

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité Biotechnologie Microbienne



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Activité anticoagulante des extraits de
quelques algues marines de la côte de
Béjaia**

Présenté par :
Ziani Nadia

Soutenu le : **25 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M^{me} YAHIAOUI Houa
M^{me} SAIDANI Karima
M^{me} BENDALI Farida

MAA **Président**
MAA **Encadreur**
Professeur **Examineur**

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

Un agréable merci à tous ceux qui à un moment ou un autre, m'ont prodigué des conseils scientifiques, fourni une aide matérielle et technique, ou tout simplement humaine.

J'adresse toute ma reconnaissance à Ma promotrice M^{me} Saidani K, pour la liberté qu'elle m'a accordé dans la prise d'initiatives, pour la confiance qu'elle m'a témoigné et pour sa disponibilité, sa présence, ses efforts et ses encouragements qui m'ont permis de mener à bien cette étude.

Je tiens à exprimer ma gratitude, mon profond respect et mes remerciements aux membres de jury: M^{me} YAHIAOUI, H. qui m'a fait honneur par sa présence en qualité de présidente de jury, M^{me}. BELHAMICHE, N. qui a acceptée de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail et consacré du temps à son évaluation.

Je ne remercierai jamais assez mes parents et mes sœurs pour leurs encouragements, compréhensions et soutien.

Mes chaleureux remerciements vont également à M^{lle} TOUATI, N. pour son aide précieuse et sa présence durant toutes les étapes de réalisation de ce travail ainsi qu'à Mr Nouri.

J'aimerais aussi remercier Mr MOUALÈK, de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire d'analyse médicale et de m'avoir permis de manipuler en toute aise et de m'avoir fourni tout les produits et réactifs nécessaire à la réalisation de ce travail. Je tiens aussi à remercier toute l'équipe « hémostase » du laboratoire MOUALÈK.

Mes vifs remerciements s'adressent à l'équipe du secrétariat du département Microbiologie : Sonia, Samira et Nadjma pour m'avoir aidé durant toute cette année.

En fin je tiens à remercier tous mes collègues de travail de CEVITAL et tous mes ami(e)s.

Un grand merci à tous !

Dédicaces

Je dédie ce Travail

A la mémoire de mes grands parents

A mes chers parents

A mes sœurs

A tous mes ami(e)s

Sommaire

Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations

Introduction.....1

Partie Bibliographique

I. Généralités sur les algues marines	3
I.1. Définition	3
I.2. Classification.....	3
II. Utilisations	
II.1. Utilisation agricole.....	4
II.2. Utilisation Alimentaire.....	4
II.3. Utilisations médicale et pharmaceutique	5
III. Composés actifs des algues marines	5
III.1. Composés phénoliques.....	5
III.1.1. Polyphénols halogénés.....	6
III.1.2. Phlorotannins.....	6
III.1.3. Flavonoïdes	7
III.2. Polysaccharides sulfatés.....	8
IV. Applications thérapeutiques des algues marines	10
IV.1. Activité anticoagulante des algues marines.....	10
V. Hémostase	11
V.1. Hémostase primaire.....	11
V.2. Coagulation.....	12
V.3. Fibrinolyse.....	15

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal	16
I.1. Echantillonnage.....	16
I.2. Traitement des échantillons.....	16

I.3. Extraction des composés phénoliques.....	18
I.4. Extraction des polysaccharides.....	18
I.5. Taux d'extraction des composés phénoliques.....	20
I.6. Dosages des composés phénoliques et polysaccharides.....	20
I.6.1. Dosage des composés phénoliques	20
I.6.2. Dosage des polysaccharides.....	21
I.7. Tests de coagulation.....	21
I.7.1. TCA (Temps de Cephaline Activée).....	21
I.7.2. Taux de prothrombine (TP)	22

Résultats et Discussion

II. Résultats et Discussion.....	23
II.1. Dosage des composés phénoliques des extraits éthanolique et acétonique.....	23
II.2. Dosage des sucres totaux	25
II.3. Tests de coagulation de l'héparine et de la catéchine.....	26
II.4. Tests de coagulation des extraits acétoniques.....	28
II.5. Tests de coagulation des extraits éthanoliques.....	30
II.6. Tests de coagulation des fractions A.....	32
II.7. Tests de coagulation des fractions B.....	33
II.8. Tests de coagulation des fractions C.....	36
Conclusion.....	41

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I : Nombre d'espèces répertoriées par groupe d'algues.....	04
Tableau II : Exemples de polysaccharides algaux avec une activité anticoagulante.....	12
Tableau III : Facteurs de coagulation.....	14
Tableau IV : Caractéristiques botaniques des espèces d'algues marines récoltées.....	17

Liste des figures

Figure 1 : Structure du noyau phénol.....	05
Figure 2 : Structure de base du Bromophénol	06
Figure 3 : Structure du phloroglucinol et de quelques phlorotannins.....	07
Figure 4 : Squelette de base des flavonoïdes.....	08
Figure 5 : Structure des fucoidanes et des alginates.....	09
Figure 6 : Représentation globale de galactane sulfaté et structure des carraghénanes.....	09
Figure 7 : Structure des ulvanes.....	10
Figure 8 : Cascade de coagulation.....	14
Figure 9 : Cartographie de la station de récolte des algues marines étudiées.....	16
Figure 10 : Photographies des espèces d'algues marines récoltées.....	18
Figure 11 : Extraction des polysaccharides avec des solvants sélectifs.....	19
Figure 12 : Teneur en composés phénoliques des extraits éthanolique et acétonique.....	24
Figure 13 : Teneurs en sucres totaux.....	26
Figure 14 : Taux de prothrombine de l'héparine et de la catéchine.....	28
Figure 15 : Temps de cephaline kaoline de l'héparine et de la catéchine.....	28
Figure 16 : Taux de prothrombine des extraits acétoniques.....	28
Figure 17 : Temps de cephaline kaoline des extraits acétoniques.....	30
Figure 18 : Taux de prothrombine des extraits éthanoliques.....	31
Figure 19 : Temps de cephaline kaoline des extraits éthanoliques.....	31
Figure 20 : Taux de prothrombine des fractions A.....	33
Figure 21 : Temps de cephaline kaoline des fractions A.....	34
Figure 22 : Taux de prothrombine des fractions B.....	35
Figure 23 : Temps de cephaline kaoline des fractions B.....	36
Figure 24 : Taux de prothrombine des fractions C.....	38
Figure 25 : Temps de cephaline kaoline des fractions C.....	38

Liste des abréviations

BR: Bromophénol.

TP: Taux de prothrombine.

TCK: Temps de Cephaline Kaolin.

FX: Facteur X.

FvW: Facteur de von Willebrand.

AT-III: Antithrombine III.

HC-II: Heparine Cofacteur II.

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.

Xyl: Xylose.

Glc: Glucose.

Ara: Arabinose.

Man: Mannose.

PSs: Polysaccharides sulfatés.

Introduction

Introduction

L'environnement marin est un écosystème unique en raison de la diversité des organismes qu'il abrite (**Radmer et Parker, 1994**), ces organismes marins représentent plus de 80% des règnes animal et végétal (**Rahaelivao et al., 2015**) et sont une source de produit naturel, de structure unique ayant des activités pharmacologique et biologique (**Kosanié et al., 2014**).

Parmi ces organismes marins, les algues sont une des sources les plus riches et prometteuses en métabolites primaires et secondaires bioactifs (**Rahaelivao et al., 2015**).

Les populations du littoral de tous les pays maritimes du monde ont eu recours aux algues à un moment ou à un autre de leur histoire, soit à des fins thérapeutique, alimentaire ou encore comme fertilisant. En Asie, la consommation directe des algues se pratiquait depuis l'aube de l'humanité alors qu'en occident cette consommation est plus récente et marginale (**Elmtili et al., 2013**).

Ces dernières décennies, l'usage principal des algues à travers le monde s'est orienté vers la source de production de phycocolloïdes (alginates, carraghénane et agar) et de composés ayant des intérêts nutritionnels, en raison de la présence de nombreux constituants tels que les fibres, protéines et minéraux. Ces macrophytes renferment également des métabolites secondaires d'intérêts thérapeutiques importants pour le domaine de la pharmacologie, aux propriétés antioxydante, antibactérienne, antidiabétique, antifongique, anti-inflammatoire, antipaludique, anti-protozoaire, antituberculeuse et antivirale (**Chouikhi, 2013**). Récemment, Les industries nutraceutique et pharmaceutique ont porté un grand intérêt à l'extraction de composés anticoagulants naturels à partir d'algues marines (**Chen et al., 2015**), parmi ces composés, les phlorotanins et les polysaccharides sulfatés (**Kim et Wijesekara, 2011**).

L'héparine, un polysaccharide hautement sulfaté présent dans les tissus des mammifères, est utilisé comme anticoagulant en laboratoire et en thérapeutique (**Shanmugam et al., 2001**), mais celui-ci a quelques inconvénients liés à son extraction, sa purification ainsi que ses effets secondaires à long terme; c'est pour cela que récemment des médicaments alternatifs à l'héparine sont fortement demandés (**Athukorala et al., 2006**). En Algérie, il n'existe pas de données et d'études évaluant le potentiel anticoagulant des algues marines.

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence, *in vitro*, les propriétés anticoagulantes de quelques espèces d'algues marines de la côte de Béjaia.

Partie Bibliographique

I. Généralités sur les algues marines

I.1. Définition

Les algues regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques très divers et très abondants, elles contiennent 3 groupes de pigments photoprotecteurs que sont les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobilliprotéines (**Vimala et Poonghuzhali, 2014**). Leur appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle », elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de long, mais elles ont toutes des caractères communs (**Ainane, 2011**). Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines (**De Riviers, 2002**), certaines peuvent survivre à des températures extrêmes (**Ainane, 2011**).

I.2. Classification

Les macroalgues sont des organismes multicellulaires, possédant une structure complexe (**Muhammad et al., 2017**). Elles appartiennent à trois grands groupes, reconnus depuis le milieu du XIXe siècle sur la base de la couleur du thalle : les Rhodophyta (algue rouge), Chlorophyta (algues vertes) et les Phaeophyta (algues brunes) (**Kalasariya et al., 2016**).

- Les algues rouges doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont la chlorophylle (**Carlucci et al., 2012**).
- Les algues vertes doivent leur couleur à la présence de plastes colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquels sont associés des carotènes et des xanthophylles (**Lewis et Mc Court, 2004**).
- Les algues brunes dont la couleur résulte de la dominance des pigments xanthophylle, la fucoxanthine (**Wehr, 2003**), qui masquent les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène) (**Garon Lagardiere, 2004**).

Suite à de nouvelles recherches, on sait que la différence entre ces trois groupes est bien plus profonde que la différence de couleur suggérée par leur nomination (**Guiry, 2012 ; Manivanna et al., 2011**). Le Tableau I représente le nombre d'espèces répertoriées par groupe d'algues.

Tableau I : Nombre d'espèces répertoriées par groupe d'algues (Gervasoni et Rather, 2012).

Nom	Nombre d'espèces répertoriées dans le monde
Chlorophycées (algues vertes)	1200
Rhodophycées (algues rouges)	6000
Pheophycées (algues brunes)	1800

II. Utilisations

II.1. Utilisation agricole

Les algues sont utilisées depuis l'antiquité comme amendement de sol, soit directement ou sous forme de compost pour améliorer la productivité des cultures dans les régions côtières (Craigie, 2010) et comme fertilisant, de bons résultats ont été obtenus suite à leur utilisation. Il y a eu de nombreuses allégations concernant les extraits d'algues, notamment une meilleure germination des graines, un développement plus profond des racines, une augmentation de la résistance au froid ainsi que l'absorption des nutriments, un changement dans la composition des tissus des plantes, une augmentation de la résistance aux maladies fongiques (Zodape, 2001).

II.2. Utilisation Alimentaire

L'utilisation des algues comme aliment remonte au 14^{ème} siècle au Japon et au 16^{ème} siècle en Chine. Aujourd'hui la Chine, le Japon ainsi que la République de Corée sont les plus grands consommateurs d'algues en tant que nourriture. Cependant, comme beaucoup de ressortissants ont émigré dans d'autres régions du monde, la demande en algues marines alimentaires les a suivis (Kilinc et al., 2013). Diverses algues marines rouges et brunes sont utilisées afin de produire trois hydrocolloïdes ; agar, alginate et carraghénanes. Ce sont des substances non cristallines avec des molécules très larges et qui se dissolvent dans l'eau afin de donner une solution épaissie et permettent de stabiliser quelques produits comme la crème glacée (Abowei et Ezekiel, 2013). Certaines espèces d'algues peuvent être consommées comme des légumes (Mesnildrey et al., 2013), elles montrent une richesse extraordinaire en éléments minéraux qui peuvent représenter jusqu'à 36% de leur masse sèche tel que le sodium,

calcium, magnésium, potassium, iode, fer et zinc (**Kandale et al., 2010**).

II.3. Utilisations médicale et pharmaceutique

Les algues fournissent de nombreuses molécules ayant un grand potentiel, malheureusement leurs applications restent encore faibles. A ce jour, ce sont essentiellement les polysaccharides (alginate, carraghénanes et agar) qui sont utilisés dans le domaine de la santé (**Faller, 2011**).

L'alginate est utilisé en pharmacie comme agent désintégrant et dispersant (**Faller, 2011; Garneau et Collins, 1995**). Il est aussi utilisé dans la fabrication de compresse et comme principe actif de médicament tel que Gaviscon (**Vincent, 2010**). Les agars sont utilisés en bactériologie (**Kendale et al., 2011**), Il joue le rôle d'agent gélifiant intervenant dans l'élaboration des milieux de culture (**Faller, 2011**).

L'industrie pharmaceutique fait entrer les carraghénanes dans la composition d'un certain nombre de produits : sirops, lotions, pommades, laxatifs, agents délitant des comprimés. Ils sont surtout utilisés dans la thérapeutique des ulcères, en agissant comme antiacide et protecteur des parois stomacale et intestinale (**Garneau et Collins, 1995**).

III. Composés actifs des algues marines

III.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques forment une grande famille de composés chimique très divers depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux grands polymères complexes (les tannins et la lignine) (**Hopkins, 2006**). L'élément structural fondamental qui les caractérisent est la présence d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999**). La structure du noyau phénol est représentée dans la figure 1.

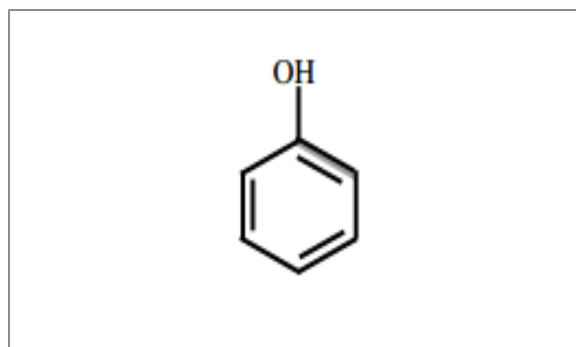


Figure 1 : Structure du noyau phénol (Creis, 2016).

III.1.1. Polyphénols halogénés

Les composés halogénés dérivés d'algues marines sont les bromophénols (BP) (Figure 2), ces derniers partagent un ou plusieurs cycles benzéniques, un degré variable de brome et de substituant hydroxyle. Certaines espèces d'algues rouges, mais pas toutes, ont un contenu relativement plus élevé en BP par rapport aux algues brunes et vertes (Liu *et al.*, 2011).

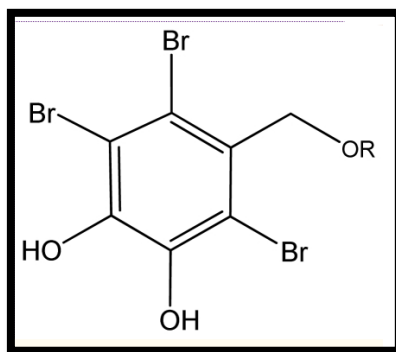


Figure 2 : Structure de base du Bromophénol (Liu *et al.*, 2011).

III.1.2. Phlorotannins

Les phlorotannins sont retrouvés exclusivement chez les algues brunes (Suspita, 2017), Ils sont formés par la polymérisation de phloroglucinol (Chojnacka *et al.*, 2012). Les phlorotannins sont subdivisés en six groupes en fonction de leur structure et du type de liaison entre les unités de phloroglucinol : fucols, phlorethols, fucophlorethols, fuhalols, isofuhalols et eckols (Martinez et Castaneda, 2013 ; Creis, 2016). Ils ont une large gamme de poids moléculaire allant de 126Da à 650kDa (Taget et Arnold, 1998).

La figure 3 représente la structure du phloroglucinol et de quelques phlorotannins.

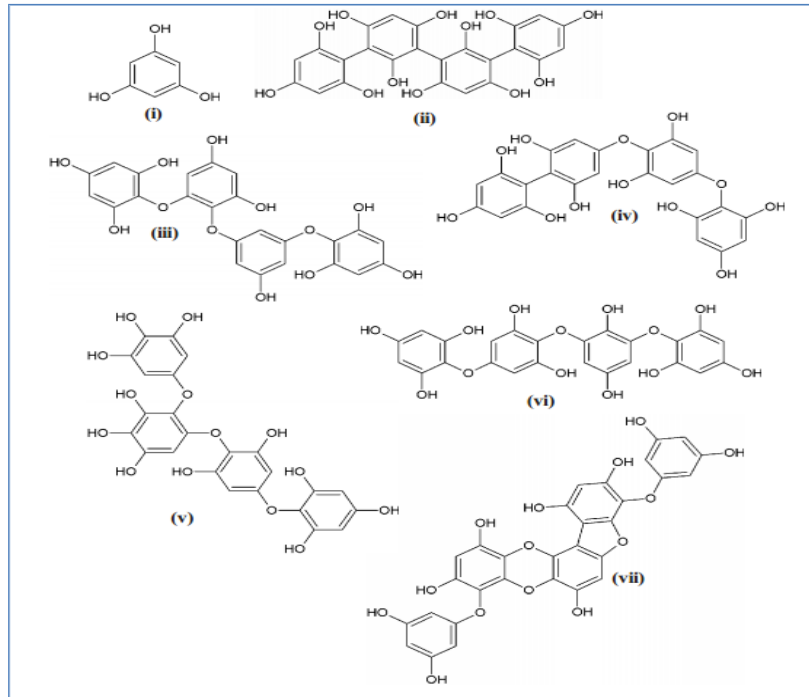


Figure 3 : Structure du phloroglucinol (i) et quelques phlorotannins [tetrafucol A (ii), tetraphlorethol B (iii), fucodiphlorethol A (iv), tetrafuhalol A (v), tetraisoфуhalol (vi), phlorofucofuroeckol (vii)] (Koivikko, 2008).

III.1.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments hydrosolubles jouant de nombreux rôles dans les processus vitaux des plantes : défense contre les prédateurs, attraction des pollinisateurs, pigmentation des organes, croissance, protection contre les ultra-violets. Plus de 5000 types de flavonoïdes ont été identifiés chez les plantes. Ces composés possèdent tous un squelette de base de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles benzéniques reliés entre eux par une chaîne aliphatique de trois carbones (noyau diphenylpropane : C6-C3-C6). Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes : flavones, flavanols, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanes (Tabart, 2011). La littérature sur le contenu en flavonoïde des algues marines est rare (Sarojini et al., 2012). Le squelette de base des flavonoïdes est représenté dans la figure 4.

