

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique**

Université Mouloud MAMMARI de Tizi Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
Département de Biochimie - Microbiologie



# MEMOIRE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Science de la Nature et de la Vie  
**Spécialité : Biochimie Appliquée**

## *Thème*

Etude de l'activité hypocholestérolémiant  
d'extraits marins : quelques extraits d'algues,  
la chitine et ses dérivés.

*Réalisé par :*

BELHARET Lynda et BAROUN Karima

*Soutenu le 15/07/2015*

*Devant le jury composé de :*

Président :	Mr HOUALI Karim	Professeur	UMMTO
Promotrice :	Mme TAZDAÏT Rym	MCB	UMMTO
Co-promoteur:	Mr TAZDAÏT Djaber	MCB	UMMTO
Examineurs :	Mme IRATNI Ghanima	MAA	UMMTO
	Mr BARIZ Karim	MAA	UMMTO

Année universitaire : 2014 / 2015

## **Remerciements**

*Au terme de ce travail, nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant, qui nous a donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce mémoire.*

*Nous voulons préciser notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice Mme TAZDAÏT R., Maître de Conférences à l'université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou, pour son suivi, sa patience et sa disponibilité mais surtout pour ses conseils avisés et ses remarques pertinentes qui nous ont apporté aide et soutien pour la réalisation de ce modeste travail.*

*Nos vifs remerciements vont à Mr TAZDAIT D. Maître de Conférences à l'université de Mouloud MAMMERY DE Tizi-Ouzou, pour la codirection de ce mémoire, pour ses conseils avisés, son aide précieuse ainsi que sa disponibilité.*

*Nous exprimons notre reconnaissance à Mr HOUALI K., Professeur à l'université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*

*Nous témoignons également notre gratitude à Mme IRATNI G., Maître Assistante à l'université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou et Mr BARIZ K., Maître Assistant à l'université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou qui nous ont honoré en acceptant de juger notre travail.*

*Nous remercions, particulièrement, et exprimons notre gratitude à Mr SALHI, Mme SALHI et Mme MAHMOUDI F. pour leur aide afin de réaliser ce mémoire.*

*Aussi, nous remercions tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.*

***Lynda et Karima***

# *Dédicaces*

*A la mémoire de mon père,*

*A ma très chère mère, symbole d'amour inconditionnel, symbole de tous les sacrifices, aucune dédicace ne serait exprimer l'affection et l'amour que j'éprouve pour toi,*

*A mon très cher grand-père, tu m'as comblée avec ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours, tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, l'optimisme et la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté,*

*A ma grand-mère CHABHA que j'aime beaucoup,*

*A ma chère tante NOURA et son mari MARZOUK,*

*A ma très chère petite sœur TASSADIT,*

*A ma chère tante OUIZA et son mari MOHAMMED,*

*A ma tante FAROUDJA et son mari HAMID pour leur aide précieuse,*

*A mes oncles MOHAMMED, REZKI et RACHID ainsi que leurs familles,*

*A mes oncles et tantes ainsi que leurs familles,*

*A mes très chers amis DIHIA, OUIZA, RAFIKA, SAAIDA, TINA, LYDIA et CHIFAA qui sont plus que des sœurs pour moi,*

*A mon très cher binôme MELYNDA exemple de sagesse et compréhension,*

*A LILA pour son aide précieuse et son humour,*

*A tous ceux qui m'aime,*

*Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude et reconnaissance,*

*KARIMA.*

## *Dédicaces*

*A la mémoire de ma tante GHANIA qui reste pour moi l'exemple de courage et de tendresse,*

*A mes très chers parents. Papa, Maman, autant de phrases éloquentes soit elles ne sauraient exprimer ma gratitude, ma reconnaissance ainsi que l'amour que j'éprouve pour vous, vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite,*

*A mon cher époux MANI qui n'a jamais cessé d'être là pour moi et qui a su trouver les mots pour me soutenir et m'encourager,*

*A ma petite sœur LYLY pour sa présence, son aide et son temps précieux qu'elle nous a consacré,*

*A ma chère belle-mère,*

*A ma sœur KATHIA qui n'a cessé d'être un exemple pour moi,*

*A ma sœur SONIA et son mari YACINE, ainsi que mes petits neveux MARIA et BOUSSAD que j'aime tant,*

*A ma sœur REZIKA, à qui je souhaite la bienvenue dans notre famille,*

*A mon unique frère JUBA que j'aime beaucoup,*

*A mes très chers grands-parents,*

*A SAMIR que je respecte beaucoup,*

*A DOUDOUCHE, SMINA, NADIA, LILIA, DALILA et KARIMA qui sont plus que des sœurs pour moi,*

*A toute ma grande famille, oncles, tantes, cousins et cousines,*

*A mon binôme KARIMA qui est et qui restera toujours ma meilleure amie,*

*A tous mes amis,*

*Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude et reconnaissance,*

*LYNDA.*

# SOMMAIRE

Remerciements.....	I
Dédicaces.....	II
Liste des abréviations .....	IV
Liste des figures .....	V
Liste des tableaux .....	VII
Introduction .....	1

## Chapitre I. Etude bibliographique

---

1. Algues	
1.1. Caractéristiques générales des algues .....	2
1.2. Reproduction des algues .....	3
1.3. Intérêts et applications des algues.....	4
1.4. Etat des lieux de la filière algue dans le monde et en Algérie.....	6
2. Chitine et dérivés	
2.1. Définition et structures .....	6
2.2. Historique de la découverte de la chitine .....	7
2.3. Propriétés de la chitine et de ses dérivés .....	8
2.3.1 Degré d'acétylation .....	8
2.3.2. Solubilité .....	8
2.3.3 Cristallinité .....	9
2.3.4. Propriétés biologiques et applications .....	9
2.4. Applications de la chitine et de ses dérivés.....	9
3. Hypercholestérolémie	
3.1. Définition et importance du cholestérol .....	11
3.2. Régulation du cholestérol .....	13
3.3. Causes de l'hypercholestérolémie .....	14
3.4. Symptômes et complications de l'hypercholestérolémie .....	16
3.5. Traitements de l'hypercholestérolémie .....	16
3.5.1. Mesures hygiéno-diététiques .....	16
3.5.2. Traitement médicamenteux .....	17

## Chapitre II. Matériel et méthodes

---

1. Matériel	
1.1. Matériel biologique .....	18

1.2. Produits et réactifs utilisés .....	18
1.3. Petit matériel et verrerie .....	19
1.4. Appareillages .....	19
2. Classification des algues utilisées .....	19
3. Méthodes	
3.1. La dialyse .....	20
3.2. La Spectrométrie .....	20
3.3. Obtention de l'extrait brut de l'algue <i>Ulva fasciata</i> .....	21
3.4. Etude de l'activité hypocholestérolémiante .....	22
3.4.1. Protocole expérimental .....	22

## Chapitre III. Résultats et discussion

---

1. Etude de l'activité hypocholestérolémiante de la chitine, de la phtalimido chitine et de la carboxyméthyl chitine .....	26
2. Etude de l'activité hypocholestérolémiante du chitosane et ses dérivés .....	28
3. Etude de l'activité hypocholestérolémiante des extraits d'algues marines .....	32
Conclusion .....	38
Références bibliographiques .....	39

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

AVC : Accidents vasculaire cérébrale.

COP-II: Coat Protein (Protéines d'enveloppe).

