïde (**Lenka, 2006**).

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

3.2.Les lectines en mosaïques

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

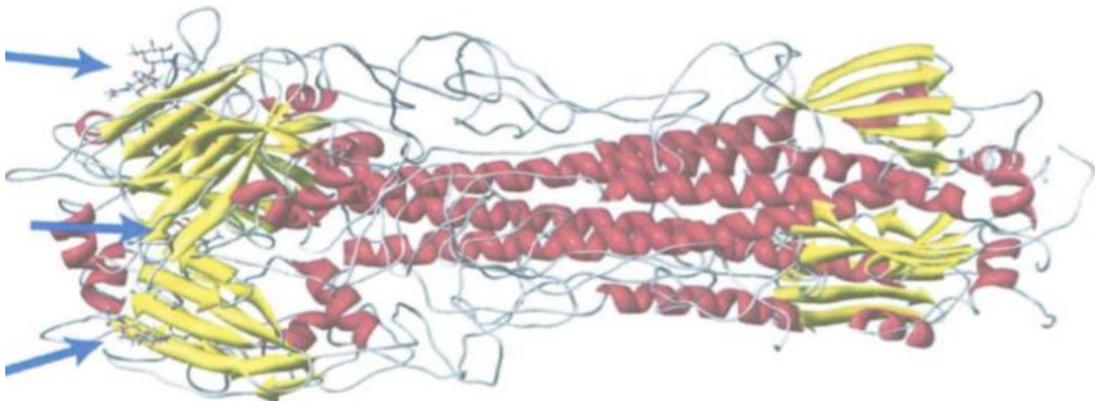


Figure 2 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (**Lenka et al., 2006**).

3.3. Les assemblages macromoléculaires

Les lectines de ce type sont fréquemment trouvées chez les bactéries, où elles forment des structures filamenteuses de 3 à 7 nm de diamètre et jusqu'à 100 nm de longueur, appelées fimbriae ou pili. La plus grande partie d'un filament fimbrial est formée par la polymérisation d'une unité prédominante, qui ne joue qu'un rôle structural. Seul un type d'unités, généralement une composante minoritaire, possède le site de liaison pour les glucides et donc est responsable de la capacité d'adhésion du fimbriae (Lenka, 2006) (Figure 03).

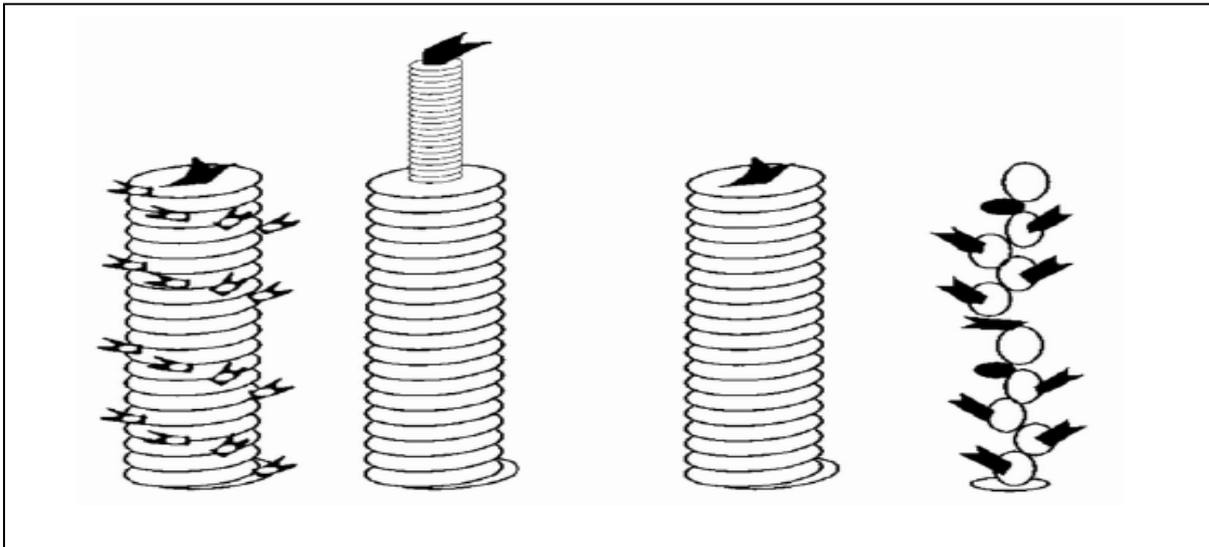


Figure 03 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *d'Escherichia coli*.

4. Les sites de liaisons des lectines

Le site de liaison d'une lectine est généralement constitué par un creux sur la surface de la protéine, dont la forme ne varie pas beaucoup après la liaison du ligand. La lectine interagit avec le ligand par un réseau de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes (Goldstein et Poretz, 1986). Les interactions de type salin ne sont généralement pas impliquées dans les interactions lectine-sucre sauf pour des glucides chargés comme l'acide sialique (Pontet, 1996). Les lectines ne modifient pas biochimiquement les hydrates de carbone aux quels se lient (Gabijs, 1985).

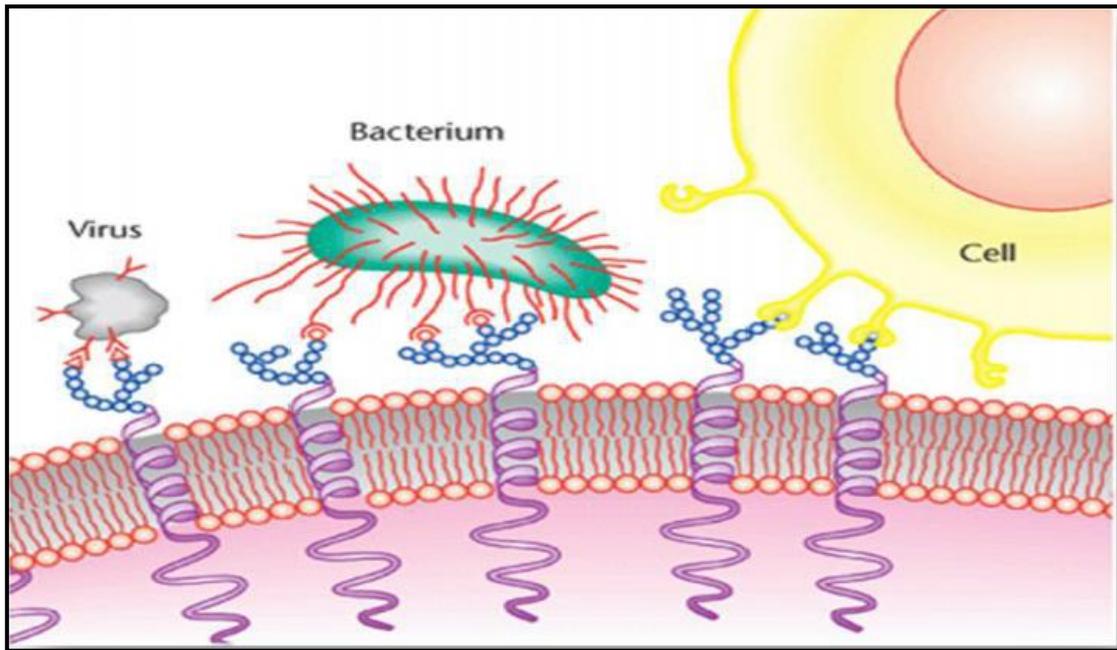


Figure 04 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (Sharon et Lis, 1993)

5. La spécificité et l'affinité des lectines

La spécificité d'une lectine est généralement définie par les sucres qui inhibent le mieux ses propriétés d'agglutination ou de précipitation (**Robert, 2008**). La plupart des lectines sont spécifiques pour un petit nombre de sucres et que, dans la majorité des cas, ces sucres sont présents dans et sur la surface des cellules, surtout sous la forme de glycoconjugués. On peut identifier deux classes de lectines par rapport à leur spécificité : celles qui reconnaissent un monosaccharide spécifique et celles qui reconnaissent exclusivement des oligosaccharides (Sharon 2003). Les protéines spécifiques pour des monosaccharides sont classifiées en cinq groupes, selon le sucre pour lequel la lectine présente la plus forte affinité : le Mannose (Man), le Galactose (Gal)/N acetylgalactosamine (GalNAc), le N-acetylglucosamine (GlcNAc), le Fucose (Fuc), l'Acide sialique (acide N-acetylneuraminique, NeuAc) (**Lis and Sharon 1998**). Cette reconnaissance est souvent désignée comme « la spécificité primaire » des lectines. Ces monosaccharides et leurs dérivés sont ceux qui sont le plus souvent présents sur les epitopes glycaniques des surfaces cellulaires. La plupart des lectines peuvent se lier à des monosaccharides, mais leur affinité sera en général plus forte pour certains oligosaccharides. (**Dam and Brewer 2002**).

Généralités sur les lectines

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

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

6. La Classification des lectines

6.1. Chez les animaux

a) Les lectines extracellulaires

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

b) Les lectines intracellulaires

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

6.2. Chez les végétaux

a) Les mérolectines

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

b) Les hololectines

Les hololectines sont des lectines di ou multivalentes c'est à dire ils contiennent deux domaines (ou plus) de liaison aux glucides quasi- identiques ou du moins très homologues. Les hololectines peuvent précipiter les glycoconjugués et agglutiner les cellules. Elles présentent la majorité des lectines de plantes (exemple : ConBr la lectine de *Canavaliabrasiliensis*) (**Van Damme *et al.*, 1998**).

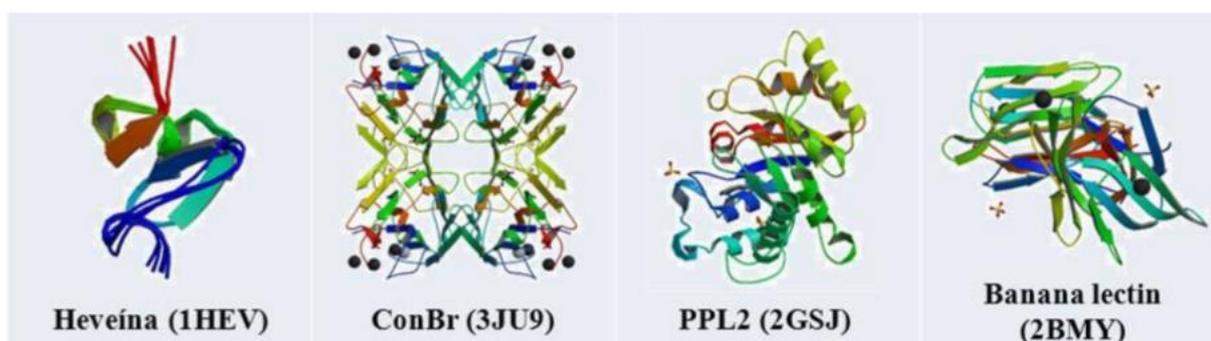
c) Les chimérolectines

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

d) Les superlectines

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

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



7. Distribution des lectines dans le monde de vivant

Initialement décrites dans le règne végétal où elles sont particulièrement abondantes, notamment chez les légumineuses et les graminées, les molécules sont en fait des molécules universelles. Elles sont en effet largement répandues dans le monde vivant puisque l'on en rencontre même chez les virus et les bactéries. A titre d'exemple, le virus grippal présente des spicules d'hémagglutinine qui permettent son ancrage à la surface des cellules épithéliales de l'oropharynx. Des lectines sont également décrites chez les protozoaires tels que *Entamoebahistolycia* et *Entamoebadispar*, on en rencontre même chez les animaux supérieurs, notamment chez l'homme où elles sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques (Bouchara et Trouchin, 2003).

7.1. Les lectines animales

Les lectines animales sont réparties dans des familles très différentes. Les trois familles les plus étudiées sont les galectines, les lectines de *type C* et les siglecs.

- Les structures de *galectines* sont relativement simples. Ces protéines sont spécifiques pour le β -galactose et plus précisément pour le lactose (β Gal1-4Glc) et le Nacetyllactosamine (β Gal1-4GlcNAc) (Leffler, *et al.* 2004).
- Les lectines du *type C* présentent un CRD (*Carbohydrate Recognition Domain*) bien conservé qui implique un atome de calcium dans l'interaction protéine-sucre

Généralités sur les lectines

(Drickamer1993). Les lectines de type-C sont soit en circulation dans le plasma, soit attachées aux surfaces cellulaires par la présence d'un segment transmembranaire. Un exemple de la structure 3-D d'une lectine du type C est la E-selectine en complexe avec le SialylLewisX(PDB 1G1T) (Somers, *et al.* 2000) (Figure 5).

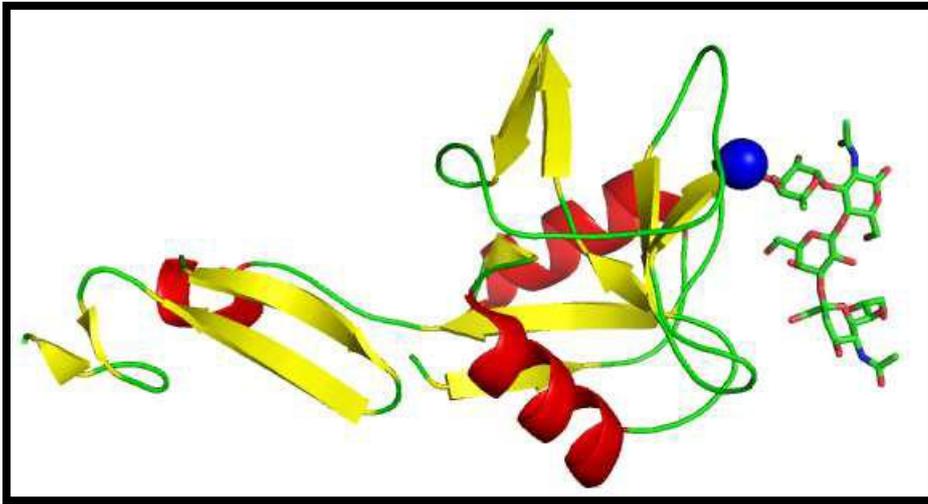


Figure 5 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le SialylLewisX (PDB 1G1T) (Somers, *et al.* 2000). (Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets).

- Les *Siglecs*, ou lectines de type I, constituent une famille de lectines qui reconnaissent l'acide sialique (Crocker 2002).
- Les autres classes de lectines animales comprennent les lectines du *type P* qui sont formées par les lectines qui fixent le mannose-6-phosphate, comme la lectine bovine CDMPR (Roberts, *et al.* 1998). Les *pentraxines* qui sont une famille des lectines capables de se lier à des ligands de manière Ca²⁺ dépendante (Emsley, *et al.* 1994) La plupart des lectines des vertébrés ont une localisation extracellulaire et sont capables de détecter les modifications de glycosylation sur les cellules environnantes. Elles jouent donc un rôle dans la vie sociale des cellules et sont impliquées dans des processus tels que la fécondation, la migration et le développement cellulaire (Aragao, 2009).