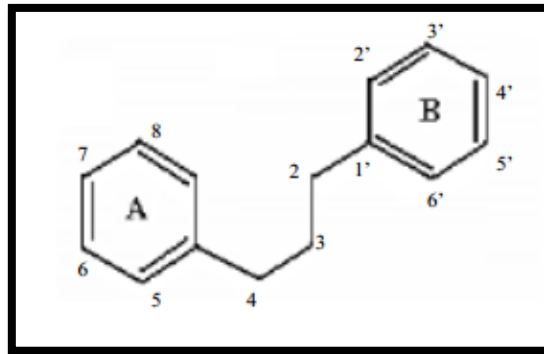


Figure 4 : Squelette de base des flavonoïdes (Tabart, 2011).

III.2. Polysaccharides sulfatés

Les polysaccharides sulfatés sont des macromolécules complexes et hétérogènes trouvées à des concentrations élevées dans les algues marines (Rodrigues *et al.*, 2011). C'est le groupe qui a été identifié comme le plus important économiquement parmi les autres composants trouvés dans les algues, ils ont été excessivement utilisés en industrie à des fins alimentaires et médicinales (Se-Kwon, 2011). Ces polysaccharides non digestibles ont la particularité d'être présents uniquement dans les algues, on ne les trouve pas dans les plantes terrestres. Ce groupe de polymère comprend les alginates, les carraghénanes, les agars, pour les plus utilisés et d'autres comme les xylanes, les fucanes, les laminaranes et les ulvanes. Situés dans la paroi cellulaire ou bien dans le cytoplasme des cellules, ils ont un rôle de structure (constituant de la paroi) ou de stockage (Person, 2010). Les polysaccharides sont devenus une source importante de composés naturels bioactifs responsables de plusieurs effets physiologiques possibles. Ils exhibent des activités immunomodulatrice, antitumorale, antithrombique, anticoagulante, antimutagène, anti-inflammatoire, antimicrobienne et antivirales. En règle générale, l'activité biologique des polysaccharides sulfatés est liée à leur composition et surtout à la sulfatation de leurs molécules (Chouikhi, 2013).

Les fucanes sulfatés des algues brunes appelés aussi fucoidanes ou fucanes sont une classe de polysaccharides qui a été extraite la première fois en 1913 ; pour de nombreuses années les fucans étaient seulement considérés comme source de L-fucose, bien que leur activité anticoagulante fût connue (Berteau et Mulloy, 2003).

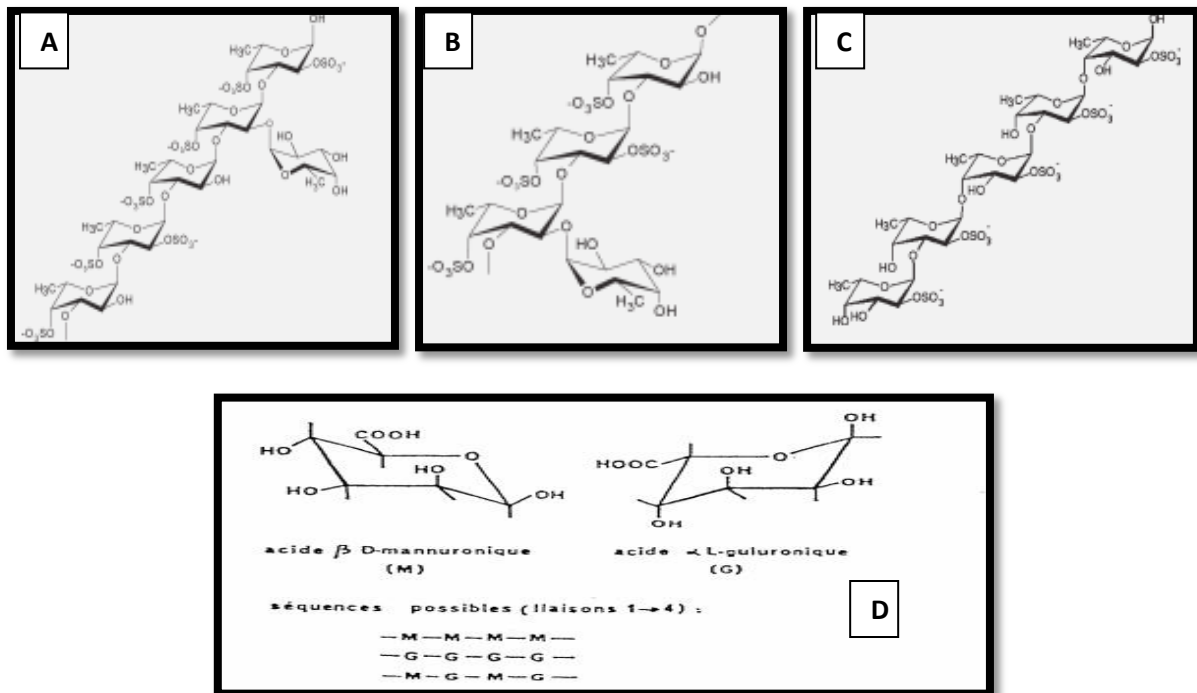


Figure 5: Structure de fucoidanes extrait de *Laminariales* (A et B), et des *fucales* (C) (Ale et Meyer, 2013), structure des alginates (D) (Mouecoucou, 1992).

Les galactanes sulfatés peuvent constituer plus de 70% de la matière sèche de quelques algues rouges, à l'exception de certains d'entre eux, ils sont composés de chaîne linéaire de résidus β -D-galactopyranose liés par les positions 1 et 3 (unités A) et α -D / L-galactopyranose liés par les positions 1 et 4 (unités B) disposés dans une séquence alternée (AB)_n. Ils peuvent être ramifiés par d'autres sucres (Xyl, Glc, Ara, Man) et porter des groupes éthers méthyliques (Delattre et al., 2011).

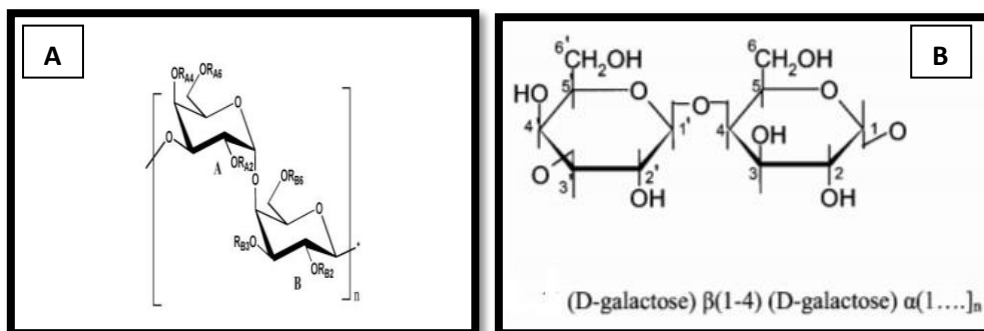


Figure 6 : Représentation globale d'un galactane sulfaté (A) (Delattre et al., 2011) et structures des carraghénanes (B) (Garon Lagardiere, 2004).

Les ulvanes sont des polysaccharides structuraux hautement sulfatés présents dans la paroi cellulaire des algues vertes (*Ulva* et *Enteromorpha*) (Kim et al., 2011) et constitués de différents résidus de sucre, principalement de l'acide glucuronique, du rhamnose, de l'arabinose et du galactose (Misurkova et al., 2012). Ils représentent environ 8-29% du poids sec des algues vertes (Rioux et Turgeon, 2015).

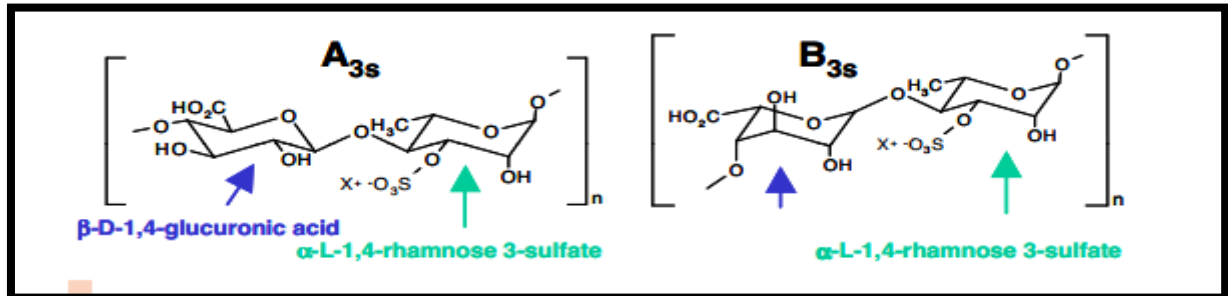


Figure 7 : Structure des ulvanes (Marfaing et al., 2010).

IV. Applications thérapeutiques des algues marines

Depuis quelques années, l'importance des algues marines en tant que réserve de substances bioactives a augmenté très rapidement, en raison de leurs capacités à produire des métabolites qui exhibent différentes activités biologiques comme antibactérienne, anticancéreuse, antidiabétique, anti-hypertensive (Silva et al., 2013), anti-inflammatoire (Salvador et al., 2009), antivirale (Chbani et al., 2011), antioxydante (Se-Kwon et Isuru, 2010) et anticoagulante (Chen et al., 2015).

IV.1. Activité anticoagulante des algues marines

Les propriétés anticoagulantes des algues marines ont été découvertes il y a plus de 50 ans, la plupart des composés actifs sont des variétés de polysaccharides sulfatés. Le premier rapport sur l'effet anticoagulant des polysaccharides issus d'algues a été publié en 1936, quand Chargaff et ses collègues ont réussi à extraire les esters des acides sulfuriques et galactane d'*Iridae laminarioidespo*. Des analyses conséquentes révèlent que les carraghénanes et agar avaient des propriétés anticoagulantes similaires (Muhammad et al., 2017). Les polysaccharides sulfatés des trois grands groupes d'algues marines ont des propriétés anticoagulantes, certains composés actifs ont été caractérisés chimiquement, comme le galactane sulfaté et le fucoidan sulfaté des algues rouges et brunes ainsi que

différents sucres sulfatés comme l'arabinane et rhamnane extraits d'algues vertes. Leurs activités sont liées à leurs poids moléculaire, aux types de sucres et aux contenus sulfatés (**Shanmugam et Mody, 2000**).

Il semble que le mode d'action des polysaccharides sulfatés comme anticoagulant peut être attribué à l'inhibition directe de la thrombine (**Jurd et al., 1995 ;Prajapati et al., 2014**) ou à l'augmentation de l'activité de l'inhibiteur de la thrombine, comme AT-III et/ou l'héparine cofacteur II (HC-II) (**McLellan et Jurd, 1992 ; Peirera et al., 1999**).

Le tableau II résume les différents polysaccharides algaux avec une activité anticoagulante.

Tableau II : Exemples de polysaccharides algaux avec une activité anticoagulante.

Espèces	Sucre majoritaire	Polysaccharide	Références
<i>Grateloupia indica</i>	Galactose	PSs	Muhammad et al., 2017
<i>Gigartina skottsberkii</i>	Galactose	PSs	
<i>Nothogenia fastigiata</i>	Mannose	PSs	
<i>Lomentaria catenata</i>	Galactose	Galactane	
<i>Schizymenia binderi</i>	Galactose	Galactane	
<i>Porphyra haitanensis</i>	Galactose	PSs	
<i>Grateloupia filicina</i>	/	PSs	Chen et al., 2015
<i>Codium fragile</i>	/	PS	Athukorala et al., 2006
<i>Dictyota cervicornis</i>	/	PS	Costa et al., 2010
<i>Codium vermilara</i>	Arabinose	PSs	Patel, 2012

PSs : Polysaccharides sulfatés. / : Non identifié.

V. Hémostase

L'hémostase concerne l'ensemble des phénomènes qui contribuent à l'arrêt du saignement (lutte contre l'hémorragie) et ceux qui maintiennent le sang à l'état fluide dans les vaisseaux (lutte contre la thrombose). Elle résulte de trois processus complémentaires : L'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse (**Harif, 2007**).

V.1. Hémostase primaire

L'hémostase primaire est l'ensemble des phénomènes qui contribuent à l'arrêt du saignement par formation d'un caillot ou clou plaquettaire. Elle fait intervenir la paroi vasculaire, les plaquettes et deux facteurs plasmatiques, le facteur de Von Willebrand (vWF)

et le fibrinogène (**Harif, 2007**). Le clou plaquettaire (thrombus blanc) ainsi constitué est instable et doit être consolidé par l'activation de la coagulation (**Nonne, 2007**).

V.2. Coagulation

La coagulation est le processus qui aboutit à la formation de fibrine nécessaire à la consolidation du clou plaquettaire. Il s'agit d'une séquence de réactions enzymatiques permettant l'activation de facteurs plasmatiques inactifs en protéases actives (**Plaziat-Decourcel, 2009**). Elle est divisée en deux voies, la voie extrinsèque et la voie intrinsèque, suivie d'une voie commune après l'activation du Facteur X (FX) (**De Caterina et al., 2012 ; Pierce et al., 1999**). Elle nécessite l'intervention de nombreux facteurs plasmatiques, nommés de I à XIII. Ces facteurs sont présents sous forme de précurseurs inactifs dans le sang. Lorsqu'ils sont activés par protéolyse, on leur adjoint la lettre « a ». Les facteurs sont synthétisés par le foie (**Penche, 2015**).

- Voie extrinsèque ou voie tissulaire

Elle utilise les facteurs tissulaires libérés lors de la lésion vasculaire. En présence de calcium et du facteur tissulaire lié aux phospholipides des membranes cellulaires, le facteur VII s'active en devenant la convertine (VIIa). Le VIIa lié au facteur tissulaire permet d'activer le facteur X lorsque le facteur tissulaire est en excès. Mais, en présence de peu de facteur tissulaire, le facteur VIIa pourra activer le facteur IX (**Pench, 2015**).

- Voie intrinsèque ou voie cellulaire

Elle est ainsi dénommée car toutes les protéines nécessaires à cette voie se trouvent dans le plasma (**Harif, 2007**). Cette voie nécessite l'intervention du système contact. Il comprend quatre facteurs (XII, XI, prékallikréine et kininogène de haut poids moléculaire). L'activation du système contact peut être déclenchée par le contact du facteur XII avec une surface chargée négativement mouillable ou certains composés biochimiques. Le facteur IX activé en présence du facteur VIII activé permet l'activation du facteur X. La distinction de ces deux voies reste utile pour le diagnostic des pathologies de la coagulation et de leur exploration. Toutefois les travaux récents ont montré que la voie tissulaire est prépondérante *in vivo*. La voie intrinsèque venant renforcer ou suppléer cette voie dans certains cas (**Pench, 2015**).

- **Voie commune**

Cette voie correspond aux réactions enzymatiques conduisant à la formation de fibrine à partir du fibrinogène. Dans un premier temps il y a une activation de la prothrombine en thrombine par le complexe formé par le facteur Xa, le facteur Va, le Calcium et les phospholipides plaquettaires. La thrombine convertira le fibrinogène en monomères de fibrines qui vont former le caillot de fibrine par des liaisons électrostatiques. Ce caillot reste soluble. Le facteur XIII activé par la thrombine va agir sur le caillot pour le rendre insoluble par la transformation des liaisons entre les monomères de fibrine en liaisons covalentes (**Harif, 2007**). Le tableau III cite les différents facteurs de coagulation et leurs fonctions, la figure 8 est un schéma représentatif de la cascade de coagulation.

Tableau III : Facteurs de coagulation (**Palta et al., 2014**).

Numéro des facteurs de coagulation	Nom des facteurs de coagulation	Fonction
I	Fibrinogène	Formation du caillot
II	Prothrombine	Activation de I,V, VII, VIII, XI, XIII et plaquettes
III	TF	Cofacteur du VIIa
IV	Calcium	Facilite la liaison des facteurs aux phospholipides
V	Pro-accélélerine	Co facteur de la X-prothrombinase complexe
VII	Proconvertine	Activation des facteurs IX et X
VIII	Facteur antihémophilique A	Cofacteur du complexe IX-tenase
IX	Facteur antihémophilique B	Activation de X
X	Facteur Stuart	Prothrombinase complexe avec le facteur V qui active le facteur II
XI	Facteur Rosenthal	Active le facteur IX
XII	Facteur Hageman	Activation des facteurs XI et VII
XIII	Facteur de stabilisation de la fibrine	Liaison des fibrines

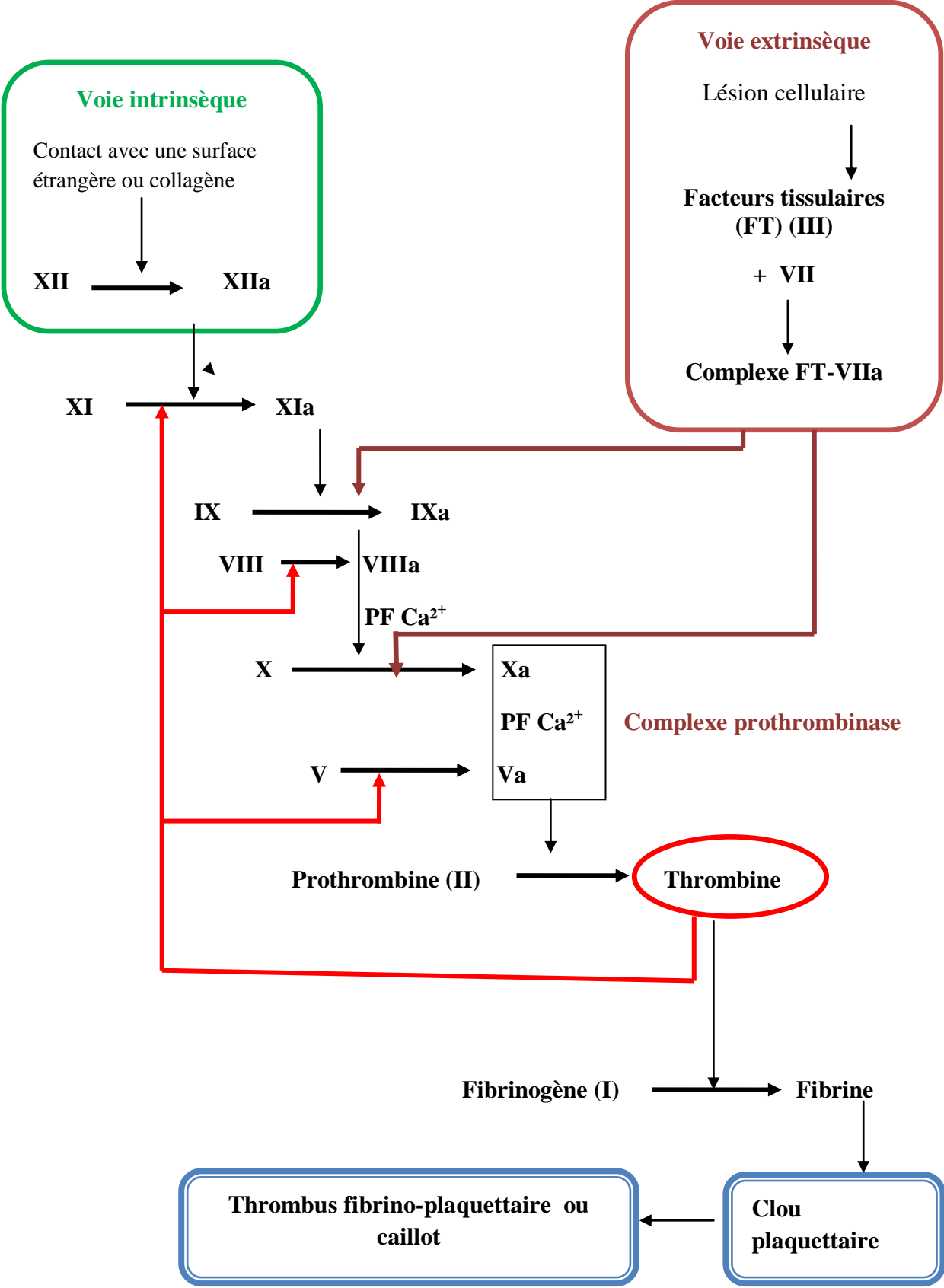


Figure 8 : Cascade de coagulation (Gibout, 2014).