CRI : Cholic acid Retardation Index (Index de retardation de l'acide cholique).

DA : Degré d'Acétylation.

DD : Degré de Deacetylation.

DMAc : DiMéthylAcétamide.

DMF : DiMéthylFormamides.

FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture).

HDL: Hight Density Lipoproteins (Lipoprotéines de Haute Densité).

HMG-CoA :  $\beta$  Hydroxyl- $\beta$  Méthyl Glutaryl-Coenzyme A.

IDL: Intermediate Density Lipoproteins (Lipoprotéines de Densité Intermédiaire).

LCAT: Lécithine Cholestérol Acyl Transférase.

LDL : Low Density Lipoproteins (Lipoprotéines de faible densité).

LDL-C : Low Density Lipoprotein-Cholesterol (Lipoprotéines de faible densité- cholestérol).

LDL-R : Low Density Lipoprotein-Receptor (Récepteurs des Lipoprotéines de faible densité).

MCV : Maladies Cardio-Vasculaires.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PCSK9: Proprotéine Convertase Subtilisine/Kexine de type 9.

pH: potentiel Hydrogène.

SCAP: SREBP -clivage activating protein (Protéines activatrices du clivage des SREBP).

SP: Serine Protéase

SREBP: sterol regulatory element binding protein (Protéines de liaison aux éléments régulateurs des stérols).

UV: rayonnements Ultra-Violets.

VLDL: Very Low Density Lipoproteins (Lipoprotéines de très faible densité).

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1</b> : Cycle de reproduction d' <i>Ulva</i> .....	3
<b>Figure 2</b> : Structures chimiques de la chitine, du chitosane et de la cellulose.....	7
<b>Figure 3</b> : Schéma simplifié des trois formes cristallines de la chitine .....	7
<b>Figure 4</b> : Formule développée du cholestérol avec le système de numérotation standard ...	12
<b>Figure 5</b> : Biosynthèse du cholestérol .....	13
<b>Figure 6</b> : Le mécanisme d'action des SREBP .....	14
<b>Figure 7</b> : L'hypercholestérolémie familiale et diététique .....	15
<b>Figure 8</b> : Schéma représentatif d'une dialyse .....	20
<b>Figure 9</b> : Obtention de l'extrait brut de l'algue <i>Ulva fasciata</i> .....	21
<b>Figure 10</b> : Etude de l'activité hypocholestérolémiante .....	23
<b>Figure 11</b> : Histogramme représentant la concentration de l'acide cholique diffusée du boudin témoin en fonction du temps .....	24
<b>Figure 12</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la chitine en fonction du temps .....	26
<b>Figure 13</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la phtalimido chitine en fonction du temps .....	27
<b>Figure 14</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la carboxyméthyl chitine en fonction du temps .....	27
<b>Figure 15</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par le chitosane en fonction du temps .....	28
<b>Figure 16</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par l'oxychitosane en fonction du temps .....	30
<b>Figure 17</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par le phtalimido chitosane en fonction du temps .....	31

<b>Figure 18</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par le carboxyméthyl chitosane en fonction du temps .....	31
<b>Figure 19</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par <i>Halymenia durvillei</i> en fonction du temps .....	33
<b>Figure 20</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par <i>Rhodella violacea</i> en fonction du temps .....	33
<b>Figure 21</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la fraction polysaccharidique de <i>Rhodella violacea</i> en fonction du temps .....	34
<b>Figure 22</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la fraction lipidique de <i>Rhodella violacea</i> en fonction du temps .....	35
<b>Figure 23</b> : Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par <i>Ulva fasciata</i> en fonction du temps .....	35
<b>Figure 24.</b> Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par l'ulvane en fonction du temps .....	36

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau I</b> : Activités biologiques de quelques algues marines .....	5
<b>Tableau II</b> : Applications de la chitine et du chitosane .....	10
<b>Tableau III</b> : Taxonomie des algues <i>Halymenia durvilei</i> , <i>Rhodella violacea</i> et <i>Ulva fasciata</i> .....	19
<b>Tableau IV</b> : Les concentrations de l'acides cholique diffusible en présence des différents échantillons étudiés.....	25

## Résumé

L'hypercholestérolémie est un facteur de risque majeur dans le développement des maladies cardio-vasculaires, première cause de mortalité dans le monde. L'exploitation de molécules naturelles et originales est requise pour remédier aux effets indésirables des différents hypocholestérolémiants existants. Ainsi, l'une des voies d'innovation repose sur la valorisation des extraits marins.

Cette étude a permis d'évaluer le potentiel hypocholestérolémiant d'extraits de différentes espèces d'algues, de chitine et de certains de ses dérivés, au moyen de la mesure, *in vitro*, de leurs capacités chélatrices vis-à-vis de la bile. A cet effet, nous avons opté pour la méthode de dialyse à l'équilibre.

Notre étude révèle que les extraits marins présentent un effet retard de l'acide cholique variable, dépendant des propriétés physicochimiques des extraits marins.

Le résultat le plus marquant est attribué au carboxyméthyl chitosane, ayant un grand effet retard de l'acide cholique (55,1%) après 24h de dialyse.

**Mots clés :** acide cholique, algues, carboxyméthyl chitosane, chitine, extraits marins, hypercholestérolémie.

## Abstract

Hypercholesterolemia is a major risk factor in the development of cardiovascular diseases, the leading cause of death worldwide. The exploitation of natural and original molecules is required to remedy the adverse effects of the various existing cholesterol lowering. Thus, one of innovation pathways is based on the evaluation of marine extracts.

The objective of this study is to evaluate the hypocholesterolemiant activities of some marine extracts (algae species, chitin and derivatives), by determining, *in vitro*, their bile acid-binding capacities, using the dialysis method.

Results showed different cholic acid retention effects, depending on the physicochemical properties of marine extracts.

The most remarkable result was attributed to carboxymethyl chitosan, which had a high CRI effect (55.1%) observed after 24 hours of dialysis.

**Keywords:** algae, carboxymethyl chitosan, chitin, cholic acid, hypercholesterolemia, marine extracts.

# *Introduction*

L'hypercholestérolémie, élévation pathologique de la concentration du cholestérol sanguin, est l'un des facteurs principaux des maladies cardiovasculaires, principale cause de mortalité et de morbidité dans le monde. Celles-ci ont fait près de 17,5 millions de morts en 2012, correspondant à 3 décès sur 10 (OMS, 2014). L'hypercholestérolémie peut générer des infarctus du myocarde, des AVC, et des artérites des membres inférieurs (BATTU, 2013).

