

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia

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 de Master

Thème

**Etude de la cytotoxicité d'une algue marine en vue de l'exploitation de ses
différentes bioactivités**

Réalisés par :

Melle. BOUSSAID Kenza

Melle. BOUZELMAT Hanane

Soutenue le : 14 juillet 2022

Devant le Jury composé de :

Mme CHIBANE Nouara

MCB

Présidente

Mme IDRES KERAMANE Badria

MCB

Promotrice

Mme MERDJANE LAINCER Firdousse MCA

Examinatrice

2021/2022

Remerciement



Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail

Au terme de mon travail

On tient à remercier notre promotrice Mme IDRES-KERAMANE. B, pour son encadrement très appréciés, pour la confiance qu'elle nous a témoignée, pour sa disponibilité et ses encouragements qui nous ont permis de mener a bien cette étude.

On tient à exprimer nos gratitudes, nos profonds respects et nos remerciements aux membres de jury: M^{me} Chiban. N qui m'a fait honneur par sa présence en qualité de présidente de jury, M^{me} Lainer. F, qui a acceptée de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail et consacré du temps à son évaluation.

Toutes nos expressions de respect et de gratitude à M^{elle} Bouaoud. Y, M^{me} Souagui. S et M^{me} Djini. I, pour leurs aides.

Nos vifs remerciements s'adressent aux ingénieurs de laboratoire du bloc 12 Lydia et Souhila, à la secrétaire de notre département de Microbiologie Sonia, pour leurs disponibilités et leurs gentilleses, principalement à tous l'effectif du service de la transfusion sanguine.





Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

A ceux qui donnent sans recevoir, se brûlent pour que leur fille voie la lumière du savoir, à ceux qui ont été toujours la source d'inspiration et de courage, à ceux qui tous les mots du monde ne suffisent pas pour leurs montrer mon amour ; à mes très chers parents, les prunelles de mes yeux,

A mes chers frères : Abdelghani, Abdnour.

A mes chères sœurs : Nadira, Lamia, Kahina.

A ma chère sœur : Hassiba et ses enfants : Fairouz, Yousra, Mourjan et Youcef.

A ma chère sœur : Khokha et ses enfants : Kamilia, Sana et Ziad.

A ma chère sœur : Naima et ses filles : Thiziri et Warda.

A ma chère sœur : Malika et ses enfants : Céline et Adem.

A tous mes amis qui m'ont accompagné durant toutes mes années d'étude et que dieu les protègent : Lydia, Yanis, Mélina, Sofiane, Zohra, Mounir, Moussa et bien sur ma binôme Kenza.

A tous ceux qui me sont chers.



Hanane



Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

À ceux qui donnent sans recevoir, se brûlent pour que leur fille voie la lumière du savoir, à ceux qui ont été toujours la source d'inspiration et de courage, à ceux qui tous les mots du monde ne suffisent pas pour leurs montrer mon amour ; à mes très

chers parents, les prunelles de mes yeux,

À mes chers frères : WASSIM, HAKIM et NABIL.

À mes chères sœurs : CHANEZ et KAMILIA.

À ma grande mère TAKLIT qui a tant sacrifiée pour mon bien être.

À tout mes amis que j'ai connues durant mes études : LYDIA, MELINA,

WAHIBA, YANIS, SOFIANE, MOUNIR, MOUSSA, ZOËRA et

Ma binôme HANANE.

Kenza

Liste des abréviations

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

O₂[°] : Radical superoxyde.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATCC : American Type Culture Collection.

DPPH : Radical diphényl picryl-hydrazyl.

EC50 : Concentration efficace d'inhibition 50 de radicale du DPPH.

H3PW12O40 : Acide phosphotungstique.

H3PMO12O40 : Acide phosphomolybdique.

W8023 : Tungstène.

Mo8023 : Molybdène.

PT : Polyphénols totaux.

D.O : Densité optique.

Mg EAG/g extrait : Milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

TCK : Temps de Cephaline Kaolin.

TP : Taux de prothrombine.

TCA : Temps de Cephaline Active.

DMBA : Diméthoxybenzaldéhyde.

PC : Composés phénoliques.

m/v : masse/volume.

v/v : volume/volume.

Mg d'EAT /g d'extrait : Milligramme équivalent acide tannique par gramme d'extrait.

SOD : Superoxyde dismutase.

PBS : Phosphate buffered saline, tampon phosphate salin.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

SARM: Staphylococcus aureus résistant à la méthiciline.

INCT: Institut national de cartographie et de télédétection.

Liste des figures

Figure 1 : appareil végétatif des algues marines.....	1
Figure 2 : Répartition des divers groupes d'algues eucaryotes, au sens large, dans l'arbre phylogénétique.....	2
Figure 3 : (A) <i>Taonia atomaria</i> , (B) <i>Laminaria digitata</i> , (C) <i>Fucus vesiculosus</i>	3
Figure 4 : Schéma de la paroi cellulaire d'une algue (brune).....	4
Figure 5 : Structure d'alginate.....	5
Figure 6 : Structure chimique des laminarines.....	5
Figure 7 : Structure idéalisée des unités chimiques du fucoïdane.....	6
Figure 8 : Structures chimiques (A) du phloroglucinol, (B) de 7-hydroxyeckol, (C) du phloroglucinol Dimère C–O–C.....	6
Figure 9 : Structure de stérol.....	7
Figure 10 : Structure chimique de la fucoxanthine.....	8
Figure 11 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides.....	9
Figure 12 : (A) photographie de la station de récolte (Boulimate Baxter, Bejaia) ; (B) Cartographie de la station de récolte.....	13
Figure 13 : photographie de <i>Padina pavonica</i>	14

Figure 14 : Extraction des polysaccharides.....	16
Figure 15 : image représentatif de la réduction du DPPH.....	18
Figure 16 : Photographie de DIAGNOSTICA STAGO.....	20
Figure 17 : Protocole d'étude de l'effet hémolytique.....	21
Figure 18 : Photographies de quelques zones d'inhibition obtenues par l'extrait éthanolique : le solvant contre <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>SARM</i> (G); extrait 50mg/ml et 10mg/ml, acide gallique, acide tannique, antibiotique, fraction A, fraction B, fraction C, contre <i>E. coli</i> (A et B), <i>S. aureus</i> (C et D) et <i>SARM</i> (E et F).....	31
Figure 19 : Photographie de la microplaque illustrant la CMI d'extrait éthanolique de l'espèce <i>Padina pavonica</i> vis-à-vis <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> et <i>SARM</i> , Témoin positif(T +) et Témoins négatif (T -).....	31
Figure 20 : Taux de prothrombine d'extraits éthanolique.....	33
Figure 21 : Temps de cephaline kaolin d'extraits éthanolique.....	34
Figure 22 : Taux de prothrombine de la fraction A.....	35
Figure 23 : Temps de cephaline kaolin des fractions A.....	36
Figure 24 : Taux de prothrombine de la fraction B.....	37
Figure 25 : Temps de cephaline kaolin de la fraction B.....	37
Figure 26 : Temps de cephaline kaolin de la fraction C.....	38
Figure 27 : Temps de cephaline kaolin de la fraction C.....	39
Figure 28 : Effet hémolytique de l'extrait éthanolique.....	41
Figure 29 : Effet hémolytique des polysaccharides sulfatés.....	42

Liste des tableaux

Tableau I : Classification de l'algue *Padina pavonica*.....15

Tableau II : Activité antibactérienne des extraits éthanolique de *Padina pavonica*.....29



Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

I.Généralité sur les algues.....	1
I.1.Définition.....	1
I.2.Classification.....	2
II. Les algues brunes.....	2
II.1.Définition.....	2
II.2. Principaux composants bioactifs des algues brunes.....	3
II.2.1. Les polysaccharides.....	3
II.2.2. Phlorotannins.....	6
II.2.3. Fucostérol.....	7
II.2.4. Acides gras.....	7
II.2.5.Caroténoïdes.....	7
II.2.6. Lectines.....	8
II.3. Activités biologiques des algues.....	10
II.3.1. Activités antioxydante.....	10
II.3.2. Activité antimicrobienne.....	11
II.3.3.Activités anticoagulante.....	11
II.3.4. Activités cytotoxiques.....	12

Matériels et Méthodes

I. Matériel végétal

I.1. Echantillonnage.....	13
I.2. Traitement des échantillons.....	13
I.4. Présentation de l'espèce <i>Padina pavonica</i> (PADINE QUEUE DE PAON).....	14

II. Méthode

II.1. Extraction des composés bioactifs.....	15
II.1.1. Extraction par macération de la fraction phénolique.....	15
II.1.2. Taux d'extraction.....	15
II.1.3. Extraction des polysaccharides.....	15
II.1.4. Dosage des composés phénoliques	16
II.1.5. Dosage des phlorotannins : test du DMBA.....	17
II.1.6. Evaluation des activités biologiques des différents extraits d'algues.....	18
II.1.6.1. Activité antioxydante : test de piégeage du radical libre DPPH.....	18
II.1.6.2. Activité anticoagulante.....	19
II.1.6.3. Test de cytotoxicité.....	21
II.1.6.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'algues.....	22
II.1.7. Etude statistique	24

Résultats et discussions

Résultats et discussions

I. Taux d'extraction des composés phénoliques.....	25
II. Analyses effectuées sur l'extrait.....	26

Π.1. Dosage des polyphénols totaux.....	26
Π.2. Dosage des phlorotannins.....	27
Π.2. Evaluation de l'activité antioxydante : détermination de l'EC50.....	28
Π.3. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	29
Π.3.1. Test de diffusion sur milieux solide.....	29
Π. 3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB)	32
Π.4. Evaluation de l'activité anticoagulante.....	33
Π.4. Evaluation de la cytotoxicité.....	40
Conclusion.....	44

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

Les mers et les océans sont l'habitat naturel de nombreux végétaux, animaux et micro-organismes, ils couvrent plus de 70 % de la surface de la Terre (Horincar et al., 2014), ils abritent des organismes marins riches en composés doués d'activités biologiques (El-Gamal, 2010). 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), l'ensemble des algues compte entre 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, ce qui correspond à environ 18 % du règne végétal (Burlot, 2017).

Les chercheurs confirment que la classe la plus rentable et efficace des algues marines est celle des algues brunes (Phaeophyta) (Kelman et al., 2012). Parmi les ingrédients fonctionnels liés aux algues, les métabolites primaires et secondaires ont été décrits comme responsables de diverses activités. Pour le premier type, les polysaccharides, principalement sulfatés (Usovet Zelinsky, 2013) et les lipides comme les acides gras polyinsaturés (AGPI) (Belattmania et al., 2018) ont été associés à des bioactivités potentielles. En ce qui concerne les métabolites secondaires, les caroténoïdes tels que la fucoxanthine, ont récemment suscité un vif intérêt pour leurs propriétés multifonctionnelles ainsi que les composés phénoliques en particulier les phlorotannins, un groupe de composés que l'on ne trouve que dans les algues brunes (Jacobsen et al., 2019).

La recherche sur les substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années, les chercheurs se tournent de plus en plus vers l'identification et la caractérisation de molécules issues de matrices naturelles (Fiorucci, 2006) pour remédier à la réalité actuelle, d'une part le stress oxydatif engendré par les conditions de vie moderne dont des facteurs climatiques, la surcharge de l'atmosphère par des polluants nocifs, l'effet cumulatif des différentes substances chimiques que l'on consomme régulièrement (Carocho et al., 2014), d'autre part l'émergence de microorganismes résistants aux antibiotiques résultats de l'utilisation excessive et inconsciente d'antibiotiques (Allmendinger et al., 2010; Horincar et al., 2014; Taskin et al., 2010) et plus particulièrement depuis la COVID 19. En outre, des sensibilités à de nouveaux allergènes apparaissent notamment pour les médicaments chimiques comme l'héparine, dont beaucoup d'effets secondaires sont induits (thrombopénie, hémorragie...) (Faller, 2011).

Padina pavonica, a été rapporté comme ayant des activités antioxydantes, antibactériennes, antitumorales et anti-inflammatoires (Hellio et al., 2004; Taskin et al., 2010; Boisvert et al., 2015; Abdelhamid et al., 2018; Al-Enazi et al., 2018; Otero et al., 2018; Campos et al., 2019; Güner et al., 2019). De nombreuses publications attestent du potentiel des polysaccharides sulfatés extraits de macroalgues en termes d'activité anticoagulante. En effet, leur structure et en particulier la présence des groupements sulfates, leur permet de posséder des propriétés héparino-mimétiques (Richard, 2016).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier l'activité anticoagulante, antioxydante, antibactérienne et cytotoxique d'une algue brune *Padina pavonica*.

Notre travail a été divisé en deux chapitres dans lesquelles le premier se consacre à la synthèse bibliographique qui regroupe les informations essentielles sur les algues plus particulièrement les algues brunes, notamment l'éventail d'activités qu'elles renferment.

Le deuxième chapitre de notre étude, illustre dans un premier temps le matériel biologique et les méthodes de travail suivies et dans un second temps l'expression des résultats obtenus ainsi que leur discussion.

L'étude est achevée par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et les éventuelles perspectives d'avenir.

I. Généralité sur les algues

I.1. Définition

Les algues ont souvent été définies par défaut comme étant des organismes vivants autotrophes, photosynthétiques très abondants. Présents principalement dans les milieux aquatiques marins ou d'eau douce, allant jusqu'à 180 mètres de profondeur (Anantharaman et Kannan, 2008; Manneville, 2009; Adaikaraj et al., 2012), d'autres au contraire supportent dans les eaux des sources thermales des températures élevées (algues thermophiles) (Kornprobst, 2005). Elles sont également présentes sur le milieu terrestre (Burlot, 2016).

Ses organismes peuvent être libres ou fixées sur un support, possédant des crampons qui permettent cette fixation. Leurs tailles varient de quelques micromètres à plusieurs mètres, on distingue donc les macros et les micros algues (Leclerc et Floc'h. 2010; Garon-Lardiere, 2004). Elles ne possèdent pas de véritables tiges, racines, feuilles ni tissus conducteurs mais un thalle (Figure 1) qui est un appareil végétatif de structure simple. Elles se nourrissent à travers un processus d'osmose (Gupta et Abu-Ghannam 2011).

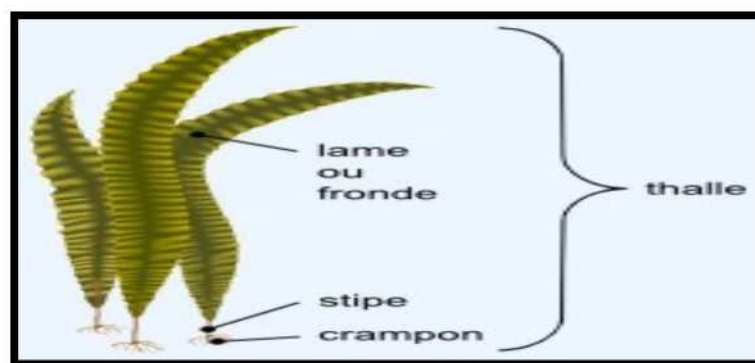


Figure 1: Appareil végétatif des algues marines

Les algues ne constituent pas un ensemble homogène dans le monde végétal mais se répartissent en plusieurs lignées qui ont évolué indépendamment les unes des autres (Payri et al., 2000). La nature et la localisation des pigments permettent de définir plusieurs grands groupes d'algues (Pierre, 2010). Les macroalgues marines sont divisées en trois grands groupes Rhodophytae (algues rouges), Chlorophytae (algues vertes) et Phaeophytae (algues brunes). Les algues sont considérées comme une source de composés bioactifs car elles sont

capables de produire une grande variété de métabolites secondaires (Sakthivel et al., 2019), dont tout une gamme d'activités biologiques leur a été attribuée. (Abu-Ghannam et Rajauria, 2013).

I.2. Classification

La classification des algues peut paraître sans ambiguïté, cependant il n'est pas toujours possible de se fier à sa seule couleur pour positionner une espèce donnée car cette caractéristique varie avec le nombre et le type des pigments comme avec la structure des tissus (Mouritsen, 2012). (Figure 2).

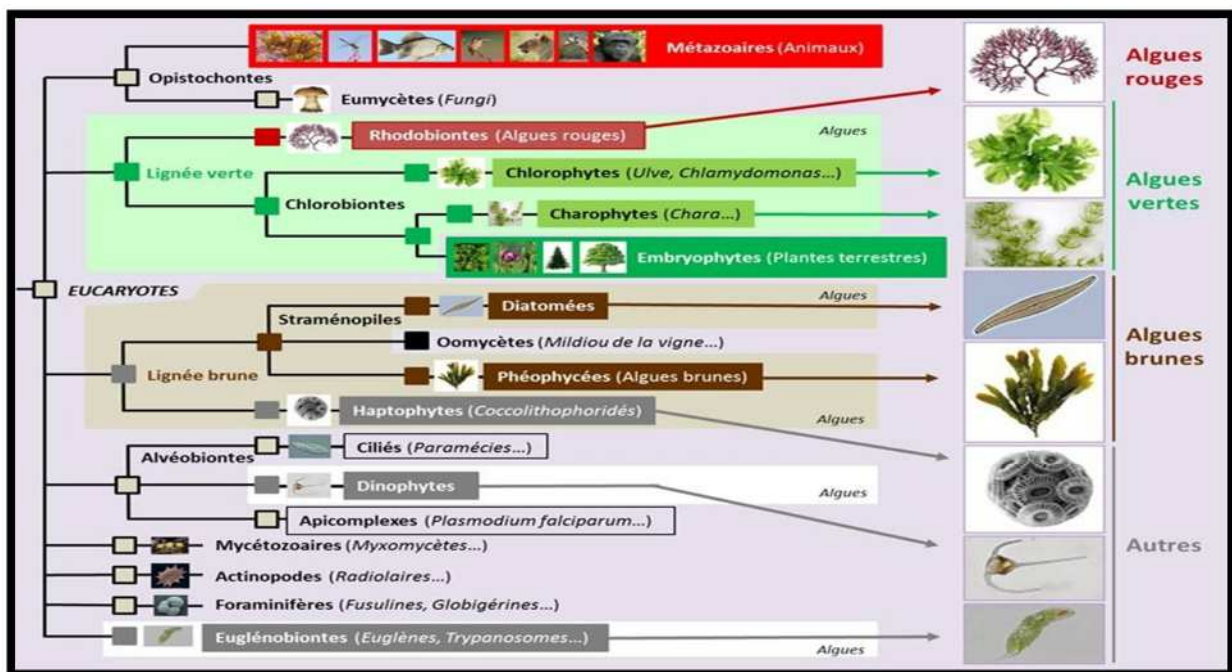


Figure 2 : Répartition des divers groupes d'algues eucaryotes, au sens large, dans l'arbre phylogénétique (Encyclopédie de l'environnement, 2022).

II. Les algues brunes

II.1. Définition

Les grandes algues brunes (Phaeophyceae) sont des espèces structurantes des communautés benthiques marines (Oppliger, 2015) du point de vue phylogénétique, les algues brunes (Figure 3) appartiennent au phylum des Hétérokontes, (Othmani, 2014) qui sont généralement de structure pluricellulaire et de dimensions très variables (Pérez, 1997), dotées d'appareil végétatif souvent complexe (Ozenda, 2000). Jusqu'à présent aucun membre

unicellulaire de ce groupe n'a été trouvé (Rana et al., 2021). Ces algues sont surtout retrouvées au niveau des côtes rocheuses à faible profondeur (Garon-Lardiere, 2004), elles sont composées d'environ 2 000 espèces (Josiane, 2019).

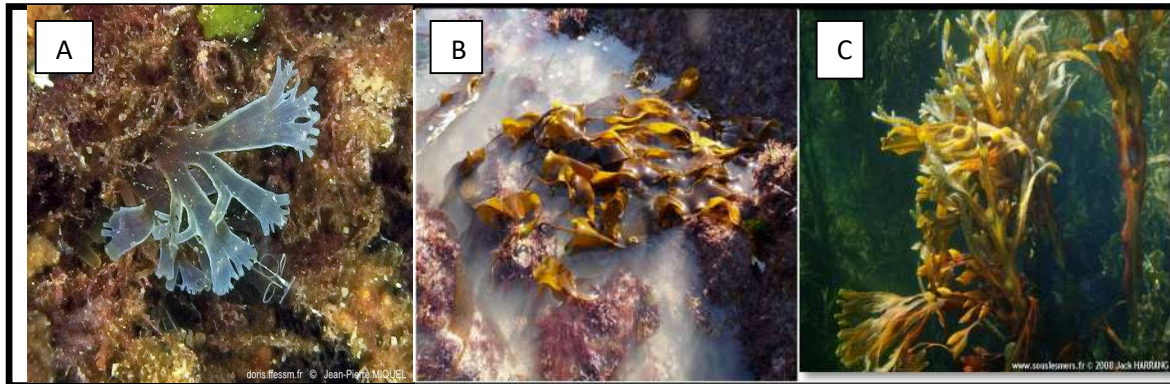


Figure 3 : (A) *Taonia atomaria* (Agardh, 2021), (B) *Laminaria digitata*, (Pelot, 2012), (C) *Fucus vesiculosus* (Harrang, 2008).

La couleur brune ou olivâtre résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine (Garon-Lardiere, 2004) qui masque les autres pigments (chlorophylles a et c ainsi que le β -carotène) (Lakhdar, 2018). Différentes classes de substances peuvent avoir des effets anti-inflammatoires (Campos et al., 2018), de plus, c'est un aliment hautement durable riche en fibres (Ni et al., 2021).

II.2. Principaux composants bioactifs des algues brunes

Les phéophycées contiennent des composés actifs tels que des caroténoïdes, des polyphénols qui sont divisés en plusieurs classes dont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stilbènes, les lignanes, les triterpènes, les saponines (Monteiro et al., 2019) les tanins et les phlorotannins (Rosa et al., 2020) dotées de diverses bioactivités leur conférant un grand potentiel (Trilaksana et al., 2020). Certains composés phénoliques font partie intégrante de la structure des parois cellulaires des algues brunes (Akremi et al., 2017).

II.2.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides d'origine marine sont composés de résidus glycosidiques, pouvant être liés de façon covalente à des substituants organiques ou inorganiques, constituent une catégorie de polymères très hétérogène (Pierre, 2010). La figure 4 présente la paroi des algues brunes, au sein de laquelle s'organisent les polysaccharides fibrillaires et les polysaccharides

matriciaux (Pierre, 2010). Les principaux composants de polysaccharides des algues brunes sont (les alginates, le fucoïdane et les laminaranes) (Gómez-Ordóñez et al., 2012). Ils ont plusieurs propriétés importantes, telles que anticoagulante, antitumorale, anticancéreuse, antimicrobienne, anti-inflammatoire et antioxydante, ces propriétés sont principalement dues à leur structure et à leurs caractéristiques physico-chimiques (Jacobsen et al., 2019).