V.3. Fibrinolyse

La fibrinolyse assure la dégradation enzymatique de la masse fibrino-plaquettaire à l'issue de la réparation vasculaire en une durée de 48 à 72 heures. Elle fait intervenir le plasminogène, synthétisé par le foie, et circulant sous forme inactive dans le plasma. Il sera activé par l'intermédiaire d'activateurs par clivage d'une liaison entre acides aminés pour devenir la plasmine. C'est une enzyme protéolytique très puissante capable de détruire :

- le caillot de fibrine en D-Dimères.
- le fibrinogène dont les produits de dégradations associés à ceux de la fibrine sont appelés PDF.
- des facteurs de la coagulation tels que les facteurs V, VIII, et X.

Ce phénomène doit rester localisé et la circulation de plasmine doit être régulée pour maintenir un équilibre physiologique. (**Pench, 2015 ; Nonne, 2007**).

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

I.1. Echantillonnage

Durant le mois de Juillet 2013, cinq espèces d'algues marines ont été récoltées sur la plage Boulimate située à environ 20 Km à l'ouest du centre ville de Béjaia ($36^{\circ} 49' 2,09''$ N, $4^{\circ} 59' 22,19''$ E) (figure 9). Les échantillons sont transportés au laboratoire dans des sacs en polyéthylène.

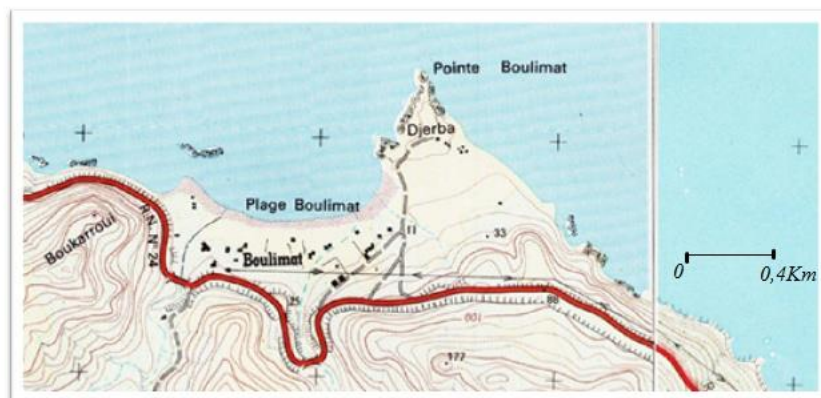


Figure 9: Cartographie de la station de récolte des algues marines étudiées (INCT, 2000).

Les algues marines récoltées sont identifiées au niveau du laboratoire de cryptogamie à l'université Abderrahmane Mira de Bejaia (UAMB). Les photographies des espèces d'algues marines récoltées sont présentées dans la figure 10 avec une description de ces espèces dans le tableau 4.

I.2 Traitement des échantillons

Les échantillons sont nettoyés par lavage avec de l'eau douce afin d'éliminer les épiphytes, les nématodes et toutes autres matières suspendues, et les crampons sont enlevés. Un dernier lavage avec de l'eau distillée est effectué. Après séchage à l'étuve à 40°C , les algues sont coupées en petits morceaux, broyées en fine poudre par un broyeur. Les poudres sont mises dans des flacons opaques et conservées à 4°C .

Tableau IV: Caractéristiques botaniques des espèces d'algues marines récoltées.

Description	Classification
(Cabioc'h <i>et al.</i>, 1992)	
Algue rouge de grande taille (30 cm de haut), avec un Thalle cylindrique de quelques dixièmes de millimètres de diamètre, abondamment ramifiés.	Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Rhodophyta</i> Classe: <i>Rhodophyceae</i> Ordre: <i>Ceramiales</i> Famille: <i>Rhodomelacées</i> Genre: <i>Rhodomela</i>
Algue brune de petite taille avec un thalle cylindrique en tout ou partie et des ramifications disposées dans tous les plans, axes principaux non aplatie, rameaux un peu épineux	Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Phaeophyta</i> Classe: <i>Phaeophyceae</i> Ordre: <i>Fucales</i> Famille: <i>Cystoseiracées</i> Genre: <i>Cystosera</i>
Algue brune avec des thalles filamenteux. l'apparition de rameaux latéraux.	Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Phaeophyta</i> Classe: <i>Phaeophyceae</i> Ordre: <i>sphacelariales</i> Famille: <i>Stypocaulonacées</i> Genre: <i>Halopteris</i>
Algue brune avec un thalle en lame ou ruban mince et souvent membraneux.	Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Phaeophyta</i> Classe: <i>Phaeophyceae</i> Ordre: <i>Dictyotales</i> Famille: <i>Dictyotacées</i> Genre: <i>Padina</i>
Algue brune pouvant atteindre plusieurs mètres de longueur, avec un thalle cylindrique en tout ou partie présence des flotteurs latéraux portés par un court pédoncule.	Règne: <i>Plantae</i> Division: <i>Phaeophyta</i> Classe: <i>Phaeophyceae</i> Ordre: <i>Fucales</i> Famille: <i>sargassacées</i> Genre: <i>sargassum</i>

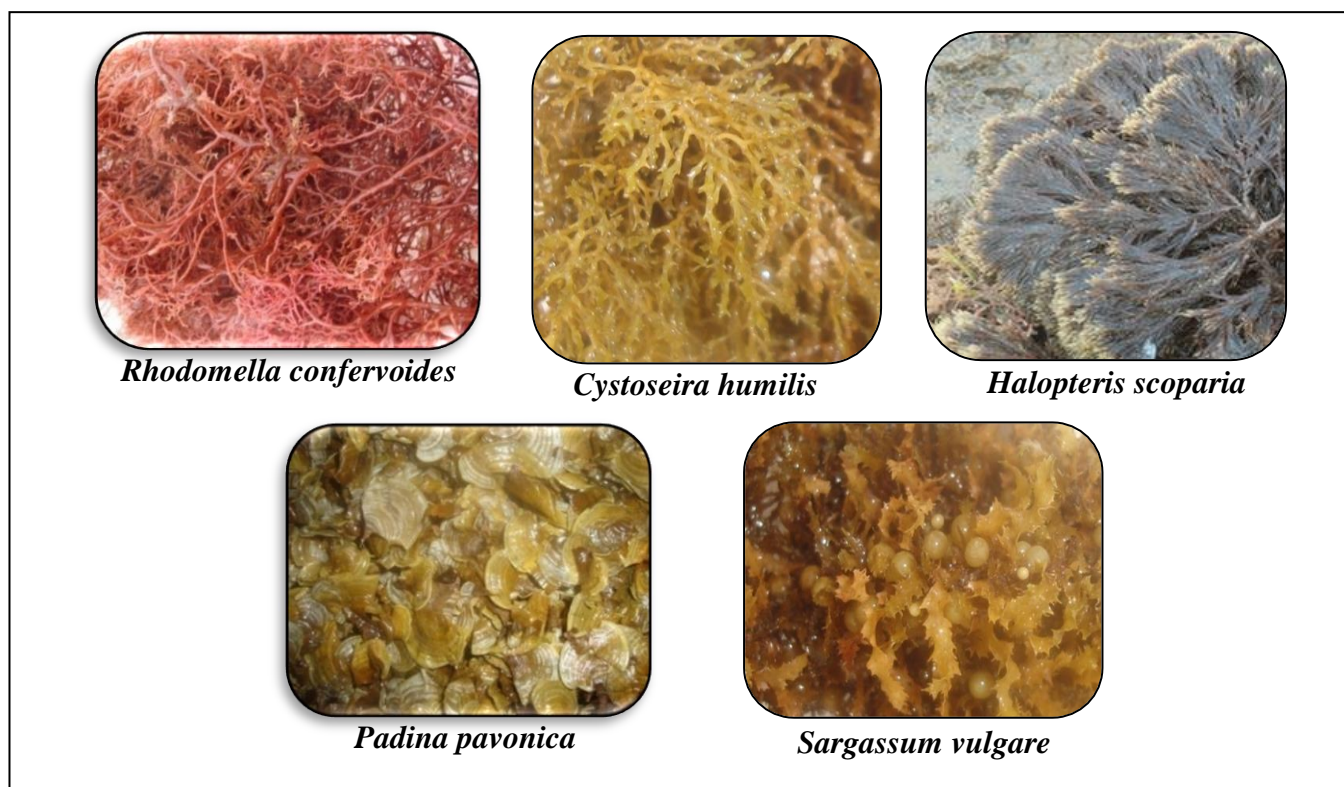


Figure 10: Photographies des espèces d'algues marines récoltées.

I.3. Extraction des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont extraits par macération de 5g de poudre dans 50ml d'acétone 70% sous agitation. Après 24 heures, la solution est centrifugée (centrifugeuse SIGMA) à 4000g pendant 5 minutes, le surnageant contenant les polyphénols est récupéré puis filtré avec du papier filtre standard. Après évaporation dans l'étuve à 40°C, une reconstitution des extraits est réalisée avec de l'eau physiologique à une concentration de 25 mg/ml. Les fractions sont conservées dans des flacons fumés à 4°C (Cho et al., 2007)

I.4. Extraction des polysaccharides

Les polysaccharides sont extraits à partir des algues marines broyées et tamisées en utilisant le protocole de Rioux et al., (2007), résumé dans la figure 11.

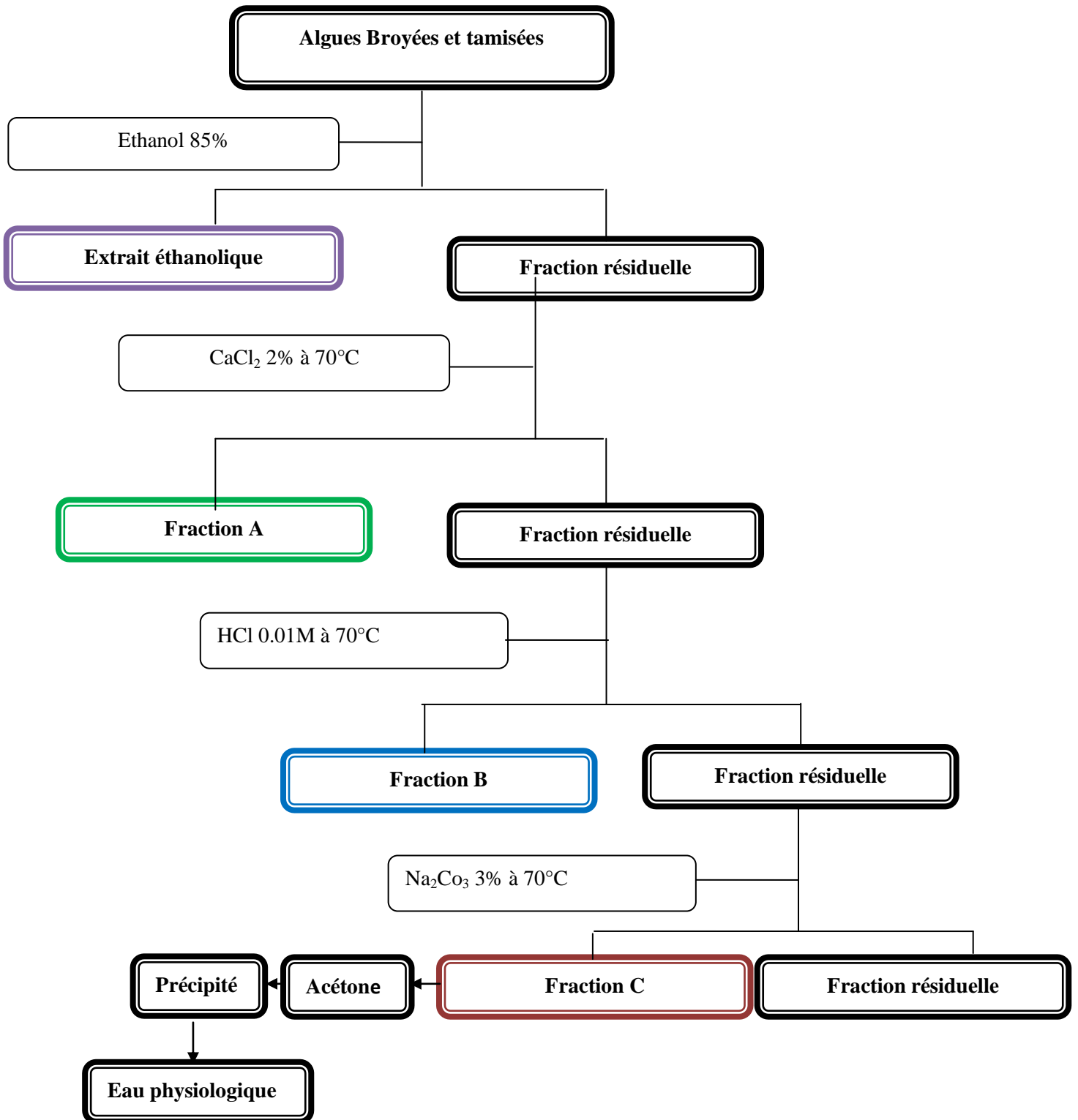


Figure 11 : Extraction des polysaccharides (Rioux *et al.*, 2007).

I.5. Taux d'extraction des composés phénoliques

Le taux d'extraction des extraits éthanolique et acétonique des algues marines est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0)] / E \times 100$$

P₀ : Poids du bécher vide.

P₁ : Poids du bécher et l'extrait après évaporation du solvant.

E : Poids de la poudre.

I.6. Dosages des composés phénoliques et polysaccharides

I.6.1. Dosage des composés phénoliques

○ Principe

Le principe de cette méthode repose sur l'interaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols qui entraînent la formation d'un complexe de couleur bleue, présentant un maximum d'absorption aux environs de 720-750nm, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

○ Mode opératoire

La teneur des fractions en composés phénoliques est estimée selon la méthode de **Skerget et al., (2005)**. 2,5ml d'une solution de Folin-Ciocalteu à 10% sont ajoutés à 0,5ml d'extrait dilué. Après 8mn, 2ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% sont ajoutés. Ce mélange est incubé 5mn à 50°C. Des mesures d'absorbance sont enregistrées à 750nm en utilisant un spectrophotomètre.

Les teneurs des fractions en composés phénoliques sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de catéchine par gramme de poudre sèche (mg Eq. Cat/g de Ps).

I.6.2. Dosage des polysaccharides

○ Principe

Le dosage des sucres a été effectué par la méthode colorimétrique à l'antrone, ce dernier réagit avec tous les oses, diosides et polysaccharides. L'antrone est dissout en milieu sulfurique concentré, il apparait de couleur jaune claire et donne avec les solutions glucidiques une coloration allant du vert au bleu vert, selon la concentration en glucide (**Bachelier et Gavinelli, 1996**).

○ Mode opératoire

Les teneurs en sucres des fractions éthanoliques, acétoniques ainsi que les fractions A, B et C sont estimées selon la méthode de **Kubrak et al., (2012)**. 50µl des fractions sont complétés jusqu'à un volume de 0,5ml avec de l'eau puis mélangées avec 1ml d'antrone à 0,2% dissout dans de l'acide sulfurique pur. Les tubes sont incubés au bain marie (100°C) durant 10mn. Après refroidissement des mesures d'absorbance sont enregistrées à 620nm en utilisant un spectrophotomètre.

Les teneurs des fractions en sucres sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec le glucose. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de glucose par gramme de poudre sèche (**mg Eq. Glu/g de Ps**).

I.7. Tests de coagulation

Il existe trois tests classiques de la coagulation qui sont le Temps de Cephanline Kaolin (TCK), Taux de Prothrombine (TP) et le Temps de Thrombine (TT) (**Rousseau, 2013**). Ils mesurent le temps écoulé depuis l'activation de la cascade de coagulation à des points différents jusqu'à la génération de la fibrine (**Raber, 1990**). Seuls deux tests de coagulation TCA et TP sont réalisés dans ce travail.

I.7.1. Temps de Cephaline Kaolin (TCK)

○ Principe

Le TCA mesure le temps nécessaire pour générer la fibrine à partir de l'initiation de la voie intrinsèque. L'activation du facteur XII est accomplie avec un agent externe (par exemple le kaolin) capable d'activer le facteur XII sans activer le facteur VII. Puisque les facteurs plaquettaires sont nécessaires pour que la cascade fonctionne normalement, le test est effectué en présence d'une émulsion de phospholipides qui prend la place de ces facteurs (**Raber, 1990**). Le TCA est exprimé en secondes, il est interprété par rapport à un temps de plasma témoin normal. Sa valeur normale ne doit pas dépasser plus de 6 à 8 secondes celle du témoin. (**Hafian et al., 2010**).

○ Mode opératoire

Les essais sont effectués selon la méthode de **Mourao et al., (1996)**.

90µL d'échantillon de plasma humain normal auquel on ajoute 10µL des différentes fractions d'algues à des concentrations allant de 100µg/ml à 10mg/ml après incubation à 37°C pendant 1mn, 100µL du réactif Cephaline kaolin préchauffé sont ajoutés puis incubés a 37°C pendant 2 mn. 100µL de calcium chloride à 0,25mol/l sont ajoutés et le temps de formation du caillot est enregistré grâce à un coagulomètre DIAGNOSTICA STAGO.

Des tests de coagulation sont aussi effectués sur l'héparine et la catéchine comme témoins positifs à des concentrations allant de 10 à 200µg/ml.

I.7.2. Taux de prothrombine (TP)

○ Principe

Le temps de prothrombine est le temps nécessaire à la génération de fibrine après activation du facteur VII, il mesure l'intégrité de la voie extrinsèque et de la voie commune (facteur VII, V, X, prothrombine et fibrinogène). Un plasma citraté mélangé à un activateur (thromboplastine) est incubé à 37°C, le temps de formation du caillot est enregistré. Sa valeur normale est habituellement entre 11 et 15 secondes, ceci dépend du réactif utilisé (**Raber, 1990**).