Les traitements actuels de l'hypercholestérolémie (principalement les statines) sont associés à divers effets secondaires, que sont la rhabdomyolyse (destruction des muscles striés), des troubles hépatiques et digestifs, des maux de tête, des insomnies et des éruptions cutanées (eczéma). Une des voies d'innovation, dans le domaine de la recherche de nouveaux médicaments hypocholestérolémiant ayant peu d'effets secondaires, repose sur la valorisation des extraits marins. En effet, plus de 70% de la surface du monde est recouverte d'océans, ces milieux de grande diversité biologique et chimique en font une extraordinaire source de composés à hautes valeurs, utilisables dans de nombreuses applications (ABOU ZEID *et al.*, 2014). Les organismes marins sont une source infinie de molécules actives à structures chimiques originales (GLOMBITZA *et al.*, 1974; SMIT *et al.*, 2004), et étonnamment, leur plus forte concentration se trouve souvent dans des parties fréquemment rejetées des organismes marins : têtes, viscères, peau, sang ainsi que dans les carapaces ou coquilles des produits de la mer, ou encore dans ces végétaux qui colonisent les océans dont l'exploitation reste faible. En effet, les carapaces de crevettes en sont une preuve, celles-ci contiennent de la chitine, un polysaccharide ayant diverses applications en santé humaine (CRINI *et al.*, 2009 ; ARANAZ *et al.*, 2010). Cette richesse n'est pas seulement liée à ce biopolymère mais aussi aux dérivés auxquels il donne naissance tels : la carboxyméthyl chitine, le chitosane, le carboxyméthyl chitosane, etc. C'est le cas aussi des algues, peu exploitées, elles sont une source de diverses molécules bioactives, comprenant plusieurs activités biologiques (antivirale, anti-inflammatoire, antibactérienne et anti-oxydante) (CACAMESSE, 1980; ETAHIRI, 2004; ETAHIRI, 2007; ZUBIA, 2007; WIJESEKARA *et al.*, 2010; KHAIR et EL-SHAFAY, 2013).

Ainsi, l'objectif de cette étude est d'évaluer le potentiel hypocholestérolémiant d'extraits de différentes espèces d'algues, de la chitine et de certains de ses dérivés, par l'étude *in vitro* de la capacité chélatrice des extraits marins vis-à-vis de la bile, déterminée indirectement par la mesure de la capacité chélatrice vis-à-vis de l'acide cholique.

***Chapitre I :***  
***Etude bibliographique***

## 1. Les algues

L'environnement marin est un écosystème rendu unique en raison de la diversité des organismes qu'il abrite. Des estuaires aux fosses abyssales jusqu'aux sources hydrothermales, les algues font preuve d'une incroyable plasticité écologique. Une nouvelle espèce est d'ailleurs identifiée chaque semaine (RADMER *et al.*, 1994).

### 1.1. Caractéristiques générales des algues

Les algues sont des végétaux photosynthétiques répandus dans tous les milieux aquatiques, dont l'appareil végétatif simple, ne comportant ni racines, ni tiges, ni appareil vasculaire feuillé, est appelé thalle (DURAND et LEVEQUE, 1980). Ce thalle peut être unicellulaire ou pluricellulaire. Ainsi, il est possible de distinguer les algues eucaryotes (phycophytes) des algues procaryotes (cyanobactéries). Ces dernières constituent un groupe ne formant qu'un seul embranchement, avec une seule classe : *les Cyanophycées*.

Les algues eucaryotes, quant à elles, se subdivisent en deux catégories : les macroalgues et les micro-algues. Ces dernières ont une taille qui varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres (DE REVIERS, 2002).

Au sein du règne végétal, les algues représentent les plus anciens organismes vivants, existant vraisemblablement depuis plus de trois milliard d'années (PAINTER, 1982). Celles-ci ne constituent pas un groupe évolutif unique, mais désignent toute une série d'organismes pouvant appartenir à des groupes phylogénétiques très différents, et sont ainsi distribuées en trois classes principales, basées notamment sur la pigmentation (ALLARD-LATOUR, 2007 ; PEREZ, 1997) :

- les phéophycées (algues brunes) : elles possèdent les chlorophylles a et c, et les caroténoïdes (d'où le pigment brun). C'est les algues les plus abondantes des mers tempérées et froides ;
- les rhodophycées (algues rouges) : elles sont dotées de la chlorophylle a et des caroténoïdes, la phycocyanine (bleue) et la phycoérythrine (rouge), elles sont retrouvées à de très grandes profondeurs (LITTER *et al.*, 1985) ;
- les chlorophycées (algues vertes) : elles possèdent les chlorophylles a et b. Elles sont dispersées dans des habitats très variés ; là où les conditions lumineuses leurs sont favorables.

## 1.2. Reproduction des algues

Dans de très nombreux cas, la reproduction des algues s'effectue par multiplication végétative. Il s'agit d'une multiplication asexuée qui consiste soit en la division d'une cellule isolée (cas des algues bleues), soit en une fragmentation de thalle aboutissant à la formation de plusieurs organismes identiques. Elle est souvent réalisée par la formation de cellules spécialisées appelées spores.

Les algues eucaryotes réalisent, en plus, une reproduction sexuée au cours de laquelle l'union de deux gamètes produit un zygote.

La reproduction des algues se déroule ainsi selon une alternance de phases de reproduction asexuée assurée par les thalles (sporophytes), et de phases de reproduction sexuée, assurée par des thalles producteurs de gamètes (gamétophytes). La figure 1 présente le cycle de reproduction d'*Ulva*.

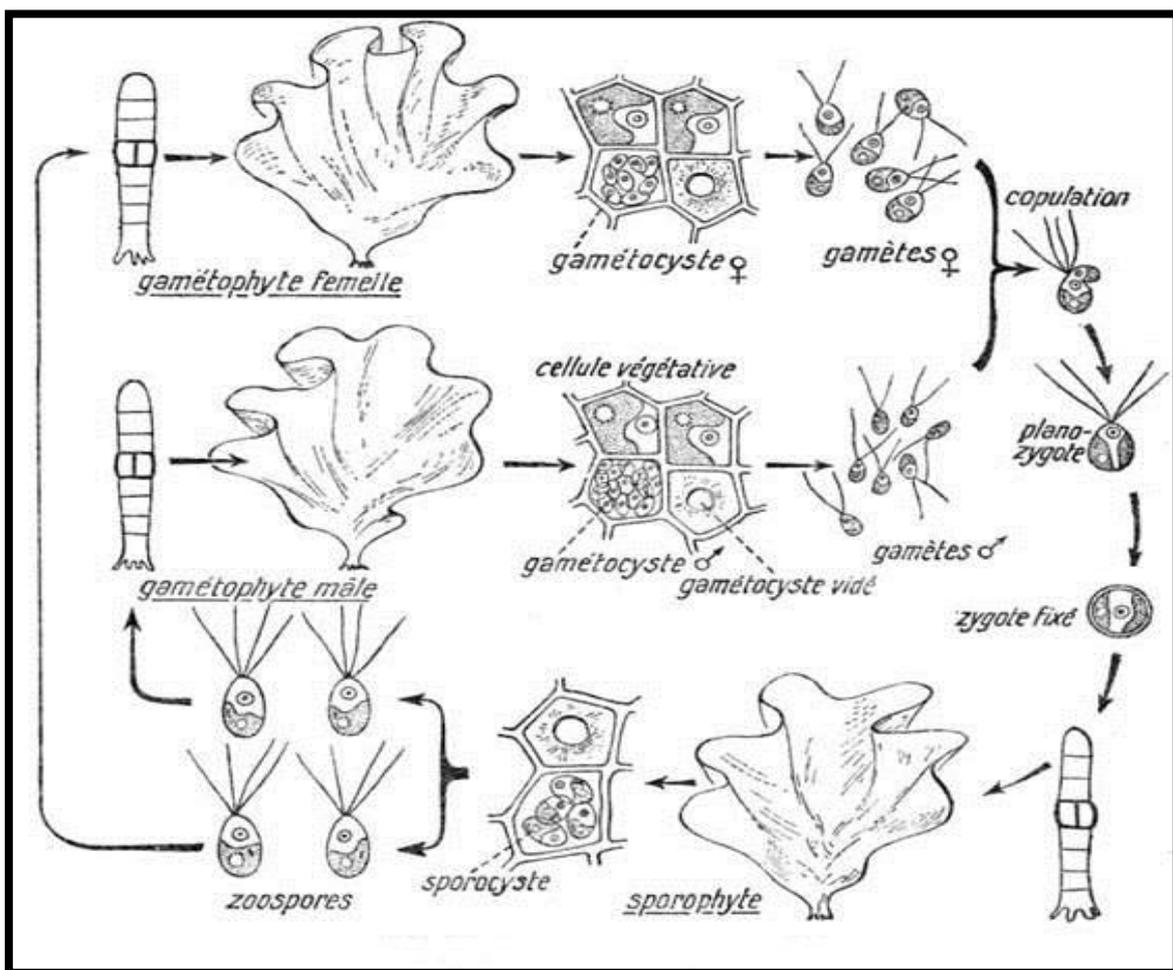


Figure 1. Cycle de reproduction d'*Ulva* (DE REVIERS, 2002).