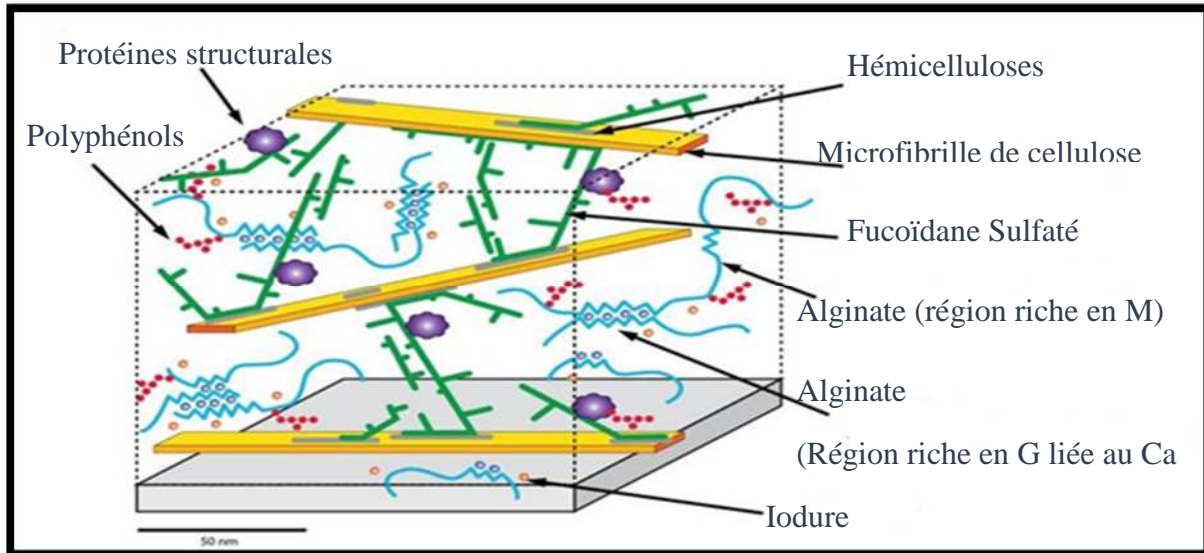


Figure 4: Schéma de la paroi cellulaire d'une algue brune (Gurvan et al., 2016).

Les polysaccharides sulfatés (PS) sont qualifiés les plus souvent de polysaccharides matriciels. Ce sont des hydrocolloïdes de structures très complexes (Chouana, 2017), dont les principaux trouvés dans les algues brunes comprennent le fucoïdane et les laminaranes (Jacobsen et al., 2019), qui produisent des polysaccharides sulfatés (PS) capables d'inhiber la croissance tumorale (Assef et al., 2021). Possédant une excellente activité antioxydante in vitro, notamment une capacité de piégeage des radicaux libres et une capacité de chélation des métaux (Jacobsen et al., 2019).

II.2.1.a. Alginates

L'alginate (Figure 5), également appelé algine qui est le sel de l'acide alginique, un polyuronide gélifiant (Gómez-Ordóñez et al., 2012), qui représentent le mucilage matriciel majeur des algues brunes, ils sont composés de deux unités monosaccharidiques, à savoir l'acide β -D-mannuronique et l'acide α -L-guluronique (Pierre, 2010). L'alginate de sodium

obtenu à partir d'algues brunes a montré des propriétés antitumorales et anti-inflammatoires (Barzkar et al., 2019).

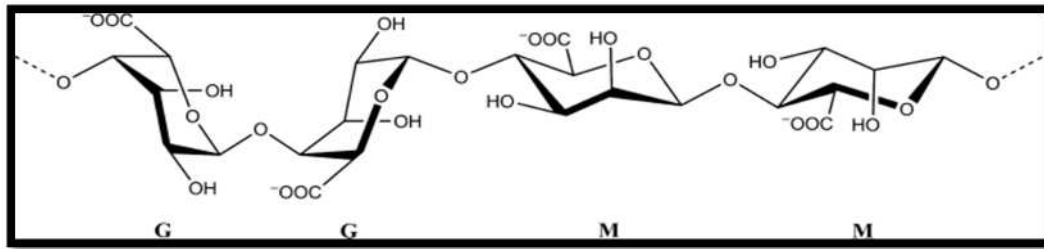


Figure 5: Structure d'alginate (Godek et Grządka, 2019)

II.2.1.b. Laminarine

La laminarine (Figure 6) est un polysaccharide soluble dans l'eau (Barzkar et al., 2019), c'est le principal polysaccharide de réserve des algues brunes (Gómez-Ordóñez et al., 2012), qui a une forte activité de type héparine, par conséquent possède un potentiel comme agent anticoagulant, antilipémique, antiviral ou anti-inflammatoire (Barzkar et al., 2019).

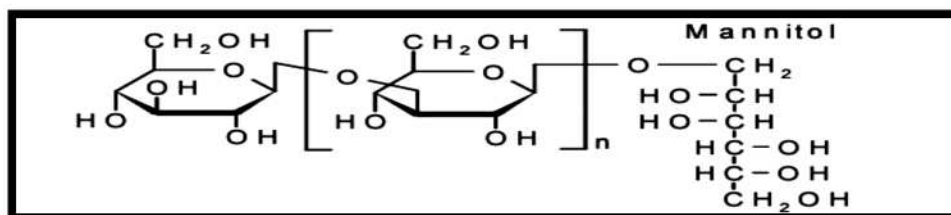


Figure 6 : Structure chimique des laminarines (Ruiz, 2005).

II.2.1.c. Fucoïdanes

Les fucoïdanes sont des polysaccharides sulfatés présents dans les parois cellulaires des algues brunes (Balboa et al., 2013), composés majoritairement de résidus L-fucoses liés en α -(1→3) ou en α -(1→4) (Chouana, 2017) (Figure 7), qui présentent une gamme d'activités biologiques, notamment des propriétés immunomodulatrices, anticoagulantes, anticancéreuses, radioprotectrices et antivirales (Assef et al., 2021).

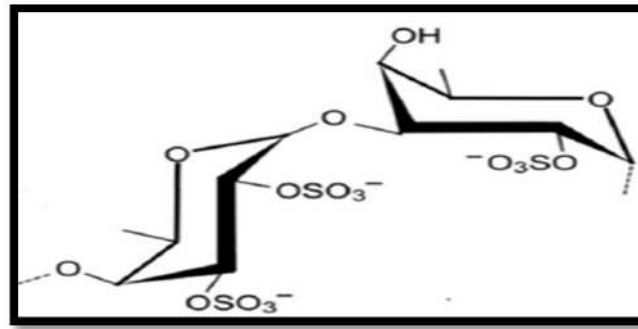


Figure 7 : Structure des unités chimiques du fucoïdane (Pacheco et al., 2020)

II.2.2. Phlorotannins

Les phlorotannins sont des composés phénoliques produits exclusivement par les algues brunes (Cotas et al., 2020), ce sont un type de tannin (Akremi et al., 2017), considérés comme l'un des polyphénols les plus répandus des produits naturels végétaux (Lopes et al., 2012), structurellement elles sont des oligomères et polymères de 1,3,5-trihydroxybenzène (phloroglucinol) (Figure 8) (Tanniou et al., 2013). De plus, ce sont des composants hautement hydrophiles avec une large gamme de tailles moléculaires (126-650 kDa) tels que diphloréthol, hydroxytrifuhalol, difucol, trifucol, tétrafucol A, tétrafucol B, fucophloréthol, fucodiphloréthol, fucotriphloréthol A, fucophloréthol E, trifucodiphloréthol A, trifucotriphloréthol A, 7-hydroxyeckol; et phloroglucinol Dimère C–O–C (Marcelo et al., 2017). Elles sont reconnues pour leurs activités biologiques telles que antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et antioxydantes (Lopes et al., 2012).

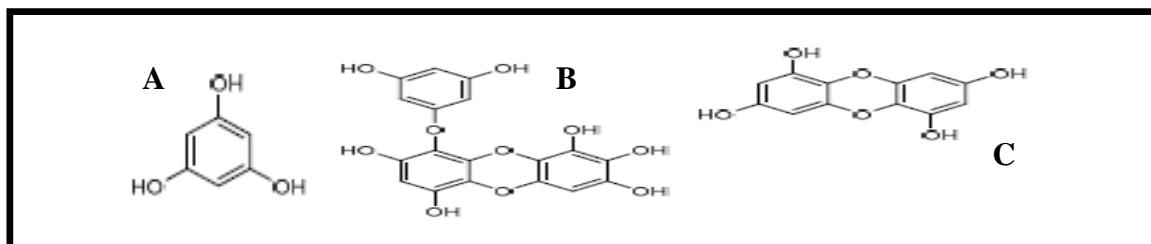


Figure 8 : Structures chimiques (A) du phloroglucinol, (B) de 7-hydroxyeckol, (C) du phloroglucinol Dimère C–O–C (Marcelo et al., 2017).

II.2.3. Fucostérol

Les lipides algaux sont des sources de stérols particulières, conférant une caractéristique intéressante aux algues brunes (Oucif, 2018). Les stérols sont des constituants lipidiques des membranes cellulaires (Figure 9), qui régulent la fluidité et la perméabilité membranaire, ces phytostérols ont des effets bénéfiques sur la santé, ils exercent des effets antihypercholestérolémiant, antioxydants, antitumoraux, antidiabétiques, antihypertenseurs et anti-inflammatoires (Josiane, 2019). Le fucostérol est le stérol le plus abondant dans les algues brunes (Salehi *et al.*, 2019).

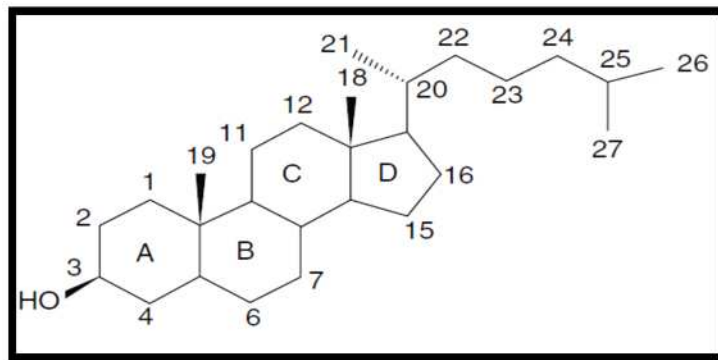


Figure 9 : Structure du fucostérol (Josiane, 2019).

II.2.4. Acides gras

Les macroalgues marines sont riches en acides gras polyinsaturés (Josiane, 2019), particulièrement oméga 3 et oméga 6 qui jouent un rôle important dans la prévention des maladies cardio-vasculaires, l'arthrose et le diabète (Zehlila, 2017). Ces derniers sont le constituant essentiel des algues, ces dernières années, les propriétés antimicrobiennes des acides gras des algues brunes ont été rapportées (El Shoubaky et Salem, 2014).

II.2.5. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont une famille de pigments naturels largement présents dans les algues, principalement dans les algues brunes (Cotas *et al.*, 2020), elles se caractérisent par une structure chimique complexe, et confèrent une couleur jaune-rougeâtre aux algues (Zehlila, 2017). De nombreuses algues brunes ainsi que certaines microalgues sont connues pour posséder de la fucoxanthine comme principal caroténoïde et contribue à près de 10 %

des caroténoïdes totaux trouvés dans la nature (Rajauria et al., 2017). La fucoxanthine a une structure moléculaire unique (Figure 10) comprenant une liaison allénique inhabituelle, un 5,6-monoépoxyde et 9 doubles liaisons conjuguées (Zhang et al., 2015), ce pigment appartient au groupe des xanthophylles et a montré une puissante activité antioxydante (Rodríguez-Bernaldo de Quiros et al., 2010).

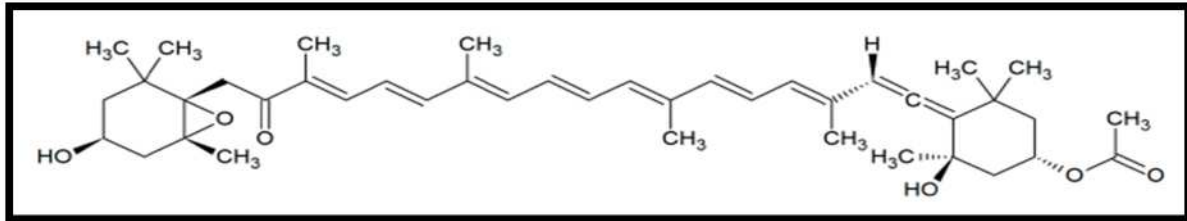


Figure 10 : Structure chimique de la fucoxanthine (Karpinski et Adamczak, 2019).

II.2.6. Lectines

Les lectines sont des protéines de liaison aux glucides (Figure 11), elles possèdent des masses moléculaires faibles, pas d'affinité pour les monosaccharides, une forte spécificité pour les oligosaccharides complexes et / ou les glycoprotéines (Mezdour, 2018). Les lectines se complexent aux carbohydrates et participent à plusieurs processus biologiques tels que les communications intercellulaires (Oucif, 2018).

Les lectines présentent des molécules intéressantes malgré la faible teneur en protéines des algues brunes (Conde et al., 2013), elles ont la capacité de connecter les molécules, d'éviter l'interaction cellule-cellule et d'impliquer le système immunitaire (Parsaeimehr et Lutz, 2016).

Ces molécules protéiques algales auraient présenté des activités : antihypertensive, antitumorale, antimutagène, antityrosinase, anticoagulante, inhibitrice de la précipitation du calcium, hypocholestérolémiant plasmatique et hépatique, hypoglycémiant et antioxydant, elles ont également des propriétés chimiques intéressantes en relation avec des applications immunologiques et anticancéreuses (Conde et al., 2013).

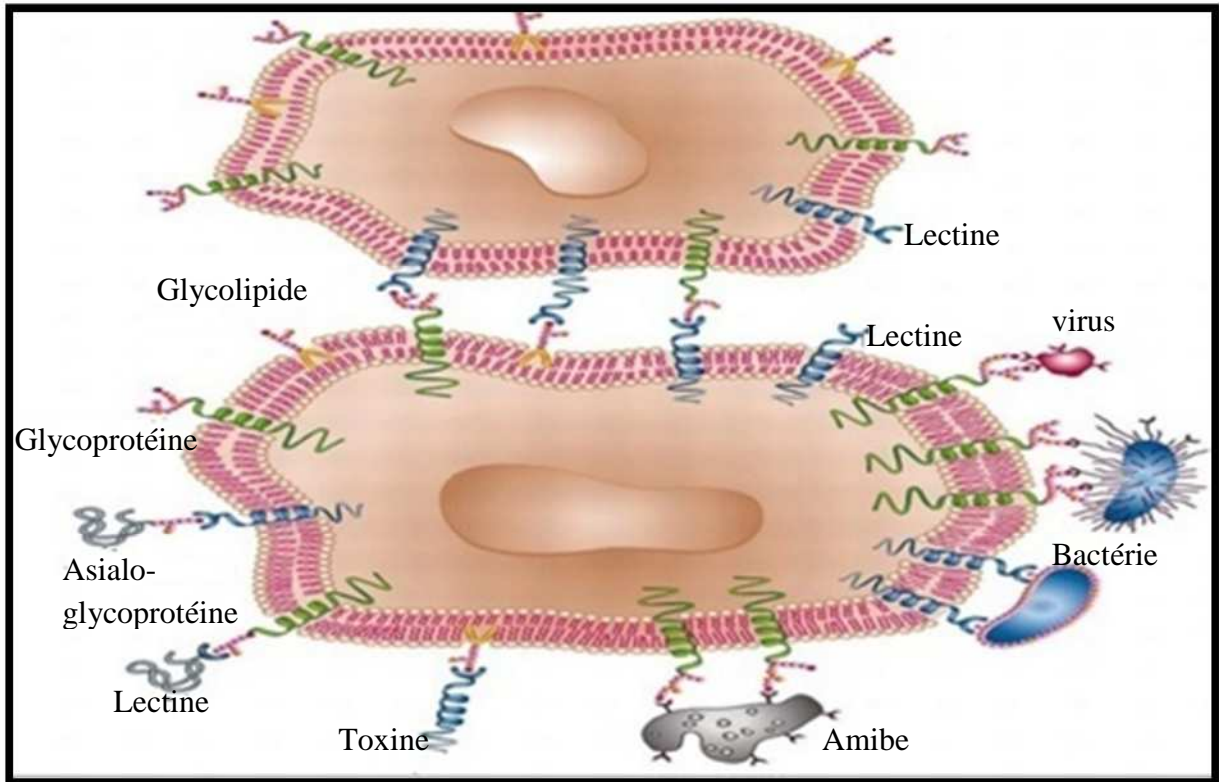


Figure 11 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (Mezdour, 2018).

II.3. Activités biologiques des algues

Les algues brunes sont une riche source de composés bioactifs naturels aux puissantes capacités biologiques, principalement des phlorotannins (Li *et al.* 2011), les polysaccharides dont les sulfatés (Mao *et al.*, 2006) ou encore les caroténoïdes dont la fucoxanthine (Cotas *et al.*, 2020).

II.3.1. Activités antioxydante

Le stress oxydatif, défini comme un déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène ERO et la capacité du corps à les neutraliser, et à réparer les dommages oxydatifs (Bengueddour *et al.*, 2013).

Un radical libre se définit comme tout atome ou molécule possédant un électron non apparié sur l'orbitale externe. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade (Eryaman *et al.*, 1999 ; Ivanov, 2008).

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Chouana, 2017; Favier, 2003). En tant que facteur causal important dans le processus de vieillissement, le radical superoxyde O_2^- et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , qualifiés d'espèces réactives de l'oxygène, ces radicaux libres peuvent gravement endommager l'ADN, les protéines et les lipides (Trigui *et al.*, 2012 ; Sudhakar *et al.*, 2013).

Les algues brunes représentent une source éventuelle d'antioxydants naturels, (Bengueddour *et al.*, 2013). Les antioxydants peuvent protéger le corps humain de diverses maladies, telles que les Cancers, les inflammations, le diabète, les maladies neurodégénératives et les maladies cardiovasculaires causées par l'interaction des ERO avec des biomolécules (Trigui *et al.*, 2012 ; Sudhakar *et al.*, 2013). Les enzymes antioxydants sont le principal système de défense directement impliqué dans la désintoxication des ERO (Monteiro *et al.*, 2019). C'est pour cela que les antioxydants naturels deviennent de plus en plus populaires vu leurs grands avantages qui sont l'absence d'effets secondaires (Sonani *et al.*, 2015).

II.3.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des ressources naturelles n'est généralement pas attribuée à un seul composé, mais pourrait être liée à une combinaison de métabolites, la plupart des composés responsables de l'activité antimicrobienne des algues sont principalement des composés phénoliques et des polysaccharides, et leur mécanisme d'action pourrait être bactériostatique (inhibition de la croissance des micro-organismes) ou bactéricide (destruction directe des micro-organismes) (Abu-Ghannam et Rajauria, 2013), mais aussi représentent une source d'une grande variété de lipides complexes avec différentes applications potentielles (Lakhdar, 2018).

Il est intéressant de tester les antimicrobiens marins pour une éventuelle synergie avec des médicaments existants (Pérez et al., 2016). Par conséquent, une grande attention a été accordée à la recherche de nouveaux agents antimicrobiens (Eom et al., 2011).

II.3.3. Activités anticoagulante

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 (Muhammad et al., 2017) qui présentent d'intéressantes propriétés anticoagulantes (Mao et al., 2006), l'activité anticoagulante des fucoïdanes est l'une des activités les plus importantes de ce polysaccharide (Durig et al., 1997). Les polysaccharides sont devenus aujourd'hui une source importante de composés naturels bioactifs responsables de plusieurs activités biologiques (Aguilar-Briseño et al., 2015).

La coagulation est le processus qui aboutit à la formation de fibrine nécessaire à la consolidation du clou plaquettaire (Plaziat-Decourcel, 2009), procédant en cascade et faisant intervenir plusieurs protéines plasmatiques notamment les facteurs de coagulation (IXa, XIa et XIIa) et des enzymes procoagulantes, comme la thrombine (Grauffel et al., 1989). Pour limiter ce phénomène des médicaments comme l'héparine sont administrés aux patients (Durig et al., 1997), comme anticoagulant pour la prévention des troubles thromboemboliques veineux (Faller, 2011). Les fucoïdanes ont été proposés comme alternative à l'héparine, car ils ont moins de risque de contenir des virus ou des prions (Durig et al., 1997). Par conséquent, les anticoagulants algaux pourraient à l'avenir ajouter une nouvelle dimension dans le traitement des maladies vasculaires (Athukorala et al., 2007).

II.3.4. Activités cytotoxiques

La cytotoxicité et la propriété qu'a un agent chimique ou biologique à provoquer des altérations cellulaires en aboutissant à sa destruction (Dausset, 1976). L'isolement et la caractérisation des composés cytotoxiques des macroalgues marines ont fait l'objet de nombreuses études (Josiane, 2019).

La recherche de médicaments anticancéreux à partir des molécules marines a conduit à des résultats prometteurs dans les essais à différentes phases des maladies cancéreuses (Lakhdar, 2018). Les macroalgues ont montré de puissantes activités cytotoxiques et peuvent être consommées comme agent chimiopréventif contre plusieurs cancers en activant des voies de signalisation intracellulaires menant à l'apoptose (Liu et al., 2015).

Au cours des dernières décennies, les composés phénoliques présents dans différentes espèces d'algues marines ont été étudiés pour leurs capacités antitumorales et cytotoxiques (Gager, 2019).

En outre l'activité biologique d'un échantillon doit être évaluée en même temps que son éventuel cytotoxicité. En effet, s'il s'avère qu'un échantillon soit antiviral, ou anticoagulant ou anticancéreux, il faut s'assurer qu'il vise bien la cible et pas les cellules, c'est pourquoi il est très important d'analyser la toxicité de ce même échantillon envers des cellules saines (Burlot, 2016).

Matériels et Méthodes

I. Matériel végétal

I.1. Echantillonnage

L'espèce d'algue brune *Padina pavonica* utilisée dans cette étude a été récoltée durant le mois de Mars 2022 au niveau de la plage dite Boulimat (Bakster) située à environ 20 Km à l'ouest du centre ville de Bejaïa (36° 49'2,09 N, 4° 59' 22,19'' E) (Figure12). C'est une station caractérisée par un substrat rocheux et un environnement moyennement battu et calme. Les échantillons ont été transportés au laboratoire dans des sacs en polyéthylène.

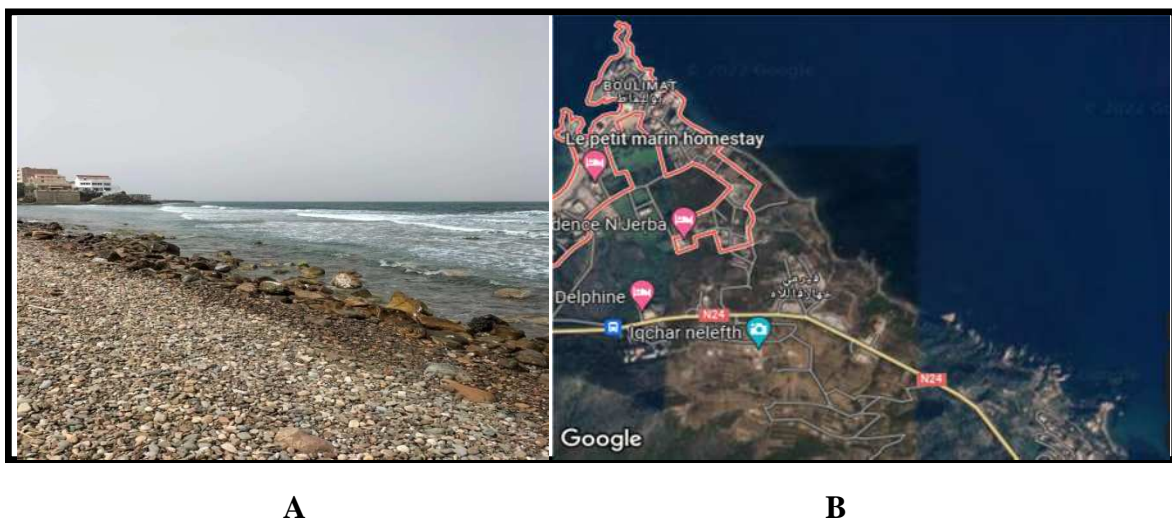


Figure 12 : (A) photographie de la station de récolte (Boulimat Bakster, Bejaia).

(B) Cartographie de la station de récolte (INCT, 2000).