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

7.2. Les lectines des plantes

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

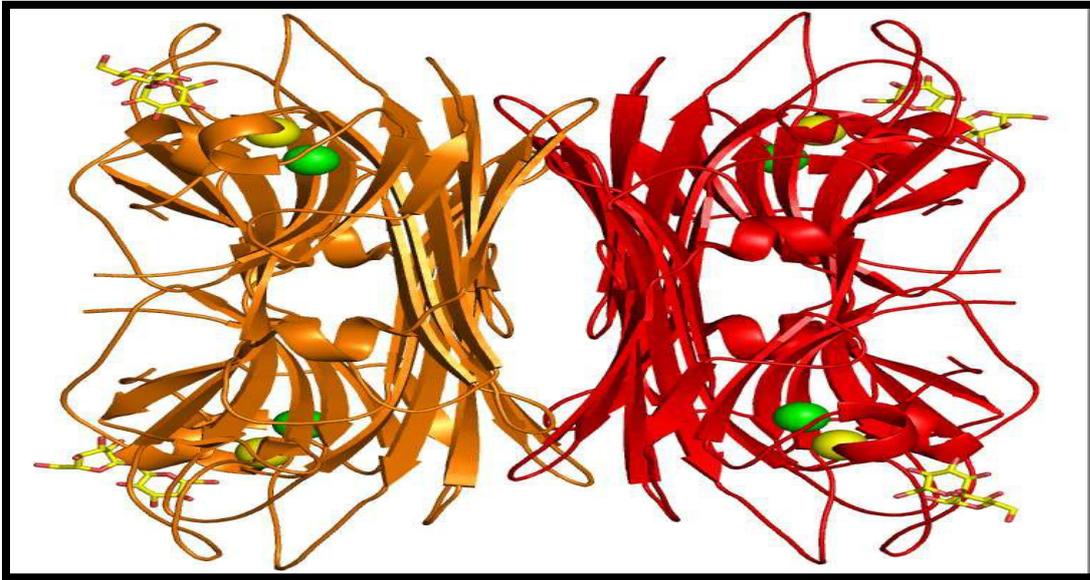


Figure 6 : Tétramère de la protéine ConM de *Canavaliamaritima* complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6) (**Delatorre, et al. 2006**). Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets

La famille des Monocotylédones présente des lectines spécifiques pour le mannose, la première structure 3-D a été la *Galanthus nivalis* agglutinine (GNA) (**Wright, C.S. and Hester 1996**). La famille de Moraceae est formée par les lectines qui fixent le galactose telle que la jacaline isolée des graines de *Artocarpus integrifolia* (**Sankaranarayanan, et al. 1996**). La famille Amaranthaceae contient la lectine ACA de *Amaranthus caudatus* qui a été cristallisée avec le Gal1-3GalNAc (**Transue, et al. 1997**).

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

7.3. Les lectines des microorganismes

Généralités sur les lectines

Les infections sont toujours initiées par l'attachement du microorganisme aux tissus de l'hôte. Ce phénomène implique la reconnaissance des cellules de l'hôte le microorganisme, et nécessite la présence à la surface des deux protagonistes de molécules complémentaires de type récepteur-ligand (**Bouchara et Trouchin, 2003**). Les microorganismes pathogènes, virus, bactéries, champignons ou parasites eucaryotes, utilisent fréquemment des lectines pour reconnaître les sucres présents sur la surface des cellules hôte. Ces interactions lectines-sucres jouent également un rôle dans l'adhésion sur les tissus richement glycosylés présents dans les voies respiratoires, digestives ou dans l'appareil urogénital (**Imberty and Varrot 2008, Sharon 1996**). L'exemple le plus marquant de lectine de virus est l'hémagglutinine du virus de la grippe (Influenza virus). Cette hémagglutinine interagit avec un récepteur de la surface des cellules hôtes, l'acide 5-N-acétylneuraminique (l'acide sialique). Sa structure 3-D a été résolue

En complexe avec son récepteur naturel et avec 12 analogues de ligands (**Weis, et al. 1990**). Les bactéries qui s'attachent aux surfaces s'agglutinent dans une matrice polymerehydrate qu'elles produisent, et donc forment un biofilm (**Imberty, 2011**). Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines fimbriaes (pili et flagelles), les toxines et les lectines solubles (**Imberty et al., 2005**). *Entamoebahistolitica* est un parasite entérique qui peut tuer les cellules hôtes via un mécanisme dépendant du contact. Cet assassinat implique la protéine de surface amibienne dénommé le Gal / Gal Naelectine se lie au galactose et au Nacétylgalactosamine permettant l'adhérence des amibes aux cellules hôtes (**Boettner et al., 2002**). Les lectines des champignons sont principalement des propriétés pharmacologiques intéressantes, par exemple la stimulation du système immunitaire contre l'hypertension et contre l'hypercholestérolémie mais aussi antivirales et anticancéreuses (**Sheet al., 1998 ; Szeet al., 2004**).

8. Fonction biologique des lectines

8.1. Chez les plantes

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

de molécules d'adhésion pour le pathogène. L'infection de la canne à sucre par le champignon *Helminthosporium sacchari* est un exemple de ce type de pathogénèse (Etzler, 1986).

8.2. Chez l'homme

Les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche et dans le secteur biomédical. Elles sont utilisées lors du test d'hémagglutination en pratique clinique pour distinguer les types du sang (A, B et O), exemple : la lectine de haricot de lima (*Phaseolus lunatus*) se lie à N-acétyl-D galactosamine et agglutine seulement des globules rouges de type A (Gokeret *al*, 2008). Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses présentent des propriétés anti-inflammatoires (Alencar *et al*, 2005 ; Gomes *et al*, 2012). Elles contrôlent les niveaux des protéines dans le sang (Rydzet *al*, 2013) car elles sont responsables au transport des protéines, peptides et les médicaments natifs (Sutapaet Gopa, 2013). Les lectines ont la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses, La récente découverte suggère que les cellules malignes sont plus facilement agglutinées par des lectines que les cellules normales. Ces agglutinations sélectives pourraient être utilisées dans le traitement du cancer (Voet et Voet, 2005; Voet et Voet, 2005).

9. Propriétés des lectine

Les propriétés biologiques des lectines sont multiples et variées :

9.1. L'interaction lectine–glucide

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

9.2.L'agglutination des cellules

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

9.3.L'activités mitogène

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

9.4.Effets mimétiques des hormones

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

9.5.Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses

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

9.6.La propriété antivirale

Généralités sur les lectines

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

9.7. La propriété antibactérienne

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

9.8. Autres propriétés

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

10. L'intérêt des lectines

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

10.1. En biochimie et protéomique

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

10.2. Dans le domaine biomédical

a) *Hématologie*

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

b) *Immunologie*

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

c) *Biologie cellulaire*

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

d) *Cancérologie*

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

10.3. Dans le domaine agronomique

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

11. Le rôle des lectines dans l'immunité

Les lectines sont utilisées en immunologie par Paul Ehrlich au début des années 1890, comme antigène. Les changements morphologiques et biochimiques qui reproduisent dans les lymphocytes stimulés par les lectines in vitro ressemblent à la plupart des réactions immunitaires provoqués par un antigène qui se déroulent in vivo (**Sharon, 1983**). Dans les cellules animales les lectines jouent un rôle dans la défense dans le cadre d'une réponse de l'immunité innée (**De Hoff et al., 2009**). Le système du complément, son activation peut être initiée par des complexes immuns (voie classique), par des oligosaccharides microbiens (voie des lectines) ou par divers composants de surface des pathogènes (voie alterne) (**Cavaillon, 2005**). La voie lectine est initiée par la fixation de diverses lectines, telles la MBL, sur des résidus glucidiques de membranes microbiennes, cette interaction permet de l'activation des protéases MASPS (MBL-Associated Serine Protéase) (**Ayméric et Lefranc, 2009**). La lectine liant le mannose (mannose bindinglectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance de la voie lectine du complément qui joue un rôle dans l'immunité innée (**Roos et al., 2007**). Les invertébrés n'ont pas un système immunitaire adaptatif et les lectines jouent un rôle important dans leurs systèmes immunitaires innés en reconnaissant microbes ou agents pathogènes (**Kawsar et al., 2010**). La phagocytose se produit lorsque les microorganismes entrent en contact avec les membranes cellulaires des phagocytes. La première étape consiste en l'adhésion des microorganismes à la membrane des phagocytes grâce à l'existence de lectines de surface. Ces lectines reconnaissent des structures

Généralités sur les lectines

glucidiques présentes sur les glycoprotéines ou des glycolipides des membranes externes notamment bactériennes : récepteur de mannose – fucose, récepteur de galactose et récepteur de β -glucane (**Guénard et al., 2001**).

Chapitre II :

« Le système

sanguin »

Chapitre II : Le système sanguin

Les groupes sanguins

1. Historique

En 1900 le médecin Autrichien Karl Landsteiner (1868-1943) démontre que les sangs humains ne sont pas tous semblables ni tous compatibles entre eux. Il découvrit le système ABO, suivant lequel le sang se partage en quatre groupes : A, B, AB ou O, selon les antigènes que l'on trouve associés aux globules rouges des personnes (**Boucher, 2008; Danic et Lefrère, 2011**). Un autre antigène important des globules rouges est le facteur rhésus Rh identifié en 1940 par Landsteiner et Weiner (**Brooker, 2001**).

2. Le système ABO

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

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

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

3. Facteur rhésus

Le système sanguin

Le facteur R est l'un des plus importants systèmes de groupes sanguins après le système ABO, ses antigènes (C, D et E) sont aussi importants que ceux de système ABO. Les personnes dans le sang des quelles cet antigène est, sont dites Rh+, tandis que les autres sont Rh- (Boucher, 2008).

4. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO

Les antigènes du système ABO proviennent d'une famille des glycolipides présents à la surface des globules rouges. Leur structure de base est constituée de lipide céramide auquel est attaché un oligosaccharide composé d'un glucose (Glu), d'un galactose (Gal), d'une N-acétyl-galactosamine (Gal Nac), d'un galactose (Gal) et d'un fucose (Fuc). Les sujets du groupe O ne produisent que ce glycolipide. Les sujets du groupe A ont un enzyme qui ajoute une molécule de N-acétyl-galactosamine à la chaîne oligosacchridique pour former l'antigène A, alors que les sujets du groupe B ont une enzyme qui ajoute une molécule de galactose pour former l'antigène B. Les globules rouges des sujets du groupe AB expriment en plus la structure de base dépourvue des glucides terminaux, ce qui explique pourquoi des alloanticorps ne sont pas produits contre le groupe O (Parham, 2000) (figure 6)

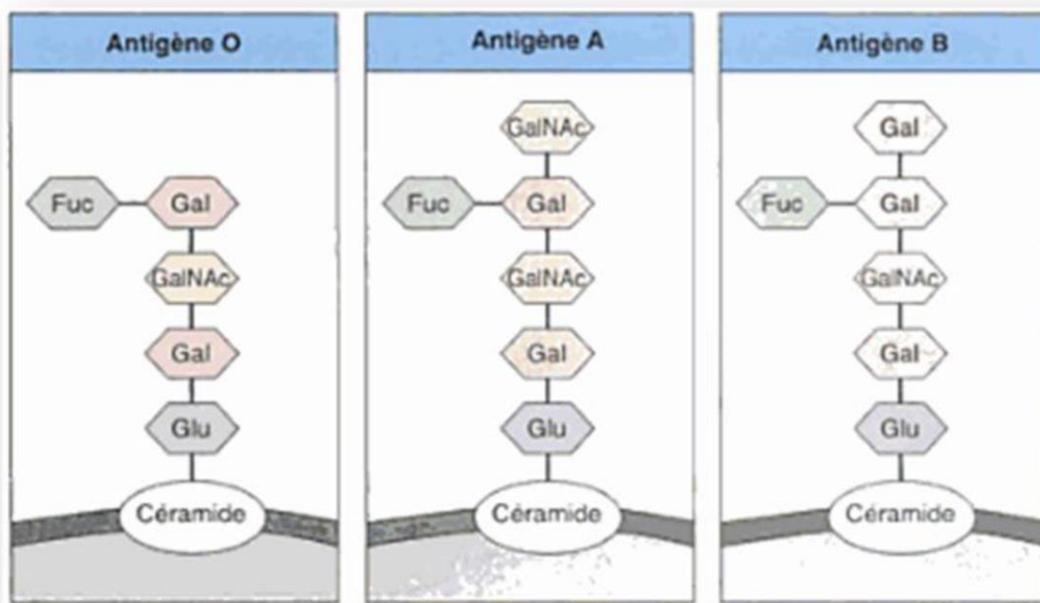


Figure 07 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Parham,2000).

5. Détermination du groupe sanguin

La détermination des groupes sanguins ABO se fait à l'aide de deux épreuves : L'épreuve globulaire dite de Beth-Vincent (consiste à détecter les antigènes présents sur les globules rouges du patient grâce à des anticorps de spécificité connue = sérum test) et l'épreuve sérique dite de Simonin (consiste à détecter les anticorps naturels présents dans le plasma grâce à des globules rouges de groupe connu (globules tests). La détermination du groupe sanguin ABO d'un patient est systématiquement associée à la recherche de l'antigène D (Béziat *et al.*, 1996). (Tableau 05).

Tableau 05 : Les Lectines spécifiques des groupes sanguins

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

Chapitre III :
*« Généralités sur les
espèces médicinales »*

Chapitre III : Généralités sur les espèces médicinales

1. *Pélargonium graveolens*

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales (PAM) est associée à l'évolution des civilisations. Dès nos jours ces plantes à parfum occupent une place prépondérante dans la découverte de nouvelles substances thérapeutiques. L'Algérie, de Part sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogénèse et de grandes variations climatiques à laquelle s'ajoutent les ressources hydriques tous favorables au développement de cultures adaptés aux PAM (Belouad, 2001).

1.1. Description de la plante *Pélargonium graveolens*

Son nom vient du grec "pélarges" littéralement cigogne puisque son fruit ressemble à un bec de cigogne. Les pélargoniums sont une répartition géographique variée. Ils sont originaires d'Afrique australe, naturalisés dans les régions de l'est de la méditerrané, en Inde, Chine et en Australie. Les feuilles lobées et duveteuses de ce buisson, 30 à 60cm en tous sens dégagent sous les doigts une odeur de rose. Le *Pélargonium graveolens* exhibe des fleurs réduites rose franc montrent des taches pourpres sur les pétales supérieurs, les *Géraniums* rosat des jardins probablement hybrides (Geoff et al.,2005). *Pélargonium graveolens* est une plante vivace, de 40 à 50cm de haut, plein de suc en début de végétation, puis ligneux à écorce brun clair. Le genre *pélargonium* compte plus 200 espèces dont plusieurs dizaines sont odorantes, le *pélargonium graveolens* a des feuilles persistantes, rondes à marges festonnées. Ses fleurs roses, à cinq pétales sont souvent veinées d'une coloration plus foncée (Bossier et al., 19887).



Figure 08 : Le Géranium rosat (*pélargonium graveolens*)

<https://www.pinterest.com/pin/381117187193078009/>

1.2. Classification de la plante

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Règne : Plantae

Division: Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Geraniales

Famille : Geraniaceae

Genre: Pélargonium

Espèce :PélargoniumGraveolens

1.3. Effets et usages médicaux

Les effets et l'usages médicaux de cette plante sont résumés comme suit :

- Le pélargonium exerce une action anti-inflammatoire.
- Expectorante (il dégage les voies respiratoires).
- Émolliente (il adoucit la peau).
- Antalgique (il soulage les douleurs).
- Cicatrisante.
- Antibactérienne et antifongique (il soigne les infections causées par des champignons).
- Il est utilisé en usage externe pour prendre en charge la grippe, les rhumes, les angines, les bronchites, les infections et mycoses buccales ainsi que les douleurs articulaires
- (Rhumatismes, arthrite).
- Il guérit les plaies, les brûlures légères et les hémorroïdes.
- Apaise les symptômes des piqûres d'insectes.
- Le pélargonium est aussi employé pour traiter le stress, l'anxiété et la grande fatigue (asthénie).
- Il agit efficacement contre les dermatoses telles que l'acné, la couperose, l'eczéma et l'impétigo.

Généralités sur Les espèces médicinales

- Il contribue à lutter contre le vieillissement cellulaire (effet antioxydant) et à prévenir les cancers.
- Cette plante est très bien tolérée par les enfants.