## 1.3. Intérêts et applications des algues

L'intérêt pour les algues est grandissant dans divers domaines tels que la pharmacologie, la médecine et l'aquaculture. Les algues peuvent être aussi explorées autant que biocarburant de troisième génération s'ajoutant aux biocarburants issus des plantes oléifères et plantes à sucre dites de première génération et leurs successeurs provenant des parties non comestibles des plantes et les déchets agricoles (biocarburants de deuxième génération).

Grace à leur abondance et leur autotrophie, les algues sont responsables d'environ 50% de la photosynthèse effectuée par les végétaux, constituant ainsi une importante source d'oxygène (JOHN, 1994).

Utilisées depuis des millénaires par les populations littorales pour leurs hautes valeurs nutritives. De nos jours, elles sont consommées directement, comme légume, c'est le cas de la laitue de mer *Ulva lactuca*, ou comme complément alimentaire, c'est le cas de la spiruline (micro-algue bleue) commercialisée sous forme de compléments particulièrement riches en protéines et vitamines. Elles constituent donc un enjeu majeur du développement économique.

L'exploitation industrielle des algues est essentiellement liée à l'extraction de leurs phycocolloïdes. On distingue ainsi, les agars (E 406) et les carraghénanes (E407) (extraits des algues rouges), des alginates (E 400 à E 405) (extraits des algues brunes). Ceux-ci sont utilisés comme additifs, autant qu'agents stabilisants, épaississants et émulsifiants (CHANDINI GANESAN et BHASKAR, 2008 ; ZHOU *et al*, 2008 ; BIXLER et PORSE, 2010). On cite aussi les ulvanes, polysaccharides extraits des algues vertes qui, grâce à leurs propriétés rhéologiques et gélifiantes, peuvent constituer une alternative efficace et à faible coût pour les produits dérivés de viande, autant que substitut de gélatine (CHOI *et al.*, 1999).

L'utilisation des algues marines à des fins thérapeutiques est loin d'être un phénomène nouveau, ces dernières ont pu attirer l'attention dans les domaines de la pharmacologie et de la biochimie. On cite l'exemple des algues *Odontella aurita*, *Porphyridium purpureum* et *Rhodorus marinus* qui sont utilisées pour leurs activités antiallergique et anti-inflammatoire et *Chorella stigmatophora* autant que analgésique (FUJITANI *et al.*, 2001 ; GUZMAN *et al.*, 2001; HUANG *et al.*, 2006 ; AGILI *et MOHAMED*, 2012; TIAGO *et al.*, 2012).

Selon ALLARD-LATOURE *et al.* (2007), les algues sont également utilisées en alimentation animale (farines), en agriculture (engrais), en industrie (texturant en cosmétique, peinture, etc.) et en production de biocarburants.

Si les principes actifs extraits des algues utilisés en pharmacie sont peu nombreux, les travaux scientifiques en cours sont importants. Des milliers de molécules ont ainsi été identifiées. Ce sont des polysaccharides, des lipides ou encore de petits métabolites de nature phénolique (DESLANDES, 2000) et terpénique (FLEURY, 1994 ; RAVI, 1982). Les activités décrites sont très diverses ; quelques unes sont résumées dans le tableau I.

**Tableau I** : activités biologiques de quelques algues marines.

Activités biologiques	Algues	Composés/ extraits	Références
Antioxydante	<i>Ulva linza</i>	Flavonoïdes	(WU <i>et al.</i> , 2010)
	<i>Cystoseira crinita</i>	Prényltoluquinones	(FISCH <i>et al.</i> , 2003)
	<i>Ulva lactuca</i>	Ulvans	(DEVAKI <i>et al.</i> , 2009)
	<i>Avrainvillea erecta</i>	Flavonoïdes	(CHAI <i>et al.</i> , 2015)
Anticancéreuse	<i>Gracillaria corticata</i> <i>Ulva fasciata</i> <i>Sargassum ilicifolium</i>	Polyphénols	(NAMAVAR <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Perithalia caudata</i>	Bis-prénylés quinones	(BLACKMAN <i>et al.</i> , 1979)
Antibactérienne	<i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	Bromoditerpenes	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2015)
Antivirale	<i>Canistrocarpus cervicocornis</i>	Diterpènes	(VALLIM <i>et al.</i> , 2010)
Cytotoxique	<i>Nizamuddinina zanardinii</i>	Hydroproxy stérols	(MOGHADAM <i>et al.</i> , 2013)
Immunostimulatrice	<i>Chorella</i>	β-glucan	(IWAMOTO, 2004)
Anti-inflammatoire	<i>Taonia atomaria</i>	Z- Sargaquinone	(TZIVELEKA <i>et al.</i> , 2005)

## 1.4. Etat des lieux de la filière algue dans le monde et en Algérie

La filière des produits aquatiques est au centre d'importants enjeux environnementaux, alimentaires et socio-économiques (FAO, 2012). Vaste et complexe, cette filière regroupe de nombreux acteurs qui interviennent à divers niveaux. Parmi eux, on cite la production et la transformation d'algues marines.

Bien que ralentissante, la production aquacole mondiale est en augmentation permanente ; elle a atteint les 90,4 millions de tonnes en 2012 (144,4 milliards d'USD), dont 66,6 millions de tonnes de poissons de consommation (137,7 milliards d'USD) et 23,8 millions de tonnes d'algues (6,4 milliards d'USD) (FAO, 2014).

Les algues sont utilisées dans les domaines de la cosmétique, de l'alimentation et, de manière plus marginale (en Bretagne), dans le domaine de l'agriculture (KALAYDJIAN *et al.*, 2010).

L'aquaculture dans les pays méditerranéens représente 4,9% de l'aquaculture mondiale. L'Algérie se distingue, parmi les pays méditerranéens, par sa très faible production qui est de 0,001% de la production mondiale.