- **Mode opératoire**

Les essais sont effectués selon la méthode de **Qi et al., (2012)**. Les temps de prothrombine sont mesurés comme suit : 90µL de plasma humain citraté normal sont mélangés avec 10µL des différentes fractions à des concentrations allant de 100µg/ml à 10mg/ml puis incubés à 37°C pendant une minute, 200µL d'un activateur pré-incuber à 37°C pendant 10mn sont ajoutés et le temps de coagulation est enregistré grâce à un coagulomètre DIAGNOSTICA STAGO.

Résultats et Discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Dosage des composés phénoliques des extraits éthanolique et acétonique

Les teneurs en composés phénoliques des extraits éthanolique et acétonique, des cinq espèces d'algues marines étudiées, exprimés en milligramme équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg Eq Cat/g de Ps), sont représentés dans la Figure 12.

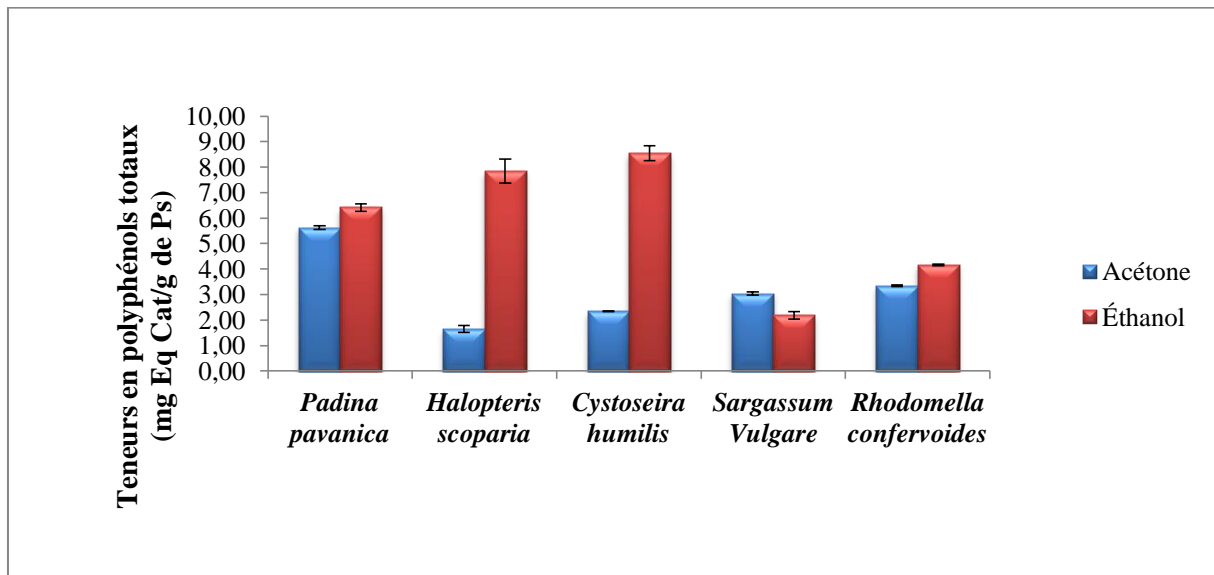


Figure 12 : Teneur en composés phénoliques des extraits éthanolique et acétonique.

Les teneurs en composés phénoliques des extraits éthanoliques sont plus élevées que celles des extraits acétoniques sauf pour l'espèce *Sargassum vulgare*.

Les valeurs les plus élevées sont obtenues par les extraits éthanoliques des trois algues brunes *Cystoseira humilis* (8,55 mg Eq Cat/g de Ps), *Halopteris scoparia* (7,84 mg Eq Cat/g de Ps) et *Padina pavanica* (6,41 mg Eq Cat/g de Ps), suivi par *Rhodomella confervoides* avec une teneur de (4,16 mg Eq Cat/g de Ps). La teneur la plus basse est obtenue avec l'extrait éthanolique de *Sargassum vulgare* (2,19 mg Eq Cat/g de Ps).

En ce qui concerne les extraits acétoniques, les valeurs les plus élevées sont obtenues par *Padina pavanica* avec 5,63 mg Eq Cat/g de Ps, suivi par *Rhodomella confervoides* (3,35 mg Eq Cat/g de Ps) et *Sargassum vulgare* (3,04±0.071 Eq Cat/g de Ps). *Cystoseira humilis* et *Halopteris scoparia* enregistrent les teneurs les plus faibles de 2.34 mg Eq Cat/g de Ps et 1,66

mg Eq Cat/g de Ps, respectivement, alors qu'elles ont exprimé les valeurs les plus élevées avec l'extrait éthanolique.

Bougeau et al. (2016), ont réalisé une comparaison de la teneur en composés phénoliques des algues brunes, extrait avec différents solvants et ont déduit que l'extraction par l'éthanol 70% donnait une meilleure teneur en composés phénoliques que l'extraction par l'acétone 70%, ce qui concorde avec les résultats obtenus avec nos espèces, *Padina pavanica*, *Halopteris scoparia* et *Cystoseira humilis*. **Diyana et al., (2015)**, en utilisant les mêmes solvants pour l'extraction des composés phénoliques de l'algue rouge *Kappaphycus alvarezii*, ont obtenu des teneurs plus élevées dans l'extrait éthanolique que dans l'extrait acétonique, ce qui est en accord avec les résultats obtenus avec l'algue rouge *Rhodomella confervoides*.

Des teneurs en composés phénoliques proches de celles obtenues avec l'algue brune *Sargassum vulgare* ont été enregistrées par **Farvin et Jacobsen, (2013)** pour l'extrait éthanolique de *Sargassum muticum* avec une teneur de 1,149 mg/g Ps. **Vizetto-Duarte et al., (2016)** ont enregistré des résultats inférieurs aux notre avec l'extrait méthanolique de *Cystoseira humilis* (de 4.78 mgEq.AG/g). **Tenerio-Rodriguez et al., (2017)** ont obtenu des teneurs inférieures à nos résultats pour l'algue brune *Padina concrecens* (0,2 mgEq.AG/g) et les algues rouges *Acontophora spicifera*, *Aphiroa volonioides*, *geldium robustum*, *Neorhodomella larix* et *Rodhymenia californica*, leurs résultats varient entre 0,02 et 0,078 mgEq.AG/g. **Ramdani et al., (2017)** ont trouvé des teneurs en composés phénoliques très élevées de l'extrait éthanolique de l'algue rouge *Gracilaria bursa-pastoris* (79,43 mgEq.AG/g). Cette variation des teneurs en composés phénoliques s'expliquerait par la différence des espèces, des sédiments et de l'eau environnante (**Sarojini et al., 2016**) mais aussi par la variation des saisons qui influe sur la composition chimique des algues (**Fellah et al., 2017**).

Selon **Tomsone et al., (2012)**, l'extraction des polyphénols est influencée par la solubilité des composés phénoliques dans le solvant d'extraction utilisé, ce qui expliquerait les résultats obtenus avec l'acétone et l'éthanol. Les solvants les plus communément utilisés pour l'extraction des phlorotannins des algues brunes sont les mélanges aqueux de l'éthanol et de l'acétone (**Freil-Peegrine et Robledo, 2013**), l'acétone 70% est considéré comme étant le mélange de solvant le plus efficace pour extraire les phlorotannins (**Koivikko et al., 2005; Murti et Agrawal, 2010 ; Werner, 2013**).

II.2. Dosage des sucres totaux

Les teneurs en sucres totaux des extraits éthanolique, acétonique et des fractions A, B et C des cinq espèces d'algues marines étudiées, exprimés en milligramme équivalent de glucose par gramme de poudre sèches (mg Eq. Glu/g de Ps), sont représentées dans la Figure 13.

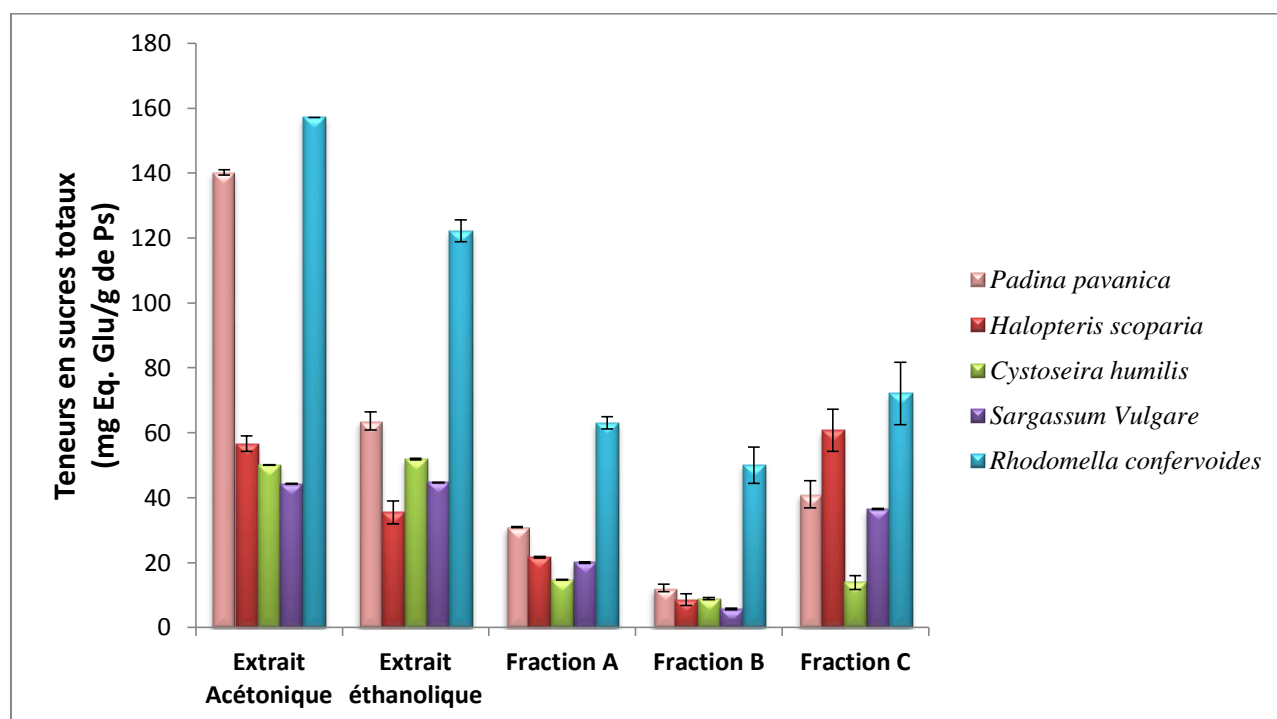


Figure 13 : Teneurs en sucres totaux.

Les teneurs les plus élevées en sucres totaux des différents extraits de *Padina pavanica*, ont été obtenu par l'extrait acétonique ($140,2 \pm 0,85$ mg Eq. Glu/g de Ps), cette teneur baisse pour l'extrait éthanolique, la fraction A et B avec ($63,64 \pm 2,32$ mg Eq. Glu/g de Ps), ($30,94 \pm 0,03$ mg Eq. Glu/g de Ps), ($12,19 \pm 0,01$ mg Eq. Glu/g de Ps), respectivement, on observe une augmentation des teneurs en sucre dans la fraction C avec ($41,04 \pm 0,0$ mg Eq. Glu/g de Ps). L'extrait acétonique de *Halopteris scoparia* a enregistré les teneurs les plus élevées avec ($56,65 \pm 2,76$ mg Eq. Glu/g de Ps). Des teneurs plus faible pour les extraits éthanolique, et les fractions A et B avec ($35,46 \pm 3,48$ mg Eq. Glu/g de Ps), ($21,67 \pm 0,26$ mg Eq. Glu/g de Ps), ($8,59 \pm 0,13$ mg Eq. Glu/g de Ps), respectivement. La teneur en sucre augment pour la fraction C à $60,8 \pm 3,39$ mg Eq. Glu/g de Ps. Les teneurs en sucres de *Cystoseira humilis* sont équivalente dans les extraits acétonique et éthanolique avec ($50,06 \pm 0,09$ mg Eq.

Glu/g de Ps) et ($51,96 \pm 0,28$ mg Eq. Glu/g de Ps) ces teneurs baissent dans les fractions A et B ($14,75 \pm 0,11$ mg Eq. Glu/g de Ps) et ($8,9 \pm 0,23$ mg Eq. Glu/g de Ps). Le taux augmente toujours pour cet espèce dans la fraction C avec $13,8 \pm 1,87$ (mg Eq. Glu/g de Ps).

Sargassum vulgare a obtenu une teneur élevée dans les extraits Acétonique et éthanolique avec $44,32 \pm 1,13$ et $44,64 \pm 1,8$ mg Eq. Glu/g de Ps, respectivement. Les teneurs en sucre dans les fractions A et B sont faibles ($20 \pm 0,4$ et $5,68 \pm 0,2$ mg Eq. Glu/g de Ps). La fraction C enregistre une teneur plus élevée ($36,48 \pm 5,54$ mg Eq. Glu/g de Ps).

L'algue rouge *Rhodomella confervoides* a enregistré les teneurs les plus élevées en sucre totaux, par rapport aux algues brunes étudiées. L'extrait acétonique montre la teneur la plus élevée ($157,2 \pm 4,14$ mg Eq. Glu/g de Ps), la plus faible teneur est obtenue par la fraction B ($49,98 \pm 0,2$ mg Eq. Glu/g de Ps)

Liu et al., (2016) ont obtenu des teneurs élevées en sucres totaux pour l'algue brune *Sargassum pallidum* 84,10% de PS tandis que **Imjongjairak et al., (2015)** ont obtenu un taux en sucre totaux de 85,99% de PS pour l'algue rouge *Gracilaria fisheri*. **Mihoub et al., (2016)**, ont enregistré des teneurs en sucres des algues brunes *Padina pavanica* et *Sargassum vulgare* de $27,7 \pm 1,68\%$ de PS et $27,46 \pm 2,38\%$ de PS, respectivement, ces teneurs sont supérieurs à nos résultats. Les teneurs en sucre varient selon les espèces, leur état physiologique, la période de l'année et l'âge (**Abdelillah, 2013**).

Selon le protocole d'extraction de **Rioux et al., (2007)**, les différentes fractions des algues brunes (A, B et C) contiendraient majoritairement des laminaranes et fucoidanes (FA), des fucoidane (FB) et des alginates (FC). Ce protocole a été appliqué sur des espèces d'algue brune. Parmi les algues étudiées, *Rhodmomella confervoides* est une algue rouge qui produit divers galactanes sulfatés connus comme l'agar et les carraghénanes qui sont des composés polysaccharidiques majoritaires (**Imjongjairak et al., 2015 ; Williams et al., 2003 ; Skrovankova et al., 2012**).

Sebaaly et al. (2012), ont extrait et purifié les carraghénanes, le résultat de l'extraction était une solution visqueuse. Nous avons aussi observé dans notre cas une solution visqueuse pour les extraits de *Rhodomella confervoides*. Nous pouvons supposer que les fractions A B et C de cette algue contiendrait des galactanes sulfatés.

II.3. Tests de coagulation de l'héparine et de la catéchine

Les résultats des tests TP et TCK de l'héparine et de la catéchine sont représentés dans les figures 14 et 15, respectivement.

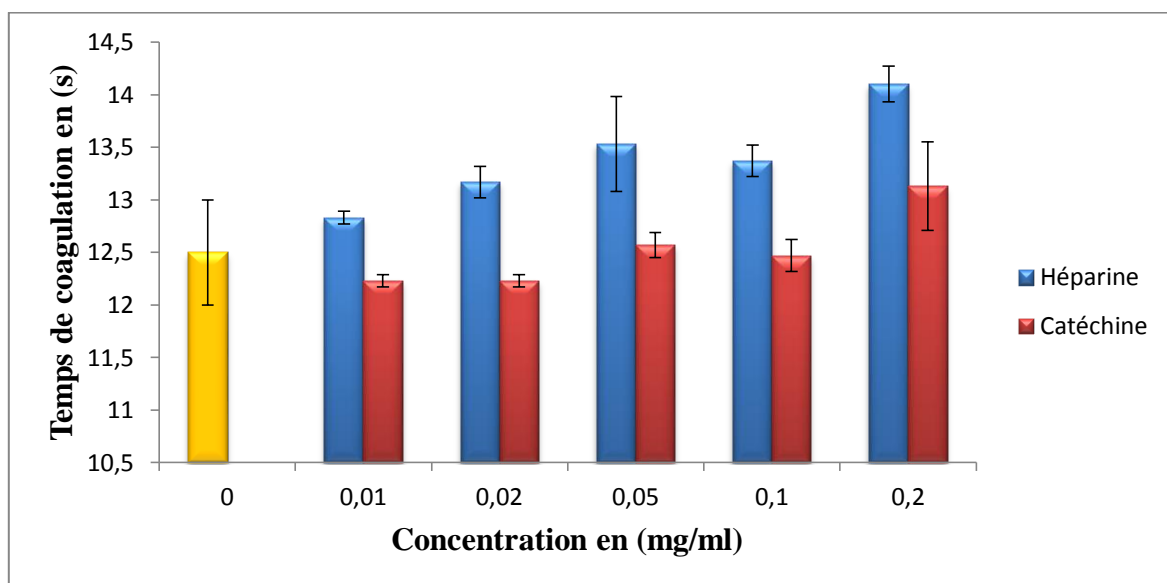


Figure 14 : Taux de prothrombine de l'héparine et de la catéchine.

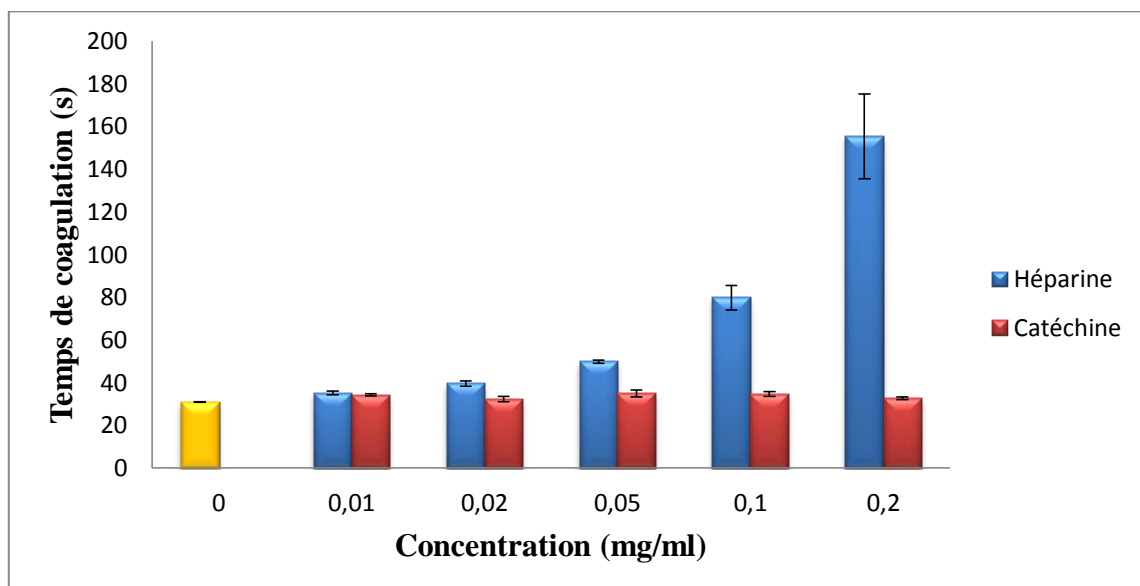


Figure 15: Temps de cephaline kaoline de l'héparine et de la catéchine.