2. *Pterocladia capillacea*

Les algues ont été largement utilisées par les populations côtières des milliers d'années en raison de leurs valeurs nutritionnelles élevées (**MacArtain et al, 2007**). L'Algérie est un pays avec une face maritime s'étalant sur 1200 Km. L'étude de la flore algale d'Algérie a fait l'objet d'un certain nombre de travaux (**Tebbal, 2011**). Les premières études remontent à la fin du 19^{ème} siècle auxquelles se sont ajoutées celles de Perret et Séridi (1989). En regroupant tous les taxons et stades d'algues signalés sur les côtes Algériennes (d'Ouest en Est), plus de 468 taxons ont été inventoriés à partir de la compilation des travaux anciens et récents sur la communauté algale de l'Algérie (**Séridi, 2007**). Selon leur pigmentation, les algues sont divisées en trois groupes : Les chlorophycées (vertes), les rhodophycées (rouges) et les phéophycées (brunes) (**Mohamed et al, 2012**). Les rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, mais il existe quelques formes unicellulaires (**Garon- Lardiere, 2004**). Les rhodophycées sont particulièrement abondantes dans les eaux tropicales et chaudes et beaucoup dans les régions plus froides du globe (**Raven, 2003**). Elles sont divisées en deux groupes : celui des Bangiophycées (qualifiées de primitives) et celui des Floridéophycées (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (**GaronLardiere, 2004**). Cependant, les Floridéophycées sont considérées taxonomiquement comme le groupe le plus divers des algues rouges, incluant autour de 5800 espèces (**Yoon et al., 2010**). En plus de leur haute valeur nutritive, les algues rouges sont d'un grand intérêt en tant que source de substances thérapeutiques (**Sebaaly et al., 2012**).

2.1. Description de l'algue *Pterocladia capillacea*

Cette algue de couleur rouge noirâtre mesure de 5 à 20 cm de hauteur. Elle est constituée d'un axe principal aplati d'une épaisseur de 1 à 2 mm, qui se ramifie abondamment à partir du premier tiers inférieur. Les ramifications sont disposées sur un plan. Sa consistance est molle et souple. Cette espèce est présente toute l'année (**Garcia-Gomez, 2015**). Cette algue est fréquente sur les failles rocheuses superficielles de l'étage infralittoral supérieur, en milieu obscur, calme et semi battu en Méditerranée et en Atlantique. Elle occupe un étage de 0 à 5 m de profondeur (**Bornet et Thuret, 1876**). Répandu dans les mers tempérées, se prolongeant dans les régions subtropicales (**Womersley et Guiry, 1994**). Couramment distribués dans les mers du Liban, l'Egypte, Le Brésil, l'Italie et les autres pays (**Wassef et al, 2002 ; Bottalico et al, 2008; Silva et al, 2010**).et même dans l'Atlantique Est, des îles Britanniques au Maroc, dans l'Atlantique Nord-Ouest, en mer Noire, en mer de Chine et en Méditerranée (**Garcia-Gomez, 2015**).

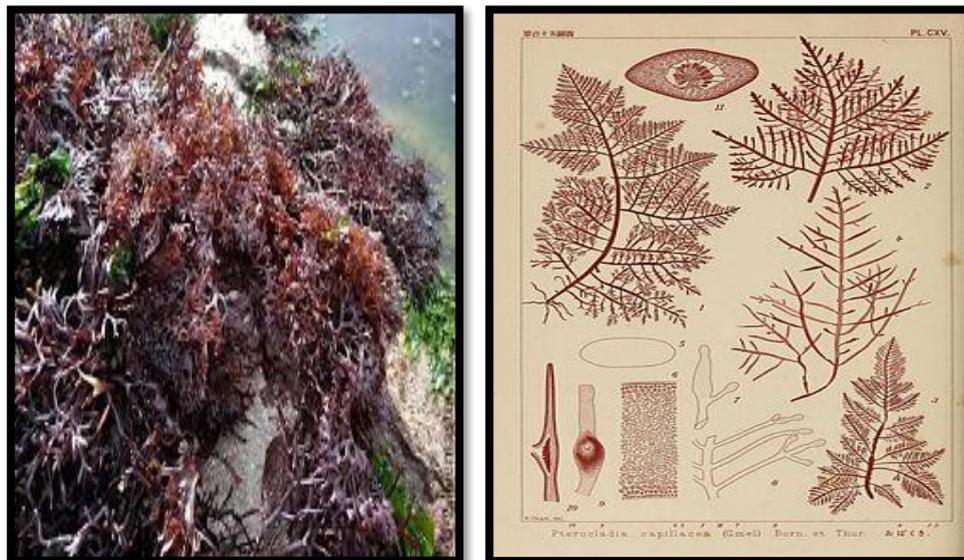


Figure 09 : l'algue rouge *Pterocladia capillacea*

https://species.wikimedia.org/wiki/Pterocladia_capillacea

2.2. Classification de l'algue

La *Pterocladea capillacea* est classifiée selon (S.G. Gmelin) Bornet, 1876.

Embranchement : *Rhodophyta*

Sous embranchement : *Eurhodophytina*

Règne : *Plantae*

Classe : *Florideophyceae*

Sous-classe : *Rhodymeniophycidae*

Ordre : *Gelidiales*

Famille : *Pterocladaceae*

Genre : *Pterocladia*

Espèce : *Pterocladia capillacea*

2.3. Effets et usages médicinaux

Elle constitue la source primordiale de l'agar qui intervient dans le domaine médical et pharmaceutique pour produire des agents gonflants, des laxatifs, des suppositoires, des gélules, des comprimés et des anticoagulants. Les agars sont également utilisés dans la fabrication des milieux de culture biologique et en biologie moléculaire plus spécifiquement pour les méthodes de séparation. Les carraghénanes présentent plusieurs possibilités d'utilisation comme produits pharmaceutiques : anti tumoraux, antiviraux et anticoagulants (Person, 2011).

3. *Agaricus silvicola*

Le genre *Agaricus*, appartenant à la famille des *Agaricaceae*, est généralement décrit avec un piléus blanc, jaune ou brun ; charnu, généralement lisse et blanc chez les exemplaires jeunes. Il se recouvre ensuite de fibrilles ou de squames de couleur ocrée à mesure qu'il s'ouvre. Les lamelles libres sont roses lorsque le champignon est jeune, puis brun-noir à noires lorsqu'il vieillit, avec une trame régulière quand elles sont jeunes, devenant plus tard irrégulières ; et

Généralités sur Les espèces médicinales

elles portent une spore qui va du brun pourpre à brun foncé. Les basidiospores sont lisses avec une paroi pseudo-amyléide (Mitchell et Bresinsky, 1999). Les *Agaricus* appartiennent à la Division (ou Phylum) des Basidiomycota (Hibbett et al. 2007) lesquels se caractérisent par la formation de leurs spores sexuelles à l'extrémité des structures appelées basides qui sont situés dans la partie fertile du corps fructifère ou hyménium.

3.1. La Description de *Agaricus silvicola*

Agaricus sylvicola est un champignon solitaire ou en groupes de quelques individus qui viennent sous feuillus, conifères ou bois mêlés du mois d'août au mois d'octobre avec parfois une poussée plus précoce en juin. Ce champignon est un excellent comestible, il appartient à la section *Arvenses* qui comporte un certain nombre d'espèces, toutes comestibles. De valeurs gustatives parfois très différentes, la confusion ne prêterait donc pas trop à conséquence, sauf à être déçu du résultat, par contre, une cousine très proche *Agaricus xanthoderma*, l'Agaric jaunissant, peut présenter quelques inconvénients aux personnes fragiles, son odeur devrait suffire à vous mettre sur la voie. L'Agaric des bois et les Agarics plus généralement s'en distinguent par un pied atténué ou bulbeux mais jamais chaussé d'une volve, des lames très vite colorées de rose puis brun à brun très sombre par le mûrissement des spores foncées et une odeur souvent anisée ou d'amande. [champyves.pagesperso-orange.fr/champignons/fichier htm/.../agaricus silvicola.htm](http://champyves.pagesperso-orange.fr/champignons/fichier_htm/.../agaricus_silvicola.htm)

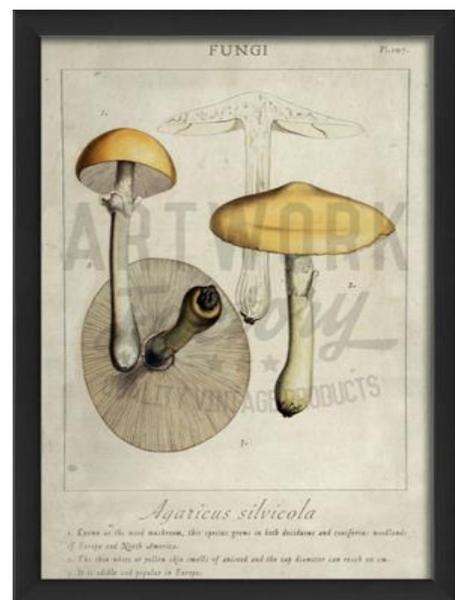


Figure 10 : le champignon *Agaricus silvicola* (<https://nagrzyby.pl/atlas/5141>)

3.2. La Classification scientifique de *Agaricus silvicola*

Règne : Fungi

Division : Basidiomycota

S/Division : Agaricomycotina

Classe : Agaricomycètes

S/Classe : Agaricomycetideae

Ordre : Agaricales

Famille : Agaricaceae

Genre : Agaricus

Espèce : Agaricussilvicola

3.3. Les Propriétés médicinales d'agaricus

Les études scientifiques ont confirmé que l'Agaricus contribuait à allonger l'espérance de vie, aidait le corps à rester jeune et avait un effet positif sur le métabolisme et la digestion. - L'Agaricus empêche la fabrication de l'enzyme « aromatase » nécessaire pour la production des œstrogènes. Les œstrogènes sont liés à des cancers hormono-dépendants tels que le cancer de la prostate ou du sein.

- Le champignon Agaricus posséderait les propriétés thérapeutiques suivantes : antioxydant, antiallergique, antitumoral, immunomodulant et indiqué en cas de diabète, hépatite et infections.
- L'Agaricus contient également de nombreux polysaccharides, dont des bêta glucanes
- L'Agaricus serait également doté de la forme la plus aisément assimilable (avec le poids moléculaire le plus faible) et la plus active de bêta-glucanes parmi les champignons.

www.freedomofheath.eu/fr/vitamine-d/champignon-agaricus-riche-en-vitamine-d/

Chapitre VI :

« Le stress oxydant »

Chapitre IV : Le stress oxydant

1. Définition

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

La conséquence des effets nocifs des RL et des métabolites réactifs est dite « stress oxydant » (figure 06). Ce terme est défini initialement comme étant « Un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers » (**Baskin et al., 1994 ; Barouki , 2006 ; Jenkins et al., 2007**). Cette définition ne signale aucun effet délétère d'un tel changement sur la fonction des tissus et n'indique pas l'origine de ce déséquilibre s'il est dû à une augmentation de la production des oxydants ou à une diminution de la capacité réductrice des tissus (**Kehrer , 1993 ; Barouki , 2006**). D'autres chercheurs ont dit que le stress oxydant désigne un état caractérisé par une augmentation de la génération des ROS (reactive oxygen species) en ajoutant que ce terme est synonyme du dommage (**Kehrer,1993**). Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (**Durackova, 2008**) et à des dégâts cellulaires irréversibles (**Pincemail et al., 1999 ; Abuja et al., 2001**)».

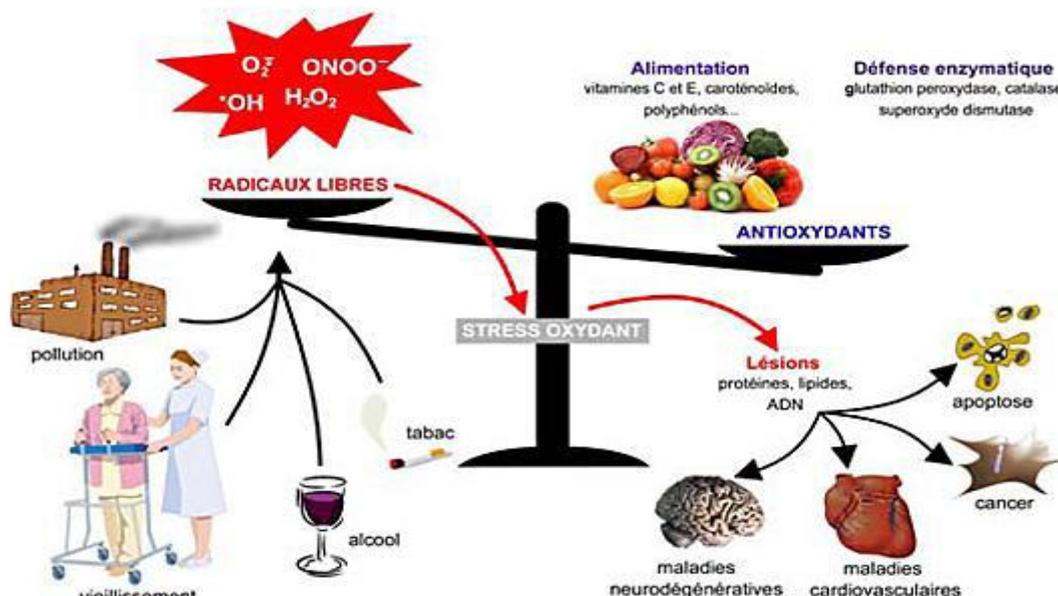


Figure11: Stress oxydant (Durackova, 2008)

2. Les espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène représente, après l'azote, le deuxième élément le plus abondant dans l'atmosphère (21%). Il a été caractérisé en 1772-1774 par Lavoisier, un chimiste français. L'oxygène est un élément indispensable à la vie des organismes aérobies. Ces organismes utilisent l'oxygène pour oxyder les substrats riches en carbone et en hydrogène. Cependant, quand on oxyde les molécules avec l'oxygène, ce dernier est réduit et forme des intermédiaires radicalaires, très réactifs connus sous le nom espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les ERO sont des molécules contenant de l'oxygène mais dont la réactivité est bien supérieure à celle de la molécule d'O₂. Ces ERO comprennent des radicaux tels l'anion superoxyde (O₂^{•-}) ou le radical hydroxyle (HO[•]) et les espèces non radicalaires telles le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'oxygène singulet (¹O₂) (**Simonian and Coyle, 1996 ; Garrel et al., 2007**). L'anion superoxyde et le radical hydroxyle sont très instables par comparaison au H₂O₂ qui diffuse librement et possède une durée de vie plus longue. La réactivité d'un radical dépend de sa nature. Ainsi, parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde (O₂^{•-}) n'est pas très réactif mais constitue un des radicaux précurseurs pouvant être activés en d'autres espèces plus réactives. Sa faible réactivité (O₂^{•-}) permet son utilisation par l'organisme comme médiateur régulant des fonctions biologiques. Par contre, les radicaux comme les peroxydes (ROO[•]) ou surtout le radical hydroxyle (HO[•]), sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules biologiques. Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant faible et peu réactif en absence des métaux de transition. Cependant, en présence du cuivre cuivreux ou du fer ferreux, le H₂O₂ peut se décomposer en HO[•] et HO[•] selon la réaction de Fenton. Le radical HO[•] a une vitesse de réaction très grande avec la majorité des molécules, si bien qu'il réagit à l'endroit même où le métal catalyse sa formation (figure 07) (**Favier, 1997**).

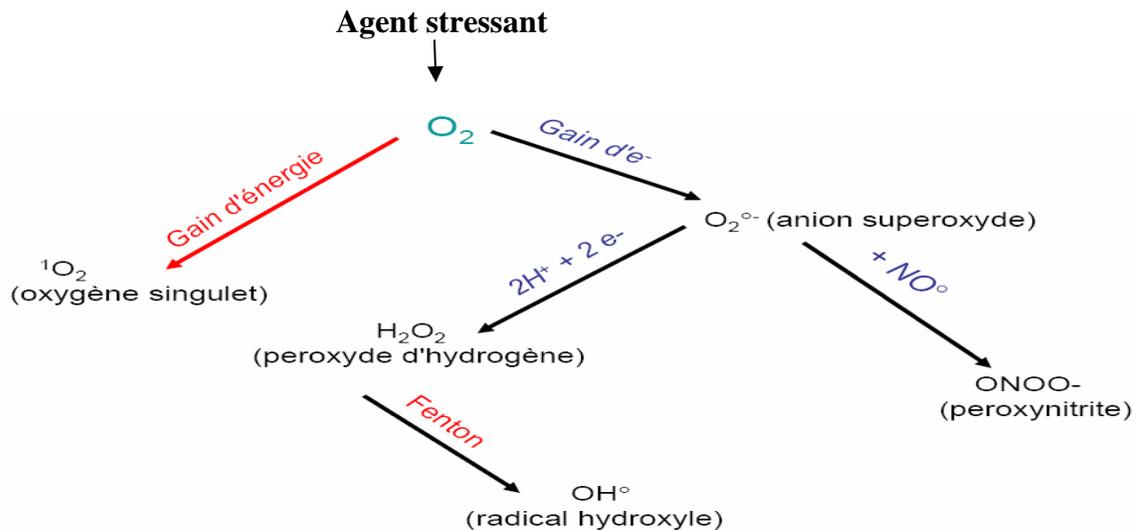


Figure 12 : Schéma modifié de l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003)

L'oxygène singulet (¹O₂) est une autre espèce oxygénée très réactive. C'est une molécule à l'état excité qui peut réagir avec différents accepteurs d'électrons pour produire des peroxydes. L'oxygène singulet n'apparaît que dans des cas particuliers comme pendant les processus de photosensibilisation où une molécule excitée transfère son énergie à l'oxygène et l'active en oxygène singulet. Il a pour cible biologique les membranes, les acides nucléiques et les protéines (Favier, 2003).