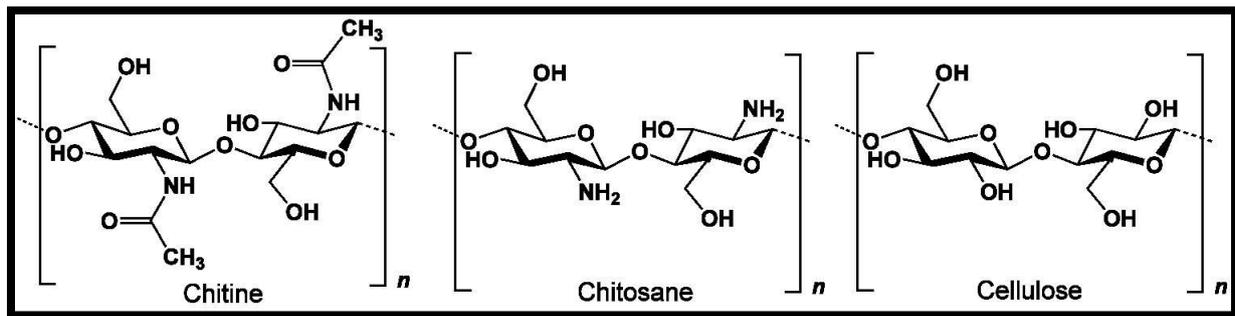
Il est important de signaler que l'Algérie demeure l'un des rares pays en Méditerranée à disposer de ressources halieutiques à très hautes valeurs marchandes très prisées par les consommateurs étrangers (MEUNIER *et al.*, 2013).

## 2. Chitine et dérivés

### 2.1. Définition et structure

La chitine est un polysaccharide d'origine marine. C'est le second polymère le plus abondant dans la nature après la cellulose (KHOUSHAB *et al.*, 2010 ; JAYAKUMAR *et al.*, 2012 ; JI *et al.*, 2012). Ce biopolymère est retrouvé chez les arthropodes tel les insectes (blattes, coléoptères, fourmis) et les crustacées (crevette, crabes) et chez certains mollusques (seiches, pieuvres, calmars) ainsi que dans les parois cellulaires de la plupart des champignons et de nombreuses algues (CRINI *et al.*, 2009; LEMONDE *et al.*, 2011).

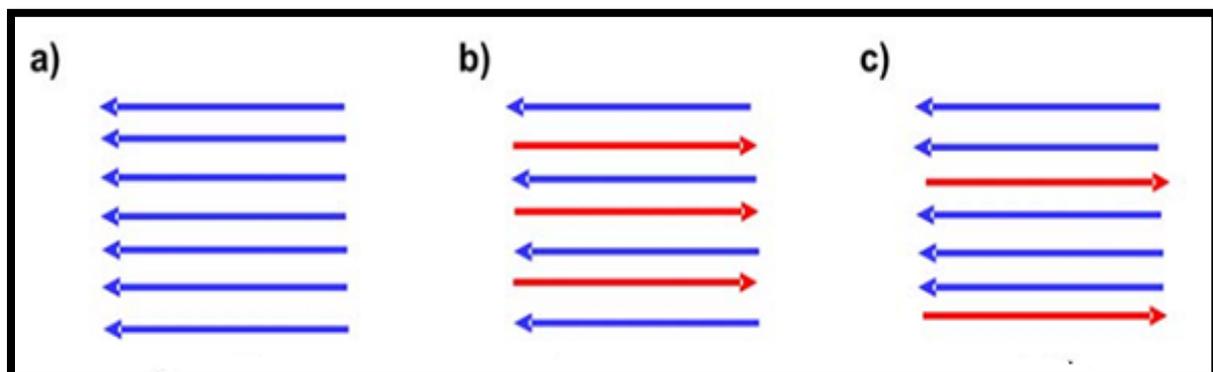
La chitine est un amino-polysaccharide ayant des groupements acétamides en position C-2. C'est un enchainement d'unités monomériques de N-acétyl- $\beta$ -D-glucosamine reliées par des liaisons glucosidique  $\beta$  (1-4). Sa structure chimique est proche de celle de la cellulose (**figure 2**) (CAYLA, 2007 ; ALVES et MANO, 2008).



**Figure 2:** Structures chimiques de la chitine, du chitosane et de la cellulose (RAVI KUMMAR, 2000).

La masse molaire moyenne de la chitine est de l'ordre de  $8 \cdot 10^5$  à  $10^6 \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . C'est un polymère linéaire fortement acétylée.

On peut retrouver la chitine sous trois formes cristallines :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  (**figure 3**), qui diffèrent par l'arrangement de la chaîne polysaccharidique et par la disposition des liaisons hydrogène (CRINI *et al.*, 2009).



**Figure 3 :** Schéma simplifié des trois formes cristallines de la chitine. a)  $\alpha$ -chitine. b)  $\beta$ -chitine. c)  $\gamma$ -chitine (KUMIRSKA *et al.*, 2011).

## 2.2. Historique de la découverte de la chitine

La chitine a été découverte en 1811 par BRACONNOT, qui a isolé un résidu impur à partir des parois cellulaires des champignons. Il appela cette substance « fungine ». En 1823, ODIER a extrait un composé similaire, à partir de la cuticule de l'exosquelette d'un insecte (DURAND et VERGINI, 2010 ; MUZZARELLI *et al.*, 2012). En traitant cette cuticule de coléoptère par de la potasse à chaud, il a obtenu un produit insoluble qu'il nomma chitine (terme grec qui signifie tunique ou enveloppe). ODIER fut intrigué par le fait que les insectes et les champignons possédaient le même composant structural. En 1859, ROUGET remarqua que la

chitine modifiée, préparée à partir de chitine traité par de la potasse à chaud, était soluble dans des solutions aqueuses acides. Cette propriété a alors été utilisée pour distinguer cette nouvelle substance de la chitine. Le nom chitosane a été introduit pour la première fois en 1894 par HOPPE-SEILER mais la découverte du chitosane est néanmoins attribuée à ROUGET.

Bien que la chitine et le chitosane soient connus depuis le 18<sup>ème</sup> siècle, les recherches n'ont réellement commencé qu'à partir des années 1930 (CRINI *et al.*, 2009).

Entre 1930 et 1940, la chitine et le chitosane ont suscité beaucoup d'intérêt principalement par leurs applications dans le domaine médical et le traitement de l'eau. En 1970, A cause des problèmes de pollution dus aux rejets massifs des carapaces dans les régions industrielles utilisant les crustacés, et étant donné que ces biopolymères sont des ressources renouvelables abondantes dans la nature (ROUSSY *et al.*, 2005).

## 2.3. Propriétés de la chitine et de ses dérivés

Par modifications chimiques, plusieurs dérivés peuvent être obtenus; le principal étant le chitosane. Ce dernier est obtenu par désacétylation partielle en milieu basique.

De part leurs propriétés, la chitine et ses dérivés suscitent un intérêt croissant dans divers domaines, notamment dans les domaines pharmaceutique et de l'ingénierie (CRINI *et al.*, 2009).

### 2.3.1. Degré d'acétylation

Le DA représente le taux de groupements acétylés présents dans la chitine (KUMIRSKA *et al.*, 2009). En général, il est de l'ordre de 85 à 95 % (ALSAGHEER *et al.*, 2009).

### 2.3.2. Solubilité

Du point de vue chimique, la chitine possède un caractère hydrophobe, ce qui explique son insolubilité aussi bien dans l'eau que dans les acides dilués, Les bases concentrées ou diluées et les solvants organiques les plus courants. Toutefois, certains solvants sont capables de la solubiliser, ce sont des mélanges diméthylformamides (DMF), chlorure de lithium LiCl ou diméthylacétamide DMAc/LiCl. Ces derniers sont des solvants très toxiques qui décristallise la structure de la chitine (HSIAO *et al.*, 2004), sachant que cette solubilité dépend du degré d'acétylation. En effet, la solubilité de la chitine augmente avec la diminution du degré d'acétylation.