Le temps de coagulation du test TP de l'héparine augmente au fur et à mesure que la concentration de celui-ci augmente avec un minimum de $12,83 \pm 0,06$ s pour une concentration de 0,01mg/ml et un maximum de $14,1 \pm 0,17$ s pour une concentration de 0,2mg/ml. En ce qui

concerne les résultats du TP obtenus pour la catéchine, on remarque une légère augmentation du temps de coagulation à $13,13 \pm 0,42s$ à la concentration de $0,2mg/ml$.

Les résultats du temps de coagulation obtenus par le test de coagulation TCK de l'héparine augmentent très rapidement en fonction de l'augmentation de la concentration, il atteint un temps de coagulation maximal de $180,13 \pm 45,07s$ à une concentration de $0,2mg/ml$. On n'observe aucune augmentation du temps de coagulation pour la catéchine.

Qi et al. (2012) ont obtenu un TCK de 200s pour l'héparine à une concentration de $0,05mg/ml$ et un TP de 120s. Nous avons obtenu un temps de coagulation inférieur à ces résultats, ceci dépend du type d'héparine utilisée. Dans notre étude, une solution injectable de LOVENOX ; énoxaparine sodique ($2000UI/0,2ml$) a été utilisée.

Les études de **Son et al. (2004)** et **Kong et al. (1999)** ont montré que la catéchine était un antiplaquettaire et non un anticoagulant et n'a donc aucun effet sur les tests de coagulation TP et TCK, ce qui concorde avec nos résultats.

II.4. Tests de coagulation des extraits acétoniques

Les résultats des tests de coagulation TP et TCK des extraits Acétoniques des cinq espèces étudiées sont représentés dans les figures 16 et 17, respectivement.

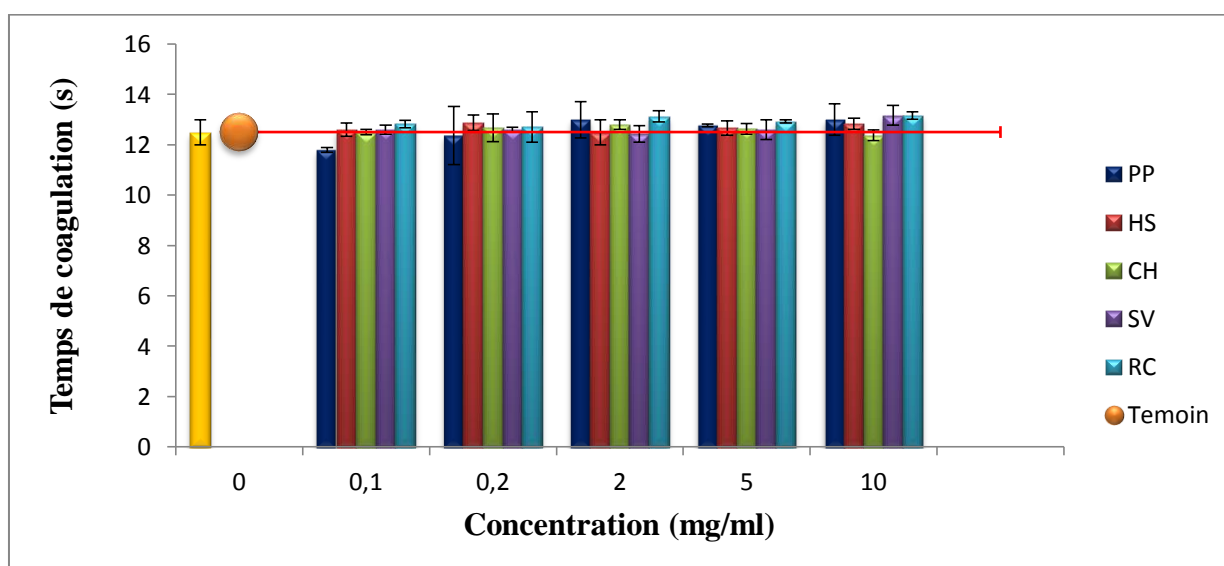


Figure 16 : Taux de prothrombine des extraits acétoniques.

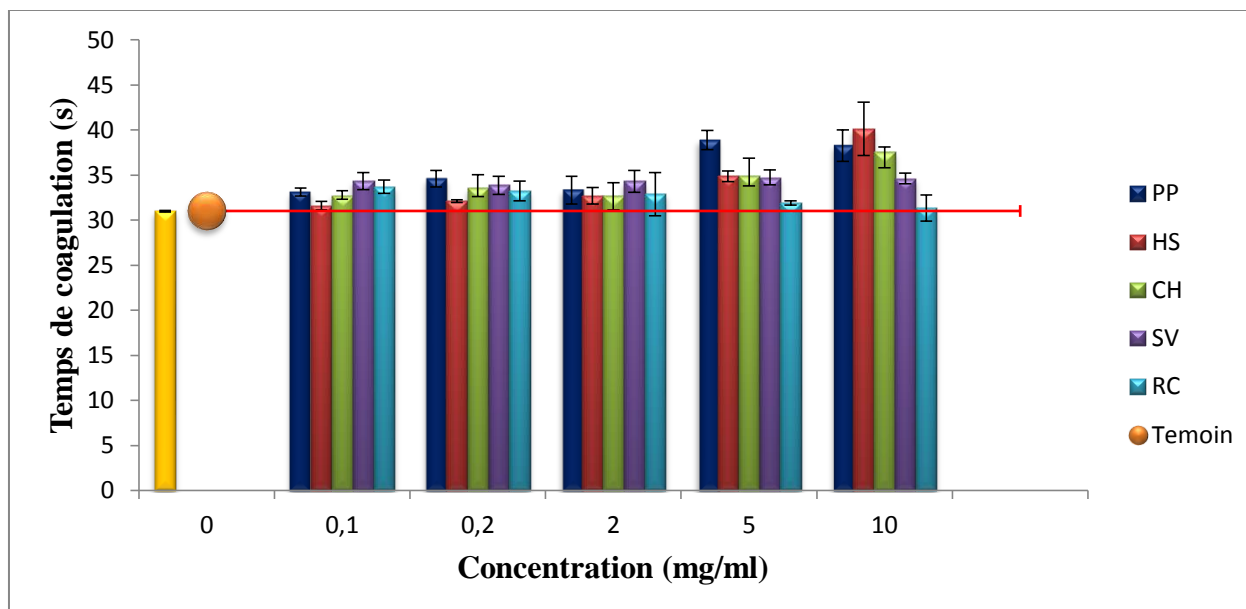


Figure 17 : Temps de cephaline kaolin des extraits acétoniques.

Selon le réactif utilisé, l'intervalle normal de référence pour le test de coagulation TP est en général situé entre 11 à 15 secondes. Pour le test de coagulation TCK, le résultat ne doit pas dépasser 6 à 8 secondes le temps du témoin.

Les résultats obtenus avec les extraits acétoniques des cinq espèces étudiées sont dans l'intervalle normal. L'augmentation de la concentration des extraits n'a aucun effet sur le temps de coagulation. La non prolongation du temps de coagulation démontre que les différents fractions Acétoniques des espèces étudiées n'ont aucune influence sur la voie extrinsèque de la coagulation aux concentrations étudiées.

En ce qui concerne le test de coagulation TCK, une augmentation du temps de coagulation en fonction de la concentration des extraits acétoniques est observée pour les espèces *Padina pavanica*, *Halopteris scoparia* et *Cystoseira humilis*. L'extrait Acétonique d'*Halopteris scoparia* a obtenu le temps de coagulation le plus élevé avec $40.13 \pm 2.96s$ à une concentration de 10mg/ml suivi de *Padina pavanica* avec un effet anticoagulant de $38.27 \pm 1.76s$ à la même concentration. Un prolongement du temps de coagulation est observé à la concentration de 10mg/ml avec un temps de $37.57 \pm 0.57s$ pour l'espèce *Cystoseira humilis*. Aucun effet anticoagulant n'a été observé pour les deux espèces *Sargassum vulgare* et *Rhodomella confervoides*, ceci peut être expliqué par la faible teneur des deux fractions Acétoniques en composés phénoliques, en comparaison avec les autres espèces. Les espèces

Padina pavanica, *Halopteris scoparia* et *Cystoseira humilis* possèdent un effet anticoagulant sur la voie intrinsèque de la coagulation.

II.5. Tests de coagulation des extraits éthanoliques

Les résultats des tests de coagulation TP et TCK des extraits éthanoliques des cinq espèces étudiées sont représentés dans les figures 18 et 19, respectivement.

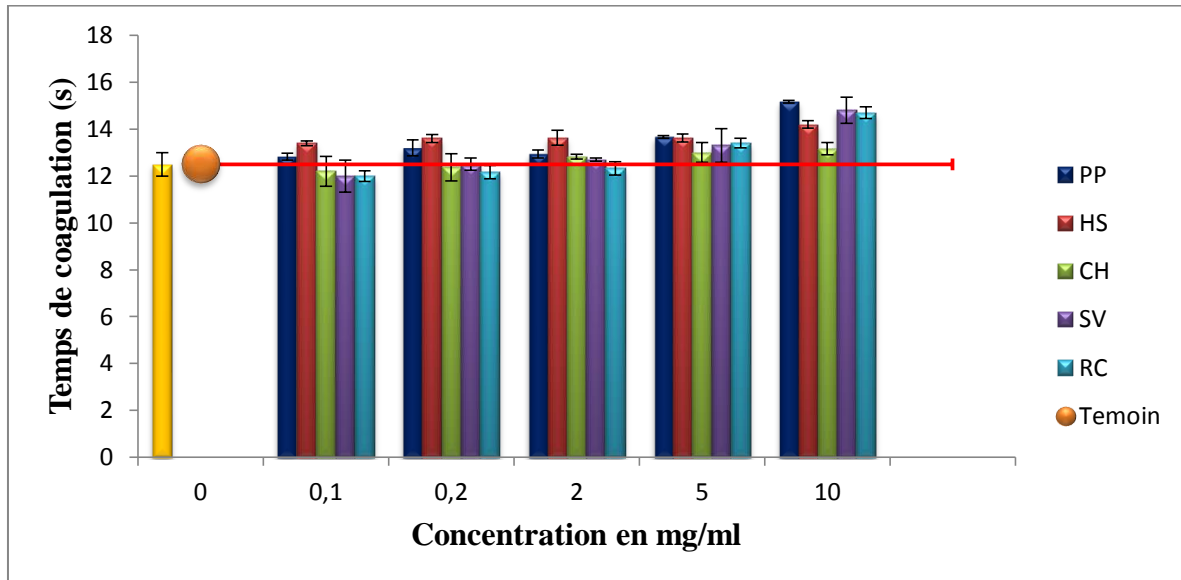


Figure 18 : Taux de prothrombine des extraits éthanoliques.

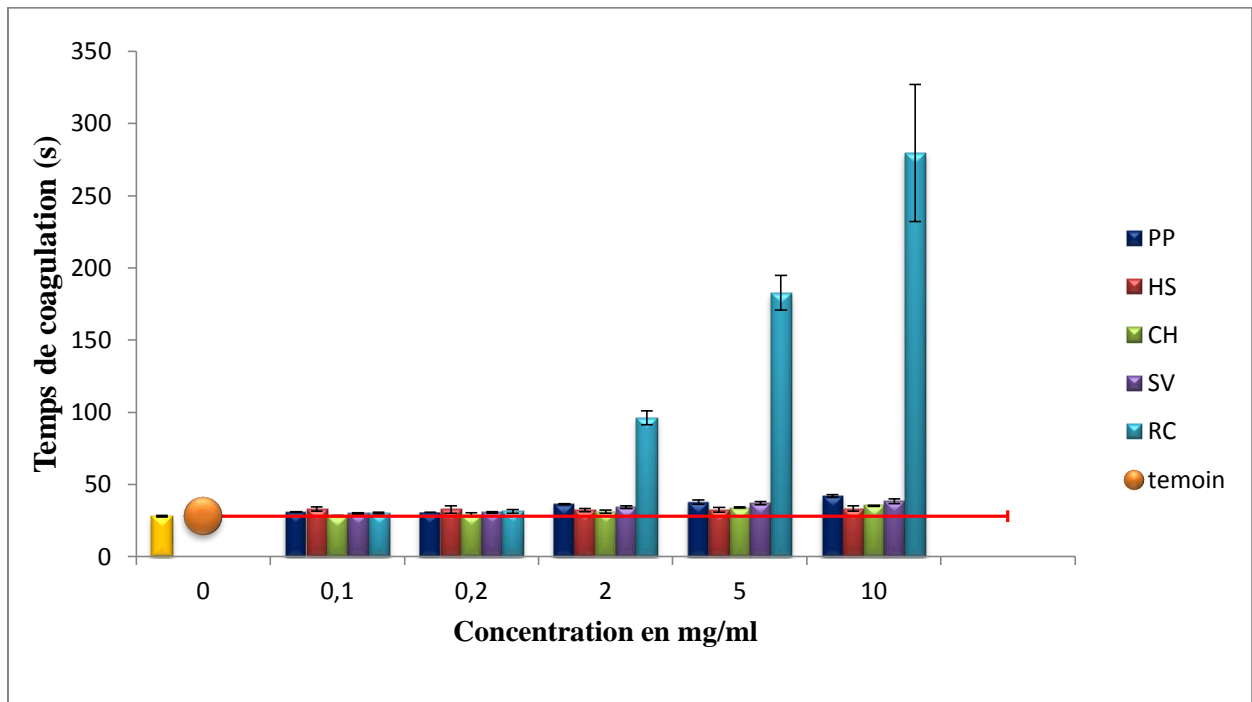


Figure 19 : Temps de cephaline kaolin des extraits éthanoliques.

L'effet anticoagulant des extraits éthanoliques des différentes algues brunes et rouges étudiées est concentration dépendant pour les espèces *Padina pavanica*, *Halopteris scoparia*, *Sargassum vulgare* et *Rhodomella confervoides*. L'allongement le plus élevée du temps de coagulation pour le test TP est obtenu par *Padina pavanica* avec $15,17 \pm 0,06s$ à une concentration de 10mg/ml, suivi par *Sargassum vulgare* ($14,81 \pm 0,56s$) et *Rhodomella confervoides* ($14,7 \pm 0,25s$). Malgré leur augmentation par rapport au témoin qui est de $12,5 \pm 0,5s$, tous ces résultats restent toujours dans l'intervalle normal du test de TP (11-15s), nous pouvons déduire que l'extrait éthanolique n'a pas d'effet sur la voie extrinsèque de la coagulation aux concentrations étudiées.

Le résultat du test de coagulation TCK de l'extrait éthanolique de *Rhodomella confervoides* a montré une activité anticoagulante remarquable en inhibant la voie intrinsèque, cette fraction avec une concentration de 2mg/ml a donné un prolongement du temps de coagulation de $96,13 \pm 4,78s$ ce qui est de 68s supérieur au témoin, le TCK normal ne dépasse pas 6-8s le temps du témoin. A la concentration de 5mg/ml le temps de coagulation atteint les $182,77 \pm 11,99s$ et à la concentration de 10mg/ml le TCK est de $279,57 \pm 47,33s$, l'héparine a donné un TCK de $155,4 \pm 19,8$ à une concentration de 0,2mg/ml. *Padina pavanica* a eu un effet anticoagulant à partir de la concentration de 2mg/ml un TCK de $36,4 \pm 0,4s$ et a augmenté jusqu'à $42 \pm 0,95s$ à 10mg/ml, ce résultat dépasse le témoin de 14s. Un TCK de $36,87 \pm 1,12s$ a été obtenu par *Sargassum vulgare* à une concentration de 5mg/ml et augmente jusqu'à $38,37 \pm 1,35s$ à 10mg/ml. A une concentration de 10mg/ml *Cystoseira humilis* a obtenue un TCK de $35,23 \pm 0,42s$. A noté qu'il y a une augmentation du TCK des quatre espèces *Rhodomella confervoides*, *Padina pavanica*, *Sargassum vulgare* et en *Cystoseira humilis* en fonction de la concentration, cette augmentation n'a pas été observé chez *Halopteris scoparia*.

Le test de coagulation TP et TCK des extraits éthanolique ont obtenu de meilleurs résultats que les fractions Acétoniques surtout pour le test TCK, Ceci peut être du a leurs teneur plus élevées en composés phénoliques.

Athukorala et al., (2006) ont obtenu un TCK équivalent au notre avec l'extrait phénolique de l'espèce *Sargassum horneri* (37,1s), mais à une concentration inférieure aux notre (0,1mg/ml).

Le potentiel anticoagulant des phlorotannins de *Sargassum thurbergii* a été analysé et suggéré *in vitro* et *in vivo* comme ayant un effet significatif sur la prolongation du TCK et TP à une concentration de 1mg/ml et que le phloroglucinol peut être développé comme anticoagulant dans les industries pharmaceutiques (Kim et Wijesekara, 2011 ; Bae, 2011).

II.6. Tests de coagulation des fractions A

Les résultats des tests de coagulation TP et TCK des fractions A des cinq espèces étudiées sont représentés dans les figure 20 et 21, respectivement.

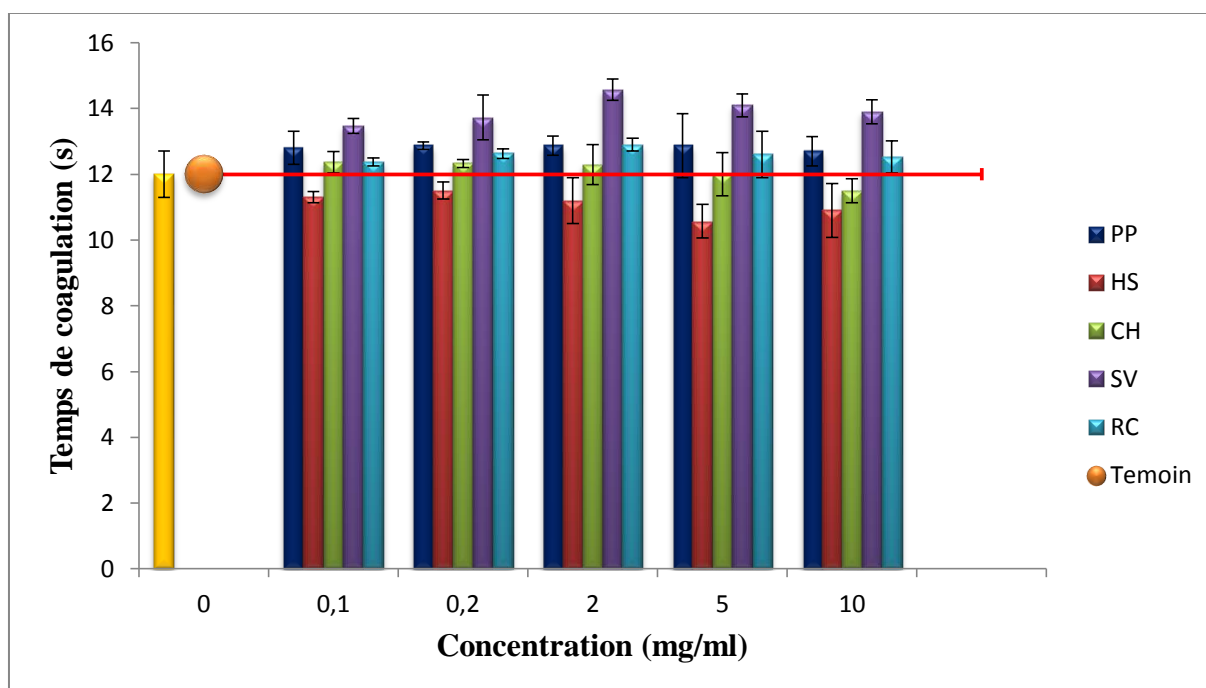


Figure 20 : Taux de prothrombine des fractions A.