3. Les cibles biologiques du stress oxydant

L'équilibre entre les effets positifs et négatifs des radicaux libres est particulièrement fragile (Pincemail, 2003). La production de ces radicaux peut être régulée par notre organisme (Sies, 1991). Les systèmes de régulation se composent d'enzymes, de protéines, de molécules antioxydantes de petite taille et d'oligoéléments indispensables pour l'activité des enzymes. Un déséquilibre de la balance antioxydante en faveur de la production des ERO constitue le stress oxydant. Le stress oxydant va dénaturer les lipides, les protéines, l'ADN et provoquer des pathologies (Gutteridge, 1992 ; Curtin *et al.*, 2002).

3.1. Les lipides

Le stress oxydant

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

La peroxydation lipidique débute par une phase d'initiation qui implique l'attaque des espèces réactives surtout le radical hydroxyle ($^{\circ}\text{OH}$), entraînant l'arrachement d'un hydrogène du l'acide gras (LH), ceci aboutit à la formation d'un radical diène conjugué, qui après addition avec l'oxygène moléculaire donne le radical peroxyde (LOO°). Ensuite, ce radical peut réagir avec un autre acide gras polyinsaturé et former un hydroperoxyde (LOOH), c'est la phase « Propagation » de la peroxydation lipidique. Ces hydroperoxydes appartiennent à la famille des peroxydes lipidiques qui peuvent soit être réduits et neutralisés « phase de Terminaison » par la glutathion peroxydase et la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidiques des membranes (**Esterbauer *et al.*, 1992 ; Beaudoux *et al.*, 2003 ; Favier, 2003**) (figure 08). Ou, continuer à s'oxyder et à se fragmenter en produits secondaires c'est-à-dire en aldéhydes très réactifs, pouvant être considérés comme des messagers secondaires toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. Parmi ces aldéhydes formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), et le 4-hydroxynonéal (4-HNE), qui sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique, ces deux derniers produits (MDA, 4-HNE) réagissent avec les protéines et l'ADN, une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (**Marnett, 1999**).

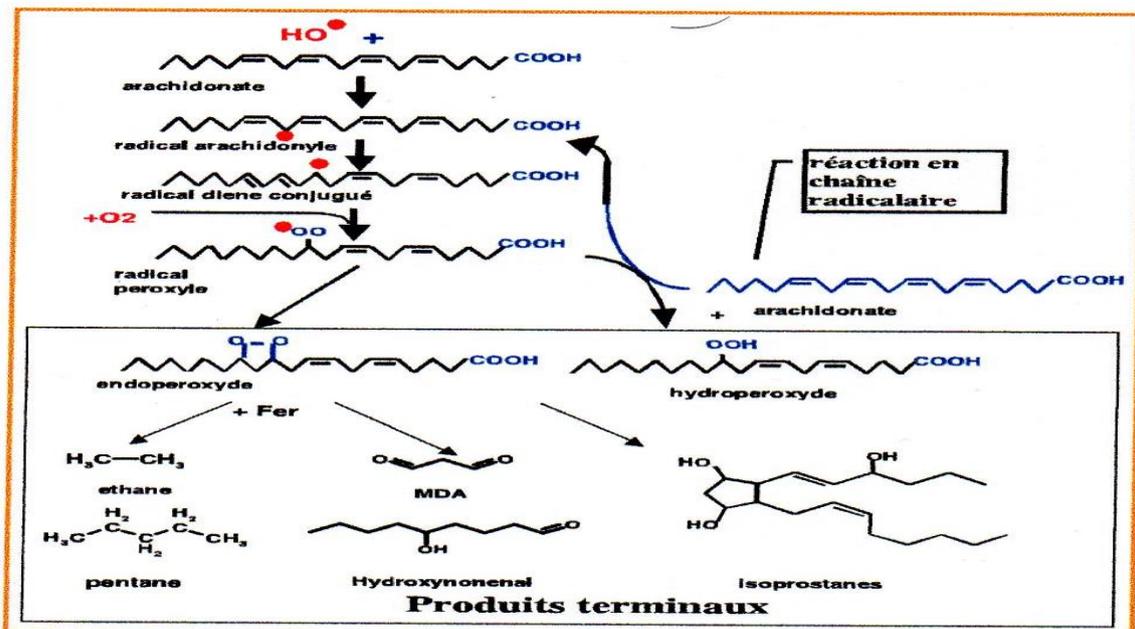


Figure13: Réactions de la peroxydation lipidique (**Favier, 2003**).

3.2. Les protéines

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible des réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications, ces modifications provoquent l'introduction d'un groupe carbonyle dans les protéines. Ces réactions d'oxydations, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} (Levine, 2002). Nous pouvons classer les réactions d'oxydations des protéines en deux catégories : D'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique. Et d'autre part, les modifications des peptides par l'addition des produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. Ces changements sont-elles qui conduisent généralement à une perte de la fonction catalytique, ou structurale des protéines affectées (Levine, 2002) (figure 09). Les protéines comportant un pont sulfhydrique sont les plus sensibles aux attaques radicalaires, c'est le cas de nombreuses enzymes anti oxydantes et les protéines de transport, qui contiennent très souvent des groupements thiols (SH) (Sen, 2001). Les protéines modifiées par l'oxydation, vont être prises en charge par des protéines spécifiques dites protéines de stress (Heat Shock Protein, HSP) connues pour leur rôle cytoprotecteur, où elles prennent en charge les protéines dénaturées et participent à la restauration de la fonction de ces protéines (Welch, 1992). Les HSP permettent à la cellule de répondre à des stress de façon rapide, et la synthèse des HSP pourrait ainsi compléter les capacités de défenses antioxydantes lorsque les protéines intracellulaires sont endommagées par les ROS (Essig and Nosek, 1997)

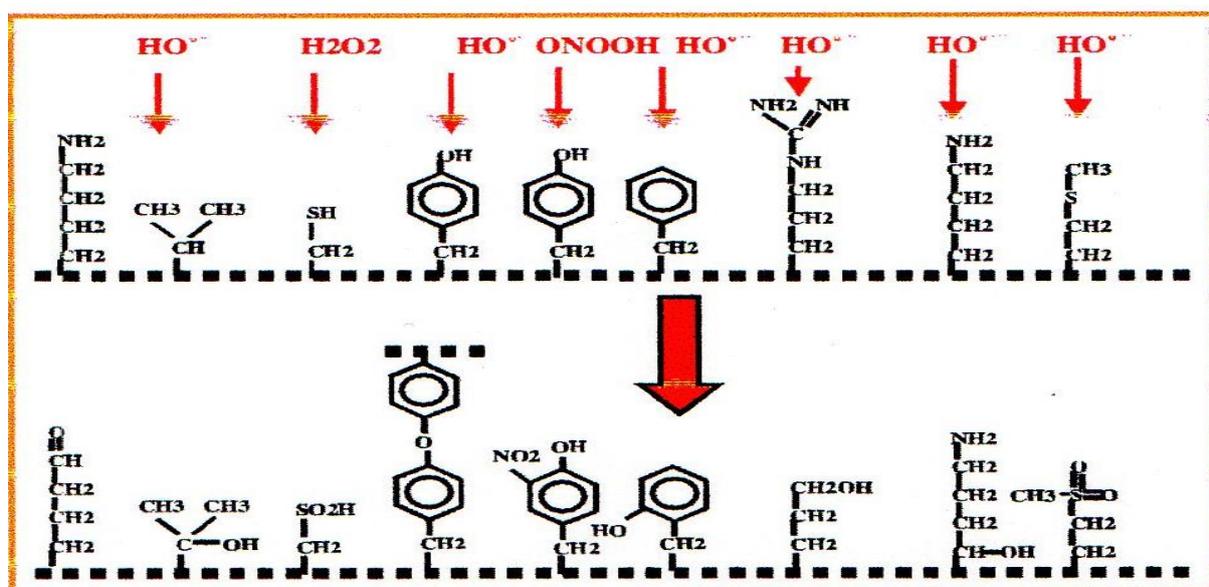


Figure14: Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

3.3. Les acides nucléiques

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

Les réactions d'oxydation de l'ADN créant un grand nombre de dommages de l'ADN, et on peut noter quatre classes principales des dommages : les coupures simples et doubles brins, les bases modifiées comme la 8-OHdG (qui est un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN), les pontages ADN-ADN et les pontages ADN-protéines (figure 10) (Hayakawa *et al.*, 1991). Les bases puriques sont plus sensibles aux ROS (surtout l' $^{\circ}\text{OH}$ et le peroxy-nitrite), en particulier la guanine (base qui présente le potentiel d'oxydation le plus bas), qui est facilement transformée en 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-OHdG) qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN. Si ces systèmes sont défailants, La 8-OH dG s'accumulera au sein de l'ADN (Cadet, 1999). Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique dont le MDA et le 4-HNE peuvent s'ajouter au groupe amine des bases de l'ADN et constituer ainsi une autre classe de dégâts oxydatifs de l'ADN (Marnett, 1999 ; Nair *et al.*, 1999).

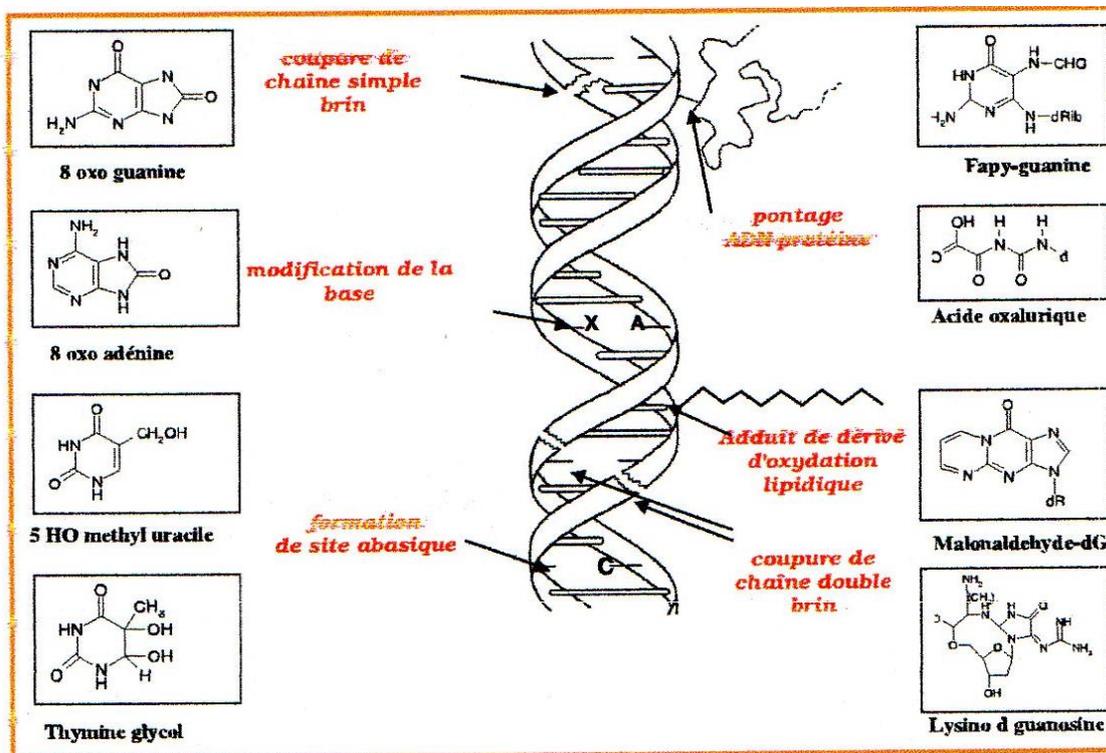


Figure 15 : Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires (Favier, 2003).

4. Le stress oxydant et les pathologies

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

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

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

5. Systèmes de défenses antioxydants

Le maintien d'un niveau non cytotoxique des EOR est assuré par des systèmes d'antioxydants. Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (figure 11). La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (**Goudable et Favier, 1997**).

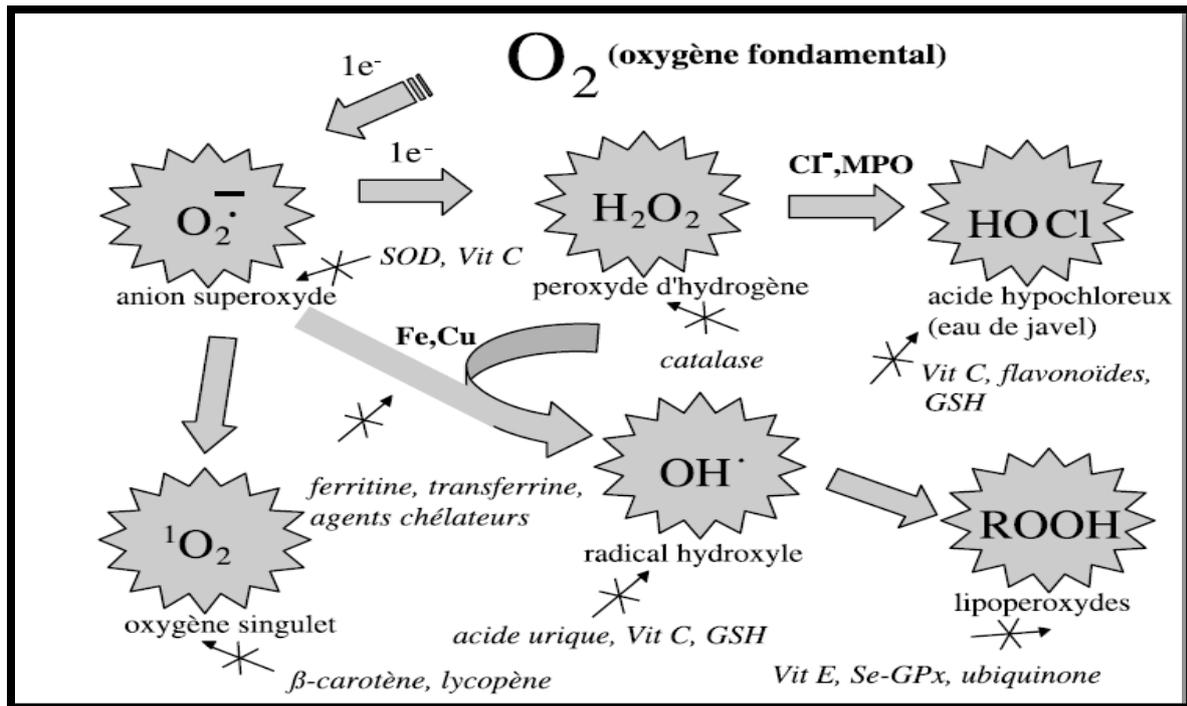


Figure16 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury et Richer *et al.*, 2008).