### 2.3.3. Cristallinité

La structure fibreuse et rigide de la chitine se compose de chaînes qui sont reliées par des liaisons hydrogène, celles-ci en s'assemblant côte à côte forment des rubans étirés qui confèrent à cette structure une résistance de type cristallin (KUMAR *et al.*, 2011 ; LU *et al.*, 2013).

### 2.3.4. Propriétés biologiques et applications

La chitine est biocompatible et biodégradable. En effet, n'ayant aucun caractère antigénique, elle présente une parfaite compatibilité avec les tissus. Sa biodégradabilité est affectée par la cristallinité, qui elle-même dépend du degré de désacétylation (JAYKOMAR *et al.*, 2010 ; MOREIRA *et al.*, 2011 ; MUZZARELLI *et al.*, 2012).

Malgré sa faible toxicité et ses propriétés intéressantes, l'utilisation de la chitine reste restreinte à cause de sa solubilité fortement limitée. Par contre, suite à de diverses modifications chimiques, plusieurs dérivés ayant de nouvelles propriétés et activités ont vu le jour.

## 2.4. Application de la chitine et ses dérivés

La chitine et ses dérivés, en particuliers le chitosane, sont considérés comme une des plus prometteuses bio-ressources ; en effet, l'obtention des dérivés a permis d'élargir encore l'éventail de leurs applications. Les principaux domaines explorés sont l'agriculture, l'alimentation, la médecine, la chirurgie, les biotechnologies, les textiles, la cosmétique, le traitement des eaux. Le tableau II représente quelques applications de la chitine et du chitosane.

**Tableau II** : Applications de la chitine et du chitosane

Domaine d'application	Composé	Application	Référence
Médical/ pharmaceutique	Chitine et chitosane	Agent cicatrisant (stimulation de la régénération des tissus)	MUZZARELLI et MUZZARELLI, 2005 ; BORNET et TEISSEDDRE, 2008.
	chitosane	Adjuvant de vaccination Pansement Agent antifongique, bactériostatique et antitumoral.	MUZZARELLI et MUZZARELLI, 2005
	Chitine et chitosane	Activité anticancéreuse	SALAH <i>et al.</i> , 2013
Cosmétique	Chitine et chitosane	Maintien de l'hydratation de la peau Protection de l'épiderme Traitement d'acné	MARK <i>et al.</i> , 1985 ; RINAUDO, 2006
	chitosane	Réduction de l'électricité statique dans les cheveux	RINAUDO, 2006
Industrie alimentaire	chitosane	Ingrédient diététique Conservation des aliments (antioxydant, antimicrobiens) Agents émulsifiant	KOIDE <i>et al.</i> , 1998 ; SCHULZ <i>et al.</i> , 1998
	chitine	Auxiliaire technologique (clarification des boissons avec son pouvoir floculant)	CHATTERGEE <i>et al.</i> , 2004 ; KRAJEWSKA, 2004
		Agent antimicrobien et antioxydant Additif alimentaire structurant, texture, émulsifiant, etc.	RINAUDO, 2006 ; CRINI <i>et al.</i> , 2009
Technologie	chitosane	Technologie de l'eau (complexation aux ions métalliques)	KRAJEWSKA., 2004 ; YI <i>et al.</i> , 2005
Agriculture	chitosane	Eliciteur Agent antibactérien Enduits de graine Prolongateur de la durée de la vie des fleurs cueillies	AGRAWAL <i>et al.</i> , 2002 ; OHTA <i>et al.</i> , 1999

### 3. Hypercholestérolémie

Principale cause de mortalité dans le monde, les maladies cardiovasculaires constituent le problème de santé publique numéro un (TRAISSAC *et al.*, 2005 ; ABIFADELA *et al.*, 2007 ; DESPRES *et al.*, 2008 ; PHILIP et CONNELLY, 2009 ; Wolff *et al.*, 2011 ; IKURA *et al.*, 2015). Elles peuvent être dues à l'excès de graisses alimentaires, et plus particulièrement à l'excès de cholestérol.

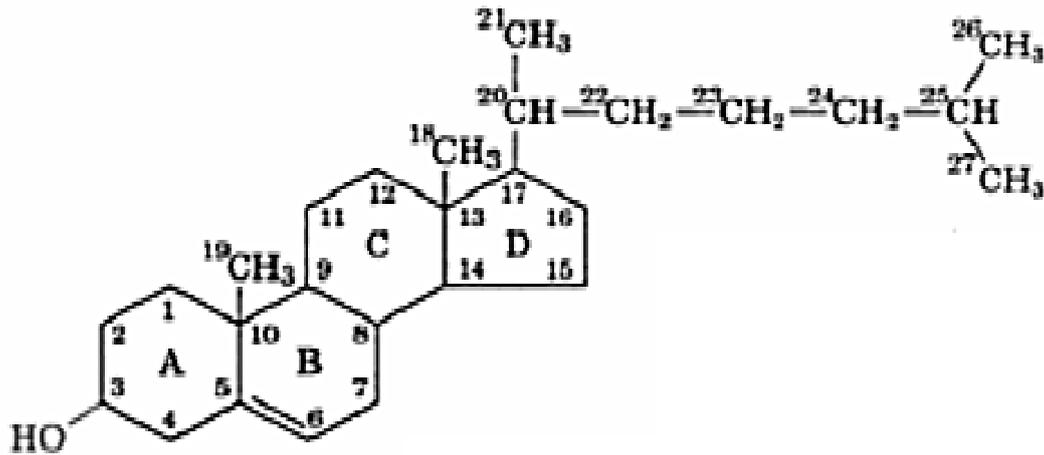
Substance lipidique du monde animal, le cholestérol est important et utile d'un point de vue métabolique. Néanmoins, l'augmentation du taux de celui-ci dans le plasma, l'hypercholestérolémie, est souvent associée à des pathologies comme facteur de risque voire causal.

Les relations entre cholestérol et santé ont d'abord été envisagées dès les années 1970, dans une optique de prévention cardiovasculaire. En effet de nombreux travaux d'épidémiologie descriptive ont établi que l'hypercholestérolémie était et demeure toujours, un facteur de risque majeur de la maladie coronarienne (VADIGUIE, 2000), d'ailleurs de nos jours les approches innovatrices pour l'élaboration des méthodes fiables de détermination du cholestérol sont en constante augmentation (SOYLEMEZ, 2015).

#### 3.1. Définition et importance du cholestérol

Le cholestérol est un composé d'origine exclusivement animale, de formule chimique  $C_{27}H_{45}OH$  (**Figure 4**). Il a une importance capitale dans l'organisme.

Dans le sang, il est véhiculé en s'associant à d'autres lipides et à des apoprotéines en des complexes lipoprotéiniques. En effet, après absorption intestinale et passage dans le foie, le cholestérol est transporté vers les tissus, via la lymphe et le sang, en s'association aux lipoprotéines VLDL et LDL. L'épuration tissulaire, de celui-ci, implique les lipoprotéines HDL qui le rapportent au foie où il est transformé en acides biliaires, dont l'acide cholique est le plus abondant chez les mammifères (NAIR *et* KRITCHEVSKY, 1971).