I.2. Traitement des échantillons

L'algue fraîche a été rincée plusieurs fois à l'eau douce afin d'éliminer les épiphytes, les nématodes et toutes autres matières suspendues et les crampons sont enlevés, puis séchée dans un milieu aéré à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après séchage, l'algue est broyée à l'aide d'un broyeur mécanique en fine poudre, puis tamisée pour obtenir une poudre de granulométrie inférieure à 63 μ m. La poudre est conservée à l'abri de la lumière à 4°C.

I.4. Présentation de l'espèce *Padina pavonica* (Padine Queue de Paon)

Cette algue (Figure 13) photophile colonise les substrats durs bien éclairés de l'étage infralittoral, en eau calme ou peu agitée (Riviere et al., 2017). La classification botanique de l'algue *Padina pavonica* est présentée dans le Tableau I.

Tableau I: Classification de l'algue *Padina pavonica* (Guiry et Guiry, 2018).

Embranchement	Ochrophyta
Sous-embranchement	Hterokontae
Super classe	Phaeophyta
Classe	Phaeophyceae
Ordre	Dictyotales
Famille	Dictyotaceae
Genre	<i>Padina</i>
Espèce	<i>Pavonica</i>



Figure 13 : photographie de *Padina pavonica*

II. Méthodes

II.1. Extraction des composés bioactifs

II.1.1. Extraction par macération de la fraction phénolique

L'extraction a été effectuée en utilisant le protocole de *Cox et al., 2010*. Pour cela, 10g de poudre ont été pesés et macérés dans 100 mL de solvant (éthanol 75%), sous agitation à 40°C pendant 02 heures, par la suite la solution a été centrifugée à 5000 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu est récupéré, filtré et mis dans des flacons fumés puis évaporé à sec dans une étuve ventilée à 40°C. L'extrait est ensuite conservé à -10°C jusqu'à son utilisation.

II.1.2. Taux d'extraction

Le rendement en extrait sec désigne la quantité d'extrait obtenu après évaporation du solvant. Le rendement d'extraction est déterminé par la formule suivante :

$$RE\% = (P1-P0) / E \times 100$$

P0 : poids du flacon vide (mg).

P1 : poids du flacon après évaporation (mg).

E : poids de l'échantillon (mg).

RE : rendement d'extraction exprimé en pourcentage.

II.1.3. 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 14. Toutes les fractions obtenues A (Laminaranes), B (fucoïdane) et C (Alginates) ont été lyophilisées à l'aide d'un lyophilisateur. Ces fractions sont ensuite conservées à -10°C jusqu'à leurs utilisation.

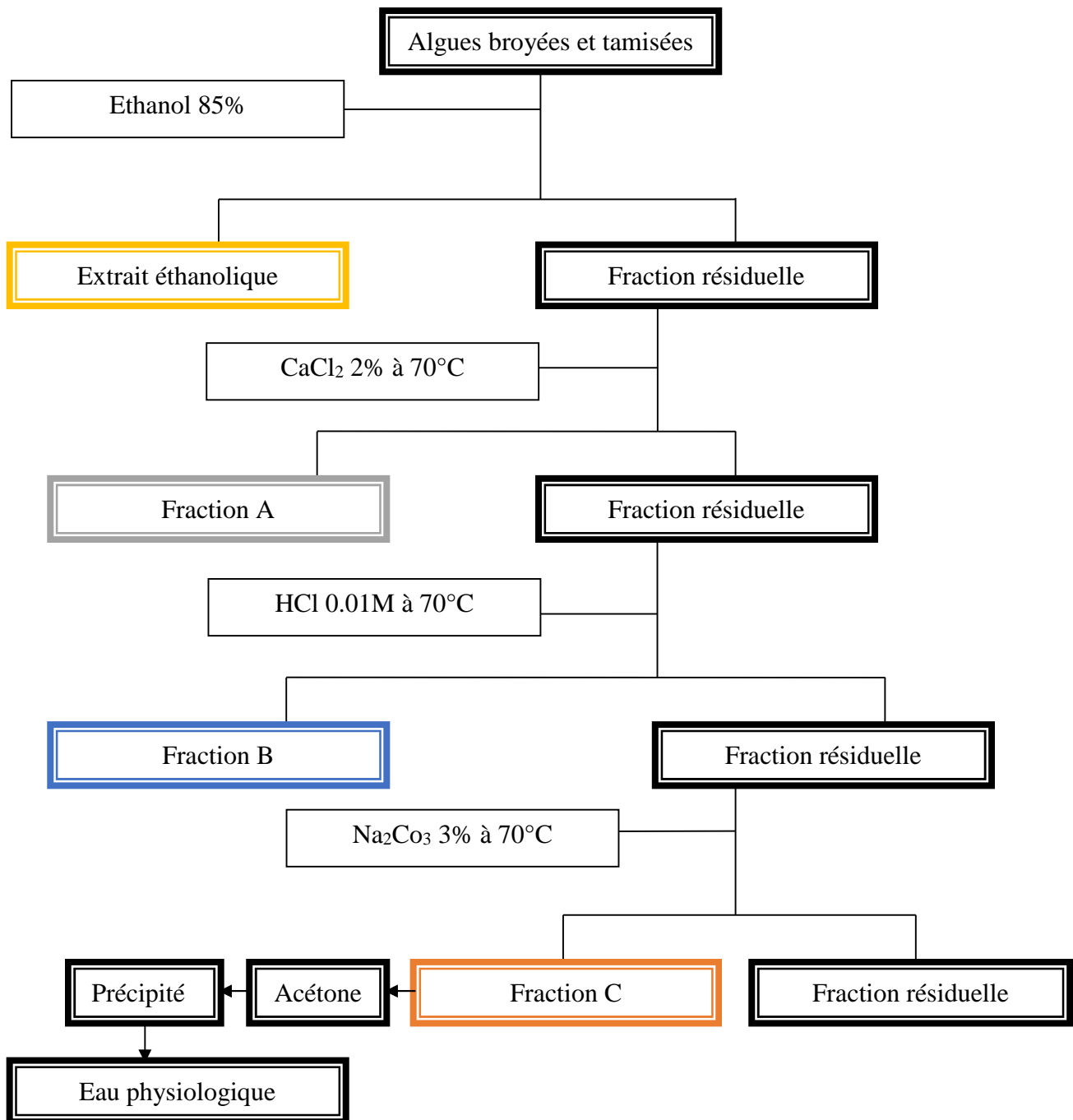


Figure14: Extraction des polysaccharides (Rioux *et al.*, 2007).

II.1.4. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux a été fait selon la méthode du Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀) qui est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes

bleus de tungstène (W8023) et de molybdène (Mo8023), ce mélange absorbe à 760nm (Harrar, 2012). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé (Boizot et Charpentier, 2006).

Le dosage des polyphénols totaux (PT) est effectué par la comparaison de la densité optique (D.O) observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (Vermerris et Nicholson, 2008).

La teneur des polyphénols contenus dans l'extrait d'algue *Padina pavonica* a été déterminée suivant la méthode décrite par Kosar et al., 2005. Un volume de 200 µl d'extrait à 10mg/ml est mélangé avec 0,5 mL de Folin, le mélange est homogénéisé et laissé reposer pendant une minute, 5 mL de carbonate de sodium (voire l'annexe 5) est ajouté au mélange, ensuite 6,8 ml d'eau distillé sont additionnés au milieu réactionnel. Une gamme d'étalons est préparée à partir de différentes concentrations d'acide gallique [2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125mg/mL], celle-ci est réalisé en suivant le même mode opératoire.

Après 2h d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

II.1.5. Dosage des phlorotannins : test du DMBA

Les composés phénoliques majoritaires (PC) des algues brunes, les phlorotannins, sont des oligomères et polymères de 1, 3,5-trihydroxybenzène (phloroglucinol) (Tanniou et al., 2013). Afin de connaître la teneur en phlorotannins de notre extrait, nous avons utilisé la méthode colorimétrique du 2,4-diméthoxybenzaldéhyde (DMBA), ce dernier réagit spécifiquement avec les phénols substitués en 1,3 et 1, 3,5, tels que le phloroglucinol et les phlorotannins, formant des pigments de triphénylméthane après substitution électrophile (Lopes et al., 2012).

Le protocole suivi est celui de Lopes et al., 2012, le réactif de travail a été préparé en mélangeant des volumes égaux de DMBA (2 %, m/v) et HCL (6 %, v/v) préparé dans de l'acide acétique glacial (voir l'annexe 5). Un volume de 1750 µL de la solution du DMBA est mélangé avec 350 µL d'extrait d'une concentration de 10 mg/mL, les tests sont effectués en

duplicata. Un témoin est réalisé en mélangeant 1750 μL d'extrait et 350 μL du mélange (HCL et CH_3COOH). La réaction est laissée à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 60 minutes, puis l'absorbance est mesurée à 515 nm.

Le dosage quantitatif des phlorotannins a été réalisé à l'aide d'un étalon externe d'acide tannique. Une série de six concentrations d'acide tannique [0.0625, 0.04, 0.03, 0.02, 0.01, 0.00098 mg/mL] a été utilisée pour obtenir une courbe d'étalonnage linéaire, les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg d'EAT /g d'extrait).

II.1.6. Evaluation des activités biologiques des différents extraits d'algues

II.1.6.1. Activité antioxydante : test de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH (2,2- diphenyl -1-picryl-hydzryl) est un radical libre stable. En présence de composés anti radicalaires, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2- diphenyl -1-picrylhydrazyle de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006) (Figure 15). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant et se traduit par une diminution de l'absorbance à 516 nm (Masuda *et al.*, 1999).

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées : d'une part la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de $\text{DPPH}\cdot$ et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction (Popovici *et al.*, 2009).

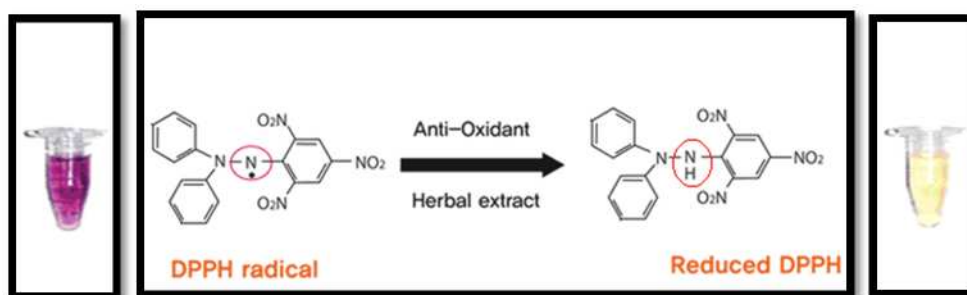


Figure 15 : Image représentative de la réduction du DPPH (Masuda *et al.*, 1999).

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la méthode de Brand-Williams *et al.*, 1995. Différentes concentrations d'extrait sont préparées dans des tubes à Eppendorf [75, 50,

25, 12.5, 6.25 mg/mL], puis 75 µL de chaque concentration sont ajoutés à un volume de 2925 µL de la solution du DPPH. Les mélanges sont ensuite maintenus à l'obscurité pendant 4h à température ambiante, après incubation la lecture des absorbances a été effectuée à 516 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Un blanc est réalisé pour chaque concentration d'extrait, ceci en mélangeant 75 µL d'extrait avec 2925 µL de méthanol exempt de DPPH.

➤ Chaque test est réalisé en triplicata.

Une courbe d'étalonnage du DPPH est réalisée, les valeurs obtenues sont utilisées pour estimer la concentration d'extrait nécessaire pour accomplir une réduction de 50% de la concentration initiale de DPPH (EC50) (Keramane et al., 2020).

II.1.6.2. Activité anticoagulante

Le test de coagulation mesure le temps écoulé depuis l'activation de la cascade de coagulation à des points différents jusqu'à la génération de la fibrine (Raber, 1990), qui est une protéine filamenteuse qui participe à la réparation des vaisseaux sanguins et des tissus cutanés en cas de plaie hémorragique, elle n'existe pas à l'état naturel. Elle est produite dans le sang en cas de lésion à partir d'une autre protéine : le fibrinogène (De Fressenel et al., 2015). Deux tests de coagulation TCA et TP sont réalisés dans ce travail.

II.1.6.2.1. Temps de Cephaline Kaolin (TCK)

Le TCA mesure le temps nécessaire pour générer la fibrine à partir de l'initiation de la voie intrinsèque, dont les facteurs plaquettaires sont nécessaires pour que la cascade fonctionne normalement (Raber, 1990). Le TCA est exprimé en secondes, sa valeur normale ne doit pas dépasser plus de 6 à 8 secondes celle du témoin (Hafian et al., 2003).

Les essais sont réalisés selon la méthode de Mourao et al., 1996, un volume de 45µL d'échantillon de plasma humaine normal sont additionnés à 5µL des différentes concentrations d'extrait d'algues [50, 25, 12.5, 10, 7.5, 5, 1mg/mL], après incubation à 37°C pendant 1 minute 50 µL du réactif Cephaline kaolin préchauffé sont ajoutés puis incubés à 37°C pendant 2 mn, ensuite 50µl du de CaCl₂ à 0,025 mol/L lui sont ajoutés et le temps de

formation du caillot est enregistré grâce à un coagulomètre DIAGNOSTICA STAGO (Figure 16).

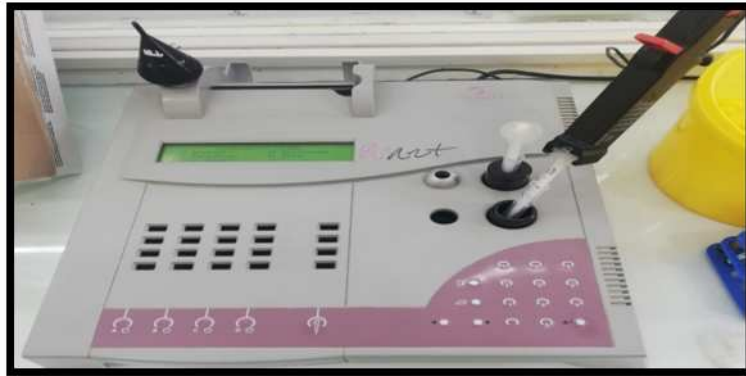


Figure 16 : Photographie du coagulomètre DIAGNOSTICA STAGO

II.1.6.2.2. Taux de prothrombine (TP)

Le temps de prothrombine est le temps nécessaire à la génération de fibrine après activation du facteur, sa valeur normale est habituellement entre 11 et 15 secondes, ceci dépend du réactif utilisé (Raber, 1990).

Les essais sont effectués selon la méthode de Qi et al., 2012, 45 μ L de plasma humain citraté normal sont mélangés avec 5 μ L des différentes concentrations d'algues [50, 25, 12.5, 10, 7.5, 5, 1mg/ml], après incubation à 37°C pendant 1 minute, 100 μ L d'un activateur pré-incubé à 37°C pendant 10mn lui sont ajoutés. Le temps de coagulation a été enregistré grâce à un coagulomètre DIAGNOSTICA STAGO.

- ✚ Ces deux tests ont été effectués pour les différentes concentrations de l'extrait éthanolique ainsi que pour les différentes fractions polysaccharidiques (II.1.3) d'algue à des concentrations de [50, 10, 5, 2.5, 1.25 mg/ml].

II.1.6.3. Test de cytotoxicité

La cytotoxicité est la propriété que possède un agent chimique ou biologique à provoquer des altérations cellulaires (Dausset, 1976). Certaines plantes utilisées à des fins thérapeutiques, peuvent à forte dose provoquer une menace pour la santé humaine, suite à la cytotoxicité qu'elle exerce (Fourasté, 2000). A cet effet, la cytotoxicité est évaluée en mesurant la fuite d'hémoglobine dans le milieu à 540 nm (Viala et botta, 2007). Le principe repose sur une attaque membranaire des extraits à étudier, via une hémolyse.

La récolte du sang ainsi que la manipulation sont réalisées aux sains du centre de transfusion sanguine dans la région de Bejaia (Sidi Ali-Lebhar).

Le test d'évaluation de l'effet hémolytique des extraits a été réalisé selon la méthode décrite par Okoko et Ere, 2012 (Figure 17), 0,5 mL d'une gamme de concentration d'extrait allant de 2mg/ml à 0,97µg/ml sont additionnés à 0,5mL d'une solution érythrocytaire.

Préparation de la suspension érythrocytaire : le sang est collecté chez des patients sains dans des tubes à héparine. Une centrifugation à 3000 rpm /10min est effectuée afin d'éliminer le plasma, ensuite le culot est lavé trois fois avec du PBS (pH 7.4) et solubilisé de nouveau dans le même volume ainsi la suspension érythrocytaire obtenue est diluée à 10%. Le tampon PBS a été préparé préalablement (voir l'annexe 5) et conservé à 4°C, tandis que la suspension érythrocytaire est fraîchement préparée avant toute utilisation.

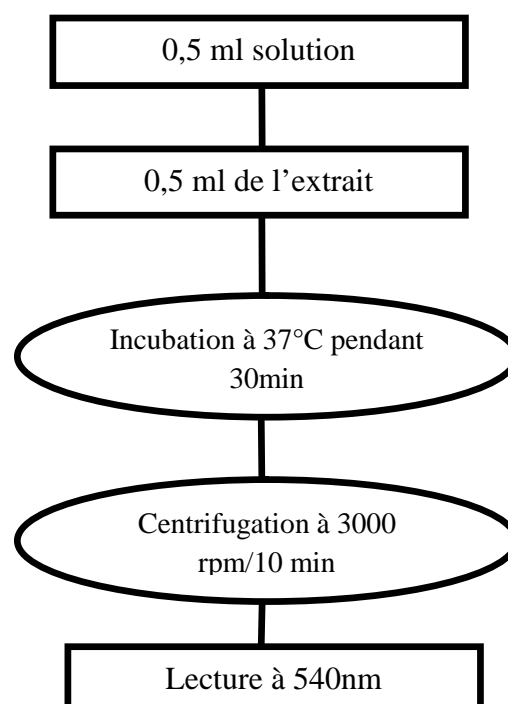


Figure 17 : Protocole d'étude de l'effet hémolytique (Okoko et Ere, 2012).

- Un témoin positif est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par de l'H₂O
- Un témoin négatif est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par du PBS.

Le pourcentage d'hémolyse a été déterminé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'hémolyse} = \frac{(\text{DO extrait} - \text{DO témoin négatif})}{\text{DO témoin positif}} \times 100.$$

- ✚ Ce test a également été effectué pour les différentes fractions polysaccharidiques (II.1.3) d'algue à des concentrations de [10, 5, 2.5, 1.25 mg/ml].

II.1.6.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'algues

❖ Germes cibles utilisé :

Parmi les microorganismes, on a retenue trois germes cibles qui ont fait l'objet des tests antibactériens :

- Une bactérie à Gram négatif : - *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Une bactérie à Gram positif : - *Staphylococcus aureus* résistante à la méthiciline MRSA ATCC 43300.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Ces germes ont été standardisés au préalable par la méthode des suspensions /dillution accompagnée d'une mesure de la densité optique, cela a été suivie d'un dénombrement sur boîte de Pétrie.

Plusieurs méthodes sont largement utilisées par les chercheurs pour détecter et mesurer l'activité antimicrobienne des extraits d'algues ou de leurs métabolites, la méthode largement utilisée est le test de diffusion sur gélose (Pérez *et al.*, 2016).

Un ensemencement a été réalisé par écouvillonnage par des souches bactériennes standardisées (10⁷ UFC/mL) sur le milieu gélosés Mueller-Hinton. Des disques de papier stérile ayant un diamètre de 3mm ont été déposés aseptiquement sur la gélose ensemencée,

puis imprégnés immédiatement par une quantité d'extraits d'algues de 20 µL ayant une concentration de 10 mg/mL et 50 mg/mL préalablement stérilisé par une filtration sous pression à l'aide d'un filtre à seringue de 0,45µm. Le solvant de reconstitution a été utilisé comme témoin négatif, l'acide gallique et tannique ainsi que l'antibiotique ont été utilisés comme témoins positifs. Les boîtes ensemencées ont été ensuite maintenues à 4°C pendant 2h afin de permettre une bonne diffusion, ces dernières ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 h et les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés.

- ✚ Ce test a été aussi effectué pour les différentes fractions polysaccharidiques (II.1.3) d'algues à des concentrations de [10, 5, 2.5, 1.25 mg/ml].

II.1.6.4.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices sur milieu liquide (CMI)

La CMI représente la plus faible concentration d'un extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne ou fongique (Pérez *et al.*, 2016).

La détermination des CMI des extraits d'algues étudiées vis-à-vis des trois souches testées précédemment, est réalisée selon la technique de microdilution sur microplaques stériles selon la méthode de Santoyo *et al.*, 2009.

La microplaque a été préparée en répartissant dans chaque puits :

- 165 µL de bouillon Muller Hinton additionné de 0,2% de tween 20.
- 30 µL des différentes concentrations des extraits [50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0.78 mg/mL].
- 5µL de la suspension bactérienne à 10⁷ UFC/mL.

Le volume final de chaque puits est de 200 µL. La microplaque est incubée à 37 ° C pendant 18 h.

Dans ce test, quatre témoins sont réalisés :

- ✓ 200 µL de bouillon Muller-Hinton seul.
- ✓ 165 µL de bouillon Muller-Hinton + 30µL du solvant + 5µLde la souche.
- ✓ 165 µL de bouillon Muller-Hinton + 30µL d'ATB + 5µLde la souche.
- ✓ 195 µL de bouillon Muller-Hinton + 5µLde la souche.

Après incubation, la CMI de chaque extrait a été déterminée par inspection visuelle du fond du puits par l'absence de formation d'un culot bactérien blanc.

II.1.6.4.2. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration permettant d'obtenir après un temps de contact déterminé, une mortalité de 99,99% de la souche microbienne testée (Pierre, 2010).

Des boîtes de Petri coulée d'une gélose nutritive sont ensemencées par des aliquotes (de 5 μ L), à partir des puits qui n'ont montré aucune croissance. Après incubation à 37°C pendant 24h, la présence de croissance ou pas est mentionnée.

II.1.7. Etude statistique

Afin d'effectuer l'étude statistique, chaque test a été réalisé en triplicata. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Les données sont analysées en utilisant une analyse de la variance (ANOVA) à l'aide du logiciel XLSTAT 2014. Des différences significatives ($p < 0,05$) entre les moyennes sont déterminées par le test LSD (Low Significant Difference).

I. Taux d'extraction des composés phénoliques

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs paramètres tels que la température, le pH, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Do et al., 2014).

Le taux d'extraction de notre extrait éthanolique récolté au mois de mars (Bakster, Boulimate) est de 8,524 %, notre rendement se rapproche à celui trouvé chez la même espèce récoltée en Aout à EL'ach EL-bez, qui était de 8,76 % (kadi et Sebaihi, 2021). Pour les deux récoltes effectuées au mois d'avril et juillet, elles ont donné un rendement relativement faible (3,085% ; 3,036%) par rapport à notre taux d'extraction. Cette différence quantitative peut être due à divers facteurs tels que la composition du sol ainsi que la période de récolte (Grycova et al., 2007).

En comparant notre étude avec une étude similaire de Saidani (2010), réalisée dans les mêmes conditions sur l'algue brune *Padina pavonica* dont le solvant est remplacé par du méthanol, ont déduit que l'extraction par l'éthanol (8,524%) donnait une meilleure teneur en composés phénoliques que l'extraction par le méthanol (2,34%).

L'utilisation de l'éthanol comme solvant d'extraction de départ présente plusieurs avantages : il permet d'extraire le maximum de composés (alcaloïdes, composés phénoliques, ...etc.), d'autre part il est moins altérant que le méthanol (moins toxique), il est aussi facile à éliminer (Ribéreau-Gayon, 1968).