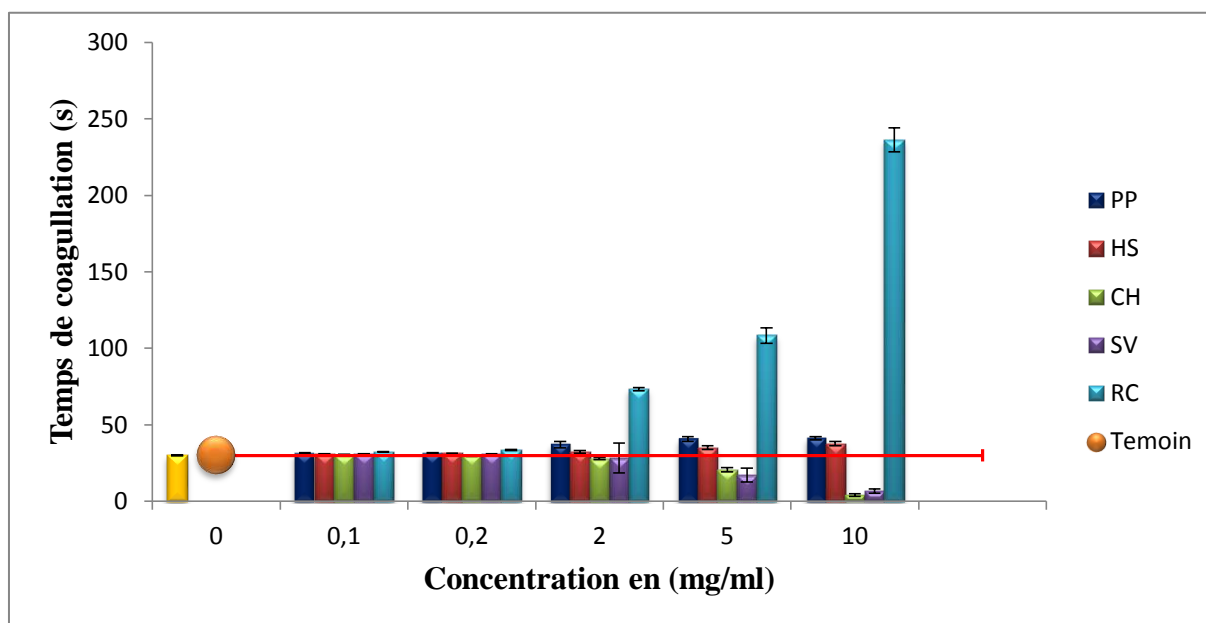


Figure 21 : Temps de cephaline kaolin des fractions A.

Le temps de coagulation le plus élevé pour le test du TP est obtenu par *Sargassum vulgare* à la concentration de 2mg/ml avec 14,57s et ce temps reste stable avec l'augmentation de la concentration. Pour les autres espèces, aucune augmentation du temps de coagulation n'a été constatée. Les fractions A des espèces étudiées ont une faible action sur la voie extrinsèque de la coagulation.

Rhodomella confervoides a de nouveau donné des temps de coagulation très élevés à partir de la concentration de 2mg/ml, un TP égale à $73,33 \pm 0,93s$ et les résultats augmentent jusqu'à $236,33 \pm 7,84s$ à la concentration de 10mg/ml. Les résultats du TCK de l'héparine à 0.1mg/ml sont de $79,9 \pm 5,75s$ et de $155,4 \pm 19,8s$ à la concentration de 0,2mg/ml. La seconde espèce à avoir donné un effet anticoagulant est *Padina pavanica* dont l'effet a été observé à la concentration de 5mg/ml avec $40,6 \pm 1,56s$, ce temps augmente légèrement à la concentration de 10mg/ml jusqu'à $41,2 \pm 1,05s$. Chez *Halopteris scoparia* on a constaté une augmentation du temps de coagulation jusqu'à atteindre les $37,8 \pm 1,41s$ à la concentration de 10mg/ml.

Un effet pro-coagulant a été observé lors du test de coagulation TCK chez les espèces *Cystoseira humilis* et *Sargassum vulgare*, le temps de coagulation a baissé en augmentant la concentration des fractions, jusqu'à atteindre un temps de coagulation de $4,23 \pm 0,91s$ et

$6,67 \pm 1,19s$, respectivement. Cette capacité d'exercer un effet pro-coagulant a été observée dans des fractions du fucoidane de l'algue brune *Fucus vesiculosus* (Fitton et al., 2015).

Karaki et al. (2013) ont étudié l'effet anticoagulant des extraits de l'algue brune *Dictyopteris polypodioides* l'extrait Contenant les laminaranes et fucoidanes ont donné un prolongement du TCK jusqu'à 42,5s à une concentration de 2,5µg/ml, ces résultats sont en accord avec ceux obtenu par nos fractions A de *Padina pavanica* et *Halopteris scoparia*. Ces mêmes auteurs ont considéré que la fraction fucoidanes/ laminaranes pouvait constituer un traitement alternatif a l'héparine

II.7. Tests de coagulation des fractions B

Les résultats des tests de coagulation TP et TCK des fractions B des cinq espèces étudiées sont représentés dans les figures 22 et 23, respectivement.

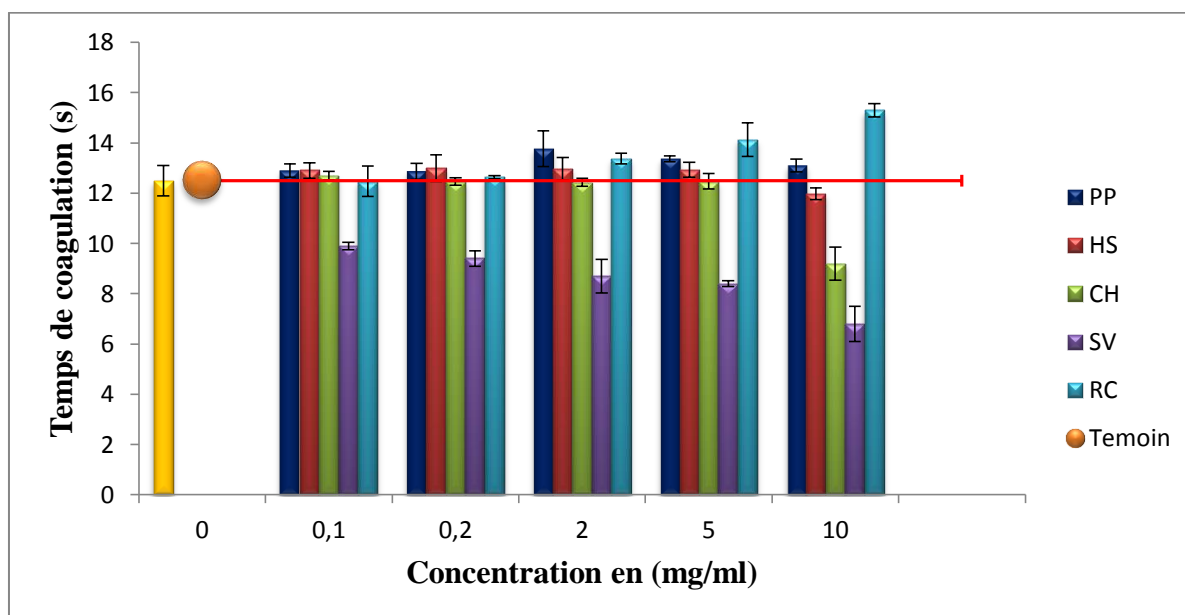


Figure 22 : Taux de prothrombine des fractions B.

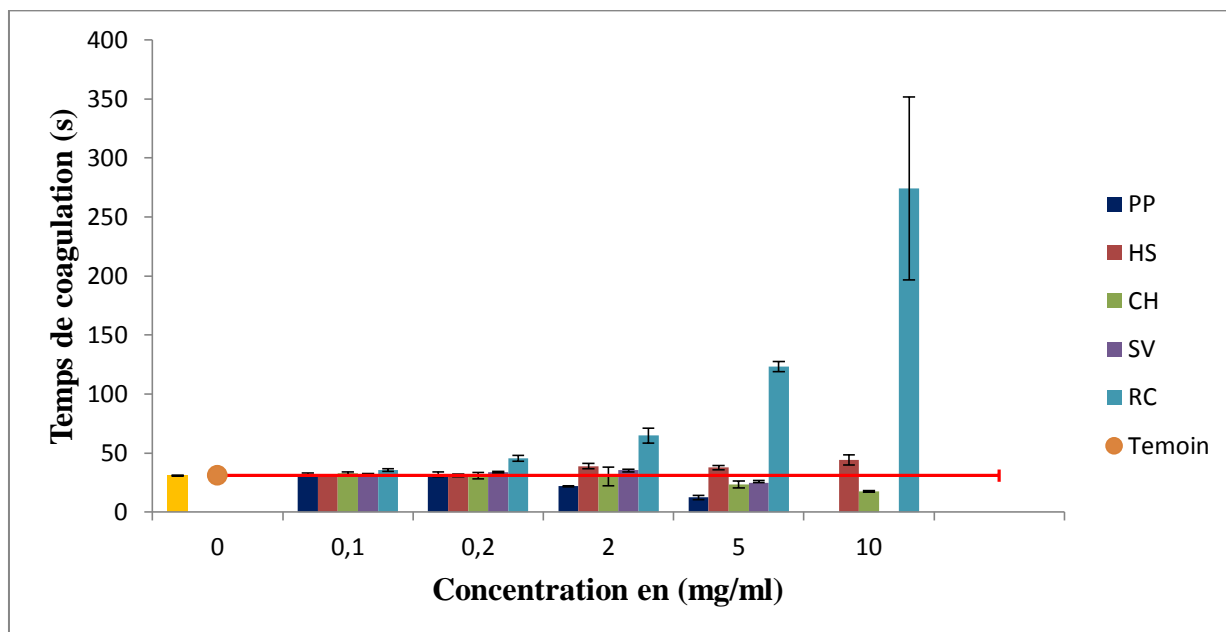


Figure 23 : Temps de cephaline kaolin des fractions B.

Seules les fractions B de *Rhodomella confervoides* et *Padina pavanica* sont concentration dépendante pour le test de coagulation TP, avec un maximum de $15,3 \pm 0,26s$ pour l'algue rouge et $13,1 \pm 0,26s$ pour l'algue brune. Pour *Halopteris scoparia* la concentration des extraits n'ont eu aucune influence sur le test TP, ces trois espèces ont donc une faible action sur la voie extrinsèque aux concentrations étudiées.

Un effet pro-coagulant lors du test de coagulation TP des deux algues brune *Cystoseira humilis* et *Sargassum vulgare* a été observé avec la fraction B. L'effet pro-coagulant a été observé à la concentration de $0,1mg/ml$ pour *Sargassum vulgare* et un temps de coagulation de $9,9 \pm 0,15s$ jusqu'à atteindre un temps de $6,8 \pm 0,7s$ à la concentration de $10mg/ml$. L'espèce *Cystoseira humilis* a montré une activité pro-coagulante à la concentration de $10mg/ml$ et un temps coagulation de $9,2 \pm 0,26s$.

La plus grande activité anticoagulante observée lors du test TCK est obtenue par la fraction B de l'algue rouge *Rhodomella confervoides*, son effet anticoagulant a été observé à la concentration de $0.2mg/ml$ avec un temps de $45,7 \pm 2,34s$ et ce temps s'allonge avec l'augmentation de la concentration jusqu'à l'obtention d'un temps de coagulation de $274,2 \pm 77,61s$ à $10mg/ml$. L'héparine a donné un temps de coagulation de $155,4 \pm 19,8s$ à la concentration de $0,2mg/ml$. La seconde espèce ayant manifesté un effet anticoagulant est *Halopteris scoparia* à $2mg/ml$ avec TCK de $38,97 \pm 2,15s$ ce temps augmente jusqu'à $44,07 \pm 4,29s$ à $10mg/ml$.

La fraction B de *Padina pavanica* a révélé un effet pro-coagulant qui n'a pas été observé jusqu'à présent avec les autres fractions de cette espèce, le temps de coagulation diminue à partir de la concentration de 2mg/ml avec un TCK de $22,1 \pm 0,46s$, à 10mg/ml le temps de coagulation n'a pas pu être déterminé car la coagulation était trop rapide. L'effet pro-coagulant de *Sargassum vulgare* a été obtenu à 5mg/ml avec une diminution du temps de coagulation à $24,9 \pm 2,01s$, à 10mg/ml le temps de coagulation n'a pas pu être déterminé (coagulation immédiate). La fraction B de *Cystoseira humilis* a aussi démontré un effet pro-coagulant et a donné un temps de coagulation de $17,43 \pm 0,67s$ à 10mg/ml.

La fraction B des algues brunes contiendrait majoritairement du fucoïdane. Cette capacité d'accélérer la coagulation du fucoïdane a été démontrée par **Zhang et al. (2013)** et **Zhang et al. (2015)** en étudiant le fucoïdane fractionné de *Ficus vesiculus*. Dans cette étude, ce polysaccharide sulfaté d'algue brune a été sur-sulfaté et désulfaté à différents degrés et des tests de leur activité pro-coagulant ont été réalisés, à partir de là, ces chercheurs ont conclu que l'activité pro-coagulant était dépendante de la charge en sulfate et que celle-ci était l'un des facteurs les plus importants de cette activité.

Jin et al. (2012) ont testé l'activité anticoagulante de 11 fucoïdanes à différentes concentrations allant de $3,6 \mu g/ml$ à $14,4 \mu g/ml$, leur effet anticoagulant a été observé sur le test de coagulation TCK et aucun effet n'a été observé sur le test TP, ceci concorde avec nos résultats obtenus avec les fractions A des algues brunes *Padina pavanica* et *Halopteris scoparia* et la fraction B d'*Halopteris scoparia*.

Irhimeh et al. (2009), ont extrait le fucoïdane de l'algue brune *Undaria pinnatifida* et ont testé son effet anticoagulant avec les tests TP et TCK, la concentration minimale à laquelle l'effet sur le TCK a été observé est de $7,8 mg/ml$ avec un temps de $40,8s$ et atteint les $340s$ à $250mg/ml$. L'effet sur le test de coagulation TP n'a pu être observé qu'à $250mg/ml$. Les tests *in vivo* sur des volontaires humains sains administrés par voie orale ont montré une prolongation du TCK de $28,46s$ à $34,01s$ après 12 jours, ceci indiquerait que le fucoïdane peut altérer une partie spécifique de la voie intrinsèque. **Menshova et al. (2016)** expliqueraient la différence dans l'action des fucoïdanes par le degré de sulfatation et le type de liaison glucidique du polysaccharide.

II.8. Tests de coagulation des fractions C

Les résultats des tests de coagulation TP et TCK des fractions B des cinq espèces étudiées sont représentés dans les figures 24 et 25, respectivement.

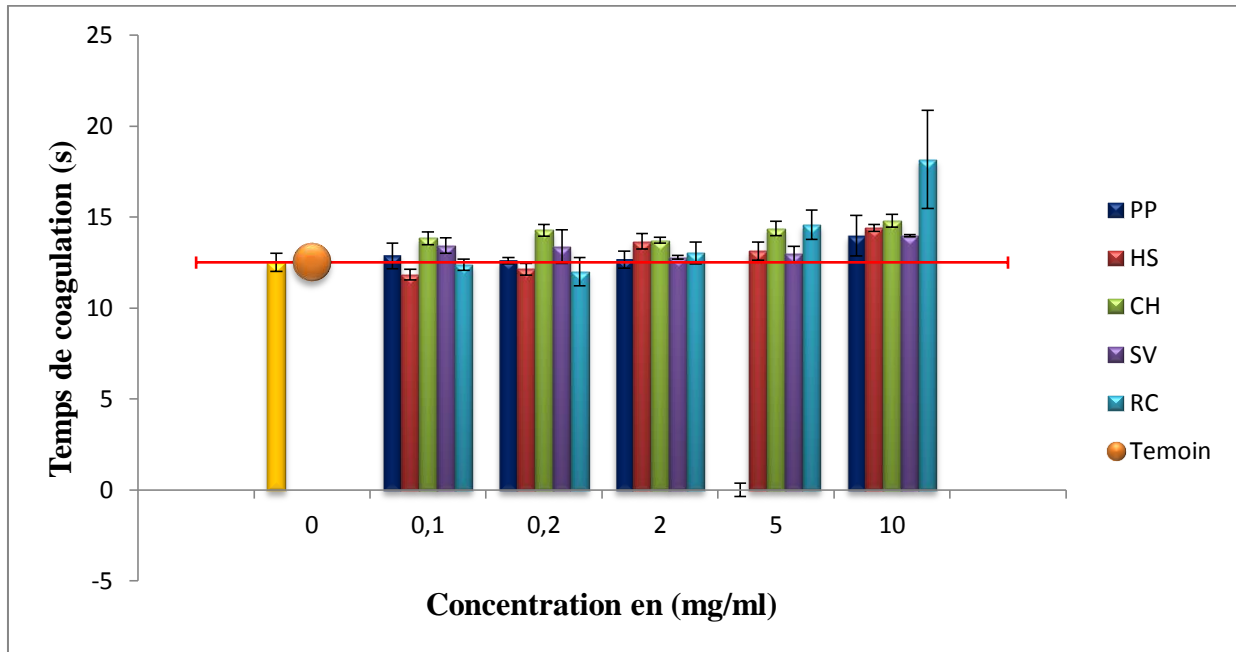


Figure 24 : Taux de prothrombine des fractions C.