5.1. Les systèmes enzymatiques

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

a) La Superoxyde dismutase

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

b) La catalase

Le stress oxydant

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

c) Les glutathions peroxydases et réductases

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

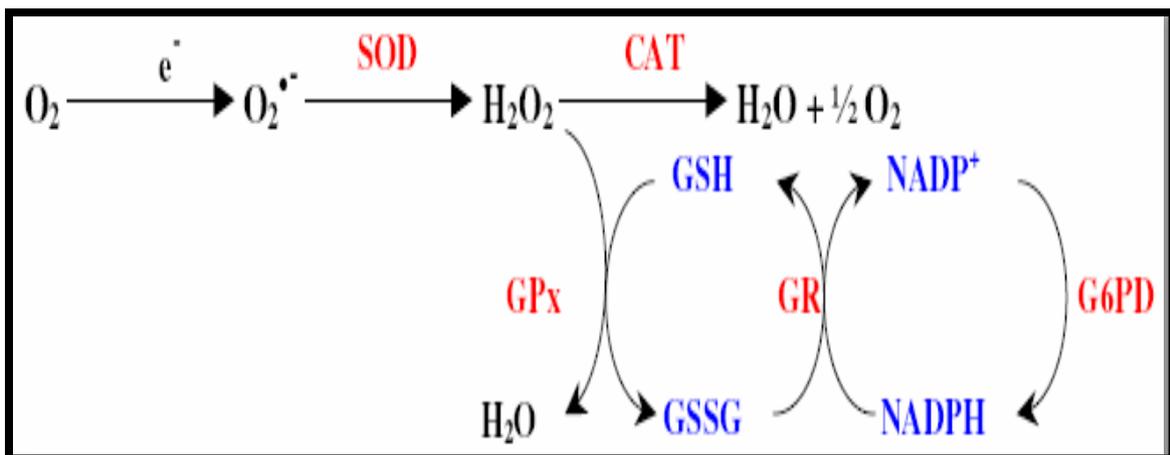


Figure 17: Schéma résume le mécanisme de détoxification enzymatique (Piquet et herbuterne, 2007).

5.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques

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

5.2.1. Le Glutathion réduit (GSH)

Le stress oxydant

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GSH-Px). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique (Packer *et al.*, 1997 ; Power and Lennon, 1999). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d'H₂O₂ est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (Ji *et al.*, 1992).

5.2.2. La Vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydante variable. L' α -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' α -tocophérol, connu comme inhibiteur de la propagation de la peroxydation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO₂ (Singh *et al.*, 2005).

5.2.3. La Vitamine C

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

5.2.4. Les métallothionéines (MTs)

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

Le stress oxydant

trace, tels que le zinc, le cuivre et le chrome et la participation dans les systèmes cellulaires de défense antioxydante (Diana, 1999). A cause de leur teneur élevée en groupements sulfhydriques, les MT peuvent réagir avec les radicaux libres ERO et les électrophiles (**Lazo et pitt, 1995**).

5.2.5. Le Sélénium

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

Section II

Matériels et méthodes

Matériel et Méthodes

1. Le matériel

1.1. Le matériel végétal

Notre travail a été réalisé sur trois espèces d'origines différentes :

- *Pélargonium graveolens*
- *Pterocladia capillacea*
- *Agaricus silvicola*



A



B



C

Figure 18 : *Pelargonium graveolens* (A); *Pterocladia capillacea* (B) ; *Agaricus silvicola*(C)

- ❖ *Pélargonium graveolens* a été collecté à partir de la région de Constantine au moins de janvier 2018.
- ❖ *Pterocladia capillacia* a été collecté à partir de la plage de Tipaza au l'année de 2017.
- ❖ *Agaricus visicola* a été collecté à partir de la zone industrielle Constantine au moins de mars 2018.

1.2. Le matériel vivant

- ❖ Le sang utilise lors d'un travail effectuée dans laboratoire de la biochimie est issue du lapin gardés dans l'animalerie de chaabate al rsasse.
- ❖ Le sang humain nous avons fait le prélèvement du notre sang à l'aide de l'autre binôme dans l'université mentouri.

2. Les méthodes

2.1. La préparation de matériel végétal

Lavage : les plantes ont été bien rincées avec l'eau et débrasées de toute impureté.

Séchage : Les plantes ont été séchées à température ambiante pendant 20 jours.

Broyage : Les plantes ont été coupées, puis ils sont broyés dans un broyeur Jusqu'à l'obtention d'une poudre.

- **Extraction des plantes**

- a. Le Principe**

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

- b. La Technique d'extraction**

- 9g des poudres obtenues à partir des trois plantes ont été mises dans des flacons contenant chaque une 30 ml solution tampon PBS (0.1M pH 7.2) (annexe 1) pendant 24h, après la centrifugation de la suspension à 6000 tr /min pendant 30 min le surnageant est récupéré et conservé pour la réalisation des test souhaités.

Matériel et méthodes

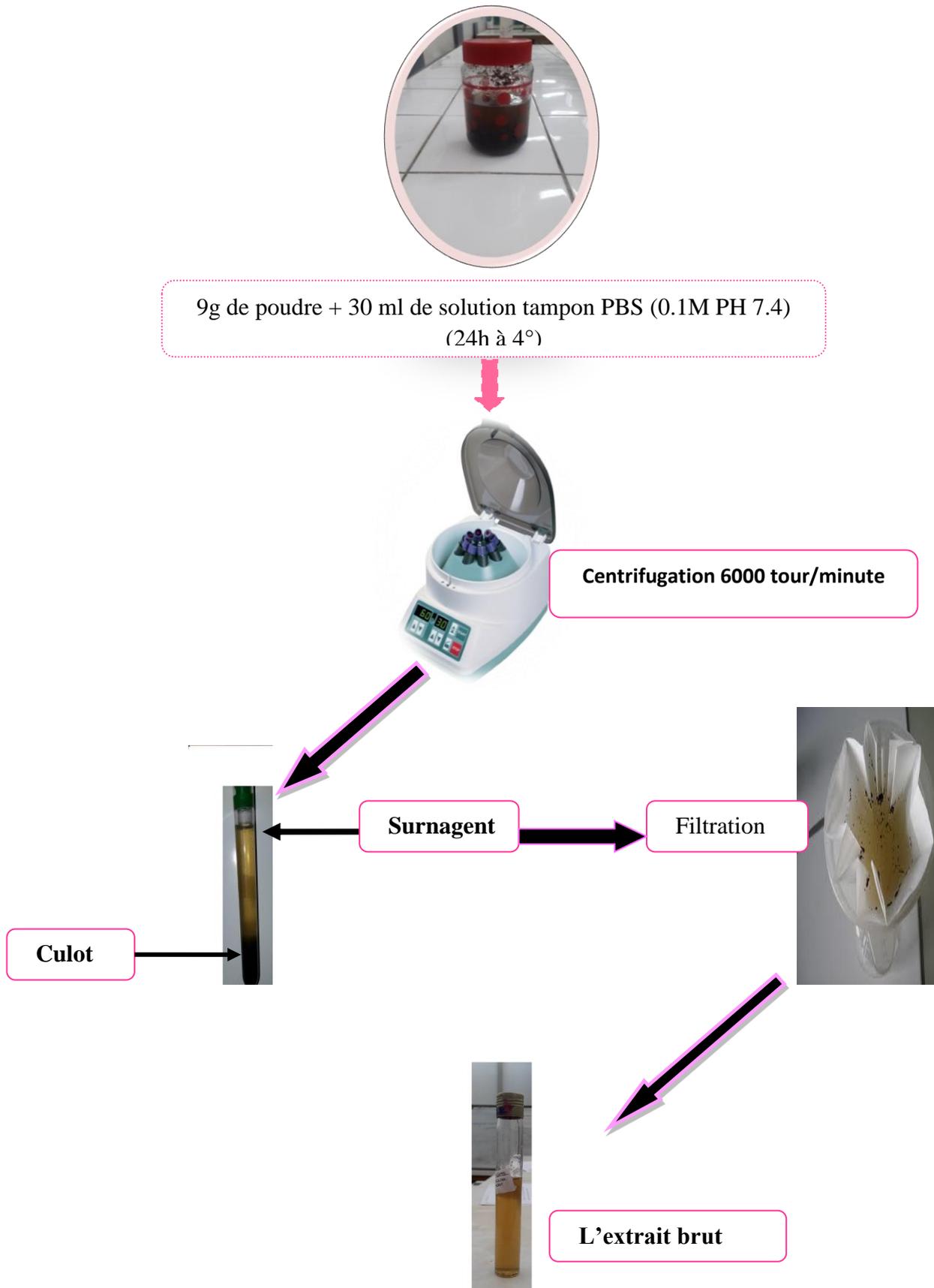


Figure 19 : schéma d'extraction des lectines à partir des poudres des plantes

2.2. Le Test d'héماغglutination :

Ces tests sont réalisés à différents stades du processus de la purification des lectines. La mesure d'activité héماغglutinante est le test d'interaction le plus largement utilisé pour la détection des lectines et leur caractérisation (**Goldstein 1980 ; Rüdiger 1993**). Cette technique a été effectuée pour la mise en évidence de la présence des lectines dans les extraits. Ce test est basé sur l'observation de l'agglutination, et donc de la précipitation des érythrocytes en présence de lectine. Il a eu lieu sur des hématies de lapin.

Après le test d'héماغglutination, seuls les extraits positifs ont été retenus pour la suite de notre étude.

- **Collecte des hématies :**

Les hématies de lapin ont été obtenues à l'animalerie de l'université des frères Mentouri de Constantine.

- **Préparation des hématies 3% :**

La préparation de suspension d'hématies est effectuée selon la méthode de **Higuichi et al (1989)**, de la manière suivante :

- **Lavage des hématies :**

Une quantité de sang a été posée dans un tube hépariné, puis centrifugé à 4000 tours/minute pendant 15 minutes. Le surnageant est éliminé et le culot est dissous dans une solution physiologique (NaCl 0,9%) et à nouveau centrifugé. Cette opération de lavage a été reprise trois fois dans les mêmes conditions.

- **Dilution des hématies :**

Après le troisième lavage des globules rouges, ces dernières sont diluées dans du chlorure de Sodium 0,9% (NaCl), soit 1,5 ml des hématies dans un 48,5 ml NaCl afin d'obtenir une solution d'hématies à 3%.

- **La technique d'héماغglutination**

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

2.3. La limite d'héماغglutination

Dans chaque puits, 50 µl de tampon phosphate ont été déposés suivis de 50 µl de l'extrait brute (*Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus visicola*) qui lui, est placé uniquement au niveau du premier puits. Puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants. Ensuite, 50 µl des hématies du lapin ont été ajoutés dans tous les puits. L'observation de l'activité hémagglutinante a été effectuée à l'oeil nu après 1 h d'incubation à une température ambiante (25° C).

2.4. L'effet de la température sur l'hémagglutination

Les aliquotes de l'extrait brute ont été versés dans 4 tubes à essai, ces derniers ont été incubés à des degrés différents de température (30, 50, 70 et 90°C) dans un bain marie durant 1h de temps. Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été effectué.

2.5. L'effet de pH sur l'hémagglutination

L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante a été déterminé par la mise en oeuvre du pouvoir hémagglutinant de la lectine en utilisant des tampons à différentes valeurs de pH en allant de 1 à 12 (une petite quantité de poudre de notre plante a été mise tout en ajoutant un petit volume de tampon phosphate), Après 24 h d'incubation à 4 °C, le test d'hémagglutination a été effectué sur le surnageant.

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

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

2.7. Le test de la limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides

Ce test a été effectué pour les sucres qui inhibent l'agglutination, il a été réalisé afin de déterminer la concentration minimale à laquelle a lieu l'inhibition de l'agglutination est mesurée. Dans chaque puits d'une microplaque, 50 µl de tampon phosphate ont été déposés, puis 50 µl des inhibiteurs (0,1g/ml) (**Annexe 01**) sont rajoutées au premier puits seulement, ensuite une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants,

l'incubation de ce mélange a été effectuée pendant 1h à température ambiante. Finalement, 50 µl des hématies à 3% ont été ajoutés dans chaque puits. L'observation de l'hémagglutination a été faite à l'œil nu après une heure de temps.

2.8. Le Test des métaux (oligoéléments)

Premièrement, l'EDTA est ajouté à l'extrait de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus visicola* (1V-1V respectivement). Après 1h, 50 µl de notre composé ont été déposés dans un puits tout en ajoutant 50 µl de l'un des métaux (MgCl₂, CaCl₂, MnCl₂, FeCl₂). enfin 50 µl de sang de lapin sont ajoutés au mélange, la lecture a été faite à l'œil nu après 1h d'incubation.

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

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

2.9. L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G200

❖ La préparation de la colonne de Sephadex G200

4 g de Sephadex G200 ont été mis en suspension dans 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4). Le mélange a été incubé pendant 48 h à température ambiante. Puis il a été coulé dans une colonne. Le surnageant de l'extrait brute de notre plantes a été versé lentement dans la colonne Sephadex G200, puis il a été recueilli par l'élution avec le tampon phosphate (0,1M ; Ph7, 4) dans des tubes secs (5ml/tube). Les fractions récupérées ont été testés sur les hématies du lapin, pour assurer que l'activité hémagglutinante est améliorée. L'absorbance des extraits récupéré à partir de la chromatographie sur colonne a été mesurée dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est de 280 nm. Puis on a tracé la courbe d'absorbance en fonction des tubes.

2.10. L'activité antioxydante des lectines in vitro

Toutes les fractions récupérées par la chromatographie sur colonne de sephadex G200 et échangeuse d'ion sont lyophilisées ensuite conservées pour mesurer l'activité antioxydante des lectines in vitro.

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

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

2.10.3. Dosage de l'activité de fer ferrique

Le dosage de l'activité de fer ferrique est réalisé selon la méthode de (Yıldırım *et al.*, 2000) (Annexe 2).

2.10.4. Dosage des protéines

Le dosage des protéines est réalisé selon la méthode de (Lowry, 1951) (Annexe2).

Section III

Résultats et discussion

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Le test d'hémagglutination

Les résultats d'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *Agaricus silvicola* sont présentés dans le tableau au-dessous.

Tableau 06 : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola*

Extrait	Test d'agglutination
<i>Pélargonium Graveolens</i>	+++
<i>Pterocladia capillacea</i>	+++
<i>Agaricus silvicola</i>	+++

+++ : Très forte agglutination.

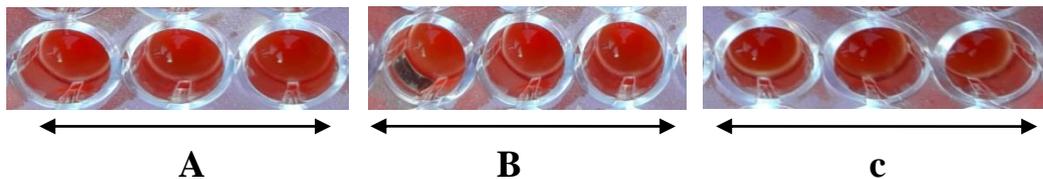


Photo 01 : L'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de *Pélargonium graveolens*(A), *Pterocladia capillacea* (B). *agaricus silvicola*(C).

L'extrait de la plante *Pélargonium graveolens* et l'algue *Pterocladia capillacea* et le champignon *Agaricus silvicola* montre une très forte agglutination vis-à-vis des hématies du lapin, cette agglutination a été observée à l'œil nu ce qui prouve que le *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *Agaricus silvicola* contient des lectines. Les lectines au niveau des plantes s'attachent au récepteur sur la surface des hématies donc La formation d'une suspension gélatineuse homogène, Ces résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites des graines de la plante *syzygium aromaticum* qui ont montré également une très forte agglutination lors de l'addition de la suspension d'érythrocytes de lapin (Necib *et al*, 2014).

2. Le test de limite d'hémagglutination

Résultats et discussion

La limite d'hémagglutination est exprimée en fonction du rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination. Le Tableau et la figure suivants ont montré les résultats obtenus lors du test de limite d'hémagglutination.

Tableau 07 : L'activité hémagglutinante des extraits, *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola*.