Notons aussi que le volume du solvant, le nombre de cycles d'extraction et le poids initial de la poudre influencent l'extraction (Mompou et al., 1998 ; Hadj Salem, 2009).

De même, la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) joue également un rôle important dans la détermination du rendement ainsi que la composition chimique des extraits obtenus (Tefiani et al., 2015).

Après la comparaison de nos résultats avec ceux des travaux antérieurs il s'avère qu'au mois d'aout et décembre où il y a des pics de chaleurs et de froid les rendements sont plus importants que pendant le printemps.

II. Analyses effectuées sur l'extrait

II.1. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait a été réalisée selon la méthode du Folin-Ciocalteu. Les quantités de polyphénols totaux correspondantes ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique.

L'analyse des composés phénoliques montre que l'extrait éthanolique obtenu à partir de l'algue brune *Padina pavonica* possède une teneur en phénols totaux de $31,647 \pm 2.555$ mg EAG/mg d'extrait. En comparant notre résultat avec le résultat de [Zair et Taguelemimt \(2019\)](#) qui est de $24,286 \pm 0,992$ mg EAG/g d'extrait, obtenu dans les mêmes conditions sur la même espèce, on constate que notre teneur en polyphénols est plus élevée.

D'autre part différentes études ont démontré que l'éthanol aqueux est le solvant le mieux adapté pour leur extraction ([Boisvert et al., 2015](#); [Sanchez Camargo et al., 2016](#); [Otero et al., 2019](#)), de plus le mélange que nous avons utilisé est accepté pour les applications alimentaires. [Zhang et Thomsen \(2019\)](#) ont montré qu'en dehors des facteurs extrinsèques (climatiques), les facteurs génétiques, le degré de maturation de l'algue et le temps de stockage ont une forte influence sur la teneur en polyphénols.

II.2. Dosage des phlorotannins

Pour déterminer quantitativement l'extraction des phlorotannins des tissus de l'algue brune, nous présentons ici la méthode spécifique au diméthoxybenzaldéhyde (DMBA) qui a été déterminée à l'aide d'un étalon externe d'acide tannique.

La teneur en phlorotannins de l'extrait éthanolique qui est de $2,570 \pm 0,156$ mg EAT par g d'extrait. En comparant cette teneur à celle obtenue par [Keramane et al., \(2020\)](#) qui est de $1,18 \pm 0,18$ mg EPG/g d'extrait.

[Amsler et Faired, \(2006\)](#), ont rapportés que les échantillons d'algues prélevés à faible profondeurs montrent une concentration plus élevée en phlorotannins que les échantillons prélevés dans les eaux profondes. Sachant que l'espèce *Padina pavonica* a été récoltée à faible profondeurs cela est dû au système de défense de cette algue pour se protéger du

degré de solarisation et donc l'agression des rayons UV à cette profondeur (Rosa et al., 2020).

Rappelons que le DMBA interagit spécifiquement avec les 1,3 et 1,3,5-trihydroxybenzenes (phloroglucinol), l'analyse des phlorotannins par cette méthode pourrait conduire à une sous-estimation de leur concentration car certains phlorotannins sont ramifiés et peuvent également avoir des liaisons aryles ou des fuhalols qui contiennent des groupes hydroxyles supplémentaires dans leur structure en positions 2, 4 ou 6. La réaction avec le réactif DMBA doit se produire entre les groupes hydroxyle par les positions 2, 4 ou 6, donc si ces positions sont substituées, il n'y aura pas de changement de couleur et ces composés phénoliques ne seront pas détectés. Les encombrements stériques pourraient également entraîner des taux de réaction plus faibles dans les phlorotannins dont le degré de polymérisation est plus élevé (Ford et al., 2019 ; Jacobsen et al., 2019; Cotas et al., 2020). Par ailleurs, 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-Pelegrine et Robledo, 2014). Cependant dans les extraction par macération, 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. Evaluation de l'activité antioxydante : détermination de l'EC₅₀ :

Le DPPH• (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyle) est largement utilisé pour estimer la capacité des substances à agir en tant que piègeurs des radicaux libres ou donateurs d'hydrogène, et d'évaluer ainsi leur activité antioxydante (Milardović et al., 2006).

Les résultats de l'effet anti radicalaire (activité antioxydante) de l'extrait de *Padina pavonica* sont évalués par un test reposant sur la capacité antioxydante totale et le piégeage du radical libre DPPH.

La concentration obtenue pour une inhibition de 50 % du radical DPPH initiale pour l'extrait éthanolique de *Padina pavonica* est de 2,1325 mg/mL, à partir de l'équation de la droite obtenue par ces différentes valeurs de piégeage du DPPH par les concentrations croissantes de l'extrait. Plus la valeur d'EC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée.

La capacité à piéger ces radicaux libres est proportionnelle à la concentration des substances antioxydantes (Luis et al., 2006). En effet, de nombreux chercheurs ont trouvé une forte corrélation entre la teneur en composé phénolique et l'activité antioxydante (Yan et al., 1999 ; Kuda et al., 2005).

L'activité anti radicalaire de notre extrait éthanolique traduit donc de sa richesse en substances actives. Selon Dawidowicz et ses collaborateurs (2006), cette activité peut être attribuée à la structure moléculaire du composé actif. Par ailleurs, il est important de noter que pour les extrait éthanolique des algues, on trouve en plus des composés phénoliques, des lipides, de la chlorophylle, qui peuvent influencés négativement l'activité des substances antioxydantes (Garcia Alonso et al., 2004).

II.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

II.3.1. Test de diffusion sur milieu solide

Le potentiel antibactérien a été testé contre trois souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* résistante à la méthiciline, *Staphylococcus aureus*. Les résultats du test antibactérien de l'extrait éthanolique total de l'algue *Padina pavonica* sont regroupés dans le tableau I en annexe 4.

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (Bensemira et al., 2006) : résistant : $D < 8\text{mm}$, modéré : $15\text{mm} \geq D \geq 8\text{mm}$ et sensible : $D > 15\text{mm}$. Les diamètres des zones d'inhibitions obtenus pour les différents extraits de l'algue *Padina pavonica* vis-à-vis des différentes souches utilisés sont représentés dans le tableau II ci-dessous :

Tableau II : Activité antibactérienne des extraits éthanolique de *Padina pavonica*.

Souche / Témoin	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	SARM
Extrait 50mg/mL	12 mm	12 mm	12 mm
Extrait 10mg/mL	13 mm	17 mm	6 mm
Acide gallique	7 mm	10 mm	6 mm
Acide tannique	-	12 mm	-
Antibiotique	32 mm	32 mm	18 mm
Fraction A	-	-	18 mm
Fraction B	-	-	10 mm
Fraction C	-	-	6 mm

A une concentration de 10 mg/mL, l'extrait éthanolique de *Padina pavonica*, a montré une bonne activité antibactérienne vis-à-vis de *S. aureus* bactérie Gram positive avec une zone d'inhibition de 17mm. Cependant le SARM a montré une résistance importante avec une zone d'inhibition de 6mm.

A la concentration de 50 mg/ml, une activité antibactérienne modérée est obtenue par l'extrait éthanolique de *Padina pavonica*, avec une même zone d'inhibition de 12 mm vis-à-vis de *S. aureus* et du SARM.

Une activité intermédiaire (13mm et 12 mm) Contre *Escherichia coli* est obtenue aux concentrations de 10 et 50 mg/ml respectivement, l'activité antibactérienne de *Padina pavonica* a déjà été rapportée par [Chibani et al. \(2011\)](#). [Pérez et ses collègues \(2016\)](#), différentes espèces du genre *Padina* ont montré une activité antibactérienne contre *S. aureus* et *E. coli*.

Une activité antibactérienne modérée est obtenue par l'extrait éthanolique de *Padina pavonica*, à une concentration de 50mg/ml avec une même zone d'inhibition de 12mm vis-à-vis de *E. coli*, *S. aureus* et SARM.

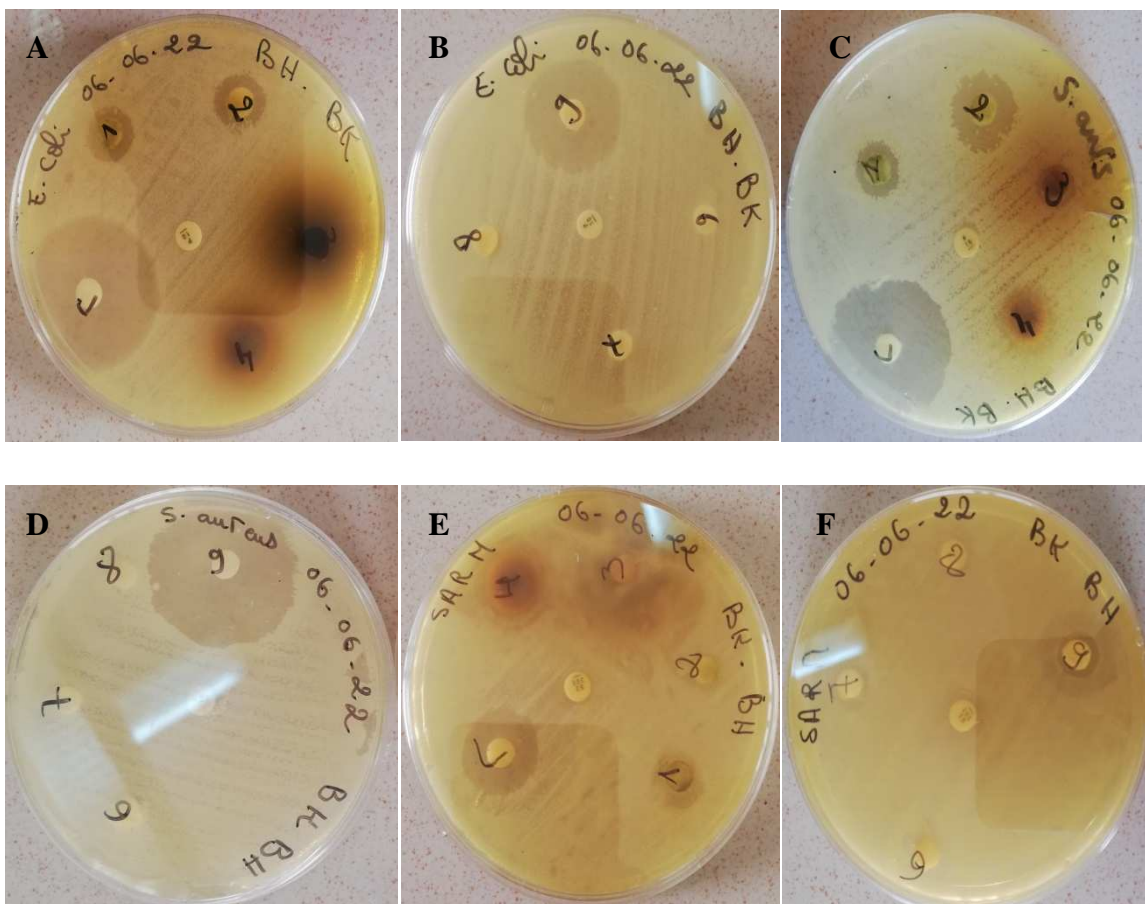
Le solvant de reconstitution (éthanol 75%) qui a été utilisé comme témoin négatif ne révèle aucune activité antibactérienne sur les bactéries utilisées. L'acide gallique a montré

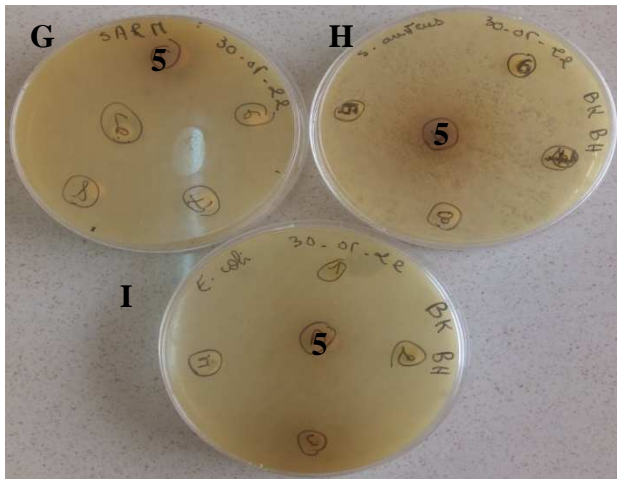
une faible activité à l'égard de *E. coli* et de SARM avec des zones d'inhibitions respectivement de 7 mm et 6 mm et une action modérée contre *S. aureus* (10 mm).

Pour les deux autres témoins négatifs utilisés, l'acide tannique n'a exercé aucune activité inhibitrice à l'égard d'*E. coli* et de SARM, alors qu'une activité moyenne est observée vis-à-vis de *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 12 mm.

Ces résultats témoignent d'une meilleure activité de notre extrait à l'égard des trois souches utilisées par rapport aux témoins testés.

Sur les trois fractions polysaccharidiques testées, aucune zone d'inhibition n'a été observée vis-à-vis d'*E. coli*, *S. aureus*. Par contre le SARM a montré une forte sensibilité à la fraction (A) avec une zone d'inhibition de 18mm, suivie d'une activité antibactérienne modérée par la fraction (B). C'est due à une probable activité des polysaccharides, qui pourraient agir sur les gènes régulant l'expression de la résistance à la méthiciline *mec I*, *mec R1* et *mec A*, vu que c'est la seule différence existant entre eux et le *S. aureus* voir (Shannon et Abu-Ghannam, 2016).





- 1 : Extrait 50mg/mL
- 2 : Extrait 10mg/mL
- 3 : Acide gallique
- 4 : Acide tannique
- 5 et 9 : Antibiotique
- 6 : Fraction A
- 7 : Fraction B
- 8 : Fraction C
- G, H et I (5) : solvant

Figure 18 : Photographies de quelques zones d'inhibition obtenues par l'extrait éthanolique : Solvant à l'égard du SARM (G), *S. aureus* (H) et *E. coli* (I); extrait 50mg/ml et 10mg/ml, acide gallique, acide tannique, antibiotique, fraction A, fraction B, fraction C, contre *E. coli* (A et B), *S. aureus* (C et D) et SARM (E et F).

II. 3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB)

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'extrait phénolique de l'algue brune ont été déterminées en utilisant la méthode de microdilution sur bouillons Mueller Hinton. La CMI est déterminée à partir d'une gamme de concentrations de l'extrait (Figure 20).

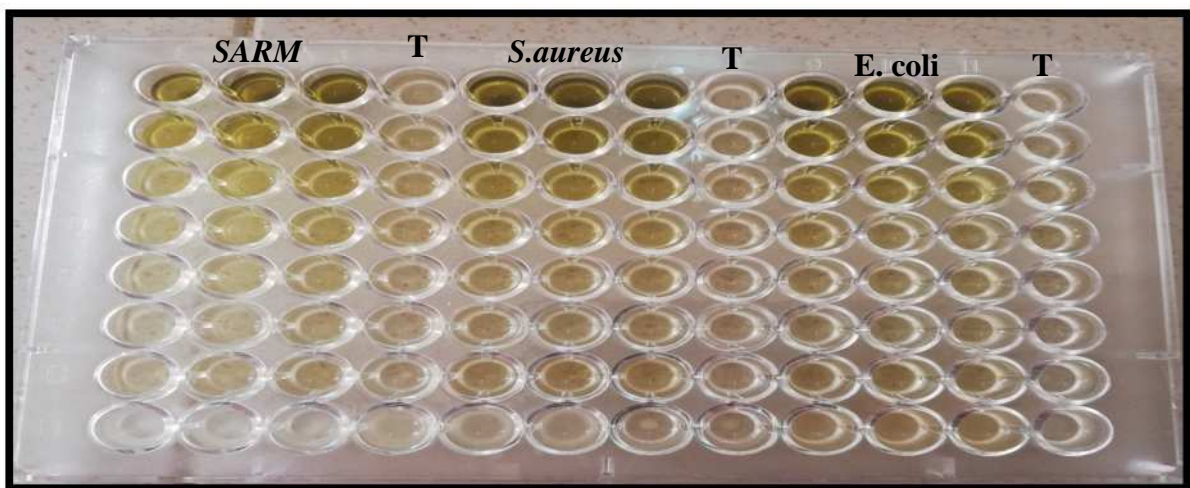


Figure 19 : Photographie de la microplaque où le test de microdilution a été effectué vis-à-vis d'*E. coli*, *S. aureus* et du SARM, (T) Témoins (positifs et négatifs)

Aligiannis *et al.*, (2001) ont établi une classification de l'efficacité de l'inhibition des extraits des plantes selon les valeurs de CMI comme suit: inhibition modérée: varie de 0,6 mg/mL à 1,5 mg/mL, faible inhibition: CMI supérieure à 1,6 mg/mL.

D'après cette classification, notre extrait exerce une inhibition modérée sur les souches *E. coli* et *S. aureus* avec une CMI de 1.56 mg/mL, et une faible inhibition sur la souche SARM d'une CMI de 2.34 mg/mL.

En ce qui concerne les concentrations minimales bactéricides CMB, on note que les différentes concentrations en extrait testés [1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 mg/mL] possède un effet inhibiteur bactériostatique vis-à-vis du SARM, *S. aureus* et *E. coli*.

Différents travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries à Gram (+) par rapport aux Gram (-) vis-à-vis des extraits d'algues (Falleh *et al.*, 2008; Hayouni *et al.*, 2007; Turkmen *et al.*, 2007; Shan *et al.*, 2007; Koné *et al.*, 2004; Jassbi *et al.*, 2013). Cela pourrait s'expliquer par les différences structurelles entre la paroi des Gram (+) et celle des Gram (-). En effet, la membrane externe des Gram (-), qui se compose de phospholipides, de protéines et de lipopolysaccharides, et est imperméable à la plupart des molécules (Georgantelis *et al.*, 2007).

La composition des algues marines, ainsi que leurs activités antimicrobiennes, varient avec des facteurs naturels tels que le climat, la salinité, la saisonnalité et la situation géographique (José Pérez *et al.*, 2016). Ces facteurs influent principalement sur la température de l'eau. Sachant que nos algues ont été récoltées au printemps, leurs différents extraits ont exhibé des activités modérés, nos résultats concordent avec ceux de Tan *et al.*, (2012) qui ont rapporté de faibles activités antibactériennes des algues marines des côtes irlandaises au Printemps/été et des activités élevées en automne/hiver, Des résultats similaires ont été trouvés par Stirk *et al.*, (2007), où l'activité antimicrobienne d'algues marines récoltées en Afrique du sud, exposaient de meilleures activités en hiver qu'en été.

Certains phlorotannins ont la capacité de s'oxyder et de former des liaisons covalentes avec certaines protéines et sont des inhibiteurs anti-plasmine et des antioxydants. De plus, ces composés ont une activité bactéricide prononcée contre les bactéries pathogènes (Akremi *et al.*, 2017).

L'efficacité des phlorotannins contre le SARM a déjà été établie et une forte inhibition de la membrane cellulaire microbienne, l'intégrité ainsi que le métabolisme cellulaire ont été rapportés (Keramane et al., 2020).

Les agents antimicrobiens extraits des algues affectent les cellules microbiennes par divers mécanismes antimicrobiens, notamment en attaquant la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, en perturbant les systèmes enzymatiques, en compromettant le matériel génétique des bactéries et en formant des hydroperoxydases d'acides gras par l'oxygénation des acides gras insaturés (Abu-Ghannam et Rajauria, 2013).

II.4. Evaluation de l'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante a été testée pour la fraction éthanolique qui est une fraction majoritairement polyphénolique, elle a également été testée sur les différentes fractions obtenues par l'extraction des polysaccharides. Notamment la fraction A correspondante aux laminaranes, la fraction B aux fucoïdanes et la fraction C qui est les alginates. Le but était de savoir si les polysaccharides sulfatés extraits des algues pourraient être une alternative à l'héparine qui est un anticoagulant médicamenteux.

II.4.1. Tests de coagulation de l'extrait éthanolique

L'effet anticoagulant de l'extrait éthanolique de l'algue brune à différentes concentrations déterminé par les tests de coagulation TCK et TP sont illustrés sur les figures ci-dessous :

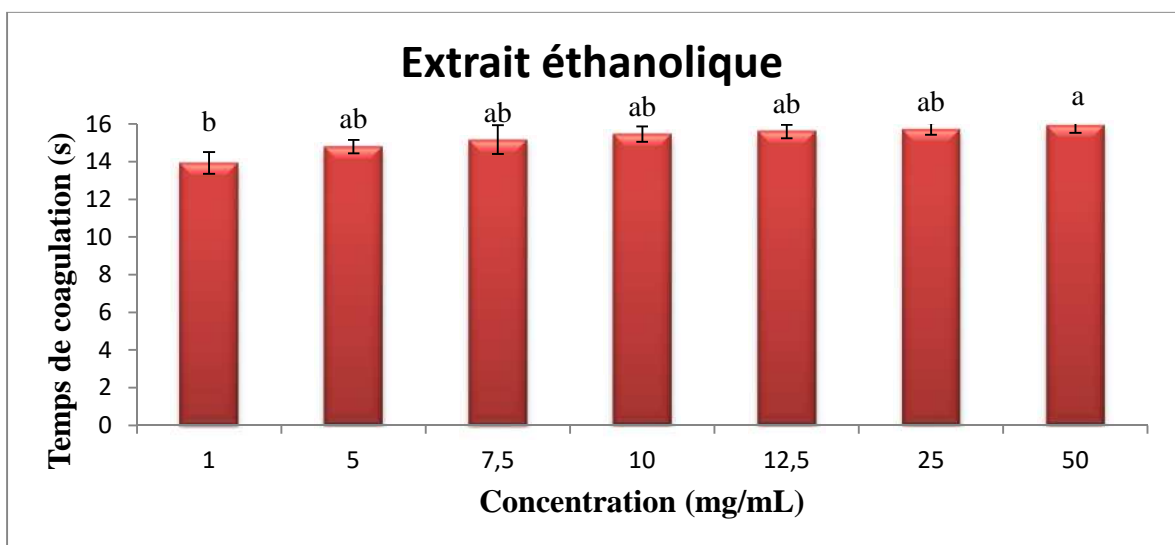


Figure 20 : Taux de prothrombine de l'extrait éthanolique

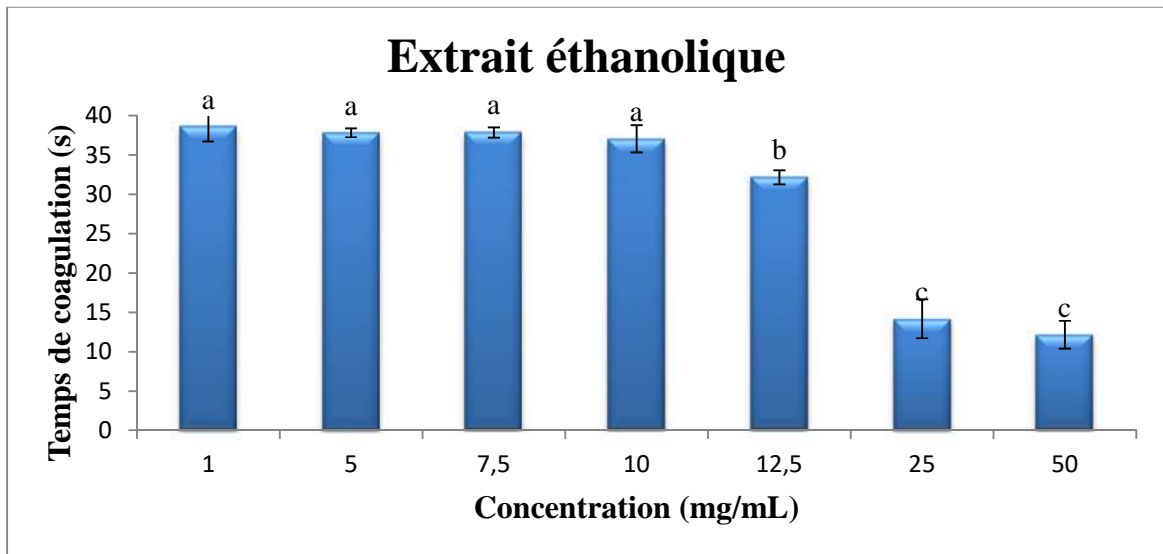


Figure 21 : Temps de cephaline kaolin d'extrait éthanologique

Selon le réactif utilisé, l'intervalle normal de référence pour le test de coagulation TP est en général situé entre 11 à 15 secondes.