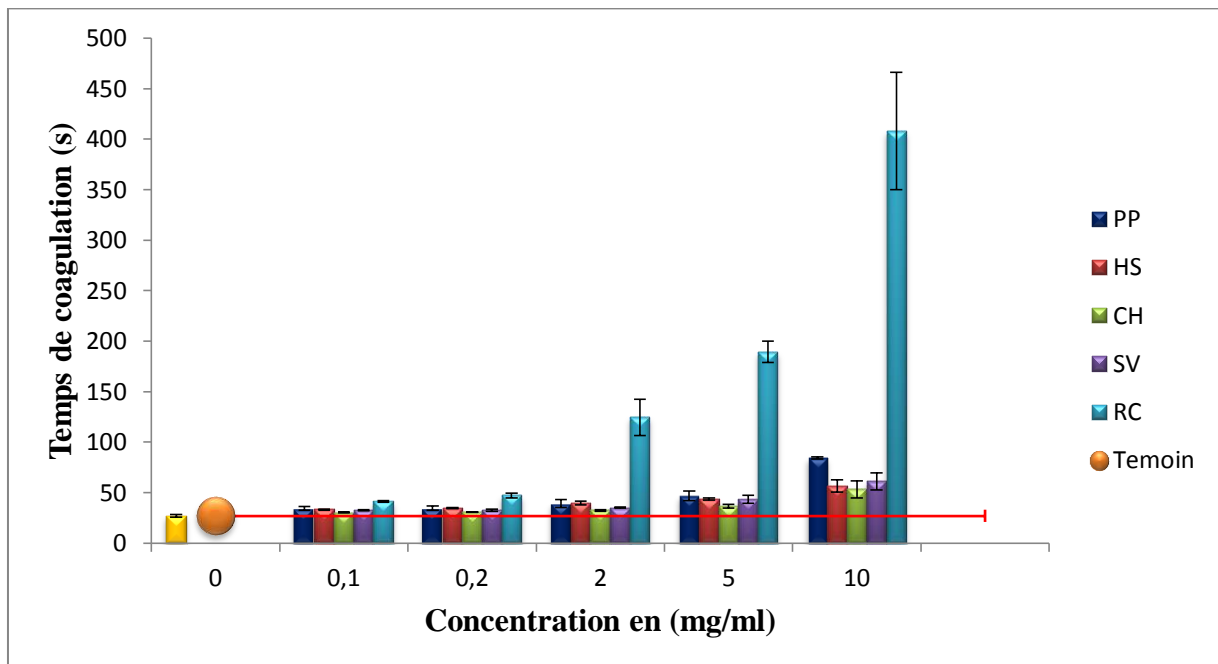


Figure 25 : Temps de cephaline kaolin des fractions C.

Les fractions C de toutes les algues étudiées montrent effet proportionnel entre le temps de coagulation du test TP et la concentration. L'effet le plus important a été obtenu par *Rhodomella confervoides* avec un temps de coagulation de $18,17 \pm 2,71$ s ce qui est supérieur au temps de coagulation du TP normal situé entre 11 et 15s. Les fractions de *Cystoseira humilis*, *Halopteris scoparia*, *Sargassum vulgare* et *Padina pavanica* ont obtenu à 10mg/ml des TP de $14,8 \pm 0,35$ s, $14,4 \pm 0,2$ s, $13,96 \pm 0,06$ s et $13,97 \pm 1,12$ s, respectivement. Tous ces résultats restent dans les normes du test TP.

La fraction C de *Rhodomella confervoides* a prolongé le temps de coagulation du test TCK à partir de 0,1mg/ml avec un temps de $41,27 \pm 0,65$ s, ce temps est prolongé avec l'augmentation de la concentration jusqu'à $407,97 \pm 58,12$ s. Ce résultat dépasse le témoin ($27,00 \pm 0,64$) de 380s. La seconde espèce ayant donné de bons résultats est *Padina pavanica* à 0,1mg/ml avec $34,5 \pm 2,5$ s pour arriver à un temps maximal de $84,47 \pm 1,04$ à 10mg/ml.

Sargassum vulgare quant à elle, son effet anticoagulant a été observé à partir de 2mg/ml avec $35,13 \pm 0,49$ s et augmente jusqu'à un temps de coagulation de $61,3 \pm 8,43$ s à 10mg/ml. *Halopteris scoparia* a aussi montre une activité anticoagulante à partir de 0.2mg/ml avec $34,7 \pm 0,47$ s et à la concentration de 10mg/ml ce temps est prolongé jusqu'à $56,66 \pm 6,15$ s. Un prolongement du temps de coagulation de la fraction C de *Cystoseira.humilis* a été observé à 5mg/ml avec $36,43 \pm 1,89$ s et augmenté à $53,43 \pm 8,47$ s à la concentration de 10mg/ml.

La fraction C des algues brunes étudiées serait composée en majorité d'alginate. **Guven et al. (1991)** ont étudié l'effet anticoagulant de l'alginate et ont trouvé que ce composé n'avait aucune activité anticoagulante, mais **Pulsawat et Tongmalee (2014)** ont obtenu un TCK de 288s à $75 \mu\text{g/ml}$ de l'alginate sulfaté et **Ghonghua et al. (2003)** ont aussi attesté l'effet anticoagulant de l'alginate sulfaté avec un TCK de 226s à $16,7 \mu\text{g/ml}$.

Rhodomella confervoides, la seule algue rouge des espèces étudiées elle s'est avérée avoir un effet anticoagulant très important en comparaison avec les quatre algues brunes étudiées. **Farias et al. (2000)**, ont démontré que les galactanes sulfatés purifiés de l'algue rouge *Botryocladia occidentalis* avaient une très grande activité anticoagulante. **Pushpamali et al. (2008)**, ont aussi étudié l'effet anticoagulant de l'algue rouge fermenté *Lomentarian catenata* et ont prouvé son activité sur la voie intrinsèque et commune de la cascade de

coagulation avec un résultat de TCK supérieur à 1000s, ce qui était supérieur aux résultats obtenus avec l'héparine. **Sebaaly et al. (2012)** ont quant à eux noté que le galactane sulfaté exhibe un plus grand pouvoir anticoagulant que les carraghénanes. Une analyse comparative de l'effet anticoagulant de différentes algues marines a été faite par **Padmanaban et al.,(2013)**,le galactane brute a donné des résultats du TCK comparable aux nôtres, en effet, a la concentration de 10mg/ml de galactane brute , un TCK de 451s est obtenu, ceci concorde avec les résultats de la fraction C ($407\pm 58,12s$).

Conclusion

Conclusion

L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'activité anticoagulante des extraits de quatre espèces appartenant aux algues brunes (*Cystoseira humilis*, *Sargassum vulgare*, *Halopteris scoparia* et *Padina pavanica*) et d'une espèce d'algue rouge (*Rhodomella confervoides*).

Les résultats des teneurs en composés phénoliques des extraits éthanoliques ont montré que *Cystoseira humilis* et *Halopteris scoparia* en sont les plus riches (8,55±0,29 mg Eq Cat/g de Ps et 7,84±0,47 mg Eq Cat/g de Ps) tandis que *Sargassum vulgare* en est la plus pauvre (2,19± 0,14 mg Eq Cat/g de Ps), alors que dans les extraits acétoniques *Padina pavanica* est plus riche en composés phénoliques (5,63±0,07 mg Eq Cat/g de Ps) et *Halopteris scoparia* en est la plus pauvre (1,66±0,13 mg Eq Cat/g de Ps).

Les résultats des teneurs en sucres totaux de tous les extraits ont montré que *Rhodomella confervoides* est l'espèce la plus riche dans tous les extraits testés. Toutes les espèces étudiées montrent une faible teneur en sucre dans les extraits éthanoliques, les fractions A et B en comparaison avec l'extrait acétonique.

L'évaluation de l'activité anticoagulante montre que tous les extraits des espèces testées ont une faible action sur la voie extrinsèque de la coagulation, mais une grande activité dans l'inhibition de la voie intrinsèque surtout pour les extraits éthanoliques, les fractions A, B et C de *Rhodomella confervoides* qui, malgré sa teneur moyenne en composés phénoliques, a montré une grande activité avec les extraits éthanoliques, ceci est certainement due à la nature des composés de cet extrait et plus particulièrement au bromophénol dont la richesse a été relatée dans plusieurs études. La grande activité des fractions A, B et C de l'algue rouge serait probablement due à la présence de galactane sulfaté, dont l'activité anticoagulante a été prouvée. *Cystoseira humilis* et *Sargassum vulgare* ont démontré une grande activité pro-coagulante avec les fractions A (laminaranes et fucoïdanes) et B (fucoïdanes) ainsi que *Padina pavanica* avec la fraction B, ceci est en accord avec quelques études réalisées. Les algues brunes ont montré une grande activité anticoagulante avec les fractions C contenant majoritairement des alginates.

Suite à cette étude, nous pouvons dire que les algues marines peuvent être une grande source naturelle d'agents anticoagulants. Le protocole utilisé dans ce travail permet d'extraire une

majorité de composés actifs tels que les fucoidanes, laminaranes et alginates, seulement ces extraits restent bruts. Pour mieux compléter ce travail, il serait intéressant de :

- Faire un dosage des sulfates pour chaque extraits et fraction pour étudier la corrélation entre le degré de sulfatation et l'effet anticoagulant.
- Isoler, caractériser et d'identifier les différents composées présents dans les extraits d'algues étudiées, par HPLC, RMN.
- Tester d'autres activités biologiques (antioxydante et antibactérienne... etc)
- Étudiée la cytotoxicité de ces fractions et extraits.

Références Bibliographiques

A

Abdelilah A. (2013). Etude des polysaccharides des macro-algues alginophytes : caractérisation et dosage des alginates. Thèse de fin d'étude .Université Kadi Ayad ,Marakech. P20.

Ainane T. (2011). Valorisation de la biomasse algale du Maroc, potentialité pharmacologique et applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcacia bifurcata*. Thèse de Doctorat en chimie analytique. Université Hassan II – Casablanca, Faculté des Science Ben M'sik Casablanca,172p.

Athukorala Y. Lee KW. Kim SK. Jeon YJ. (2006). Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju island in Korea. *Bioresource Technologie* ,pp 608-737.

Abowei JFN. Ezekiel EN. (2013). The potentials and utilization of Seaweeds. *Scientia Agriculturae*. Pp 58-66.

Ale MT et Meyer AS. (2013). Fucoidans from brown seaweeds: an update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *RSC advances*.Pp 8131-8141.

B

Bachelier G. Garvinelli R. (1966). Dosage global des glucides du sol par les méthodes colorimétriques à l'antrone et à l'orcinol. *ORSTOM*.Pp 97-103.

Bae JS (2011). Antithrombotic and fibrinolytic activities of phloroglucinol. *Food and chemical toxicology*,pp 1572-1577.

Berteau O. Mulloy B. (2003). Sulfated fucans : structures, fonctions and biological properties of sulfated fucans and an Overview of enzyme active toward this class of polysaccharides. *Glycobiology*, pp 1-6.

Bougou S. Serairi B. Medini F. Ksouri R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphoria helioscopia*. *Journal of new science*. Pp1649-1655.

Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales*. Edition technique et documentaires. P 136.

C

Cabioc'h J. Flocc'h JY. Le Toquin A. Boudouresque CF. Meinesz A et Verlaque M. (1992). Guide des algues des mers d'Europe. Edition : Delachaux et Niestlé. France. P 231.

Chbani A. Mawlawi H. Etahiri S. (2011). Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina pavinica*. récoltée sur les côtes libanaise. *Afrique science*, pp 91-96.

Chen X. Yang S. Wang J. Song L. Xing R. Liu S. Yu H. Li P. (2015). Sulfated polysaccharides isolated from cloned *Grateloupia Filicina* and their anticoagulant activity. *Hindawi*, pp 2-5.

Costa LS. Fidelis GP. Cordeira SL. Oliveira RM. Sabry DA. Kamara RBG. Nobre LTDB. Costa MSSP. Almeida-Lima J. Farias EHC. Leita EL. Rocha HAO. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharids from tropical seaweeds. *Biomedecine et pharmacotherapie*, pp 21-28.

Craigie JS.(2006). Seaweed extract stimuli in plant medicinal. Edition technique et documentaire. P35.

Cho S H. Kang SE. Cho J. Kim A. Park S. Hong Y et Ahn D. (2007). The Antioxidant properties of brown seaweed (*Sargassum siliquastrum*) extracts. *Journal of Medicinal Food*. **10** Suppl 3: 479-485.

Chojnacka K. saeid A. Witkovska Z. Tuhy L. (2012). Biologically active compounds in seaweeds extracts- the prospect for the application.p21.

Chouikhi A, (2013). Les applications potentiels des macroalgues marine et les activités pharmacologiques de leur metabolites.p39.

Carlucci MJ. Mateu CG. Artuso MC. Scolaro LA. (2004). Polysaccharides from Red Algae: Genesis of a Renaissance. *INTECH*. Pp 535-548.

D

Davis GDJ. Vasanthi HR. (2011). Seaweed metabolites database (SWMD) : a database of natural compounds from marine algae. *Bioinformation*, pp361-364.

De Catarina R. Husted S. Walentin L. Andreotti F. Arnesen H. Bachman F. Baigent C. Hubert K. Jespersen J. Kristensen SD. Goy HL. Morais J. Rasmussen LH. Siegbahn A. Verheugt FWA. Weitz JI. (2012). General Mechanism of coagulation and targets of anticoagulant. *Thromb Haemos* , pp 569-579.

De Riviers B. (2002). Biologie et phylogénie des algues. Edition Bellin. Paris (France). P418.

Diyana F A. Abdullah A. Shahrul Hisham ZA. Chan, KM. (2015). Antioxidant activity of red algae *Kappaphycus alvarezii* and *Kappaphycus striatum*. *International Food Research Journal*. Pp1977-1984.

E

Elmtil N. Fakihi FZ. Kechkach M. Elharchi M. (2013). Les algues marines : nouvelle potentialités économiques pour le Maroc quelle stratégie biotechnologique. P1.

F

Faller H. (2011). Les applications et la toxicité des algues marines. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Limoge, faculté de pharmacie, 116p.

Fellah F. Loualilech H. Dehbi-Zebboudj A. Touati N. (2017). Seasonal variations in the phenolic compound content and antioxidant activities of three selected species of seaweeds from Tiskerth islet, Bejaia, Algeria. *Journal of Materials and Environmental Sciences*. Pp4451-4456.

Farias WRL. Valet AP. Pereira MS. Mourao AS.(2000). Structure and anticoagulant activity of sulfated galactane. *the journal of biology chemistry*. Pp29299-29307.

Fitton J. Stringer DN. Carpiniec SS. (2015). Therapie from fucoidan. *Marine drugs*. Pp 5920-5946.

Ferret c. (2008). Etude de la teneur en composés phénoliques et du potentiel antioxydant associé à ces composés de plusieurs espèces de Sargassaceae du Pacifique du Sud. *Memoir Master*. P20.

Freile-Pelegrin Y. Robledo D.(2014). Bioactive phenolic compounds from algae. *Edition Blanca Hernandez-Ledesma et Miguel herrero*. Pp113-129.

G

Garneau FX. Collins GJ. (1995). Valorisation de la biomasse végétale par les produits naturels. *Recherche pour le développement international*, p188.

Garon-Lagardiere.S. (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagisis armata*. *These Doctorat. Université de Bretagne Occidentale*. P 332.

Gervasoni E. Rather L.(2012). Diversification des élevages: Etude des potentialités de culture de macroalgues alimentaires en Languedoc-roussillon. *Cepralmar*. P 04.

Gibout M. (2014). La coagulation et ses enjeux : état des lieux sur les traitements actuels et sur l'accompagnement à l'officine rendu possible par les entretiens pharmaceutiques. *Thèse de doctorat en pharmacie, Université Bordeaux 2, Faculté des sciences pharmaceutiques*, P 102.

Guiry N.(2017). *Algae*. P01

H

Hafian H. Furon V. Maupirez C. (2010). Orientation, Diagnostic devant les anomalies du temps de saignement, du temps de céphaline activé, du temps de Quick et de l'International Normalized Ratio (INR). *Research gate*, pp 186-190.

Harif M. (2007). Hémostase de la physiologie à la pathologie. *Editeur Mohamed Harif*, p229.

Hopkins GW. (2006). *Physiologie végétale*. Edition Deboeck. P12

I

Institut National de Cartographie et de Télédétection (INCT). (2000).

Imjongjairak S. Ratanakhanokchai K. Laohakunjit N. Tachapaikoon C. Pason P. Waeonukul R. (2016). Biochemical characteristics and antioxidant activity of crude and

purified sulfated polysaccharide from *Gacilaria fisheri*. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*. Pp524-532.

Irhim MR. Fitton HJ. Lowenthal MR. (2009). Pilote clinical study to evaluate the anticoagulant activity of fucoidan. *Wolters Klimwer Health*. Pp 1-4.

J

Jurd KM. Rogers DJ. Blumden G. McLellan DS. (1995). Anticoagulant properties of sulfated polysaccharids and a proteoglycan from *Codium Fragile, ssp Atlanticum* . *journal of applied phycology*, p339.

Jin W. Zhang Q. Wang J. Zhang W. (2012). A comparative study of anticoagulant effect of eleven fucoidans. *Carbohydrates polymers*. Pp1-6.

K

Kreis E. (2016). Etude de la voie de biosynthèse des phlorotannins chez les algues brunes, de la caractérisation biochimique d'enzyme recombinantes à l'étude des réponses ecophysiologiques. Thèse de doctorat en biologie, Université Pierre et Marie Curie , P136.

Koivikko R. Loponen J. Honkanen K et Jormalainen V. (2005). Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions. *Journal of Chemical Ecology*. **31** Suppl 1: 195-212.

Kandale A. Meena AK. Rao MM. Panda PP. Mangal AK. Reddy G. Babu R. (2010). Marine algae: An Introduction, Food value and Medicinal uses. *Journal of Pharmacy Research*. PP 219-221.

Kalasariya H S. Patel RV. Pandya KY. Jasrai RT. Brahmhat N H. (2016). A review on nutritional facets of seaweeds. *International Journal of Chemical Sciences and Technology*. pp 2455-3269.

Karaki N. Sebaaly C. Chahine N. Faour T. Zinchenko A, Rachid S. Kanaan H. (2013). The antioxidant and anticoagulant activities of polysaccharides isolated from the brown algae *Dictyopteris polypodioides* growing on the Lebanese coast. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Pp043-0.51.

Kılınç B. Cirik S. Turan G. Tekogul H. Koru E. (2013). Seaweeds for Food and Industrial Applications. *INTECH*. PP 736-748.

Kim SK. Wijeskara L. (2011). Anticoagulant effect of marine algae. *Advances in Food and Nutrition Research*. Pp236-242.

Kosanie. M. Ranković B T. Stonoković, (2014). Biological activities of two macroalgae from adriatic coast of mantenegro. *Saude journal of biological screen*. P 390.

Koivikko R. (2008). Brown algae phlorotannin improving and applying chemical methodes *Turum Yhopisto*. P61.

L

Liu M. Hansen PE. Ling X. (2011). Bromophenols in marine algae and their bioactivities. *Marine drugs*, pp 1273-1292.

Liu X. Lieu B. Wei XL. Sun ZL. Wang CY. (2016).Eextraction, Fractionation,and characterisation of fucoidans from the brown seaweeds *Sargassum pallidum*.*Food chemistry and safety*.Pp 406-413.

Lewis LA. Mc Court RM. (2004). Green algae and the origin of land plants. *American Journal of Botany* .PP 1535–1556.

M

Marfaing H. Sassi JF. Nyvall-Collen P. Helbert w. Vergnaux F. Vardon P. (2010). Procèdes enzymatique pour la preparation d'oligo-Rhamnoglycuronanes sulfates bioactifs à partir d'ulvane extrait d'algue verte. *A.N.R*, p195.

Manivannan K. Kartikaidevi G. Anantharaman P. Balasubramania T.(2011). Antimicrobial potential of selected brown, seaweeds from Vedalai coastal water, golf of mannar. *Elsevier*. p114.

Martinez JHI. Castoneda HGT (2013). Preparation and chromatographic analyses of phlorotannis. *Journal of chromatography science*, pp 825-838.

Mclellan DS. Jurd KM. (1992).Anticoagulants from marine algae. *Journal of applied phycology*.pp 69-77.