**Figure 4** : Formule développée du cholestérol avec le système de numérotation standard (VOET et VOET, 2005).

Le cholestérol est un constituant essentiel des membranes eucaryotes ; il peut y moduler la perméabilité en modifiant la rigidité/fluidité (CHANG *et al.*, 2006). Aussi, il interagit avec les protéines membranaires pour jouer un rôle clé dans la signalisation cellulaire (DU *et al.*, 2015). Les cellules hépatiques le transforme en acides biliaires, celles du cortex surrénales et des gonades en hormones stéroïdes et celles de la peau en vitamine D appelée aussi calciférol (JOHN et GLOMSET, 1985 ; CARILLON, 1989).

Le cholestérol a une double origine : une origine alimentaire exogène et une origine synthétique endogène. Le foie et l'intestin étant les deux sites majeurs de sa synthèse (**Figure 5**). Ainsi, son taux plasmatique dépend de la régulation cellulaire et des apports alimentaires (REPA et MAGELSDORF, 2000).

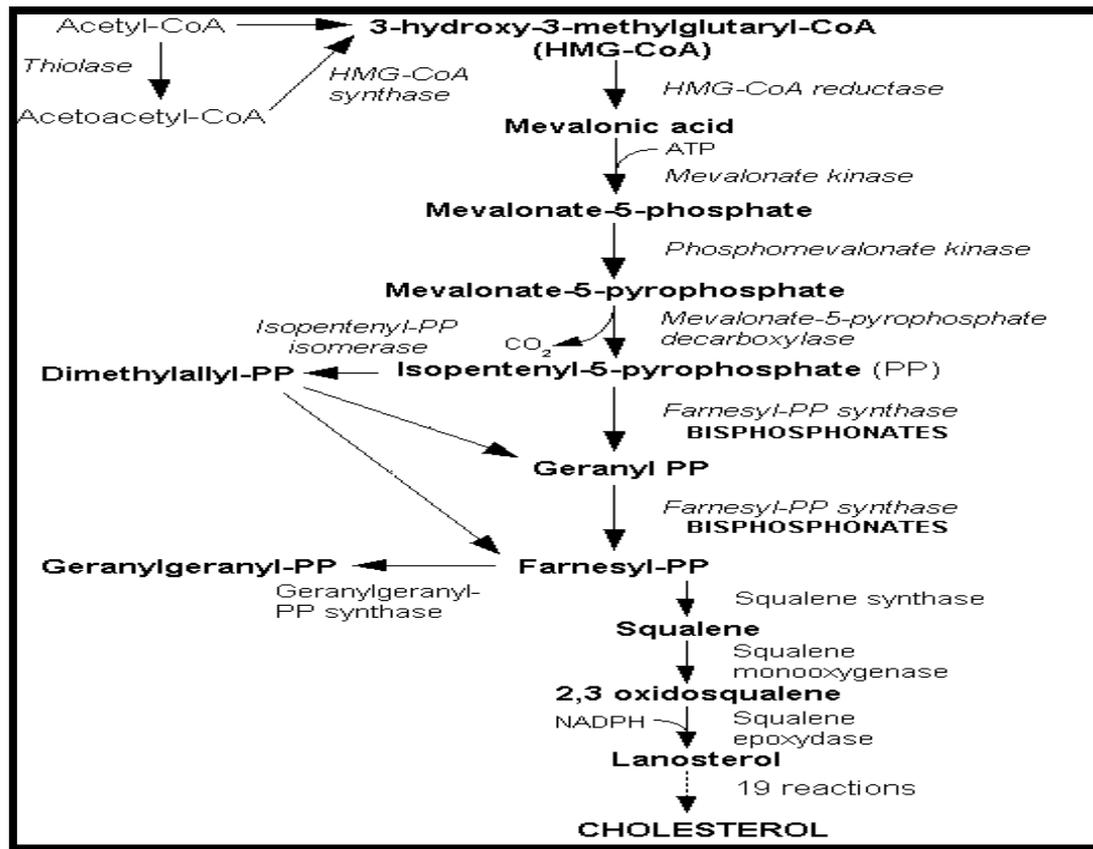


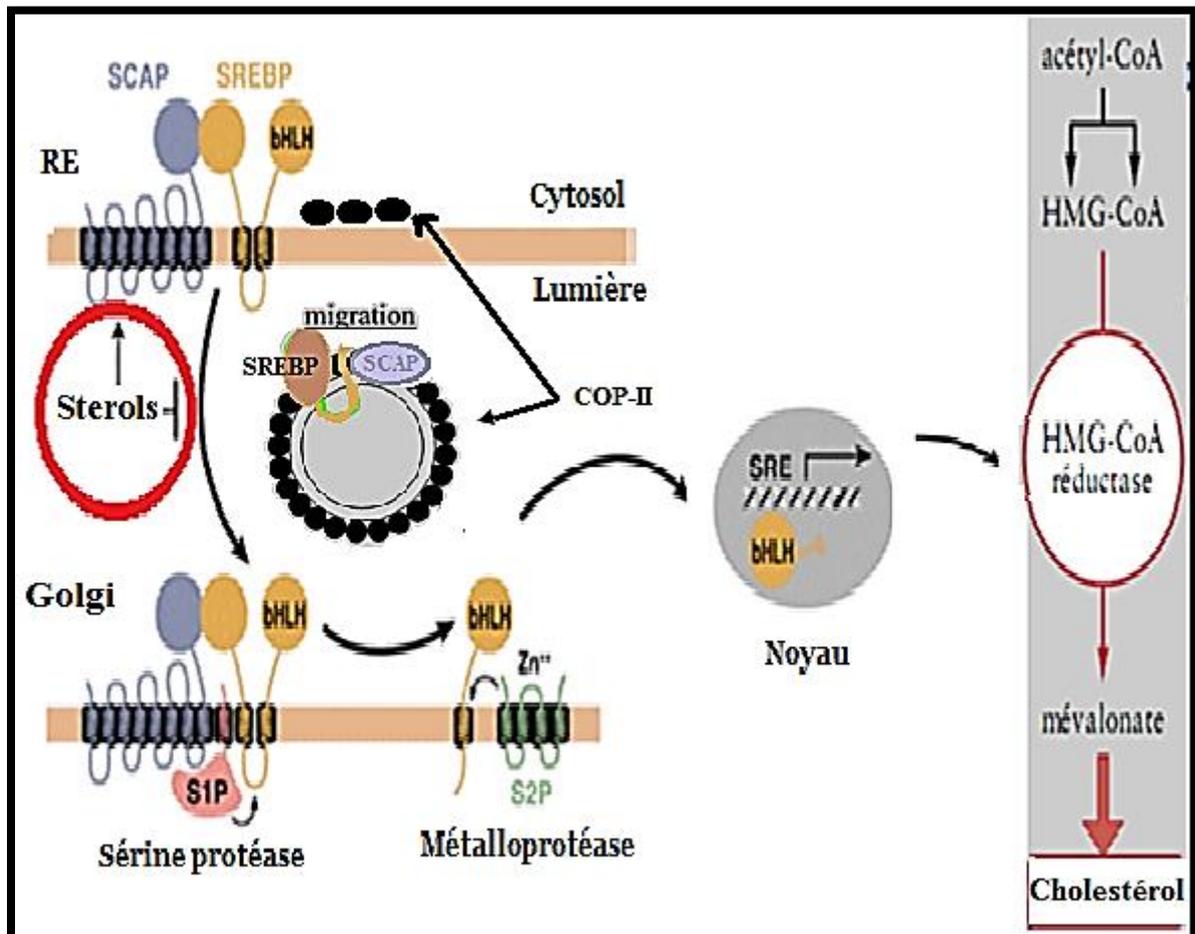
Figure 5. Biosynthèse du cholestérol (WATERHAM et WANDERS, 2000).