Selon les résultats obtenus, l'augmentation du temps de coagulation induit par l'extrait d'algue *Padina pavonica* est important avec un allongement du TP de $15,93 \pm 0,40$ s à une concentration de 50mg/mL, tandis que le plus faible allongement du temps de coagulation est enregistré pour la concentration de 1mg/mL avec une valeur de $13,93 \pm 0,58$ s, qui reste cependant supérieur au témoin qui est de 12s. Ce résultat nous permet de déduire que l'extrait éthanologique n'a pas d'effet sur la voie extrinsèque de la coagulation aux concentrations étudiées.

Cette activité anticoagulante est probablement due aux polyphénols contenus dans l'extrait notamment les phlorotannins. En effet les phlorotannins ont la capacité de s'oxyder et de former des liaisons covalentes avec certaines protéines plasmatiques et sont donc des inhibiteurs : anti-plasmine (Akremi et al., 2017).

En ce qui concerne le test de coagulation TCK, l'allongement de 6 à 8 secondes du temps de coagulation par rapport au témoin qui est de 29s témoigne d'une activité anticoagulante.

L'extrait éthanolique a eu un effet anticoagulant à partir de la concentration de 12.5 mg/ml avec un TCK de $32,16 \pm 0,90s$ qui a augmenté jusqu'à $38 \pm 1,87s$ à 1mg/ml, ce résultat dépasse le témoin de 29s.

L'évaluation de l'activité anticoagulante de l'extrait éthanolique aux différentes concentrations par les tests TP et TCK obtenus a montré de bonne activité notamment pour le test TCK, cela peut être due à sa teneur élevée en composés phénoliques.

II.4.2. Tests de coagulation des fractions polysaccharidiques

- La fraction A

Les résultats des tests de coagulation TP et TCK de la fraction A d'espèce étudiée sont représentés dans les figures 22 et 23 :

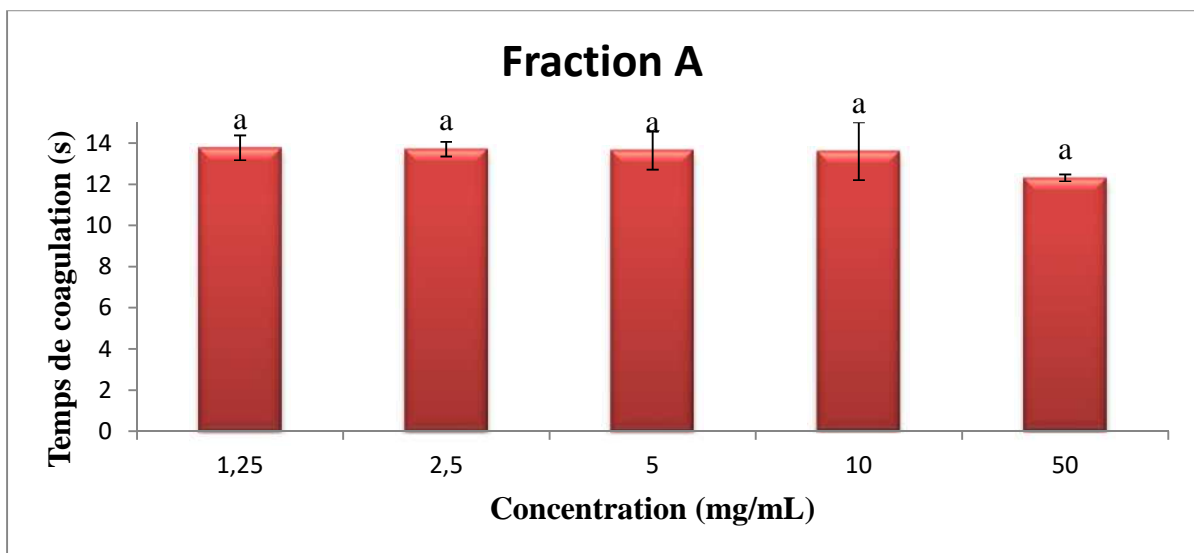


Figure 22 : Taux de prothrombine de la fraction A

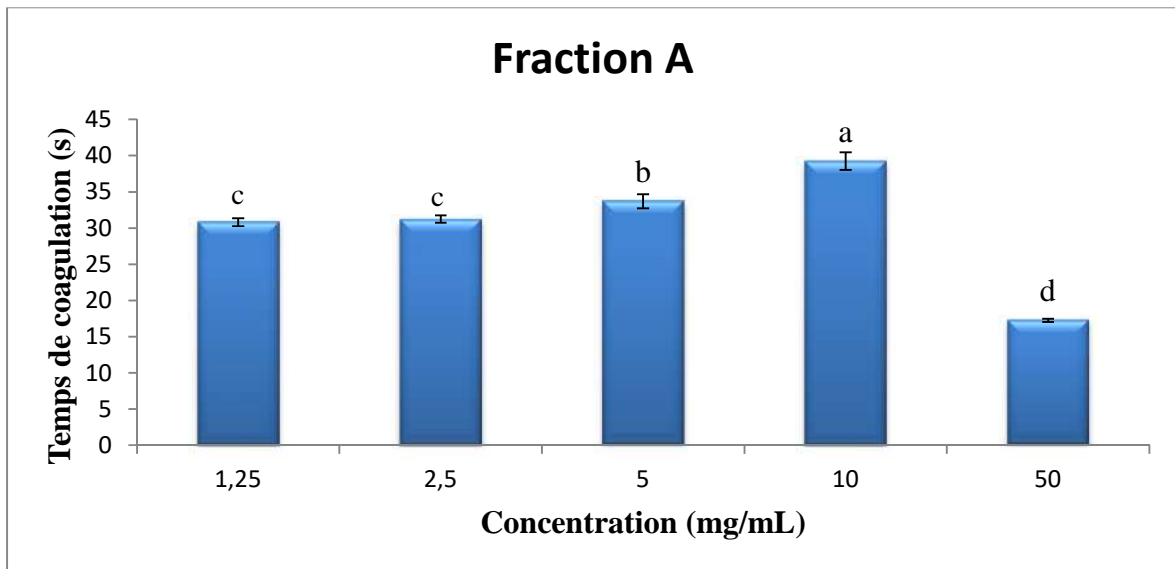


Figure 23 : Temps de cephaline kaolin de la fraction A.

Aucune augmentation du temps de coagulation du test du TP n'a été constatée pour toutes les concentrations. La fraction A de l'espèce étudiée a une faible action sur la voie extrinsèque de la coagulation.

En revanche pour le test du TCK, La fraction A de *Padina pavonica* a montré un effet anticoagulant très important qui a été observé à la concentration de 10mg/ml avec un TCK de $39.25 \pm 1,20s$, ce temps diminue légèrement aux concentrations [5, 2.5, 1.25 mg/ml] avec un TCK allant de 30s à 33s, tandis qu'un effet procoagulant a été constaté à la concentration de 50mg/ml qui de $17.25 \pm 0,21s$. Cette capacité d'exercer un effet procoagulant a été observée dans des fractions du fucoïdanes 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* contenant les laminarines et fucoïdanes ont donné un prolongement du TCK jusqu'à 42,5s à une concentration de 2,5 µg/ml, ces résultats sont en accord avec ceux obtenu par notre fractions A de *Padina pavonica*. Ces mêmes auteurs ont considéré que la fraction fucoïdane/ laminarane pouvait constituer un traitement alternatif à l'héparine.

II.4.3. Tests de coagulation des fractions B

Les résultats des tests de coagulation TP et TCK de la fraction B de l'espèce étudiée sont représentés dans les figures 24 et 25:

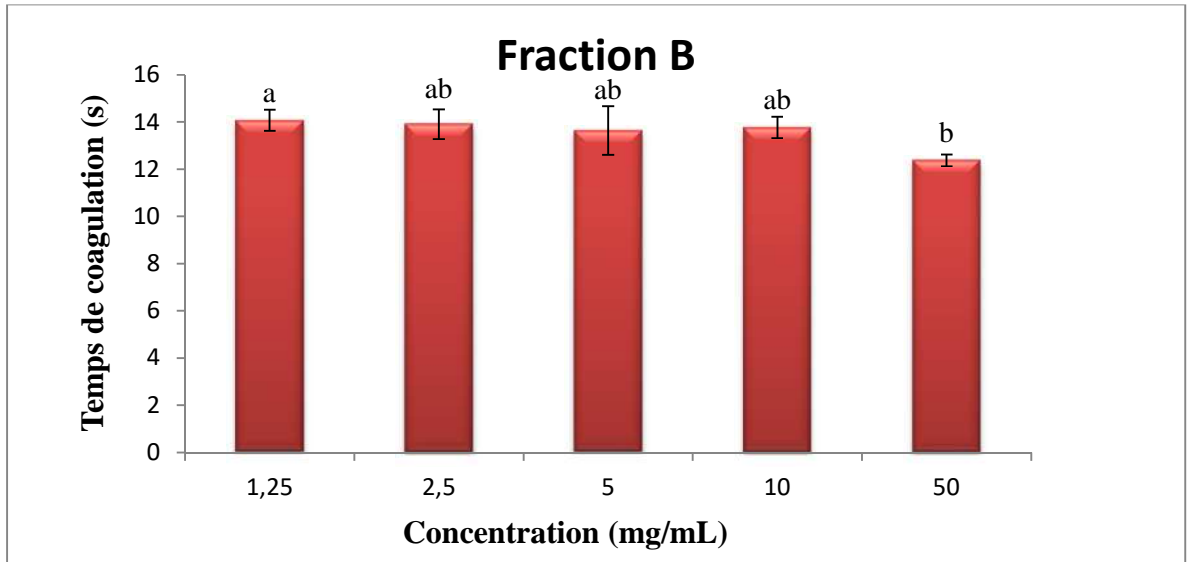


Figure 24 : Taux de prothrombine de la fraction B

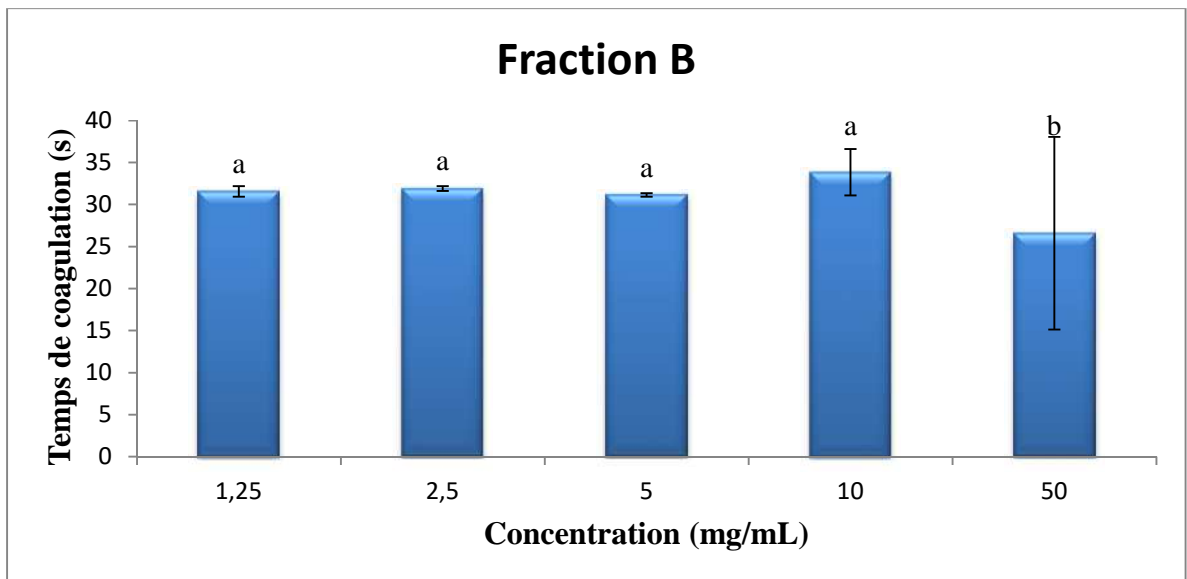


Figure 25 : Temps de cephaline kaolin de la fraction B.

La fraction B est concentration dépendante pour le test de coagulation TP, avec un maximum de $14.06 \pm 0,45s$ à une concentration de 1.25 mg/ml.

La fraction B de *Padina pavonica* a révélé un effet procoagulant qui a été observé à la même concentration par la fraction A de cet espèce qui est de 50 mg/ml avec un TCK de $19,25 \pm 1,06s$, or qu'avec toutes les autres concentrations on a observé une activité anticoagulante avec un TCK allant de 31s à 33s.

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., \(2013\)](#), en étudiant le fucoïdane fractionné de *Ficus vesiculus*.

II.4.4. Tests de coagulation des fractions C

Les résultats des tests de coagulation TP et TCK de la fraction C de l'espèce étudiée sont représentés dans les figures 26 et 27 :

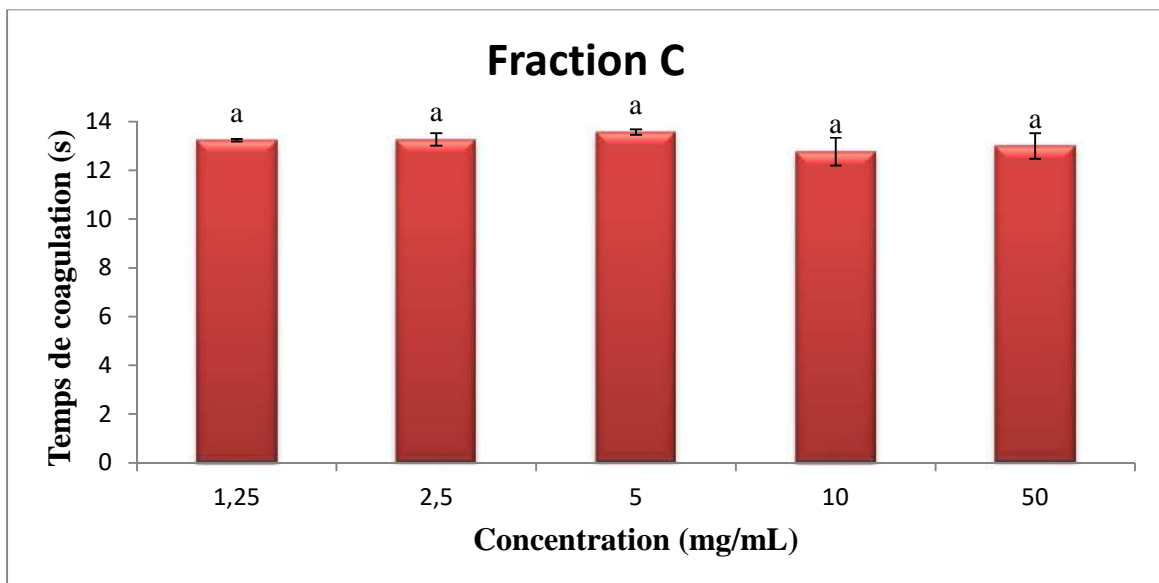


Figure 26: Temps de cephaline kaolin de la fraction C.

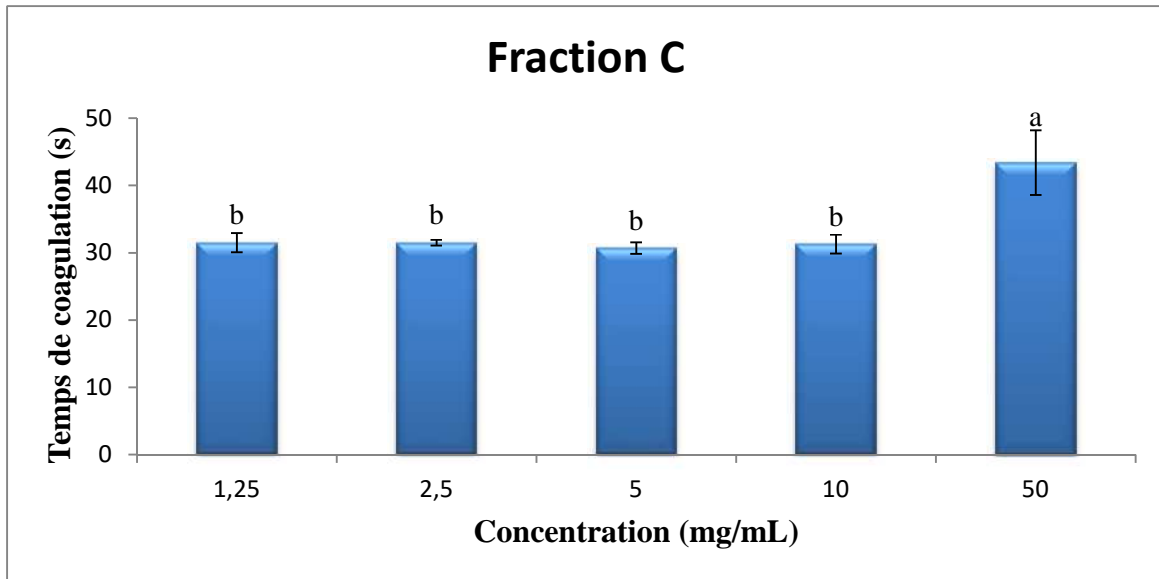


Figure 27 : Temps de cephaline kaolin de la fraction C.

Pour la fraction C, l'activité anticoagulante la plus importante par le teste du test TP a été obtenu à la concentration 5 mg/mL avec une valeur de $13,56 \pm 0,11s$, ce qui est supérieur au temps de coagulation obtenu par les autres concentrations qui est presque stable ($13 \pm 0,24s$).

La fraction C a donné un bon résultat à la concentration de 50 mg/ml avec un TCK de $43,42 \pm 4,80s$ qui n'a pas été observé avec les autres fractions de cette espèce, suivi d'une stabilité du temps de coagulation avec les autres concentrations avec une moyenne de $31,25 \pm 0,48s$.

La fraction C des algues brunes étudiées serait composée en majorité d'alginate. [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 $16,7\mu\text{g/mL}$. Les algues marines sont une riche source de polysaccharides sulfatés avec de nouvelles structures aux propriétés anticoagulantes ([Mao et al., 2006](#)).

L'évaluation de l'activité anticoagulante montre que toutes les fractions testées ont une faible action sur la voie extrinsèque de la coagulation, mais une grande activité dans l'inhibition de la voie intrinsèque. Pour la fraction A et B c'est à la concentration de 10

mg/mL qu'on a observé un effet anticoagulant très important avec des valeurs respectivement de $(39,25 \pm 1,20s ; 33,85 \pm 2,75s)$, tandis que la fraction C a donné le plus important temps de coagulation à la concentration 50 mg/mL avec une valeur de $43,4 \pm 4,80s$). En conclusion, l'algue brune a montré une grande activité anticoagulante avec la fraction C contenant majoritairement des alginates.

Des relations complexes existaient entre la structure et la propriété anticoagulante des polysaccharides sulfatés. Une analyse plus approfondie de la relation structure-activité des polysaccharides sulfatés jouera un rôle important dans la compréhension de la propriété anticoagulante (Qi et al., 2012). Après les études sur les propriétés anticoagulantes des algues brunes, il a été admis que les polysaccharides sulfatés extraits de cette algue pourraient être une source alternative pour la production d'un nouvel anticoagulant (Faller, 2011).

II.4. Evaluation de la cytotoxicité

Toute substance biologiquement active est susceptible, à forte ou à faible dose pour une administration prolongée, de produire des effets indésirables, voire nocifs. Les essais de toxicité comme de cytotoxicité accompagnent donc les essais d'activités biologiques.

Dans ce travail, la cytotoxicité est évaluée in vitro, en utilisant les érythrocytes comme modèle cellulaire, afin d'évaluer l'effet hémolytique en présence et en absence de nos extraits.

- **Pour l'extrait éthanolique :** Les résultats enregistrés sont reportés sur la figure 28 :

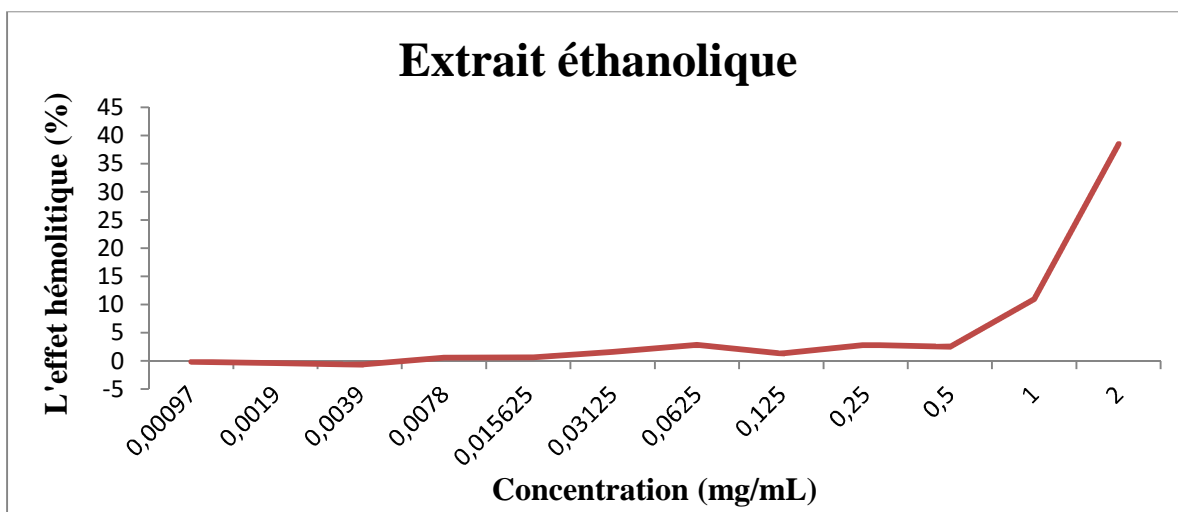


Figure 28 : Effet hémitique de l'extrait éthanolique

Pour une concentration de 2 mg/mL (la plus forte concentration employée) de l'extrait éthanolique contenant les polyphénols, le taux d'hémolyse provoqué est très élevé en comparant à celui du témoin négatif (présence de PBS) ils sont respectivement de $38,51 \pm 0,73\%$ et $5,50\%$. On peut conclure qu'à cette concentration l'extrait éthanolique, est donc cytotoxique. Une diminution de l'effet hémitique est observée à la concentration de 1mg/mL avec un taux d'hémolyse de $10,97 \pm 0,33\%$ qui est moyennement cytotoxique en comparant au témoin négatif.

Pour le même extrait, une gamme de concentrations plus large comprise entre $0,97\mu\text{g/ml}$ et $0,5\text{mg/ml}$ a été employée, les taux d'hémolyse enregistrés sont compris entre $-0,57 \pm 0,14\%$ et $2,48 \pm 0,03\%$ ce qui témoigne de la non cytotoxicité de l'extrait à ces concentrations.

Des différences significatives ($p < 0,05$) sont observées entre la cytotoxicité des différentes concentrations utilisées, (voir l'annexe 4).