Dilution \ Extrait	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
<i>Pélargonium graveolens</i>	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-
<i>Pterocladia capillacea</i>	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Agaricus silvicola</i>	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-

++ : Forte agglutination

+ : Faible agglutination

- : Absence d'agglutination

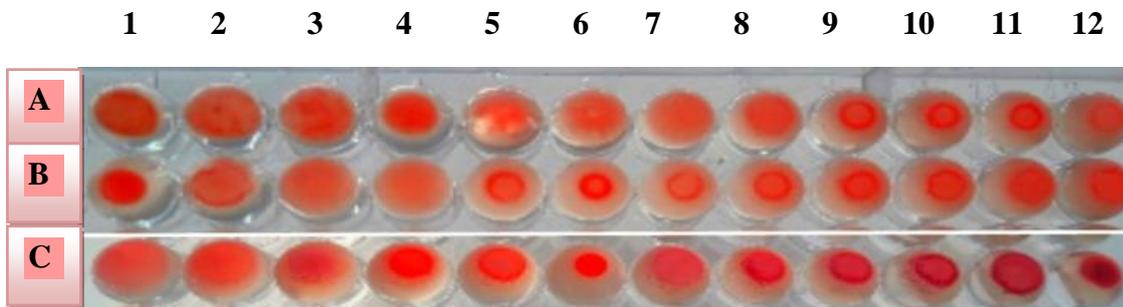


Photo 02 : la limite d'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de *Pélargonium graveolens* (A), *Pterocladia capillacea* (B), *Agaricus silvicola* (C).

L'extrait de *Pélargonium graveolens* a montré une forte agglutination vis-à-vis des hématies du lapin lors sa dilution au niveau de 7 premiers puits, cette agglutination est diminué au niveau de 8ème puits, et presque disparaît complètement au niveau de ces puits (9-12), c'est-à-dire l'activité hémagglutinante de l'extrait *Pélargonium graveolens* a été de 1 à 8 (256 UH.ml⁻¹), L'activité agglutinante des extraits de *Pterocladia capillacea* et *L'agaricus silvicola* a été de 1 à 12 (4096 UH. ml⁻¹) et de 1 à 6 respectivement, Ce résultat est similaire à *Terfezia bouderei* (Zitouni et al, 2014).qui ont montré une très forte agglutination allant jusqu'au 7ème puits (1/128).

Résultats et discussion

3. Test de la température

Tableau 08 : L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et l'*Agaricus silvicola*

Température \ Extrait	30°C	50°C	70°C	90°C
<i>Pélargonium graveolens</i>	++	++	++	++
<i>Pterocladia capillacea</i>	++	++	++	+
<i>Agaricus silvicola</i>	+++	++	+	+

++ : Forte agglutination

+ : Faible agglutination

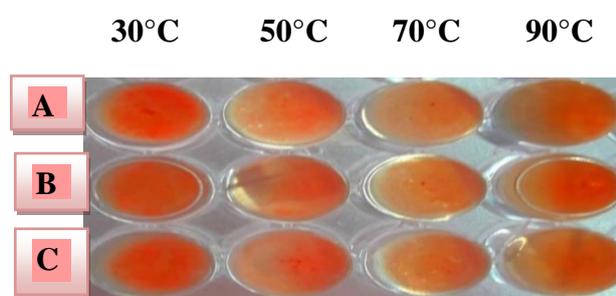


Photo 03: l'effet de la température sur L'activité hémagglutinante de l'extrait de *Pélargonium graveolens*(A), *Pterocladia capillacea*(B), *Agaricus silvicola* (C).

L'extrait de La plante *Pélargonium graveolens* et l'algue *Pterocladia capillacea* et le champignon *Agaricus silvicola* gardent leur activité d'agglutination lors de leur exposition à différent gammes de traitement thermique de 30 jusqu'à 90°C pendant 30 minutes, Contrairement à d'autres espèces ont dénaturées dans des températures plus faibles, comme les lectines de *Phaseolus vulgaris* et *Bryopsis plumose* qui restent natives à 60°C et 50°C, avec une perte totale d'activité à 80 °C et 60°C respectivement (Andrew et al., 2014 ; Han et al., 2010).

4. L'effet du PH sur l'hémagglutination

Tableau 09 : l'effet du PH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *Pélargonium graveolens* , *Pterocladia capillacea* et l'*Agaricus silvicola*

Résultats et discussion

Extrait \ PH	PH											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Pterocladia capillacea</i>	++	-	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pélargonium graveolens</i>	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Agaricus silvicola</i>	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

++ : Forte agglutination

+ : Faible agglutination

- : absence d'agglutination

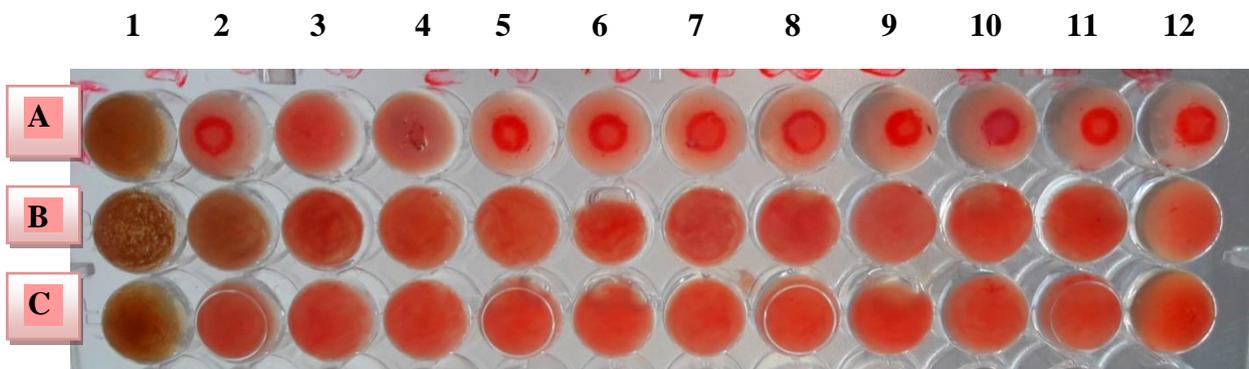
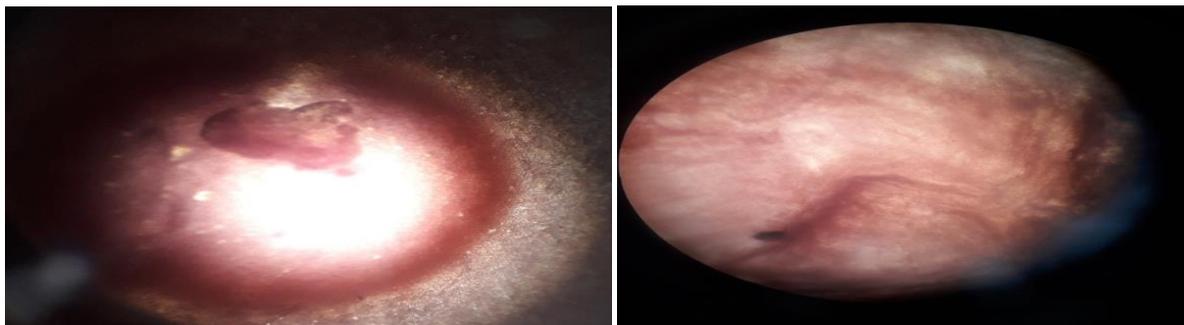


Photo04 : l'effet du PH sur L'activité hémagglutinante de l'extrait de *Pterocladia capillacea*(A), *Pélargonium graveolens*(B), *Agaricus silvicola* (C).



A

B

Photo 05 : Observation microscopique (G40) d'agglutination de *Pterocladia capillacea*(A), *Pélargonium graveolens*(B) à PH 2.

Les lectines de *Pélargonium graveolens* et *l'Agaricus silvicola* révèlent une activité d'agglutination stable dans un intervalle allant de [1 à 12], ces résultats ont été comparés à

Résultats et discussion

ceux de (Chaudhary et Sood, 2008). qui ont montré que la lectine de *Ricinus communis* est stable au pH [3-7]. Autres lectines comme celles du *Euphorbia helioscopia* perdent leur activité d'hémagglutination plus rapidement, elles restent actives dans un intervalle de pH de [6-8] (Shaista et al, 2014).

Les lectines de *Pterocladia capillacea* montrent une agglutination dans le PH 1,3 et 4, mais il y a une absence d'agglutination dans le PH 2 et de [5-12], par contre les lectines de *Ruta graveolens* montrent une perte totale d'activité hémagglutinante à pH 1 à 3 (Necib et al, 2015).

5. Test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides

Dans ce test nous avons utilisé des sucres simples pour déterminer la spécificité des lectines présentes au niveau de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *l'Agaricus silvicola*.

Tableau 10 : test d'inhibition de l'activité hémagglutinante par des sucres simples

Sucre \ Extrait	Lactose	Fructose	Galactose	Arabinose	Maltose	Glucose
<i>Pélargonium graveolens</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Pterocladia capillacea</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Agaricus silvicola</i>	+	+	+	-	+	+

+ : agglutination

- : Absence d'agglutination

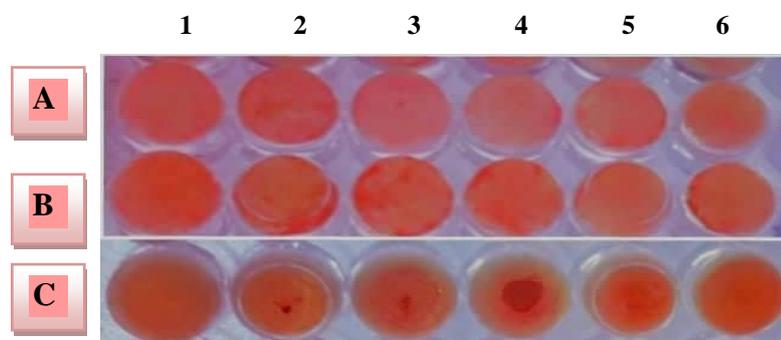


Photo 06 : l'effet des sucres Lactose (1), Fructose (2), Galactose (3), Arabinose (4), Maltose (5), Glucose (6) sur l'activité agglutinante des extraits de *Pélargonium graveolens*(A), *Pterocladia capillacea*(B), *Agaricus silvicola* (C).

Résultats et discussion

Les lectines de *Pélargonium graveolens* et de *Pterocladia capillacea* ne présentent aucune spécificité pour les saccharides testés en raison de l'hémagglutination observée en présence de tous nos monosaccharides. C'est le cas des lectines purifiées à partir des graines de *Phaseolus acutifolius* (Valadez *et al*, 2011).

Les lectines de *l'Agaricus silvicola* présentent une spécificité pour un seul sucre qui est l'arabinose par ce que ce sucre inhibe l'activité hémagglutinante de *l'Agaricus silvicola* c'est-à-dire ce sucre occupe le site de reconnaissance, Ces résultats sont similaires avec les lectines purifiées à des racines d'*Astragalus monghlicus* qui présentent une spécificité pour le D-galactose et le lactose (Lam *et Ng*,2011).

6. Test de la limite d'inhibition

Tableau 11 : le test de la limite de l'inhibition de *l'Agaricus silvicola* avec le sucre d'inhibition.

Dilution Sucres	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
Arabinose	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

+ : agglutination

- : Absence d'agglutination(inhibition)

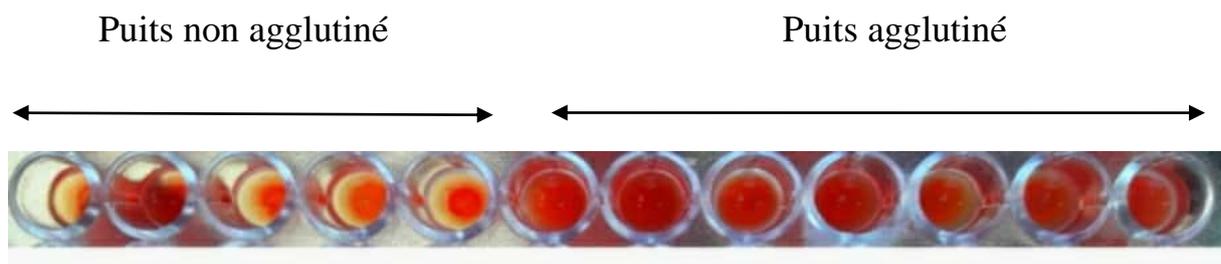


Photo 07 : la limite d'agglutination de l'inhibition de *l'Agaricus silvicola* avec l'arabinose.

L'extrait de *l'Agaricus silvicola* a démontré une inhibition avec un sucre simple (Arabinose) ce qui prouve la différenciation de ses récepteurs. La concentration minimal de l'arabinose est de 0.03125g /ml au niveau du 5eme puits, en utilisant une concentration initial 0.1g/ml, ce qui indique que l'arabinose n'est pas un forte inhibiteur, Ces résultats sont similaires avec les la lectine Con A extraite à partir de *Canavalia ensiformis* , le glucose a été un faible inhibiteur (Kulkarni *et Tayade*, 2013).

Résultats et discussion

7. Le Test des métaux (oligoéléments)

Tableau 12 : Résultats du test des métaux avec l'extrait de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et l'*Agaricus silvicola*

Métaux Extrait	EDTA	MnCl ₂	CaCl ₂	FeCl ₂	MgCl ₂
<i>Pélargonium graveolens</i>	+	+	+	+	+
<i>Pterocladia capillacea</i>	+	+	+	+	+
<i>Agaricus silvicola</i>	+	+	+	+	+

+ : agglutination

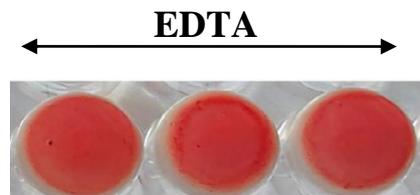


Photo 08 : L'effet d'EDTA sur l'activité hémagglutinante des extraits de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* a l'œil nu .

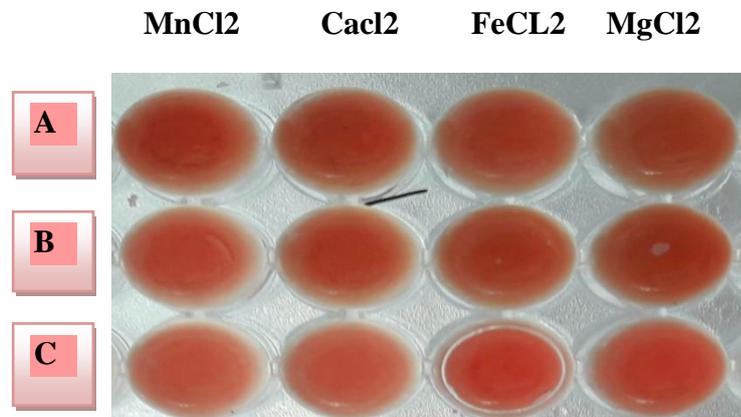


Photo 09 : l'effet des métaux *MnCl₂* (1), *CaCl₂* (2), *FeCl₂* (3), *MgCl₂* (4), sur l'activité agglutinante des extraits *Pélargonium graveolens*(A), *Pterocladia capillacea*(B), *Agaricus silvicola* (C).

Avec l'EDTA on observe une agglutination avec tous les extraits de 3 espèces. Les lectines de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et l'*agaricus silvicola* montrent une agglutination avec tous les métaux, ce résultat montre que notre lectine est non métallopeptine et cohérent avec les études menées sur *Geotrupes Stercorarius* (Devi et al,

Résultats et discussion

2014), et *Clarias gariepinus* (Odekanyinet Kuku, 2014). Contrairement à l'extrait d'*Olea europaea* qui ne présente aucune activité d'agglutination avec les métaux testés.

8. Le Test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

Tableau 13 : L'agglutination des hématies humaines (A, B, AB, O) par l'extrait de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *l'Agaricus silvicola*.