Mesnildrey L. Jacob C. Frangoudes K. Reunovot M. Lesueur M. (2013). Filière des macroalgues en France. *Rapport d'étude, Natalgae*, P17.

Menshova VR. Shevchenko NM.Imbs T. Zvyagintseva NT. Malyarenko OS. Zaporoshets T. Besednova NN. Ermakova SP.(2016). Fucoidan from brown algae fucus evanescens : structue and biological activity.*Frontiers in marine science*.Pp 1-9.

Misurcova L. Skrovankova S. Samek D. Ambrozova J. Machu L. (2012). Health benefits of algal polysaccharids in human nutrition. *Advances in food and nutrition research*, pp 75-145.

Mihoub H. Abbad A. Aradj H. (2016). The seasonal variations affective on the biochemical composition of some marine brown Macroalgae (Phaeophyceae) in Syrian waters. *Biological science*.Pp51-68.

Mourao PAS. Pereira MS. Pavao MSG. Mulloy B. Tollefsen DM. Mowinkel MC. Abildgaard U. (1996). Structure and anticoagulant activity of fucosylated chondroitin sulfate from echinoderme.the journal of biological Chemistry, pp23973-23984.

Mouecoucou J. (1992). Effet de l'ingestion des alginates ou du carraghénates de sodium associé a la farine de soja ou à la caseine sur la disponibilité des proteines et les lipides plasmatique du rat. Thèse de doctorat en biologie et biochimie structurale. Universite de nancy I. P132.

Muhammed I. Salman M,Kamal S. Rahman S.Aazzaiq R. Akash SH (2017).Algae based biological active compounds. Algae based polymers, Blends, and composites.p155.

Murti Y et Agrawal T. (2010). Marine derived pharmaceuticals development of natural health products from marine biodiversity. International Journal of Chem Tech Research. **2** Suppl **4**, 2198-2217.

N

Nonne C. (2007). Développement et caractérisation d'un modèle de thrombose artérielle mésentérique induite par un rayon laser et évaluation de nouvelles cibles antiplaquettaire. Thèse de doctorat en pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université Louis Pasteur Strasbourg I, P 223.

Nalamothu N. Potluri A. Muppalla MB. (2014). Review on marine alginates and its applications. Indo American Journal of Pharmaceutical Research.Pp4006-4015.

P

Padmanaban V. Prashant KP. Ranjith MV. Aswani T. Aswani MT.(2013). Comparative analysis of anticoagulant potential of marine algae.International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.Pp 334-337.

Palta S. Saroa R. Palta A. (2014). Overview of the coagulation system. Indian journal of anaesthesia, pp 515-523.

Patel S. (2012). Therapeutics importance of sulfated polysaccharides from seaweeds : updating the recents finding. Biotech 2, pp 171-185.

Pench L. (2015). Peut-on prendre le risque hémorragique par le biais d'un interrogatoire médical ?thèse de doctorat en chirurgie dentaire, Université Toulouse III, Faculté de chirurgie dentaire, p 111.

Pereira MS. Mulloy B. Mourao PA. (1999). Structur and anticoagulant activity of sulfated fucans : comparaison between the regular, repetitive and linear fucan from echinoderms with the more heterogenous and branched polymers from brown algae. Journal of Biological chemistry, pp 7657-7667.

Person J (2010). Livre turquoise: algue filière du future.Edition adebiotech.Romainville.Pp 50-160.

Pierce TB. Maruf MBA. Razzuk LA. Hoover SJ. (1999). A comprehensive review of the physiology of hemostasis and antithrombotic agents. BUMC, pp 3949.

Plaziat-Decoucel A. (2009). Les anticoagulants. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henry Poincaré – Nancy 1, Faculte de pharmacie, P 123.

Prajapati VD. Mahereriya PM. Jani GK. Soalnki HK. (2014). Carageenan : a natural seaweed polysaccharid and its applications. Carbohydrated polymers, pp297-303.

Pulsawat W. Tongmalee s.(2014). Synthesis and Anticoagulant activity of Sulfated alginate. KKU Res. J.Pp60-66.

Pushpamali WA. Nikapitiya C. De Zoysa M. Whang I. Kim SJ.Lee J.(2008).isolation and purification of an anticoagulant from fermented red seaweeds *Lomentaria catenata* . Carbohydrates polymers.Pp274-279.

Q

Qi X. Mao W. Chen Y. Chen y. Zhao C. Li N. Wang C. Yan M. Lin C. Chan J. (2012). Chemical characteristics of an anticoagulant active sulfated polysaccharide from *Enteromorpha clathrata*. Carbohydrate polymers, pp 1804- 1810.

R

Raber AN. (1990).Coagulation tests. Clinical methods, pp 739-742.

Radmer RJ. Parker BC. (1994).Commercial application of algae; opportunities and contraits .J.phycol. Pp 93-98.

Rahalivao MP.Gruner M. Andriamautoanina H. Andriamihaja M. Bawer I. Knolker H.J. (2015). Red algae (rhodophyta) from the cost of Madagascar:preliminary bioactivity studies and isolation of natural products. J.Marine Drugs. p4198.

Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition: Dunod. Paris.pp 173-201.

Rioux LE. Turgeon SL. (2015). Seaweeds carbohydrates. Seaweed sustainability, pp144-192.

Rioux LE. Turgeon SL. Beaulieu M. (2007). Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. Carbohydrate polymers, pp 530-537.

Rousseau A. (2013). La coagulation physiologie et pharmacologie.Universite Laval.p 117.

Ramdani1M. Elasri O. Saidi N. Elkhiaati Taybi FA. Mostareh M. Zaraali O. Haloui B. Ramdani M. (2017). Evaluation of antioxidant activity and total phenol content of *Gracilaria bursa-pastoris* harvested in Nador lagoon for an enhanced economic valorization. Chem. Biol. Technol. Agric. Pp 2-7.

Rodriguez JAG. Venderlei JAG. Bessa EF. Araujo Magalhaes F. Monteiro de paula RC. Vilma L. Borros benevides N. (2011). Anticoagulante activity of sulfated polysaccharide isolated from the grand seaweeds. *Braz Arch. Biol Technology*. p691.

Ronghua h. Yumin D. Jianhong Y. (2003). Preparation and in vitro anticoagulant activities of alginate sulfate and its quaterized derivatives. *Carbohydrates polymers*. Pp19-24.

S

Salvador N. Gomez Garetta A. Lavelli L. Kibera. M. (2007). Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina*, pp 101-113.

Sarojini Y. Lakshminarayana K. Sashagiri Rao P. (2012)G. Variation in distribution of flavonoids in some seaweeds of Visakhapatnam coast of india. *Scholar research library*, 1481-1484.

Farvin KH. Jacobsen C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from danish coast. *Food chemistry*. Pp1670-1681.

Se-Kwon K. Isuru W. (2010). Development and biological activities of marine derived bioactive peptides. *Journal of functional food*, pp 1-9.

Se-Kwon k. Vinay N. Li X. (2011). Anticancer compounds from marine macroalgae and their application as medicinal food. *Advances in food and nutrition*, pp213-224.

Shanmugam M. Mody KH. Ramavat BK. Sai Krishna Murthy. Siddhamta AK. (2001). Screening of codiaceae algae (chlorophyta) of the indian coast for blood anticoagulant activity. *Indian journal of marine sciences*, pp33-38.

Silva M. Vieira L. Almeida AP. Kijjoa A. (2013). The marine macroalgae of the genus *Ulva* : Chemistry, biological activities and potential applications. *Journal of oceanography and marine research*, pp 2-6.

Skerget M. Kotnik P. Hadolin M et al (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.

Splingart D. (2013). Le règne végétale. pp. 1-26.

Suspita M. (2017). Extraction assistée par enzyme de phlorotannins provenant d'algues brunes du genre *Sargassum* et les activités biologiques. Thèse de doctorat en science de la mer, Université Bretagne Sud, P310.

Sarojini Y. Sujatha B. Santha Rao P. (2017). The variation in distribution of total phenols and antioxidant activity in five species of marine macro algae. *Scholar research library*. Pp 30-37.

Sebaaly C. Karaki N. Chahine N. Evidente A. Yassine A. Habib J. Kanaan h. (2012). Polysaccharids of the red algae *Pterocladia* growing on the Lebanese coast: isolation, structural features with antioxidant and anticoagulant activity. Journal of pharmaceutical science. Pp 01-10.

Son DJ. Cho MR. Jin YR. Kim SY. Park YH. Lee SH. Akiba S. Sato T. Yun YP. (2004). Antiplatelet effect of green tea catechins: a possible mechanism through arachidonic acid pathway. Us national of library medicine. Pp25-31.

SO-kuan. K.(2011). Advances in food and nutrition research. Marine medicinal food implication and application macroalgae and microalgae. p03.

T

Tabart J. (2011). Optimisation et caractérisation d'un extrait de cassis riche en antioxydant utilisable comme complément alimentaire et étude des effets sur la vasorelaxation dépendante de l'endothélium. Thèse de Doctorat en Sciences Biochimie, Biochimie moléculaire et cellulaire, Bioinformatique et modélisation, Université de Liège, Faculté des sciences, p64.

Targell NN. Arnold TM. (1998). Predicting the effect of brown algal phlorotannins of marine herbivores in tropical and temperate oceans. J. Phycol., pp1995-205.

Tenerio-Rodriguez PA. Murillo-Alvarez JJ. Campa-Cordova AI. (2017). Antioxidant screening and phenolic of ethanol extracts of selected Baja California Peninsula macroalgae. J Food Sci Technol. Pp422-429.

Tomsone L. Kruma Z. Globurda R. comparison of different solvents and extraction methods for isolation of phenolic compounds from Horseradish Roots (*Armoracia rusticana*). World academy of science, Engineering and technology. Pp236-241.

V

Vincent E. (2010). Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie : application à la construction d'un biomatériau. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henri Poincaré-Nancy 1. p 135.

Vizetto-Duarte C. Custódio L. Acosta G. Lago JHG. Morais RT. Bruno de Sousa C. Gangadhar KN. Rodrigues MJ. Pereira H., Lima R. Vasconcelos MH. Barreira L. Rauter A. Albericio F. Varela J. (2016). Can macroalgae provide promising anti-tumoral compounds? A closer look at *Cystoseira tamariscifolia* as a source for antioxidant and anti-hepatocarcinoma compounds. PeerJ. Pp1-24.

Vimala T. Poonghuzhali. TV. (2014). Estimation of Pigments from Seaweeds by Using Acetone and DMSO. IJSR. Pp2319-7064.

W

Wehr JD. (2003). Brown algae. Academic press.pp 765-773.

Werner T.(2013). Presence of phenolic compounds in acetone extract from saccharina Latissima and their antibacterial and ferrous ion-chelating activities. Chalmers. Pp1-27.

Williams PA. Phillips GO. (2003).Gums properties of individual gums. Encyclopedie of food science and nutrition.Pp 2992-3001.

Z

Zitouni H. (2015).Valorisations nutritionnelle d'algues marine du littoral algérien chez les ruminant via des méthodes chimiques, Biologiques et moléculaire. p08.

Zodape ST. (2001). Seaweeds as a biofertilizer.Journal of scientific and industrial research. PP 378-382.

Zhang Z. Till S. Jiang1 G. Knappe S. Reutterer S. Szabo CM. Dockal M. (2013). Structure-activity relationship of the pro- and anticoagulant effects of Fucus vesiculosus fucoidan. Blood Coagulation, Fibrinolysis and Cellular Haemostasis.Pp 429-437.

Zhang Z. Till S. Jiang1 G. Knappe S. Reutterer S. Szabo CM. Dockal M. (2015). Screening of complexe fucoidan from four brown algae species as procoagulant agent. Carbohydrate polymers. Pp 677-695.

Annexes

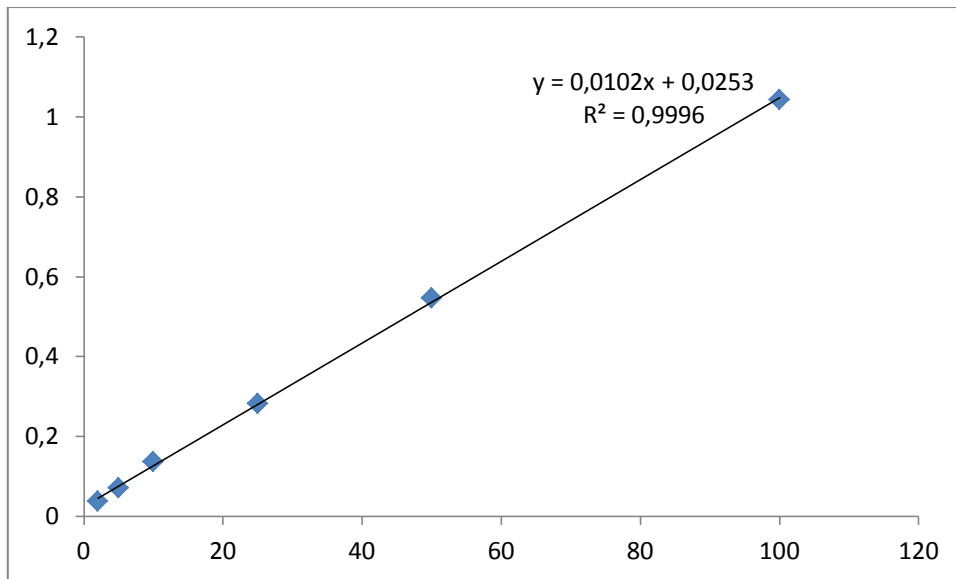
Annexes 1 : Courbes d'étalonnages

Figure 1: Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques.

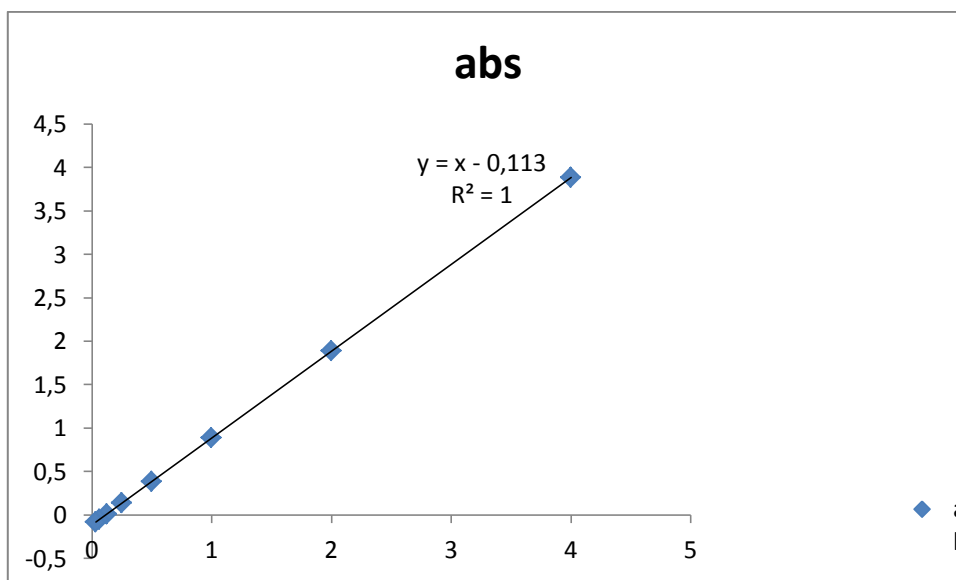


Figure 2: Courbe d'étalonnage pour le dosage sucres.

Annexes 2 : Préparation des réactifs

Réactif TP: Prendre un flacon de TP et ajouter 4ml du tampon de reconstitution prêt à l'emploi et bien mélangé.

Réactif TCK: Prendre un flacon TCK et ajouter 3ml d'eau distillée stérile et bien mélanger.

Pool de plasma: Un mélange de différents plasmas normaux à quantité égale.

Résumé

L'objectif du présent travail est d'évaluer l'activité anticoagulante de cinq algues marines: *Halopteris scoparia*, *Padina pavanica*, *Cystoseira humilis*, *Sargassum vulgare* et *Rhodomella confervoides* de la cote de Béjaïa. L'extraction des composés phénoliques par l'éthanol donne des teneurs plus élevées pour les espèces *Cystoseira humilis*, *Halopteris scoparia*, *Padina pavanica* et *Rhodomella confervoides* (8.55 ± 0.29 , 7.84 ± 0.47 , 6.41 ± 0.14 et 4.16 ± 0.04 mg Eq Cat/g de Ps, respectivement), tout le contraire de *Sargassum vulgare* où l'extraction des composés phénoliques par l'acétone (3.04 ± 0.071 mg Eq Cat/g de Ps) donne des teneurs plus élevées que l'éthanol (2.19 ± 0.14 mg Eq Cat/g de Ps). Le dosage des sucres a montré que les extraits acétoniques des cinq algues étaient les plus riches en sucres, ce taux baisse de plus en plus dans l'extrait éthanolique et les fractions A et B. Une activité anticoagulante a été observée surtout avec le test TCK qu'avec le test TP. L'algue rouge *Rhodomella confervoides* a montré une activité anticoagulante remarquable dans l'extrait éthanolique et les fractions A, B et C avec des prolongements allant jusqu'à 407.97 ± 58.12 s avec la fraction C à 10mg/ml. Une meilleure activité anticoagulante a été observée avec les fractions C dans toutes les algues brunes. Une activité pro coagulante a été observée dans les fractions A et B chez *Cystoseira humilis* et *Sargassum vulgare* ainsi que l'extrait B de *Padina pavanica* avec un temps non déterminé à 10mg/ml.

Mots clés: Activité anticoagulante, Algues marines, TCK, TP, Polysaccharides sulfatés, Composés phénoliques.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the anticoagulant activity of five seaweeds from Bejaia's seacoast: *Halopteris scoparia*, *Padina pavanica*, *Cystoseira humilis*, *Sargassum vulgare* et *Rhodomella confervoides*. Regarding *Cystoseira humilis*, *Halopteris scoparia*, *Padina pavanica* et *Rhodomella confervoides*, the extraction of phenolic compounds using ethanol resulted in higher contents (8.55 ± 0.29 , 7.84 ± 0.47 , 6.41 ± 0.14 et 4.16 ± 0.04 mg Eq Cat/g de Ps, respectively,) whereas for *Sargassum vulgare*, the extraction of phenolic compounds using Acetone (3.04 ± 0.071 mg Eq Cat/g de Ps) resulted in higher contents than ethanol (2.19 ± 0.14 mg Eq Cat/g de Ps). The determination of sugar showed that the acetonic extract of the five seaweeds was the richest in sugar, this rate increasingly dropped in the ethanolic extract and the fractions A, B. An anticoagulant activity was mainly observed using TCK. The red algae *Rhodomella confervoides* showed a significant anticoagulant activity in the ethanolic extract and the fractions A, B, C, with extensions up to 407.97 ± 58.12 s in the fraction C, at a concentration of 10mg/ml. A better anticoagulant activity was observed in the fractions A, B, C of all the brown seaweeds. A pro-coagulant activity was observed in the fractions A, B of *Cystoseira humilis* and *Sargassum vulgare* as well as the fraction B of *Padina pavanica*, with an indefinite period, at a concentration of 10mg/ml.

Key words: Anticoagulant activity, Seaweeds, TCK, TP, Sulfated polysaccharides, Phenolic Compounds.