L'effet hémitique de l'extrait éthanolique à forte concentration est probablement dû à une attaque membranaire via les protéines membranaires exercé par notre extrait éthanolique, ceci a de fortes doses ($> 2 \text{ mg/ml}$).

➤ **Pour les fractions polysaccharidiques:** les résultats obtenus sont représentés sur la figure 29 :

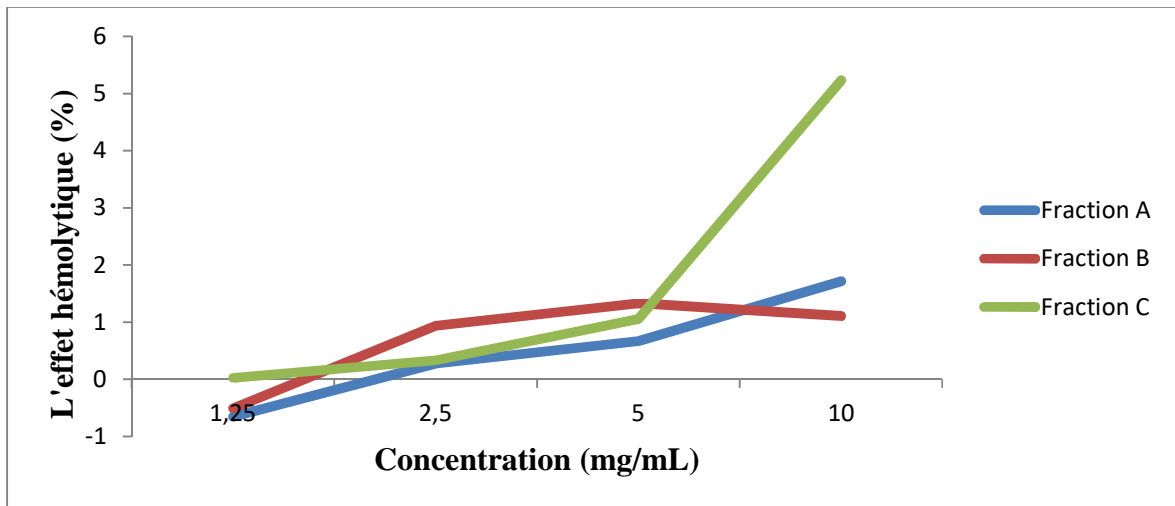


Figure 29 : Effet hémoxytique des polysaccharides sulfatés

Les résultats de la figure 30 montrent qu'à la plus grande concentration (10 mg/mL) en polysaccharides sulfatés des trois fractions étudiés (A, B, C), le taux d'hémolyse étant très faible est respectivement de ($1,71 \pm 0,48\%$; $1,10 \pm 0,20\%$; $5,23 \pm 0,09\%$), suivit d'une diminution remarquable pour toutes les concentrations restantes des trois fractions étudiées. On peut conclure qu'à des concentrations allant de 1,25 à 10 mg/mL de polysaccharides sulfatés, les différentes fractions polysaccharidiques sont donc non cytotoxiques a toutes les concentrations. Bien que l'analyse statistique ait révélé des différences significatives entre l'activité des trois fractions, ($p < 0,05$) (voire l'annexe 4).

Cette absence de cytotoxicité suggère que les polysaccharides sulfatés peuvent être utilisés comme des médicaments prometteurs dans un futur proche notamment comme agent anticoagulant. Par ailleurs, les polysaccharides sulfatés issus des algues marines sont également connus pour leurs propriétés anti-radicalaires et antioxydantes (Faller, 2011), mais d'autres études sont encore nécessaires notamment des essais cliniques.

Conclusion

Ce travail s'est porté sur l'exploration des potentialités naturelles d'une algue marine de la côte de Bejaia, en terme de pouvoir anticoagulant, antioxydant et antimicrobien, ainsi que sur l'étude de sa potentiel cytotoxicité afin de pouvoir extrapoler ses éventuelle activités pour des utilisations en pratique.

L'éthanol à 75% a été choisi comme solvant d'extraction pour son bon rendement en extraction des composés phénoliques totaux, en effet le rendement d'extraction est considérable avec une valeur de 8,524 %. Le dosage quantitatif des principales classes de métabolites secondaires a permis d'enregistrer des teneurs élevées en polyphénols totaux avec $31,647 \pm 2.555$ mg EAG/g d'extrait et en phlorotannins avec $2,570 \pm 0,156$ mg EAT/g d'extrait.

La détermination in vitro de l'activité antioxydante effectuée par le test de piégeage du radical DPPH nous a permis de conclure que l'extrait éthanolique a prouvé son efficacité dans l'amélioration du stress oxydatif avec un EC_{50} de 2,1325 mg/mL.

L'évaluation de l'effet antibactérien montre que toutes les souches bactériennes testées sont sensibles à l'extrait d'algue *P.pavonica*. La meilleure zone d'inhibition est obtenue par la concentration de 10mg/mL de l'extrait vis-à-vis de *S.aureus* avec un diamètre de 17mm. Concernant les fractions polysaccharidiques (A, B et C), elles ont dévoilé leur activité seulement à l'égard du SARM, dont la meilleure activité enregistrée est celle de la fraction A avec une zone de 18mm. Ce qui est un résultat prometteur pour remédier notamment aux problèmes résistances aux antibiotiques.

La détermination des CMI et des CMB a révélé des concentrations actives très intéressantes de l'extrait éthanolique notamment avec une CMI de 1,56 mg/mL pour *E. coli* et *S.aureus*, alors que pour le SARM une CMI de 2.34 mg/mL et une CMB de 2,34 mg/mL ont été enregistrés.

L'évaluation de l'activité anticoagulante montre que l'extrait éthanolique de l'espèce testée a une faible action sur la voie extrinsèque de la coagulation, mais une grande activité dans l'inhibition de la voie intrinsèque. Les polysaccharides algaux extraits ont démontré une activité anticoagulante avec les fractions A (laminaranes) et B (Fucoïdanes) aux concentrations allant de 1,25 à 10 mg/mL et une activité pro-coagulante à la concentration

de 50 mg/mL. Ceci est en accord avec quelques études réalisées. L'algue brune a montré une grande activité anticoagulante avec la fraction C contenant majoritairement des alginates dont la meilleure activité a été observée à une concentration de 50 mg/mL.

L'exploration de l'éventuelle cytotoxicité, réalisée in vitro, sur des érythrocytes, en présence des différentes concentrations d'extrait éthanolique a démontré un effet cytotoxique aux concentrations de 2mg/mL et 1mg/mL avec des pourcentages respectif de $38,51 \pm 0,73\%$ et $10,97 \pm 0,33\%$. En diminuant les concentrations à partir de 0,5mg/mL, aucun effet cytotoxique n'a été enregistré.

En ce qui concerne les différentes fractions polysaccharidiques (A, B et C), aucune cytotoxicité n'a été trouvée aux concentrations allant de 1,25 à 10 mg/mL, ce qui nous conforte dans l'optique de leur utilisation en thérapeutique notamment comme anticoagulant.

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans l'utilisation de substances d'origine naturelle biologiquement active, pour compléter ce travail il serait intéressant de :

- Isoler, de caractériser et d'identifier les différents principes actifs présents dans les extraits d'algues étudiées par chromatographie et technique plus avancée telles que l'HPLC et la RMN.
- Faire des tests in vivo afin d'évaluer la toxicité d'extrait.
- Faire des tests in-vivo de l'activité anticoagulante.
- Tester l'activité antifongique des extraits (*Candida albicans*) ainsi que d'autres souches bactériennes.

A

Abdelhamid, A., Jouini, M., Bel Haj Amor, H., Mzoughi, Z., Dridi, M., ben Said, R., & Bouraoui, A. (2018). Phytochemical Analysis and Evaluation of the Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antinociceptive Potential of Phlorotannin-Rich Fractions from Three Mediterranean Brown Seaweeds. *Marine Biotechnology*, 20(1), 60-74. <https://doi.org/10.1007/s10126-017-9787-z>.

Abu-Ghannam, N., & Rajauria, G. (2013). Antimicrobial activity of compounds isolated from algae. College of Sciences and Health, Dublin Institute of Technology, Ireland, 287-306. <https://doi.org/10.1533/9780857098689.2.287>.

Adaikalaraj, G., Patric, R. D., Johnson, M., Janakiraman, N., & Babu, A. (2012). Antibacterial potential of selected red seaweeds from Manapad coastal areas, Thoothukudi, Tamil Nadu, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S1077-S1080. [https://doi.org/10.1016/s2221-1691\(12\)60364-5](https://doi.org/10.1016/s2221-1691(12)60364-5).

Aguilar-Briseño, J. A., Cruz-Suarez, L. E., Sassi, J. F., Ricque-Marie, D., Zapata-Benavides, P., Mendoza-Gamboa, E., Rodríguez-Padilla, C., & Trejo-Avila, L. M. (2015). Sulphated Polysaccharides from *Ulva clathrata* and *Cladosiphon okamuranus* Seaweeds both Inhibit Viral Attachment/Entry and Cell-Cell Fusion, in NDV Infection. *Marine Drugs*, 13(2), 697-712. <https://doi.org/10.3390/md13020697>.

Akreml, N., Cappoen, D., Anthonissen, R., Verschaeve, L., & Bouraoui, A. (2017). Phytochemical and in vitro antimicrobial and genotoxic activity in the brown algae *Dictyopteris membranacea*. *South African Journal of Botany*, 108, 308-314. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.08.009>.

Al-Enazi, N. M., Awaad, A. S., Zain, M. E., & Alqasoumi, S. I. (2018). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(1), 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.11.001>.

AliGiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4168-4170. <https://doi.org/10.1021/jf001494m>.

Allmendinger, A., Spavieri, J., Kaiser, M., Casey, R., Hingley-Wilson, S., Lalvani, A., Guiry, M., Blunden, G., & Tasdemir, D. (2010). Antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic potential of twenty-three British and Irish red algae. *Phytotherapy Research*, 24(7), 1099-1103. <https://doi.org/10.1002/ptr.3094>.

Amsler, C. D., & Fairhead, V. A. (2006). Defensive and Sensory Chemical Ecology of Brown Algae. *Advances in Botanical Research*, 43, 1-91. [https://doi.org/10.1016/s0065-2296\(05\)43001-3](https://doi.org/10.1016/s0065-2296(05)43001-3).

Anantharaman P et Kannan L. (2008). Seaweeds. Centre of advanced study in marine biology. Annamalai university, India. Pp 214-221.

Assef, A. N. B., da Costa, B. B., Moreira, T. A., do Carmo, L. D., de Souza, T. D. F. G., Alencar, N. M. N., Alves, A. P. N. N., Cinelli, L. P., & Wilke, D. V. (2021). Antitumor and immunostimulating sulfated polysaccharides from brown algae *Dictyota caribaea*. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100142. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100142>.

Athukorala, Y., Lee, K., Kim, S., & Jeon, Y. (2007). Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology*, 98(9), 1711-1716. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.034>

B

Balboa, E. M., Conde, E., Moure, A., Falqué, E., & Domínguez, H. (2013). In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1764-1785. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.026>.

Baldauf, S. L. (2003). The Deep Roots of Eukaryotes. *Science*, 300(5626), 1703-1706. <https://doi.org/10.1126/science.1085544>.

Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., & Lindequist, U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252(1), 79-84. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.051>.

Barzkar, N., Tamadoni Jahromi, S., Poorsaheli, H. B., & Vianello, F. (2019). Metabolites from Marine Microorganisms, Micro, and Macroalgae: Immense Scope for Pharmacology. *Marine Drugs*, 17(8), 464. <https://doi.org/10.3390/md17080464>.

Belattmania, Z., Engelen, A.H., Pereira, H., Serrão, E.A., Custódio, L., Varela, J.C., Zrid, R., Reani, A., Sabour, B., 2018. Fatty acid composition and nutraceutical perspectives of brown seaweeds from the Atlantic coast of Morocco. *Int. Food Res. J.* 25, 1520–1527.

Benyoub N.E., 2011.Détermination de quelques paramètres biochimique chez la rate WISTAR consommant un régime cafeteria enrichi en huile de lin.Université Abou Bekr B el.kaid Tlemcen. Pp 71.

Bengueddour, Y., el Hani, S., el Ibaoui, H., el Ayadi, R., & Brhadda, N. (2014). Etude de l'activité anti oxydante de *Gelidium Sesquipedale* par chromatographie liquide haute

performance. « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, 10, 29-33.

Boisvert, C., Beaulieu, L., Bonnet, C., & Pelletier, É. (2015). Assessment of the Antioxidant and Antibacterial Activities of Three Species of Edible Seaweeds. *Journal of Food Biochemistry*, 39(4), 377-387. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12146>.

Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006) : Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. Pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)

Burlot, A.S. (2016). Valorisation des métabolites d'algues proliférantes par voie enzymatique : applications dans les domaines de la nutrition et santé animale, végétale et humaine, de la cosmétique et de l'environnement. Thèse de Doctorat en Biotechnologie et Chimie Marines. Université de Bretagne-Sud, Faculté des sciences de la Mer. Pp 395.

C

Campos, A. M., Matos, J., Afonso, C., Gomes, R., Bandarra, N. M., & Cardoso, C. (2018). Azorean macroalgae (*Petalonia binghamiae*, *Halopteris scoparia* and *Osmundea pinnatifida*) bioprospection: a study of fatty acid profiles and bioactivity. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(3), 880-890. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14010>.

Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2014). Adding Molecules to Food, Pros and Cons : A Review on Synthetic and Natural Food Additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 377-399. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12065>.

Catarino, M. D., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2017). Fucaceae : A Source of Bioactive Phlorotannins. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1327. <https://doi.org/10.3390/ijms18061327>.

Chbani, A., Mawlawi, H., & Etahiri, S. (2011). Activité antibactérienne des extraits d'une algue brune *Padina pavonica* de la côte méditerranéenne au Liban. *Phytothérapie*, 9(5), 283-286. <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0634-5>.

Choi, H., Engene, N., Smith, J. E., Preskitt, L. B., & Gerwick, W. H. (2010). Crossbyanols A–D, Toxic Brominated Polyphenyl Ethers from the Hawai'ian Bloom-Forming Cyanobacterium *Leptolyngbya crossbyana*. *Journal of Natural Products*, 73(4), 517-522. <https://doi.org/10.1021/np900661g>

Chouana T. (2017). Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge*. . Thèse de Doctorat en Nutrition et Sciences des Aliments. Université de Kasdi Merbah de Ouargla, Faculté des sciences de la vie, sante, agronomie, environnement. Pp 177.

Conde, E., Balboa, E. M., Parada, M., & Falqué, E. (2013). Algal proteins, peptides and amino acids. Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals, 135-180. <https://doi.org/10.1533/9780857098689.1.135>.

Cotas, J., Leandro, A., Pacheco, D., Gonçalves, A. M. M., & Pereira, L. (2020). A Comprehensive Review of the Nutraceutical and Therapeutic Applications of Red Seaweeds (Rhodophyta). *Life*, 10(3), 19. <https://doi.org/10.3390/life10030019>.

Cox, S., Hamilton Turley, G., Rajauria, G., Abu-Ghannam, N., & Jaiswal, A. K. (2013). Antioxidant potential and antimicrobial efficacy of seaweed (*Himantalia elongata*) extract in model food systems. *Journal of Applied Phycology*, 26(4), 1823-1831. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0215-0>.

D

Dausset, J. (1976). Le complex HLA les associations entre HLA et maladies. *Now presse med*, 5:1477-1482.

Davis, T. A., Volesky, B., & Mucci, A. (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Research*, 37(18), 4311-4330. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(03\)00293-8](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(03)00293-8).

Dawidowicz, A. L., Wianowska, D., & Baraniak, B. (2006). The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). *LWT - Food Science and Technology*, 39(3), 308-315. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.01.005>.

De Reviere B. (2002). Biologie et phylogénie des algues. Edition Bellin. Paris (France). 418p.

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>.

Dürig, J., Bruhn, T., Zurborn, K. H., Gutensohn, K., Bruhn, H. D., & Béress, L. (1997). Anticoagulant fucoidan fractions from *Fucus vesiculosus* induce platelet activation in vitro. *Thrombosis Research*, 85(6), 479-491. [https://doi.org/10.1016/s0049-3848\(97\)00037-6](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(97)00037-6).

E

- El Gamal, A. A. (2010).** Biological importance of marine algae. Saudi Pharmaceutical Journal, 18(1), 1-25. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.001>.
- El Shoubaky, G. A., & Salem, E. A. R. (2014).** Active ingredients fatty acids as antibacterial agent from the brown algae *Padina pavonica* and *Hormophysa triquetra*. Journal of Coastal Life Medicine, 535-542. <https://doi.org/10.12980/jclm.2.2014jclm-2014-0025>.
- Eom, S. H., Kim, Y. M., & Kim, S. K. (2012).** Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. Food and Chemical Toxicology, 50(9), 3251-3255. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.06.028>.
- Eom, S. H., Park, J. H., Yu, D. U., Choi, J. I., Choi, J. D., Lee, M. S., & Kim, Y. M. (2011).** Antimicrobial Activity of Brown Alga *Eisenia bicyclis* against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Fisheries and aquatic sciences, 14(4), 251-256. <https://doi.org/10.5657/fas.2011.0251>.
- Eryaman E., Işiksaçan V., Şaroğlu M., Gülanber G. et Işiksaçan N. 1999.** Free Oxygen Radicals and Flap Survival. Turk Arch ORL. 37(3-4): 79-83.

F

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331(5), 372-379. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.02.008>.
- Faller H. (2011).** Les Applications et la Toxicité des Algues Marines. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Limoges, Faculté de pharmacie. pp 131.
- Favier, A., (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, p:108-111.
- Fiorucci S. (2006).** Activité biologique de composés de la famille des flavonoides : approche par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire, thèse de doctorat en pharmacie, université de Nice-Sophia Antipolis. 211p.
- Fitton, J. H., Stringer, D. N., & Karpinić, S. S. (2015).** Therapies from Fucoidan : An Update. Marine Drugs, 13(9), 5920-5946. <https://doi.org/10.3390/md13095920>.
- Fourasté, I. (2000).** Rappel de la toxicité de quelques plantes. Revue Française des Laboratoires, 2000(323), 51-55. [https://doi.org/10.1016/s0338-9898\(00\)80268-1](https://doi.org/10.1016/s0338-9898(00)80268-1).

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

G

Gager, L. (2019). Composés phénoliques d'algues brunes bretonnes : de la ressources algale à leur extraction éco-responsable et caractérisation chimique jusqu'à leur formulation en cosmétique. Thèse de Doctorat en Biologie Marine. Université de Bretagne Occidentale, Faculté des sciences de la Mer et du littoral. Pp 1-325.

García-Alonso, M., Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2004). Evaluation of the antioxidant properties of fruits. Food Chemistry, 84(1), 13-18. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(03\)00160-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00160-2).

Garon-Lardiere, S. (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse de Doctorat en Chimie. Université de Bretagne Occidentale, Faculté des sciences de la matière, de l'information et du vivant. Pp 1-226.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., & Georgakis, S. A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. Meat Science, 76(1), 172-181. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.026>.

Godek, E., & Grządka, E. (2019). Alginates - structure, properties, applications. 74.1, 109-124. 10.17951/aa.2019.74.1.109-124.

Gómez-Ordóñez, E., Jiménez-Escrig, A., & Rupérez, P. (2012). Molecular weight distribution of polysaccharides from edible seaweeds by high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC). Talanta, 93, 153-159. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.01.067>.

Grauffel, V., Kloareg, B., Mabeau, S., Durand, P., & Jozefonvicz, J. (1989). New natural polysaccharides with potent antithrombic activity: fucans from brown algae. Biomaterials, 10(6), 363-368. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(89\)90127-0](https://doi.org/10.1016/0142-9612(89)90127-0).

Grycova, L., Dostal, J., & Marek, R. (2007). Quaternary Protoberberine Alkaloids. ChemInform, 38(19). <https://doi.org/10.1002/chin.200719225>.

Guiry, M.D., Guiry, G.M., (2018). Algae Base, World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 20 March 2018.

Güner, A., Nalbantsoy, A., Sukatar, A., & Karabay Yavaşoğlu, N. L. (2019). Apoptosis-inducing activities of *Halopteris scoparia* L. Sauvageau (Brown algae) on

cancer cells and its biosafety and antioxidant properties. *Cytotechnology*, 71(3), 687-704. <https://doi.org/10.1007/s10616-019-00314-5>.

Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2011). Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science & ; Technology*, 22(6), 315-326. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.011>.

H

Hadj Salem, J. (2009). Extraction identification caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria Retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. Institut national polytechnique de Lorraine, Faculté des Sciences du Génie Chimique. Pp 1-218.

Hafian, H., Furon, V., & Mauprivez, C. (2003). Orientation diagnostique devant les anomalies du temps de saignement, du temps de céphaline activé, du temps de Quick et de l'international normalized ratio. *Médecine Buccale Chirurgie Buccale*, 9(3), 185-190. <https://doi.org/10.1051/mbcb/2003015>.

Harrar, A. N. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Ferhat Abbas – Sétif. Pp 25.

Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3), 1126-1134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010>.

Hellio, C., Marechal, J. P., Véron, B., Bremer, G., Clare, A. S., & le Gal, Y. (2004). Seasonal Variation of Antifouling Activities of Marine Algae from the Brittany Coast (France). *Marine Biotechnology*, 6(1), 67-82. <https://doi.org/10.1007/s10126-003-0020-x>.

Horincar, V. B., Parfene, G., Tyagi, A. K., Gottardi, D., Dinică, R., Guerzoni, M. E., & Bahrim, G. (2014). Extraction and characterization of volatile compounds and fatty acids from red and green macroalgae from the Romanian Black Sea in order to obtain valuable bioadditives and biopreservatives. *Journal of Applied Phycology*, 26(1), 551-559. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0053-0>.

I

Ivanov I. 2008. Free radicals and cares for aging pets. *Trakia Journal of Sciences*. 6 (1): 152-154.

J

Jacobsen, C., Sørensen, A. D. M., Holdt, S. L., Akoh, C. C., & Hermund, D. B. (2019). Source, Extraction, Characterization, and Applications of Novel Antioxidants from Seaweed. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10(1), 541-568. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121401>.

Jassbi, A. R., Mohabati, M., Eslami, S., Sohrabipour, J., & Miri, R. (2013). Biological Activity and Chemical Constituents of Red and Brown Algae from the Persian Gulf. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12(3), 339-348. [https://doi.org/10.0000/PMID24250640\(dummy\)](https://doi.org/10.0000/PMID24250640(dummy)).

Jimenez-Lopez, C., Pereira, A. G., Lourenço-Lopes, C., Garcia-Oliveira, P., Cassani, L., Fraga-Corral, M., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021). Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits. *Food Chemistry*, 341, 128262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128262>.

Josiane E. (2019). Fractionnement bioguidé de *Laurencia papillosa* de la côte libanaise : identification du cholest-4-èn-3-one, un nouvel agoniste de LXR cytotoxique pour les cellules du cancer du sein. Thèse de Doctorat en Biologie, Biochimie Cellulaire et Moléculaire. Université de Nantes, Faculté des Sciences de la Mer et du littoral, p 219.

K

Kadi, M., & Sebaihi, L. (2021). Caractérisation d'un extrait lipidique d'une algue brune en vue d'un enrichissement d'une huile de table. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Spécialité microbiologie appliquée. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. Pp42.

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*, 3(02), 43-51. <https://doi.org/10.7324/japs.2013.30208>.

Karpiński, T. M., & Adamczak, A. (2019). Fucoxanthin—An Antibacterial Carotenoid. *Antioxidants*, 8(8), 239. <https://doi.org/10.3390/antiox8080239>.