Groupe sanguin \ Extrait	A	B	AB	O
<i>Pélargonium graveolens</i>	++	+	+++	++
<i>Pterocladia capillacea</i>	+++	+++	+++	+++
<i>Agaricus silvicola</i>	+++	+++	+++	+++

+++ : Très forte agglutination

++ : Forte agglutination

+ : Agglutination

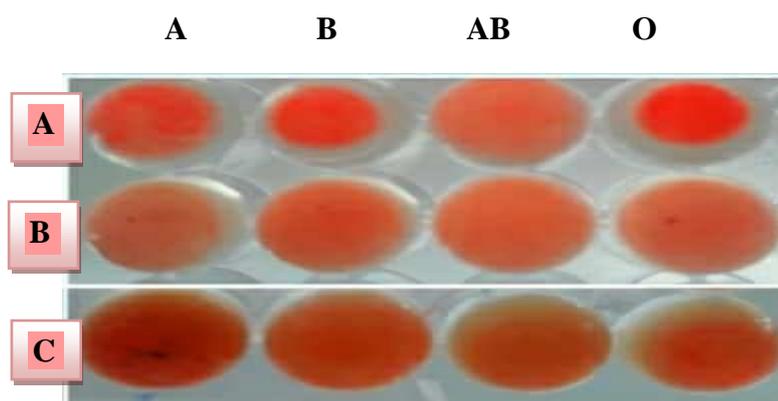


Photo 10 : l'agglutination des hématies humaines par l'extrait de *Pélargonium graveolens* (A), *Pterocladia capillacea* (B), *Agaricus silvicola* (C) à l'œil nu.

Les extraits *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *l'Agaricus silvicola* agglutinent avec tous les types de groupe sanguins humains, Ce résultat est en accord avec les études réalisées sur *Diplotaxis assurgens*, *Raphanus sativus*, *Brassica tourniforti* et *Geotrupes stercorarius* respectivement (Devi et al, 2014, Deeksha et al, 2015).

Sur la base de ces résultats nous pouvons classer les lectines de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *l'Agaricus silvicola* dans la catégorie des lectines Agglutinent les érythrocytes de tous les groupes Sanguins humains, qui sont généralement Désignées comme non spécifique.

9. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de séphadex G200

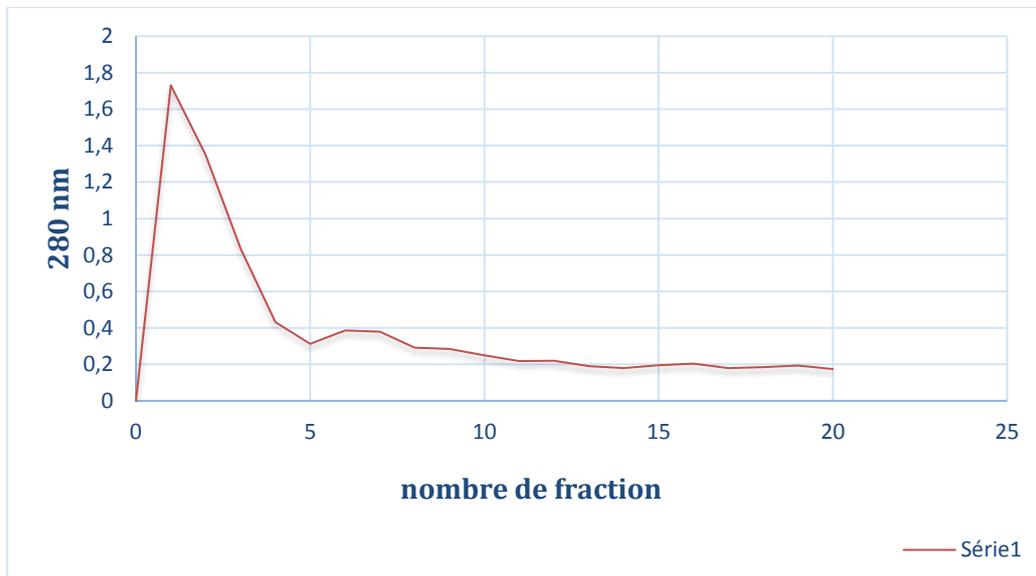


Figure 20 : la filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G200 de l'extrait de *Pélargonium graveolens*

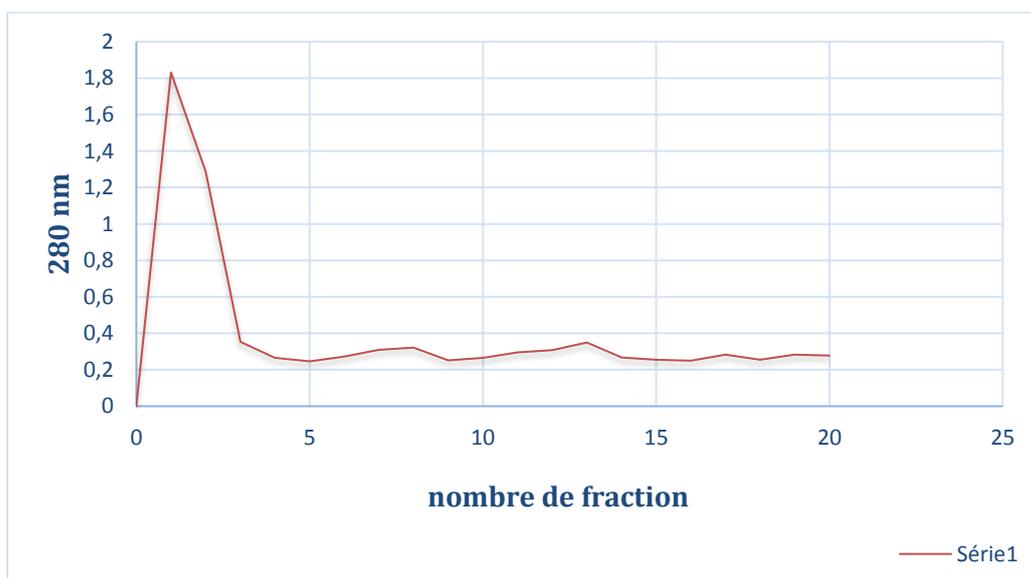


Figure 21 : la filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G200 de l'extrait de *Pterocladia capillacea*

Résultats et discussion

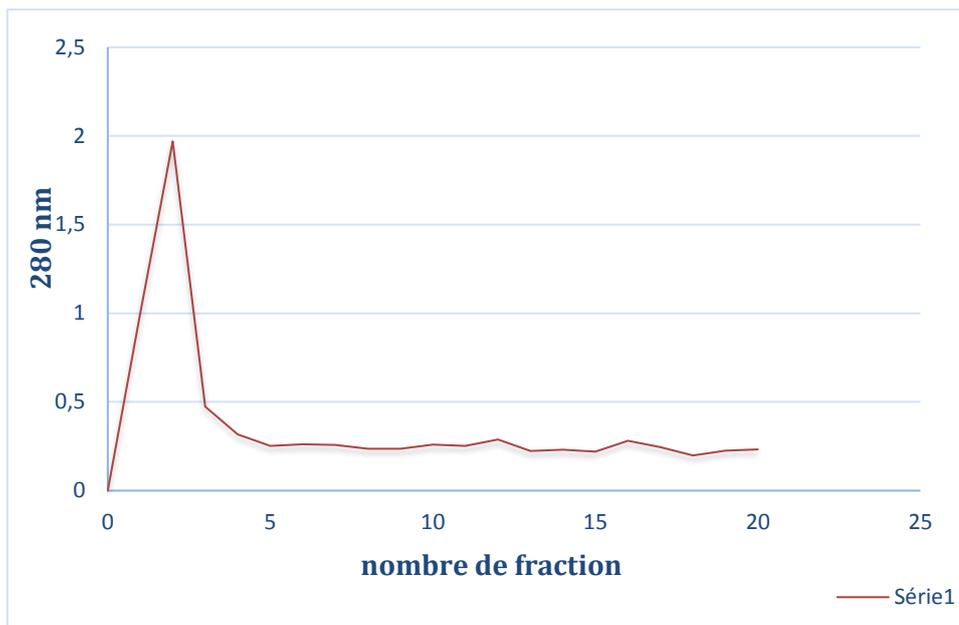


Figure 22 : filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G200 de l'extrait *Agaricus silvicola*

Le volume de rétention : 5 ml.

L'éluant : PBS à 0.1 M, pH 7.

La longueur d'onde : $\lambda = 280\text{nm}$.

La filtration de l'extrait de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et l'*Agaricus silvicola* sur colonne de séphadex G200 et la lecture à 280nm a montré un pic correspondre aux 1er tube pour l'extrait de *Pélargonium graveolens* et *Pterocladia capillacea* (Figure 20 et 21). et au 2ème tube pour l'extrait de l'*Agaricus silvicola* (Figure 22), ce résultat est en accord avec celle de lectine de *Cyperus rotundus* et *Pistacia lentiscus* qui marquer un seul pic (Necib et al., 2015).

Résultats et discussion

10. Etude de l'activité antioxydante in vitro

10.1. Dosage de SOD et Fer ferrique in vitro

Tableau 14 : résultats des tests de l'activité anti oxydante de *Pélarгонium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et l'*Agaricus silvicola*.

Espèces	Le pourcentage de scavenger des radicaux libres (%)	
	SOD	Fer ferrique
<i>Pélarгонium graveolens</i> (A)	36.1 ± 0.2	37.2 ± 0.1
<i>Pterocladia capillacea</i> (B)	10.1 ± 0.15	39.2 ± 0.2
<i>Agaricus silvicola</i> (C)	22.3 ± 0.1	41.2 ± 0.3
<i>Standard</i> (Ascorbique)	76.17 ± 0.17	71.47 ± 0.13

Le tableau 14 présente les pourcentages d'inhibition d'extrait partiellement purifier des trois espèces : *Pélarгонium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola*

la fraction (A) de *Pélarгонium graveolens* et la fraction (C) de l'*Agaricus silvicola* ont une activité antioxydante du SOD maximal que l'autre fraction (B), avec un pourcentage d'inhibition 36.1 %, 22.3% et 10.1% (SOD) respectivement par apport au standard qui possède une activité antioxydante de (SOD) 76.17%, dans le test de fer ferrique la fraction (C) présente le pourcentage d'inhibition (41.2%) le plus élevé que les deux autres fractions (A) et (B) 37.2%, 39.2% respectivement par apport au standard qui possède une activité antioxydante de (fer ferrique) 71.47%.

L'activité anti radicalaire de SOD des lectines extraites à partir de ces espèces peut être due au groupe hydroxyle présent dans les lectines. Ces résultats sont similaire à celle trouvé dans les lectines des plantes *Morus nigra*, *Ruta graveolens*, *Cyperus rotundus* et *Pistacia lentiscus*

Résultats et discussion

dont la valeur de standard est maximale avec SOD 76.17 μ g/ml (Necib *et al.*,2016) et les lectines des champignons endophytiques de *Viscum album* (Sadananda *et al.*,2014).

Le test de réduction du fer ferrique est souvent utilisé pour évaluer la capacité d'un antioxydant à donner un électron. Dans ce test la capacité des lectines purifiées de nos espèces de réduire Fe⁺³ en Fe⁺² est déterminées ; les lectines des espèces *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* montrent une activité antioxydante maximale avec 37.2% , 39.2% , 41.2% respectivement . Parmi les fractions purifiées, celle d'*Agaricus silvicola* possède la meilleure activité anti -oxydante par rapport aux autres espèces.

Le test de réduction du fer ferrique dépend de la capacité de réduction qui converti le fer ferrique Fe⁺³ en fer ferreux Fe⁺², ce test sert d'un indicateur de l'activité antioxydante (Angel *et al.*,2013). La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe⁺³ complexe ferricyanide à la forme ferreuse. par conséquent, Fe⁺² peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm (Chung Y-C *et al.*,2002), Cependant les lectines extraites à partir de nos espèces montrent tous une grande activité réductrice du fer ferrique , des expériences réalisées sur les lectines des plantes *Morus nigra*, *Ruta graveolens*, *Cyperus rotundus* et *Pistacia lentiscu* sont montrés des résultats similaire (Necib *et al.*,2016) , aussi avec les lectines des champignon endophytique de *Viscum album* (Sadananda *et al.*,2014) .

Résultats et discussion

11. Dosage des protéines

Tableau 15 : résultats du test de dosage des protéines des plantes *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *Agaricus silvicola*

	Espèces	Concentration des protéines(mg/ml)
Brut	<i>Pélargonium graveolens</i>	1.800± 0.02
	<i>Pterocladia capillacea</i>	1.098± 0.02
	<i>Agaricus silvicola</i>	0.489± 0.01
Lectine purifié	<i>Pélargonium graveolens</i>	0.544± 0.01
	<i>Pterocladia capillacea</i>	0.266± 0.01
	<i>Agaricus silvicola</i>	0.202± 0.01

Le Tableau 15 montre la Concentration des protéines (mg/ml) dans l'extrait brut et partiellement purifier de *Pélargonium graveolens* et *Pterocladia capillacea* et l'*Agaricus silvicola* , L'extrait de *Pélargonium graveolens* et *Pterocladia capillacea* montre une concentration élevée dans l'extrait brut et partiellement purifier respectivement (1.800mg/ml - 1.098mg/ml - 0.544mg/ml 0.266mg/ml) par contre l'extrait de l'*Agaricus silvicola* donne la concentration des protéines la plus faible dans l'extrait brut et partiellement purifier (0.266, 0.202) par rapport aux deux premiers extraits

Conclusion et perspective

Conclusion et perspective

Dans le cadre de ces travaux de recherche nous nous sommes intéressés à la caractérisation partielle des lectines contenues dans trois espèces *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola*.

Ces molécules ont une activité agglutinante sur les hématies, et que nous appelons lectine. Nos investigations n'ont présentés que les lectines de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* agglutinent tous les types de groupe sanguin donc ne montrent aucune spécificité pour les hématies des groupes sanguins du système ABO. Les lectines de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* présentent une activité agglutinante en présence de saccharides testés qui montre aucune spécificité pour ces saccharides, mais les lectines de *Agaricus silvicola* présentent une inhibition d'agglutination avec l'arabinose donc montrent une spécificité avec ce sucre.

Le *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *Agaricus silvicola* sont thermorésistants, et ils sont différemment stables dans des pH neutres, alcalin et acide.

Les extraits de *Pélargonium graveolens*, *Pterocladia capillacea* et *Agaricus silvicola* montrent une agglutination avec tous les métaux. Ce résultat montre que notre lectine est une non-métalloprotéine.

La purification sur colonne de Sephadex G200 a montré un seul pic pour les trois extraits.

L'extrait de *pélargonium graveolens* et d'*Agaricus silvicola* présente une activité antioxydante du SOD importante vis-à-vis d'acide ascorbique, contrairement à l'extrait de *Pterocladia capillacea*. L'extrait de *Agaricus silvicola* possède un pourcentage d'inhibition du fer ferrique plus élevé que les autres extraits.

Le *pélargonium graveolens* possède une concentration des protéines plus élevée que les autres extraits.

Les perspectives à court terme de ce travail sont nombreuses. La purification des lectines par chromatographie d'affinité et HPLC, la détermination des poids moléculaires des lectines par électrophorèse et leur séquençage, Des tests de l'activité antivirale, l'activité anticancéreuse, le dosage des autres paramètres de l'activité antioxydante in vivo et in vitro.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

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

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

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

Angel GR, Vimala B, Nambisan B, *Phytopharm.*(2013).4(1), 96-105.

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

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

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

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

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

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

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

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

BELOUAD A. Plantes médicinales d'Algérie. Alger : Office des Publications Universitaires, 2001, p.5-10.

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

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

Bornet, É., Thuret, G. (1876). Notes algologiques : recueil d'observations sur les algues. Paris: G. Masson

BOSSER J., CADET T., GUEVOT J., MARAIS W. Flore des Thaxareignes. Paris: Office de la recherche scientifique et technique d'autre mer, 1987.

Bothan MB, Weil K R. (2011). Biochimie de harper. 4ème édition. DE BOECK ,510.

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

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

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

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

Hydroxyl radicals and DNA base damage. Mutat. 424, 9-21.

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

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

champyves.pagesperso-orange.fr/champignons/fichier_htm/.../agaricus_silvicola.htm

Chaudhary H, Sood N. (2008). Purification and partial characterization of lectins from in vitro cultures of *Ricinus communis*. *Plant Tissue Cult & Biotech* 18(2) ,89-102.