Kelman, D., Posner, E. K., McDermid, K. J., Tabandera, N. K., Wright, P. R., & Wright, A. D. (2012). Antioxidant Activity of Hawaiian Marine Algae. *Marine Drugs*, 10(12), 403-416. <https://doi.org/10.3390/md10020403>.

Keramane, B., Touati, N., Saidani, K., Taguelmimt, A., Zair, I., & Bedjou, F. (2020). Assessment of Antioxidant and Antibacterial Activities of *Cystoseira Mediterranea* and

Padina Pavonica from Algerian North-East for A Potential Use as a Food Preservative. *Acta Alimentaria*, 49(4), 498-504. <https://doi.org/10.1556/066.2020.49.4.16>.

Koivikko R. (2008). Brown algae phlorotannin improving and applying chemical methodes Turum Yhopisto. Pp 61.

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. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-0984-2>.

Koné, W. M., Atindehou, K. K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., & Dosso, M. (2004). Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire : screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1), 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.006>.

Kornprobst J. M. (2005). Substances naturelles d'origine marine. Chimiodiversité, pharmacodiversité, biotechnologie. Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp: 1830.

Koşar, M., Dorman, H., & Hiltunen, R. (2005). Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chemistry*, 91(3), 525-533. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.029>.

Ktari L., Ismail-Ben Ali A., Ben Redjem Y., Langar H. et El Bour M. (2010). Antifouling activity and chemical investigation of the brown alga *Dictyota fasciola* (Dictyotales) from Tunisian coast. *Cahiers de Biologie Marine*, 51, 109-115.

Kuda, T., Tsunekawa, M., Hishi, T., & Araki, Y. (2005). Antioxidant properties of dried 'kayamo-nori', a brown alga *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyceae). *Food Chemistry*, 89(4), 617-622. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.020>.

L

Lakhdar F. (2018). Contribution à l'étude des potentialités antiproliférative et antibactérienne des algues brunes et rouges de la côte d'El Jadida pour une valorisation médicale et environnementale. Thèse de Doctorat en Biologie des organismes-Biotechnologie animales, végétales et microbiennes. Université de Nantes, Faculté des Sciences de la Mer et du littoral, P 207.

Lauritano, C., Andersen, J. H., Hansen, E., Albrigtsen, M., Escalera, L., Esposito, F., Helland, K., Hanssen, K. Ø., Romano, G., & Ianora, A. (2016). Bioactivity Screening of Microalgae for Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anticancer, Anti-Diabetes, and Antibacterial Activities. *Frontiers in Marine Science*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00068>.

Lavanya, R., & Veerappan, N. (2012). Pharmaceutical Properties of Marine Macroalgal Communities from Gulf of Mannar against Human Fungal Pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S320-S323. [https://doi.org/10.1016/s2222-1808\(12\)60174-1](https://doi.org/10.1016/s2222-1808(12)60174-1).

Leclerc V. & Floc'h J.Y. (2010). Les Secret des Algues. Editions Quae. Editions Quae. France.

Li AH, Cheng K, Wong C, King-Wai F, Feng C & Yue J. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. 102, 771–776.

Liu, X.-C., Gao, J.-M., Liu, S., Liu, L., Wang, J.-R., Qu, X.-J., Cai, B., & Wang, S.-L. (2015). Targeting apoptosis is the major battle field for killing cancers. *World Journal of Translational Medicine*, 4(3), 69–77. <https://doi.org/10.5528/wjtm.v4.i3.69>.

Lopes, G., Sousa, C., Silva, L. R., Pinto, E., Andrade, P. B., Bernardo, J., Mouga, T., & Valentão, P. (2012). Can Phlorotannins Purified Extracts Constitute a Novel Pharmacological Alternative for Microbial Infections with Associated Inflammatory Conditions ? *PLoS ONE*, 7(2), e31145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031145>.

Luis, J. C., Valdés, F., Martín, R., Carmona, A. J., & Díaz, J. G. (2006). DPPH radical scavenging activity of two flavonol glycosides from *Aconitum napellus* sp. lusitanicum. *Fitoterapia*, 77(6), 469-471. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.05.018>.

M

Manneville O. Les lichens et algues de nos cotes, surtout rocheuse. LECA-SAJF-UJF Grenoble. Fevrier 2009. Complement a la conference de Gentiana..

Mao, W., Zang, X., Li, Y., & Zhang, H. (2006). Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity. *Journal of Applied Phycology*, 18(1), 9-14. <https://doi.org/10.1007/s10811-005-9008-4>.

Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., Shinohara, A., & Nakata, M. (1999). Evaluation of the Antioxidant Activity of Environmental Plants : Activity of the Leaf Extracts from Seashore Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1749-1754. <https://doi.org/10.1021/jf980864s>.

Maataoui, B.S., Hmeyene, A., Hilali, S., (2006). Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*), *Lebanese Science Journal*, (1). Pp 3-8.

Mezdour H. (2018). Potentiel antioxydant des algues des cotes de l'est algérien. Thèse de Doctorat en biotechnologie et biologie de l'Environnement. Université des Frères Mentouri Constantine1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Pp 119.

Michel, T., Destandau, E., le Floch, G., Lucchesi, M. E., & Elfakir, C. (2012). Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chemistry*, 131(3), 754-760. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.029>.

Milardović, S., Iveković, D., & Grabarić, B. S. (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68(2), 175-180. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2005.06.005>.

Mompou, B., Lemanie, B., Surbled, M. (1998). Extraction des polyphénols du laboratoire à la production industrielle .In : Polyphénols 96. Edition INRA, p 31-43.

Montero, L., del Pilar Sánchez-Camargo, A., Ibáñez, E., & Gilbert-López, B. (2018). Phenolic Compounds from Edible Algae : Bioactivity and Health Benefits. *Current Medicinal Chemistry*, 25(37), 4808-4826. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170523120101>.

Mourão, P. A. S., Pereira, M. S., Pavão, M. S. G., Mulloy, B., Tollefsen, D. M., Mowinckel, M. C., & Abildgaard, U. (1996). Structure and Anticoagulant Activity of a Fucosylated Chondroitin Sulfate from Echinoderm. *Journal of Biological Chemistry*, 271(39), 23973-23984. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.39.23973>.

Mouritsen, O. G. (2015). Algues marines. Propriétés, usages, recettes. DELACHAUX.

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., & Agrawal, T. (2010). Marine derived pharmaceuticals- Development of natural health products from marine biodiversity. *International Journal of ChemTech Research*, 2(4), 2198-2217.

N

Nie, J., Chen, D., Ye, J., Lu, Y., & Dai, Z. (2021). Optimization and kinetic modeling of ultrasonic-assisted extraction of fucoxanthin from edible brown algae *Sargassum fusiforme* using green solvents. *Ultrasonics Sonochemistry*, 77, 105671. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105671>.

O

Okoko, T., & Ere, D. (2012). Antioxidant activities of *Solenostemon monostachyus* leaf extract using in vitro methods. *Scientific Research and Essays*, 7(6), 621-626. <https://doi.org/10.5897/sre10.743>

Oppliger Zan LV. (2015). Reproduction at the range limits of laminariales at the Chilean and european coasts. Thèse de Doctorat en diversité du vivant. Université pierre et marie curie. Pp 173.

Otero, P., López-Martínez, M. I., & García-Risco, M. R. (2019). Application of pressurized liquid extraction (PLE) to obtain bioactive fatty acids and phenols from *Laminaria ochroleuca* collected in Galicia (NW Spain). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 164, 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.057>.

Otero, P., Quintana, S., Reglero, G., Fornari, T., & García-Risco, M. (2018). Pressurized Liquid Extraction (PLE) as an Innovative Green Technology for the Effective Enrichment of Galician Algae Extracts with High Quality Fatty Acids and Antimicrobial and Antioxidant Properties. *Marine Drugs*, 16(5), 156. <https://doi.org/10.3390/md16050156>.

Othmani A. (2014). Médiation chimique entre l'algue brune méditerranéenne *Taonia atomaria* et la communauté bactérienne associée à sa surface. Thèse de Doctorat en Ecologie Chimique Marine. Université de Toulon. Pp 273.

Oucif H. (2018). Valorisation des algues de la côte Ouest algérienne: potentiel antioxydant et hormonal. Thèse de Doctorat en Biotechnologie. Université Oran, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Pp 189.

P

Pacheco, D., García-Poza, S., Cotas, J., Gonçalves, AMM., & Pereira L. (2020). Fucoïdan - a valuable source from the ocean to pharmaceutical. *Frontiers in Drug, Chemistry and Clinical Research*, 3(1). <https://doi.org/10.15761/fdccr.1000141>.

Parsaeimehr, A., & Lutz, G. A. (2016). Algae as a novel source of antimicrobial compounds: Current and future perspectives. Elsevier Inc. All rights reserved., 377-396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803642-6.00018-6>, p

Payri, C. E., N'Yeurt, A. D. R., & Orempuller, J. (2000). *Algae of French Polynesia*. Au Vent de Îles, Editions Tahiti.

Pérez, M.J., Falqué, E., & Domínguez, H. (2016). Antimicrobial Action of Compounds from Marine Seaweed. *Marine Drugs*, 14(3), 52. <https://doi.org/10.3390/md14030052>.

Pérez R. (1997). Ces algues qui nous entourent. In: Arbault, S., Barbaroux, O., Philiponeau, P., Rouxel, C. (Eds.). France, Plouzané, Editions IFREMER, pp: 272.

Pierre G. (2010). Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion. Thèse de Doctorat en Biochimie. Université de La Rochelle, Faculté des sciences pour l'Environnement Gay Lussac. Pp 293.

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

Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, 4, 25-39.

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

Q

Qi, X., Mao, W., Gao, Y., Chen, Y., Chen, Y., Zhao, C., Li, N., Wang, C., Yan, M., Lin, C., & Shan, J. (2012). Chemical characteristic of an anticoagulant-active sulfated polysaccharide from *Enteromorpha clathrata*. Carbohydrate Polymers, 90(4), 1804-1810. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.077>.

R

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

Ráčková, L., Májektivá, M., Košťálová, D., & Štefek, M. (2004). Antiradical and antioxidant activities of alkaloids isolated from *Mahonia aquifolium*. Structural aspects. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 12(17), 4709-4715. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.06.035>.

Rajauria, G., Foley, B., & Abu-Ghannam, N. (2017). Characterization of dietary fucoxanthin from *Himanthalia elongata* brown seaweed. Food Research International, 99, 995-1001. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.023>.

Rahelivao, M. P., Gruner, M., Andriamanantoanina, H., Andriamihaja, B., Bauer, I., & Knölker, H. J. (2015). Red Algae (Rhodophyta) from the Coast of Madagascar : Preliminary Bioactivity Studies and Isolation of Natural Products. Marine Drugs, 13(7), 4197-4216. <https://doi.org/10.3390/md13074197>.

Rana, S., Valentin, K., Riehl, J., Blanfuné, A., Reynes, L., Thibaut, T., Bartsch, I., Eichinger, L., & Glöckner, G. (2021). Analysis of organellar genomes in brown algae reveals an independent introduction of similar foreign sequences into the mitochondrial genome. Genomics, 113(2), 646-654. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.01.003>.

Ribereau-Gayon, P. (1968). Notion générales sur les composés phénoliques .In «Les composés phénoliques des végétaux » .Ed : Dunod. 1-27.

Richard, A. A. D. (2016). Production pilote de polysaccharides sulfatés issus de macroalgues marines à visées anticoagulante et cosmétique anti-âge. Thèse de Doctorat en Valorisation chimique et biologique des agroressources. Université de La Rochelle, Faculté Sciences agricoles. Pp 215.

Riviere, D., Roche, S., Rochefort, G., (2017). In: Doris, 05/02/2017: Padina Pavonica (Linnaeus) Thivy, <Http://Doris.Ffessm.Fr/Ref/Specie/1337>.

Rioux, L. E., Turgeon, S. L., & Beaulieu, M. (2007). Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. Carbohydrate Polymers, 69(3), 530-537. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.01.009>.

Rodríguez-Bernaldo De Quirós, A., Frecha-Ferreiro, S., Vidal-Pérez, A. M., & López-Hernández, J. (2010). Antioxidant compounds in edible brown seaweeds. European Food Research and Technology, 231(3), 495-498. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1295-6>.

Rosa, G. P., Tavares, W. R., Sousa, P. M. C., Pagès, A. K., Seca, A. M. L., & Pinto, D. C. G. A. (2020). Seaweed Secondary Metabolites with Beneficial Health Effects: An Overview of Successes in In Vivo Studies and Clinical Trials. Marine Drugs, 18(1), 8. <https://doi.org/10.3390/md18010008>.

Ruiz G. (2005). Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges. Thèse de Doctorat en Chimie appliquée - Chimie des Substances Naturelles. Université de Limoges, Faculté des Sciences et Techniques. Pp 230.

S

Saidani K., Bedjou F., (2011). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre espèces d'algues marines de la cote de Bejaia, Le 2ème Séminaire International sur les Plantes Médicinales SIPM'2. Université Abderrahmane mira de Bejaia. Pp 60.

Saidani, K. (2010). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre algues marines : Cystoseira tamariscifolia, Padina pavonica, Rhodomela confervoides, et Ulva lactuca de la cote de Bejaia. Thèse de Magister en Microbiologie appliquée. Université de Bejaia, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie. Pp 38-43.

Sakthivel, J., Gnanaprakasam, A. R., Manivachagam, C., & Venugopalan, V. (2019). Anti-MRSA Activity of Padina tetrastomatica, Padina gymnospora from Gulf of Mannar Biosphere. An international scientific journal, 115, 15-26.

Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Seca, A. M. L., Pinto, D. C. G. A., Michalak, I., Trincone, A., Mishra, A. P., Nigam, M., Zam, W., & Martins, N. (2019). Current Trends on Seaweeds: Looking at Chemical Composition, Phytopharmacology, and Cosmetic Applications. *Molecules*, 24(22), 4182. <https://doi.org/10.3390/molecules24224182>.

Sánchez-Camargo, A. D. P., Montero, L., Stiger-Pouvreau, V., Tanniou, A., Cifuentes, A., Herrero, M., & Ibáñez, E. (2016). Considerations on the use of enzyme-assisted extraction in combination with pressurized liquids to recover bioactive compounds from algae. *Food Chemistry*, 192, 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.098>.

Santoyo, S., Rodríguez-Meizoso, I., Cifuentes, A., Jaime, L., García-Blairsy Reina, G., Señorans, F. J., & Ibáñez, E. (2009). Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT - Food Science and Technology*, 42(7), 1213-1218. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.012>.

Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117(1), 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.03.003>.

Shannon, E., & Abu-Ghannam, N. (2016). Antibacterial Derivatives of Marine Algae : An Overview of Pharmacological Mechanisms and Applications. *Marine Drugs*, 14(4), 81. <https://doi.org/10.3390/md14040081>.

Singleton, V.L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*. Vol.16, p144-158.

Soares, A. R., Robaina, M. C. S., Mendes, G. S., Silva, T. S. L., Gestinari, L. M. S., Pamplona, O. S., Yoneshigue-Valentin, Y., Kaiser, C. R., & Romanos, M. T. V. (2012). Antiviral activity of extracts from Brazilian seaweeds against herpes simplex virus. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(4), 714-723. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2012005000061>.

Sonani, R. R., Rastogi, R. P., & Madamwar, D. (2015). Antioxidant Potential of Phycobiliproteins: Role in Anti-Aging Research. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 04(02), 1-8. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000172>.

Stirk, W. A., Reinecke, D. L., & van Staden, J. (2007). Seasonal variation in antifungal, antibacterial and acetylcholinesterase activity in seven South African seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 19(3), 271-276. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9134-7>.

Sudhakar, M. P., Ananthalakshmi, J. S., & Beena, B. N. (2013). Extraction, purification and study on antioxidant properties of fucoxanthin from brown seaweeds. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(7), 169-175.

T

Tan, S. P., O'Sullivan, L., Prieto, M. L., Gardiner, G. E., Lawlor, P. G., Leonard, F., Duggan, P., McLoughlin, P., & Hughes, H. (2012). Extraction and bioautographic-guided separation of antibacterial compounds from *Ulva lactuca*. *Journal of Applied Phycology*, 24(3), 513-523. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9747-3>.

Tanniou A., Serrano Leon, E., Laurent, V., Elena, I., Mendiola, J. A., Stéphane, C., Nelly, K., Stéphane, L. B., Luc, M., & Valérie, S. P. (2013). Green improved processes to extract bioactive phenolic compounds from brown macroalgae using *Sargassum muticum* as model. *Talanta*, 104, 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.088>.

Taskin, E., Caki, Z., Ozturk, M., Taskin, E., 2010. Assessment of in vitro antitumoral and antimicrobial activities of marine algae harvested from the eastern Mediterranean sea. *Afr. J. Biotechnol.* 9, 4272–4277.

Tefiani, C., Riazi, A., Youcefi, F., Aazza, S., Gago, C., Faleiro, M. L., Pedro, L. G., Barroso, J. G., Figueiredo, A. C., Megías, C., Cortés-Giraldo, I., Vioque, J., & Miguel, M. G. (2015). *Ammoides pusilla*(Apiaceae) and *Thymus munbyanus*(Lamiaceae) from Algeria essential oils : chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antiproliferative activities. *Journal of Essential Oil Research*, 27(2), 131-139. <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1006739>.

Teixeira, V. L., Lima, J. C. R., Lechuga, G. C., Ramos, C. J. B., Pereira, M. C. D. S., Calvet, C. M., & Bourguignon, S. C. (2019). Natural products from marine red and brown algae against *Trypanosoma cruzi*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(6), 735-738. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.08.003>.

Trigui, M., Gasmi, L., Zouari, I., & Tounsi, S. (2012). Seasonal variation in phenolic composition, antibacterial and antioxidant activities of *Ulva rigida* (Chlorophyta) and assessment of antiacetylcholinesterase potential. *Journal of Applied Phycology*, 25(1), 319-328. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9866-5>.

Trilaksana, A. C., Kirana, I., & Arisandi. (2020). Effectiveness of brown algae extract (*Sargassum* sp) 15% in dissolving root canal smear layer (a SEM study). *Medicina Clínica Práctica*, 3, 100095. <https://doi.org/10.1016/j.mcpsp.2020.100095>.

Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., & Polat, G. (2007). Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, 12(3), 484-496. <https://doi.org/10.3390/12030484>.

U

Usov, A.I., Zelinsky, N.D., (2013). 2 - Chemical structures of algal polysaccharides, in: Domínguez, H. (Ed.), *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*,

Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 23–86.

V

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2008). Phenolic Compound Biochemistry (2006e éd.). Springer.

Viala, A., botta, A. (2007). Toxicologie. Lavoisier. 2eme Ed. Tec & Doc, France p:54.

Viuda-Martos, M., Mohamady, M. A., Fernández-López, J., Abd ElRazik, K. A., Omer, E. A., Pérez-Alvarez, J. A., & Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. Food Control, 22(11), 1715-1722. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.003>.

W

Wehr, J. D. (2003). Brown algae. Freshwater Algae of North America Copyright © 2003, Elsevier Science (USA). All rights of reproduction in any form reserved., 757.

Wei W., Shi-Xin W. et Hua-Shi G. (2012). The Antiviral Activities and Mechanisms of Marine Polysaccharides: An Overview. Marine Drugs. 10(12), 2795–2816.

Werner T. (2013). Presence of phenolic compounds in acetone extracts from *Saccharina latissima* and their antibacterial and ferrous ion-chelating activities. *Industrial Biotechnology*. Chalmers university of Technology. p1-27.

Y

Yan, X., Chuda, Y., Suzuki, M., & Nagata, T. (1999). Fucoxanthin as the Major Antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a Common Edible Seaweed. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 63(3), 605-607. <https://doi.org/10.1271/bbb.63.605>.

Z

Zair, I., & Taguelmimt, A. (2019). Activités biologiques des algues marines. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Spécialité Biotechnologie Microbienne. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. Pp 40.

Zehlila A. (2018). Caractérisation structurale et fonctionnelle des métabolites de l'algue verte *Ulva rigida* au moyen d'une approche protéomique. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Université de Rouen Normandie, Faculté des Sciences de Tunis. Pp 199.

Zhang, H., Tang, Y., Zhang, Y., Zhang, S., Qu, J., Wang, X., Kong, R., Han, C., & Liu, Z. (2015). Fucoxanthin: A Promising Medicinal and Nutritional Ingredient. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 1-10
<https://doi.org/10.1155/2015/723515>.

Zhang, X., & Thomsen, M. (2019). Biomolecular Composition and Revenue Explained by Interactions between Extrinsic Factors and Endogenous Rhythms of *Saccharina latissima*. Marine Drugs, 17(2), 107. <https://doi.org/10.3390/md17020107>.

Zhang, Z., Till, S., Jiang, C., Knappe, S., Reutterer, S., Scheiflinger, F., Szabo, C. M., & Dockal, M. (2014). Structure-activity relationship of the pro- and anticoagulant effects of *Fucus vesiculosus* fucoidan. Thrombosis and Haemostasis, 111(03), 429-437.
<https://doi.org/10.1160/th13-08-0635>.

Web-graphie:

De Fressenel, R., Lhote, A., Guinet, S., Cornet-Grisey, L., Ouhabd, L., Bossart, L., Cornillet, L., Minne, P.Y., Lamontagne, C., (2015). www.passeportsanté.net

Gurvan et al, 2016). <https://slideplayer.fr/slide/10183090/>

Gutierrez et Gilles, 1995

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwi9qPWE3Ob4AhUHkWoFHY1qAMYQFnoECBwQAQ&url=https%3A%2F%2Fpatentimages.storage.googleapis.com%2F0a%2Fad%2F58%2F9227db131ec4f8%2FEP0655250A1.pdf&usg=AOvVaw2qaGAFWXnjML3KaQv4ykVh>

Jack Harrang | 23 août 2008; <http://souslesmers.free.fr/f.php?e=690>

Laminaria digitata Postée le 19 octobre 2012 par Pelot (Contact)

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjH7O21nLr4AhUM_qQKHZ7JCYEQFnoECBAQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.visoflora.com%2Fphotos-nature%2Fphoto-laminaria-digitata-1.html&usg=AOvVaw0_EpDe6XXwrK9EVOz4qQNe

Les algues et leur classification - Encyclopédie de l'environnement. Répartition des divers groupes d'algues eucaryotes, au sens large, dans l'arbre phylogénétique [Source : inspiré de Lecointre, 2004].

Taonia atomaria (Woodward) J.Agardh, 2021 <https://doris.ffessm.fr/ref/specie/4294>.



Annexe

Annexe 01 : les courbes d'étalonnages.

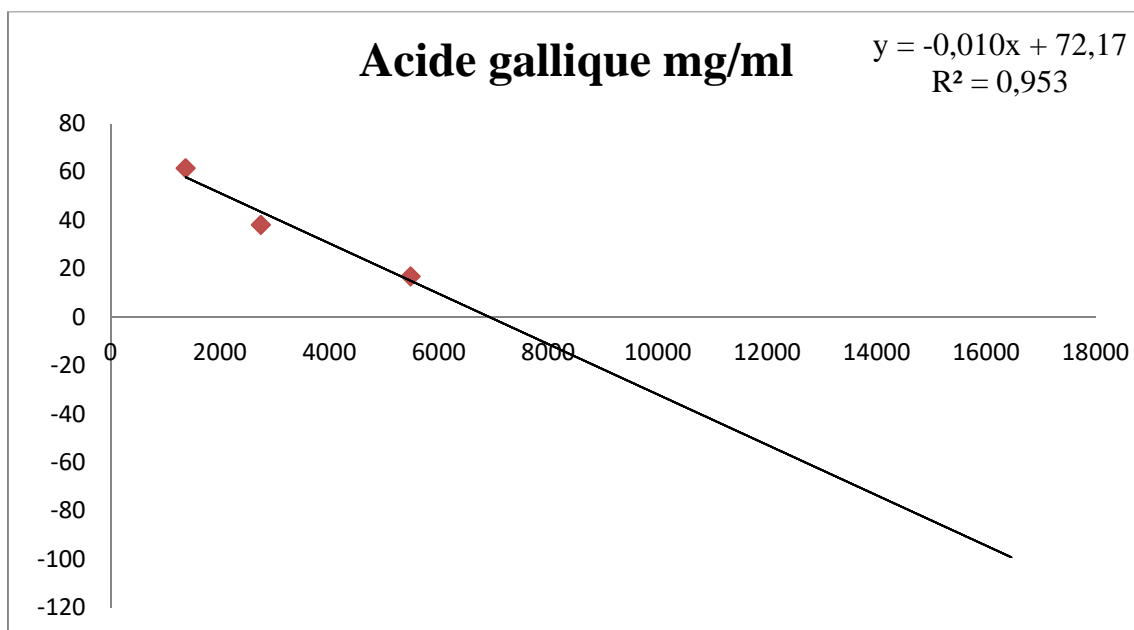


Figure 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage du DPPH.

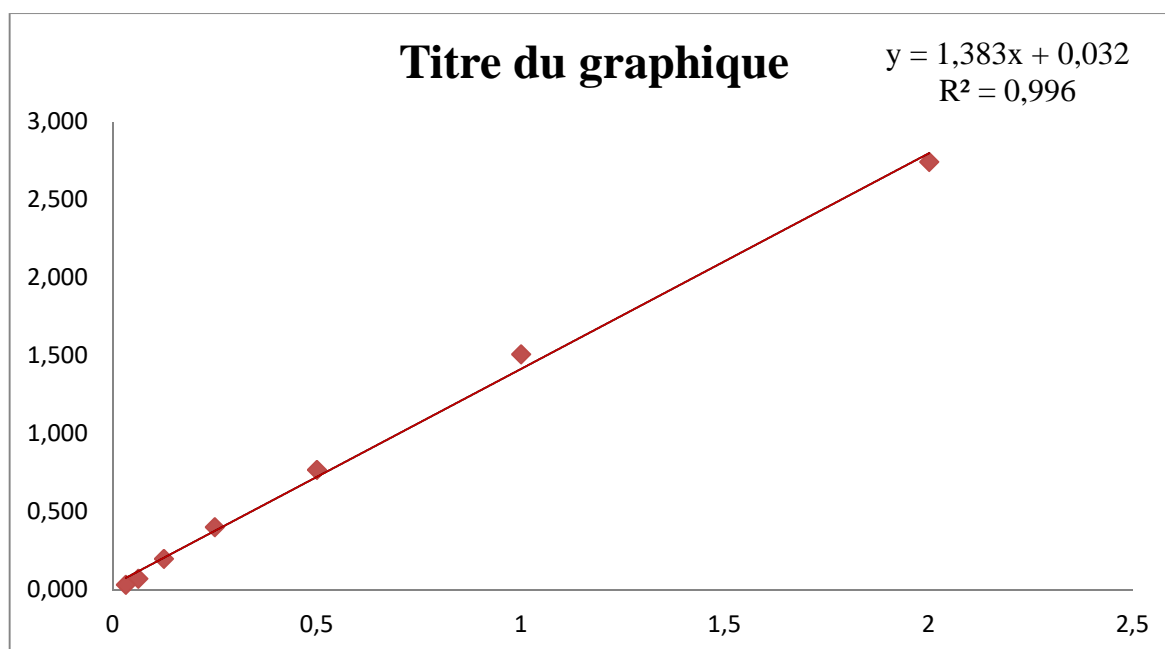


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

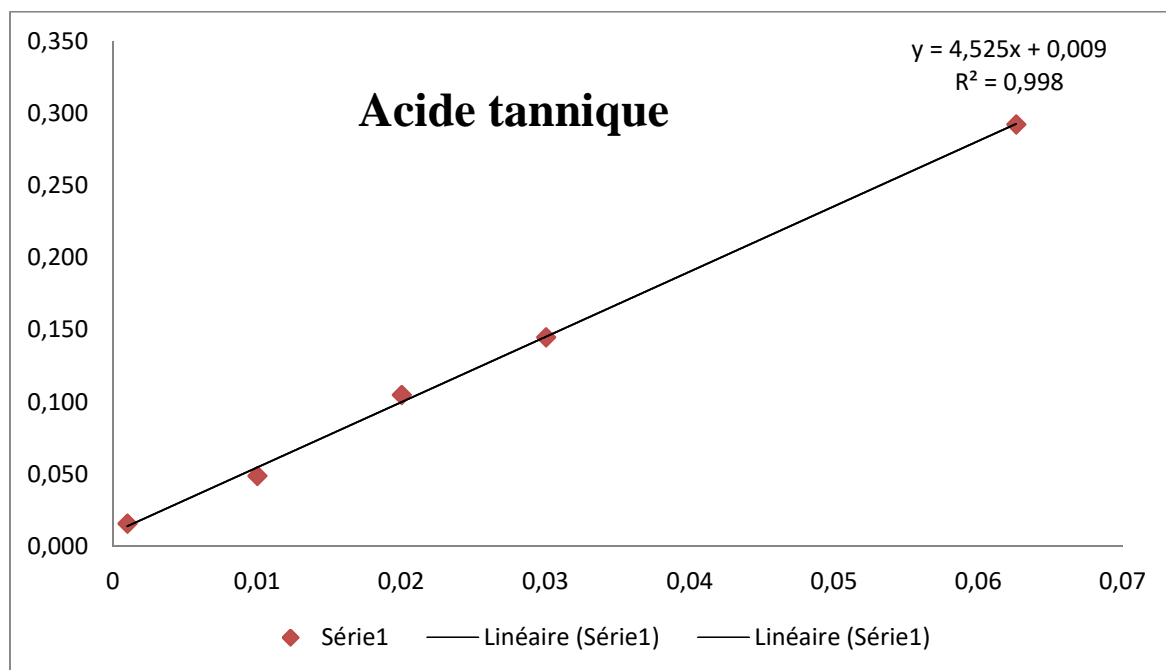


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des phlorotannins.

Annexe 02 : Matériels et Produits utilisés.

Appareillage :

- * Autoclave.
- * Bain marie.
- * Balance de précision.
- * Etuve de 37C°.
- * Etuve ventilé de 40 C°.
- * PH mètre.
- * Plaques agitatrice.
- * Plaque chauffante agitatrice.
- * Spectrophotomètre UV-visible.
- * Vortex.
- * Centrifugeuse SIGMA/ROTOFIX 32A.
- * Lecteur microplaque : appareil ILLISA (Stat Fax – 2100).



Figure 04 : Centrifugeuse ROTOFIX 32A



Figure 05: appareil ILLISA (Stat Fax –

Produits chimiques :

- * Acétone (C₃H₆O); 99,78%; MM 58g/mol, d=0,819 (BIOCHEM).
- * Carbonate de sodium (Na₂CO₃).
- * Chlorure de sodium (NaCl).
- * Eau physiologique (9g de NaCl dans un litre d'eau distillée).
- * Folin-Ciocalteu.
- * Ethanol (C₂ H₆O).
- * Tween 20.
- * Acide gallique.
- * Acide tannique.
- * Acide acétique.
- * DMBA: Diméthoxybenzaldéhyde.
- * DPPH: Radical diphenyl picryl-hydrazyl.
- * Acide chlorodrique (HCL).
- * Quercitine.

Annexe03: Composition (pour un litre) des milieux de culture utilisés (Guiraud, 1998).

Gélose Mueller Hinton

Extrait de viande 2 g
Hydrolysate acide de caséine 17,5 g
Amidon 1,5 g
Agar 10 g
PH 7,4

Gélose PCA

Peptone 5 g
Extrait de levure 2,5 g
Glucose 1 g
Agar 15 g
PH 7

Bouillon Mueller Hinton

Infusion de viande 2,0
Hydrolysate de caséine 17,5
Amidon de maïs 1,5
Ca²⁺ 20 - 25 mg/L
Mg²⁺ 10 - 12,5 mg/L
PH final 7,3 ± 0,1

Gélose nutritive

Tryptone	5,0g
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar agar bactériologique	12,0 g

Tampon phosphate salin (PBS) :

Pour préparer 1000mL du PBS :

Concentration et réactifs	Quantité
137 mM NaCl	8,0 g/l
2,7 mM KCl	0,2 g/l
10 mM Na ₂ HPO ₄	1,42 g/l
1,76 mM KH ₂ PO ₄	0,24 g/l

- 800 mL ont été versés dans un erlène, puis les différentes quantités pesées ont été rajouté, ensuite additionné avec du l'eau distillée jusqu'au 1000 mL.

Réactif du travail (DMBA 2% et HCl 6%) : 10 mL

- ❖ HCl 6%: 0,3 mL HCl + 4,7 mL CH₃COOH.
- ❖ DMBA 2%: 0,1 g DMBA + 5mL CH₃COOH.

Carbonate de sodium :

- ❖ 20 g du Na₂CO₃ plus 100 mL d'eau distillé.

Annexe 04 : Résultats de l'étude statistique

Tableau II : Etude statistique du temps Cephaline Kaolin de la fraction A (TCK).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
A 10 vs A 50	22,0000	48,3502	2,2622	< 0,0001	Oui
A 10 vs A 1,25	8,2500	16,2172	2,2622	< 0,0001	Oui
A 10 vs A 2,5	8,0000	17,5819	2,2622	< 0,0001	Oui
A 10 vs A 5	5,5500	12,1974	2,2622	< 0,0001	Oui
A 5 vs A 50	16,4500	36,1528	2,2622	< 0,0001	Oui
A 5 vs A 1,25	2,7000	5,3074	2,2622	0,0005	Oui
A 5 vs A 2,5	2,4500	5,3845	2,2622	0,0004	Oui
A 2,5 vs A 50	14,0000	30,7683	2,2622	< 0,0001	Oui
A 2,5 vs A 1,25	0,2500	0,4914	2,2622	0,6349	Non
A 1,25 vs A 50	13,7500	27,0286	2,2622	< 0,0001	Oui

Tableau III : Etude statistique du taux prothrombine de la fraction A (TP).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
A 1,25 vs A 50	1,7500	2,2965	2,2622	0,0473	Oui
A 1,25 vs A 10	0,4500	0,5905	2,2622	0,5694	Non
A 1,25 vs A 5	0,4167	0,5468	2,2622	0,5978	Non
A 1,25 vs A 2,5	0,3500	0,4593	2,2622	0,6569	Non
A 2,5 vs A 50	1,4000	2,0540	2,2622	0,0702	Non
A 2,5 vs A 10	0,1000	0,1467	2,2622	0,8866	Non
A 2,5 vs A 5	0,0667	0,0978	2,2622	0,9242	Non
A 5 vs A 50	1,3333	1,9562	2,2622	0,0821	Non
A 5 vs A 10	0,0333	0,0489	2,2622	0,9621	Non
A 10 vs A 50	1,3000	1,9073	2,2622	0,0888	Non

Tableau IV : Etude statistique du taux prothrombine de la fraction B (TP).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
B 1,25 vs C 50	1,9333	3,3961	2,2622	0,0079	Oui
B 1,25 vs C 5	0,6667	1,1711	2,2622	0,2716	Non
B 1,25 vs C 10	0,5333	0,9369	2,2622	0,3733	Non
B 1,25 vs C 2,5	0,4000	0,7026	2,2622	0,5000	Non
B 2,5 vs C 50	1,5333	3,0114	2,2622	0,0147	Oui
B 2,5 vs C 5	0,2667	0,5237	2,2622	0,6131	Non
B 2,5 vs C 10	0,1333	0,2619	2,2622	0,7993	Non
B 10 vs C 50	1,4000	2,7495	2,2622	0,0225	Oui
B 10 vs C 5	0,1333	0,2619	2,2622	0,7993	Non
B 5 vs C 50	1,2667	2,4877	2,2622	0,0346	Oui

Tableau V : Etude statistique du temps Cephaline Kaolin de la fraction B (TCK).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
B 10 vs B 50	14,6000	17,9701	2,2622	< 0,0001	Oui
B 10 vs B 5	2,5500	3,1386	2,2622	0,0120	Oui
B 10 vs B 1,25	2,0750	2,2843	2,2622	0,0482	Oui
B 10 vs B 2,5	1,9500	2,4001	2,2622	0,0399	Oui
B 2,5 vs B 50	12,6500	15,5700	2,2622	< 0,0001	Oui
B 2,5 vs B 5	0,6000	0,7385	2,2622	0,4790	Non
B 2,5 vs B 1,25	0,1250	0,1376	2,2622	0,8936	Non
B 1,25 vs B 50	12,5250	13,7886	2,2622	< 0,0001	Oui
B 1,25 vs B 5	0,4750	0,5229	2,2622	0,6137	Non
B 5 vs B 50	12,0500	14,8315	2,2622	< 0,0001	Oui

Tableau VI : Etude statistique du taux prothrombine de la fraction C (TP).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
C 5 vs C 10	0,8000	2,5159	2,2622	0,0330	Oui
C 5 vs C 50	0,5667	1,7821	2,2622	0,1084	Non
C 5 vs C 1,25	0,3167	0,8907	2,2622	0,3963	Non
C 5 vs C 2,5	0,3000	0,9435	2,2622	0,3701	Non
C 2,5 vs C 10	0,5000	1,5724	2,2622	0,1503	Non
C 2,5 vs C 50	0,2667	0,8386	2,2622	0,4234	Non
C 2,5 vs C 1,25	0,0167	0,0469	2,2622	0,9636	Non
C 1,25 vs C 10	0,4833	1,3595	2,2622	0,2071	Non
C 1,25 vs C 50	0,2500	0,7032	2,2622	0,4997	Non
C 50 vs C 10	0,2333	0,7338	2,2622	0,4817	Non

Tableau VII : Etude statistique du temps Cephaline Kaolin de la fraction C (TCK).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
C 50 vs C 5	12,7000	9,0612	2,2622	< 0,0001	Oui
C 50 vs C 10	12,1000	8,6331	2,2622	< 0,0001	Oui
C 50 vs C 2,5	11,9000	8,4904	2,2622	< 0,0001	Oui
C 50 vs C 1,25	11,4000	7,2749	2,2622	< 0,0001	Oui
C 1,25 vs C 5	1,3000	0,8296	2,2622	0,4282	Non
C 1,25 vs C 10	0,7000	0,4467	2,2622	0,6656	Non
C 1,25 vs C 2,5	0,5000	0,3191	2,2622	0,7569	Non
C 2,5 vs C 5	0,8000	0,5708	2,2622	0,5821	Non
C 2,5 vs C 10	0,2000	0,1427	2,2622	0,8897	Non
C 10 vs C 5	0,6000	0,4281	2,2622	0,6787	Non

Tableau VIII : Etude statistique du taux prothrombine d'extrait (TP).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
TP E 50 vs TP E 1	1,7833	4,1137	2,1604	0,0012	Oui
TP E 50 vs TP E 5	1,1333	2,9229	2,1604	0,0119	Oui
TP E 50 vs TP E 7,5	0,7667	1,9773	2,1604	0,0696	Non
TP E 50 vs TP E 10	0,4667	1,2036	2,1604	0,2502	Non
TP E 50 vs TP E 12,5	0,3333	0,8597	2,1604	0,4055	Non
TP E 50 vs TP E 25	0,2000	0,5158	2,1604	0,6146	Non
TP E 25 vs TP E 1	1,5833	3,6524	2,1604	0,0029	Oui
TP E 25 vs TP E 5	0,9333	2,4071	2,1604	0,0317	Oui
TP E 25 vs TP E 7,5	0,5667	1,4615	2,1604	0,1676	Non
TP E 25 vs TP E 10	0,2667	0,6877	2,1604	0,5037	Non
TP E 25 vs TP E 12,5	0,1333	0,3439	2,1604	0,7364	Non
TP E 12,5 vs TP E 1	1,4500	3,3448	2,1604	0,0053	Oui
TP E 12,5 vs TP E 5	0,8000	2,0632	2,1604	0,0597	Non
TP E 12,5 vs TP E 7,5	0,4333	1,1176	2,1604	0,2840	Non
TP E 12,5 vs TP E 10	0,1333	0,3439	2,1604	0,7364	Non
TP E 10 vs TP E 1	1,3167	3,0373	2,1604	0,0095	Oui
TP E 10 vs TP E 5	0,6667	1,7194	2,1604	0,1093	Non
TP E 10 vs TP E 7,5	0,3000	0,7737	2,1604	0,4529	Non
TP E 7,5 vs TP E 1	1,0167	2,3452	2,1604	0,0355	Oui
TP E 7,5 vs TP E 5	0,3667	0,9457	2,1604	0,3616	Non
TP E 5 vs TP E 1	0,6500	1,4994	2,1604	0,1577	Non

Tableau IX : Etude statistique du temps Cephaline Kaolin d'extrait (TCK).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
TCK E 1 vs TCK E 50	27,1833	19,1709	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 1 vs TCK E 25	25,1833	17,7604	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 1 vs TCK E 12,5	7,1833	5,0660	2,1604	0,0002	Oui
TCK E 1 vs TCK E 10	2,2833	1,6103	2,1604	0,1313	Non
TCK E 1 vs TCK E 5	1,5167	1,0696	2,1604	0,3042	Non
TCK E 1 vs TCK E 7,5	1,4833	1,0461	2,1604	0,3146	Non
TCK E 7,5 vs TCK E 50	25,7000	20,2641	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 7,5 vs TCK E 25	23,7000	18,6871	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 7,5 vs TCK E 12,5	5,7000	4,4944	2,1604	0,0006	Oui
TCK E 7,5 vs TCK E 10	0,8000	0,6308	2,1604	0,5391	Non
TCK E 7,5 vs TCK E 5	0,0333	0,0263	2,1604	0,9794	Non
TCK E 5 vs TCK E 50	25,6667	20,2378	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 5 vs TCK E 25	23,6667	18,6609	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 5 vs TCK E 12,5	5,6667	4,4681	2,1604	0,0006	Oui
TCK E 5 vs TCK E 10	0,7667	0,6045	2,1604	0,5559	Non
TCK E 10 vs TCK E 50	24,9000	19,6333	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 10 vs TCK E 25	22,9000	18,0564	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 10 vs TCK E 12,5	4,9000	3,8636	2,1604	0,0020	Oui
TCK E 12,5 vs TCK E 50	20,0000	15,7697	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 12,5 vs TCK E 25	18,0000	14,1928	2,1604	< 0,0001	Oui
TCK E 25 vs TCK E 50	2,0000	1,5770	2,1604	0,1388	Non

Tableau X : Etude statistique de la cytotoxicité d'extrait.

Modalité	Moyenne estimée	Groupes					
Cyto 2	38,5100	A					
Cyto 1	11,2000		B				
Cyto1	10,8150		B				
Cyto 0,0625	2,8567			C			
Cyto 0,25	2,8333			C			
Cyto 0,5	2,4800			C			
Cyto 0,03125	1,5800			D			
Cyto 0,125	1,3033			D	E		
Cyto 0,015625	0,5900				E	F	
Cyto 0,0078	0,5733				E	F	
Cyto 0,00097	-0,2050					F	G
Cyto 0,0019	-0,4167						G
Cyto 0,0039	-0,6667						G

Tableau XI : Etude statistique de la cytotoxicité des trois fractions.

Modalité	Moyenne estimée	Groupes				
C 10	5,2600	A				
C 10	5,1800	A				
B5	1,9000		B			
A 10	1,7133		B			
B 10	1,2250		B	C		
C 5	1,0533		B	C		
B 5	1,0450		B	C	D	
B 2,5	0,9367		B	C	D	
B10	0,8700		B	C	D	E
A 5	0,7100		B	C	D	E
A 5	0,6450			C	D	E
C 2,5	0,3300				D	E
A 2,5	0,2733				D	E
C 1,25	0,0970					E
C 1,25	-0,1200					E
B 1,25	-0,5067					F
A 1,25	-0,6400					F
A 1,25	-0,7100					F

Tableau XII : Etude statistique de l'activité antioxydante (DPPH).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
C 1,37 vs C 5,84	0,1530	15,3000	2,5708	< 0,0001	Oui
C 1,37 vs C 2,74	0,1090	10,9000	2,5708	0,0001	Oui
C 2,74 vs C 5,84	0,0440	4,9193	2,5708	0,0044	Oui

Résumé

Le but de ce travail est l'étude de la cytotoxicité d'une algue marine en vue de l'exploitation de ses différentes bioactivités. L'extrait a été obtenu par macération en utilisant l'éthanol comme solvant avec un rendement de 8,524 %. La teneur totale en composés phénolique déterminée par le test du Folin-Ciocalteu, est de $31,647 \pm 2.555$ mg EAG/g. Le taux phlorotannins évalués par la méthode du DMBA est de $2,570 \pm 0,156$ mg EAT/g. Le test du DPPH a montré une bonne activité antioxydante avec un EC_{50} de 2,1325 mg/mL. Une activité antibactérienne importante est notée pour l'extrait éthanolique à l'égard de *S.aureus* (17 mm), avec une CMI de 1,56 mg/mL et une CMB supérieure à 1,56 mg/mL; en ce qui concerne les fractions polysaccharidiques (A, B et C), une activité a été enregistrée seulement à l'égard du SARM avec une importante zone de 18 mm. Une activité anticoagulante a été observée surtout avec le test TCK, l'algue brune a montré une activité anticoagulante remarquable par son extrait éthanolique et ses fractions polysaccharidiques A, B et C avec un prolongement allant jusqu'à $43,42 \pm 4,80s$ avec la fraction C à 50 mg/mL, à la même concentration une activité pro coagulante a été observé dans les fractions A et B. L'évaluation a montré que l'extrait éthanolique est non cytotoxique aux concentrations allant de 0,97 μ g/mL à 0,5 mg/mL. On ce qui concerne les différentes fractions polysaccharidiques (A, B et C), l'effet hémolytique est également non cytotoxique avec toutes les concentrations testées.

Mots clés: Algues brunes, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité anticoagulante, activité cytotoxique, polysaccharides sulfatés, phlorotannins.

Abstract

The aim of this work is the study of the cytotoxicity of seaweed in view of the exploitation of its different bioactivities. The extract was obtained by maceration using ethanol as solvent with a yield of 8.524%. The total content of phenolic compounds, determined by the Folin-Ciocalteu test, is 31.647 ± 2.555 mg EAG/g. The phlorotannin level evaluated by the DMBA method is 2.570 ± 0.156 mg EAT/g. The DPPH test showed good antioxidant activity with an EC_{50} of 2.1325 mg/mL. Significant antibacterial activity is noted for the ethanolic extract against *S.aureus* (17 mm), with an MIC of 1.56 mg/mL and a CMB greater than 1.56 mg/mL; with regard to the polysaccharide fractions (A, B and C), activity was recorded only against MRSA with a large area of 18 mm. An anticoagulant activity was observed especially with the TCK test, the brown algae showed a remarkable anticoagulant activity by its ethanolic extract and its polysaccharide fractions A, B and C with an extension going up to $43.42 \pm 4.80s$ with fraction C at 50 mg/mL, at the same concentration a procoagulant activity was observed in fractions A and B. The evaluation showed that the ethanolic extract is non-cytotoxic at concentrations ranging from 0.97 μ g/mL at 0.5mg/mL. Regarding the different polysaccharide fractions (A, B and C), the hemolytic effect is also non-cytotoxic with all the concentrations tested.

Keywords: Brown algae, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity, anticoagulant activity, cytotoxic activity, sulfated polysaccharides, phlorotannins.