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

Chung YC, Chang CT, Chao WW, Lin CF, Chou ST, (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. pp 2454–2458.

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

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

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

De Hoff PL, Brill LM, Hirsch AM. (2009) .Plant lectins : the ties that bind in root symbiosis and plant defense. *Mol. Genet. Genomics* 282 , 1-5.

Deeksha M, Sangha K, Khurana D S, Kaur G, Bala M, Singh B. (2015) .Screening for Lectin Quantification in Brassica Spp and Vegetable Crops. *Journal of Environmental and Applied Bioresearch*. 3(1), 20-24.

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

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

Devi PR, Kombiah P, Sudhakar R G, Babu G. (2014) . Purification And Characterization Of A Novel Lectin From *Geotrupes Stercorarius*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 15 (2), 157-162.

Dole A et Lindeberg S. (2005). Agrarian diet and diseases of affluence-do evolutionary novel dietary lectins cause leptin resistance. *Bio, mad central lid*. doi .10.1186 ,1472-6823-5-10 .

Drickamer K. (1993) . Ca²⁺-dependent carbohydrate-recognition domains in animal proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3, 393-400.

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

Edelman GM, Cunningham BA, Reeke GN, Becker JW, Waxdal MJ and Wang JL.

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

Emsley J, White HE, O'Hara BP, Oliva G, Srinivasan N, Tickle IJ, Blundell TL, Pepys MB and Wood SP. (1994) . Structure of pentameric human serum amyloid P component. *Nature*. 367, 338-345.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Garcia-Gomez, J. C. (2015). Guide de suivi environnemental des fonds rocheux dans les aires marines protégées de méditerranées et leurs zones limitrophes. Laboratoire de biologie marine département de zoologie, faculté de Biologie, université de Séville. Ed. CAR/ASP - Projet MedMPAnet, Tunis: 482 p + annexes.

Garon-lardiene, S, (2004). Étude structurale des polysaccharides parié taux de l'algue rouge *Arparagopris armata (Bonnemaisoniales)*. *Thèse doctorat le en chimie, université de Bretagne occidentale. École doctorale des sciences de la matière de l'information et du vivant, 1-32*

Garrel C, Ceballos-Picot I, Germain G, Al-Gubory K H. (2007). Oxidative stress inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F2alpha-induced luteal cell death in vivo. *Free Rad Res.* 41, 251-9.

GEOFF B., FORRESTER S. Botanica, et d'horticulture. 1ère édition. Italie: Place des victoires, 2005

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

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

Goldstein I J, Poretz R D. (1986). Isolation physico-chimical, characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins In Liener I. The lectin: properties, function and applications in biologie and médecine. ELSEVIER. INC, 49-50.

GOLDSTEIN, I.J., HUGHES, R.C., MONSIGNY, M., OSAWA, T., SHARON, N.(1980). What should be called a lectin? *Nature*, 285: 66.

Gomes J. (1994). Histamine release induced by glucose (mannose) specific lectins isolated from Brazilian beans. *Comparaison with concanavalin A. Agent Action .* 41, 132-135 .

Greer F, Brewer AC, Pusztai A. (1985). Effect of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) toxin on tissue weight and composition and some metabolic functions of rats. *Brit. J. Nutr.* 54, 95 -103.

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

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

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

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

Han H J, Jung M G, Kim M J, Yoon S K, Lee P K, Kim G H.(2010). Purification and characterization of a D-mannose specific lectin from the green marine alga, *Bryopsis plumosapre*. *Phycological Research.* 58,143–150.

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

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

http://www.seaweed.ie/descriptions/Pterocladiaella_capillacea.php

<https://nagrzyby.pl/atlas/5141>

https://species.wikimedia.org/wiki/Pterocladiaella_capillacea

<https://www.pinterest.com/pin/381117187193078009/>

<https://www.pinterest.com/pin/563090759635823197/>

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

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

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

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

Jaffe WG. (1980). hemagglutinins (Lectins) . In toxic constituents of plant foodstuffs. New -York. Academic Press. pp 502.

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

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

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

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

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

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

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

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

Kenoth R et al. (2001). Thermodynamic and kinetic analysis of porphyrin binding to Trichsanthes cucumerina seed lectin. Eur.J. Biochem.268, 5541-5549

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

L and Calvete JJ. (1998). Spermadhesins: a new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. Andrologia. 30, 217-224.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

MacArtain,P., Gill, C. I. R., Brooks M., Campbell R., Rowland, I.R.(2007).Nutritional Value of Edible Seaweeds .*Nutrition Reviews.*; 65: 535–543.

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

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

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

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

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

Montgomery R R , James P D, Lillcrap D. (2013). The c-type lectin receptor clec4m binds, internalizes, and clears von willebrand factor and contributes to the variation in plasma von willebrand factor levels. *Blood.* 121, 5228–5237.

Mukherjee S , Zheng H , Derebe M G, Callenberg K M , Partch C L, Rollins D , Propher D C, Jiang Q X.(2014). Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin. *Nature.* 505, 103–107.

Murdock LL, Shade RE .(2002). Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insects. *J.Agric. food. Chem.* 50 (22),6605-6611 .

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

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

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

Necib Y, Bahi A, Merouane F, Bouadi H, Boulahrouf K. (2014). Immunomodulatory activity of lectin extrated from THE RED MARINE ALGA PTEROCLADIELLA CAPILLACEA .Volume 4. Issue 1, 1693-1706.

Necib Y, Bahi A, MerouaneF , Bouadi H , Boulahrouf K.(2015).comparative study of a new lectin extracted from roots of plants: *Cyperus rotundus*, *Pistacia lentiscus* and *Ruta graveolens*. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 4(1), 1720-1733.

Necib Y, Bahi A, Merouane F, Bouadi H , Boulahrouf K. (2016).Antioxydant ,Antiinflammatory and antimicrobial properties of new lectins purified from roots of Algerian plants: *Morus Nigra*, *Ruta Graveolens*, *Cyperus Rotundus* and *Pistacia Lentiscus*. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 5(2), 39-53 .

Odekanyin O O, Kuku A. (2014).caracterization of galactosespecific lectin from the skin mucus of african catfish *clarias gariepinus burchell*. 1822. *Acadimic jornals.*9(20), 869-879.

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

Person, J., 2011. Algues, filières du futur. *Livre turquoise.Adebiotech:* 1-163.

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

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

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

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

Poiroux G. (2011). Evaluation du potentiel de lectines végétales dans le ciblage de médicaments anticancéreux : Application à la Photochimiothérapie. Biologie cellulaire et Biochimie.Toulouse. Université Toulouse III - Paul Sabatier.pp 35-50.

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

R**enato De A, Moreira. (1991).** Plant lectins, chemical and biological aspects.Mem.Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. Vol. 86. Suppl. II, 211-218

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

Robert K, Marry MD, PhD. (2008). Les glycoprotéines in Biochimie de Harper. DEBOECK ,527

Roberts DL, Weix DJ, Dahms NM and Kim J J. (1998). Molecular basis of lysosomal enzyme recognition : three-dimensional structure of the cation-dependent mannose 6-phosphate receptor. Cell. 93, 639-648.

Roos A, Daha M R, Vanpelt J, Berger S P. (2007). Lectine liant le mannose dans les maladies rénales. Flammarion-Médecine-Science-Actualités Néphrologiques 13, 134- 157.

RUDIGER.H (1993). Purification of plant lectins. In Gabius, H.J.G., S. (ed), Lectins glycobiology. Springer, Berlin. Pp : 31-46.

Rydz N, Swytun L L, Notley C, Paterson A D, Riches J J, Sponagle K, Booyawat B,

S**ankaranarayanan R, Sekar K , Banerjee R , Sharma V , Surolia A and Vijayan M. (1996).** A novel mode of carbohydrate recognition in jacalin, a Moraceae plant lectin with a b-prism fold. Nature Struct. Biol. 3, 596-603.

Sebaaly, C., Karaki, N., Chahine, N., Evidente, A., yassine, A., Habib, J., Kanaan, H. (2012). Polysaccharides of the red algae “Pterocladia” growing on the Lebanese coast: Isolation, structural features with antioxidant and anticoagulant activities.*Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(10) : 01-010.

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

Sériidi, H. (2007). Étude de la flore algale de l'Algérie. Étude phytosociologique des peuplements algaux photophyles de l'infralittoral superficiel de substrat dur. *Thèse de doctorat en sciences de la nature. USTHB, Alger.* 174p

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

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

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

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

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

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

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

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

Sorg O. (2004). Oxidative stress : a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendu Biol.* 327, 649-662.

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

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

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

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

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

Tebbal,A. (2011). Composition chimique et minérale de quatre algues benthiques de la région de Kouali (Tipaza). *Mémoire de magister. École nationale supérieure des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral. Université Dely Ibrahim, Alger.*

Topfer-Petersen E , Romero A , Varela PF , Ekhlasi-Hundrieser M, Dostalova Z, Sanz

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

Valadez V C, Guzman P A, Javier Soto C F , Álvarez M G , Morales G J, Madrigal S E , Jose Roberto Villagomez I J R , Zuniga P C, Jose Gutierrez S J , Becerril F M.(2011). Purification, Biochemical Characterization, and Bioactive Properties of a Lectin Purified from the Seeds of White Tepary Bean (*Phaseolus Acutifolius* Variety *Latifolius*). *Molecules*, 2011. 16, 2561-2582

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

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

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

Wassef,E.A., El Sayed, A.M., Kandeel, K. M., Mansour, H. A., Sakr, E.M. (2002).Effect of Feeding *Pterocladia* and *Ulva meals* in diets for gilthead bream *Sparusaurata*. *10th International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, Rhodes (Greece),.Abstract book*, p. 28.(In press).

Weis W I , Brunger A T, Skehel J J and Wiley D C. (1990). Refinement of the influenza virus hemagglutinin by simulated annealing. *J Mol Biol.*212, 737-761.

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

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

www.freedomofheath.eu/fr/vitamine-d/champignon-agaricus-riche-en-vitamine-d/

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

Yoon,H. S., Zuccarello, C., Bhattacharya, D., 2010. Evolutionary history and taxonomy of red algae. *Life in Extreme Habitats and Astrobiology* 13 :25-42.

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

Zhang H, Peatman E, Liu H, Feng T, Chen L, Liu Z. (2012). Molecular characterization of three L-type lectin genes from channel catfish, *Ictalurus punctatus* and their responses to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Fish Shellfish Immunol.* 2012. 32, 598- 608.

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

Annexe

Annexe 01 : Préparation du Tampon, Monosaccharides, Métaux et NaCl.

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

Pour 5 litres

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

- Préparation des monosaccharides

Sucre	Na Cl
0,1 g	1 ml

- Préparation des métaux

Métaux	Quantité	NaCl
MgCl ₂	0,048 g	100 ml
CaCl ₂	0,032 g	4 ml
MnCl ₂	0,15 g	4 ml

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

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

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

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

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

- ✚ Prélever 0.1 ml de mélange (méthionine (13mM) et Na₂EDTA (0.1mM)).
- ✚ Ajouter 0.8922ml de tampon phosphate (50mM, pH=7.8).
- ✚ Ajouter 0.05ml du surnageant.
- ✚ Ajouter 0.95ml de tampon phosphate.

- ✚ Ajouter 0.0852ml de NBT (2.64mM).
- ✚ Ajouter 0.0226ml de riboflavine (0.26mM).
- ✚ La réduction du NBT est estimée après 20min à une longueur d'onde 580nm contre le blanc.

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

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

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

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

2. Dosage de fer ferrique

La procédure expérimentale est basée sur les étapes suivantes :

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

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

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

3. Dosage des protéines par la méthode de Lowry

Réactifs :

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

La préparation de réactif cuproalcalin :

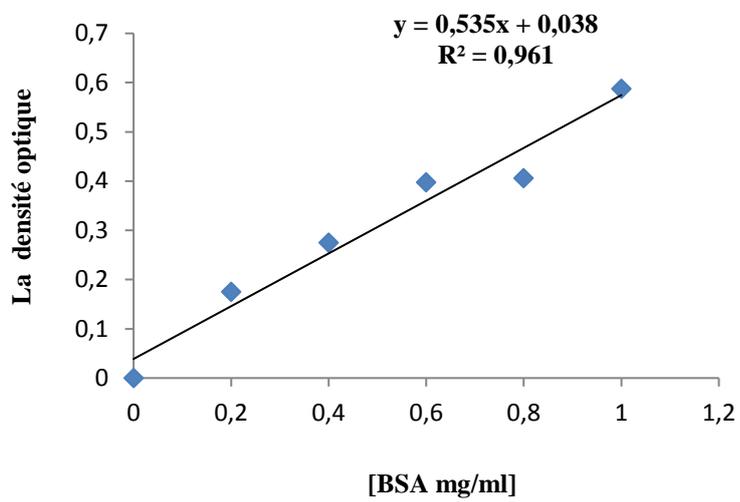
Par trois solutions :

- ✚ Solution A : dissoudre 10g de Na_2CO_3 (carbonate de sodium) a 2% dans 500mL de NaOH (0,1H)
 - ✚ Solution B : dissoudre 0,05g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ a1% dans l'eau distillée
 - ✚ Solution C : 0,1g de tartrate double de potassium et sodium dans 2% dans l'eau distillée.
- À 96 ml de solution A, ajouter 2ml de solution B + 2ml de solution C
 - Pour le réactif de Folin : solution commerciale 2 N diluée au 1/2

Annexe 05 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines

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

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



Année universitaire :2017/2018

Présenté par : LAKHEL IMENE
AMOUCHE OUMAIMA

Thème : l'étude de l'activité antioxydante in vitro des lectines extraites à partir des espèces : *Pélarгонium graveolens* , *Pterocladia capillacea* , *Agaricus silvicola*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie appliquée

Résumé

Les lectines sont des protéines ou glycoprotéines présentes en quantité plus importante chez les végétaux que les animaux

Notre étude est basée sur la recherche d'extraction, et d'étudier les différentes spécificités des lectines contenues dans des espèces médicinales *Pélarгонium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* par le test d'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon.

Les résultats montrent que les extraits *Pélarгонium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* agglutinent avec tous les types du groupe sanguins humains. Dans le traitement thermique les lectines de ces trois espèces gardent leur activité d'agglutination lors de leur exposition à différentes gammes de traitement thermique de 30 jusqu'à 90°C. L'activité hémagglutinante des lectines de *Pélarгонium graveolens* et *Agaricus silvicola* reste stable de [1-12] pendant une heure, sauf avec les lectines de *Pterocladia capillacea* qui montrent une agglutination dans le PH 1,3 et 4 et une absence d'agglutination dans le PH 2 et de [5-12]. Un test d'inhibition avec différents monosaccharides qui a montré aucune spécificité avec les lectines de *Pélarгонium graveolens* et de *Pterocladia capillacea*. Les lectines de *Agaricus silvicola* présentent une spécificité pour un seul sucre qui est l'arabinose. Pour le test des métaux les lectines de *Pélarгонium graveolens*, *Pterocladia capillacea*, *Agaricus silvicola* montrent une agglutination. La purification sur colonne de Sephadex G200 a montré un seul pic correspondre au 1er tube pour l'extrait de *Pélarгонium graveolens* et *Pterocladia capillacea* et au 2ème tube pour l'extrait de *Agaricus silvicola*. Les résultats l'activité antioxydante in vitro sont: le dosage des protéines et le test du SOD (superoxyde dismutase) et le fer ferrique, L'évaluation de l'activité antioxydante par ces tests, a révélé un grand pouvoir antioxydant surtout pour l'extrait de *pélarгонium graveolens*.

Mots clés : Lectines, Extraction, Hémagglutination, Système ABO, Inhibition, Sucres, monosaccharides, glycoprotéines.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie RDC.

Jury d'évaluation :

Président du jury : BAALI N	(BCB-UFM Constantine),
Rapporteur : BAHIA	(MCA - UFM Constantine),
Examineur : DJEMAI ZOUGHLACHE S	(MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 01/07/2018