### 3.2. Régulation du cholestérol

La régulation de la biosynthèse du cholestérol est destinée à ne produire que le complément nécessaire au cholestérol d'origine exogène (NESS, 2015). Elle repose sur la gestion à la fois de sa synthèse endogène, de son stockage et de son élimination. Elle se base surtout sur la régulation de l'activité de la HMG-CoA réductase. En effet, il a été démontré que la diminution de la synthèse du cholestérol dans le foie est due à une diminution correspondante de l'activité de la HMG-CoA réductase, l'enzyme qui catalyse l'étape limitante de la biosynthèse du cholestérol (SIPERSTEIN et FAGAN, 1966 ; RODWELL *et al.*, 1976).

La synthèse de l'enzyme HMG CoA réductase est contrôlée par un système régulateur remarquable qui implique les protéines de liaison à l'élément de régulation des stérols qui est la SREBP (Figure 6). La SREBP est également connue comme étant la principale protéine régulant l'expression du récepteur des LDL (PHILIP et CONNELLY, 2009). La lécithine cholestérol acyl transférase ou LCAT, enzyme responsable de l'estérification du cholestérol plasmatique, joue un rôle crucial dans le transport inverse de celui-ci, en facilitant

l'élimination de l'excès sous forme de cholestérol estérifié, des tissus périphériques vers le foie pour y être ensuite éliminé (CHANG *et al.*, 2000). C'est le cholestérol libre lui-même qui régule l'activité de ces deux enzymes (HMG-CoA réductase et LCAT) (AILHAUD, 1977).



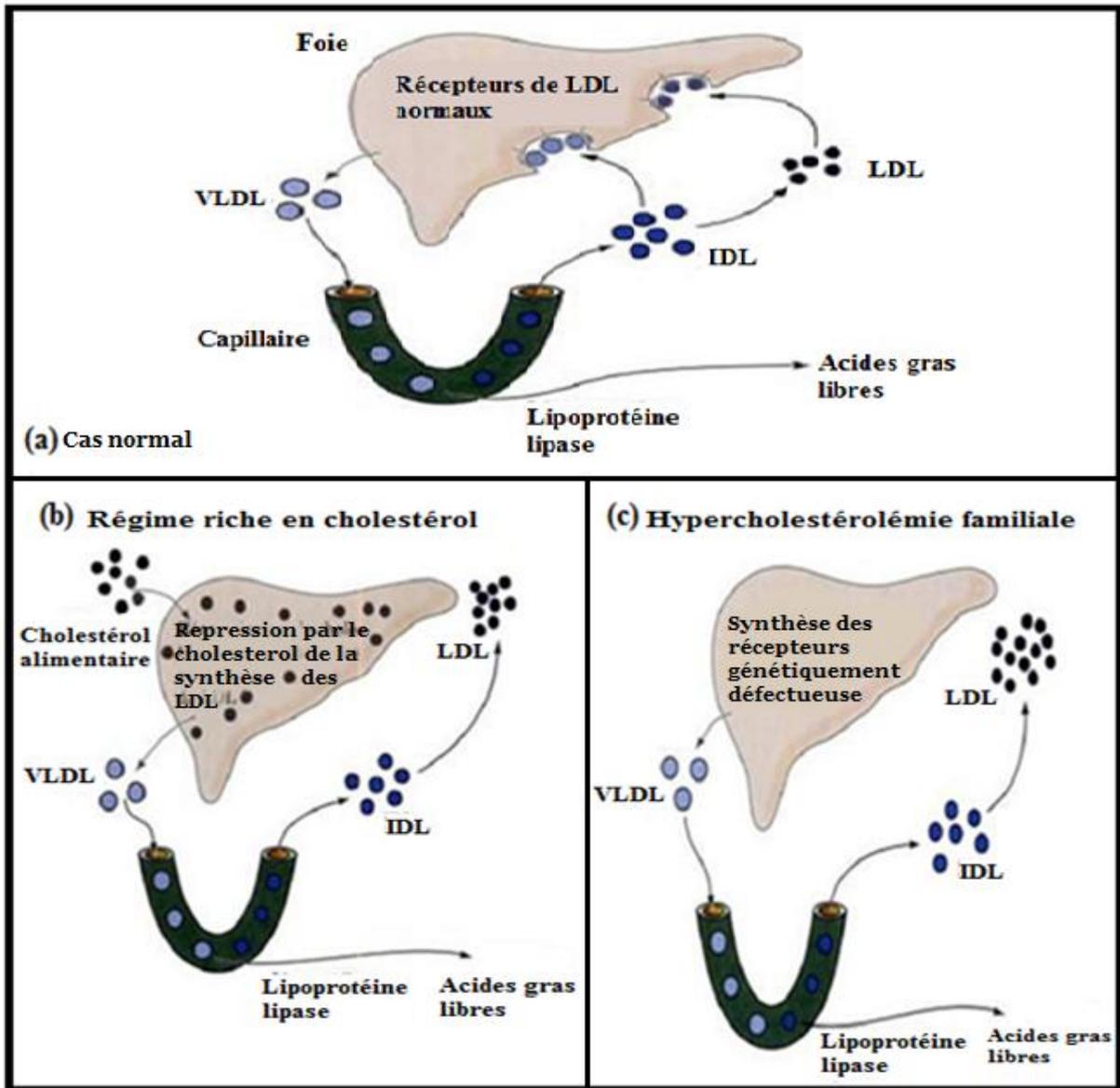
**Figure 6.** Le mécanisme d'action des SREBP (SOUIDI *et al.*, 2004; DU *et al.*, 2015).

En absence de stérol : dès sa synthèse au niveau du réticulum endoplasmique, SREBP s'associe aux protéines SCAP. Ces dernières contactent des protéines COP-II, permettant au complexe SREBP/SCAP de migrer vers l'appareil de Golgi dans des vésicules bordées de COP-II. A ce niveau, SREBP est clivée en deux temps par les protéases S1P puis S2P, libérant le domaine N-terminal de la protéine. Ce dernier se transloque dans le noyau et se dimérise. Les dimères formés se fixent sur les SRE et activent la transcription des gènes cibles.

En présence de stérols : la fixation du cholestérol à SCAP empêche la formation des complexes SCAP/COP-II, séquestrant SREBP dans le réticulum endoplasmique.

### 3.3. Causes de l'hypercholestérolémie

Deux facteurs principaux sont à l'origine de l'hypercholestérolémie : il s'agit des facteurs alimentaires et des facteurs génétiques (MAZIERE *et al.*, 1981). Les facteurs alimentaires sont la consommation excessive d'aliments gras, sucrés ou salés, la consommation excessive d'alcool, le tabagisme et la sédentarité (**Figure 7b**).



**Figure 7.** L'hypercholestérolémie familiale et diététique (GOLDSTEIN et BROWN, 1984).

Les récepteurs LDL du foie contrôlent la formation et le captage des LDL du plasma. (a) Chez des sujets sains humains, les VLDL sont sécrétées par le foie et transformées en IDL dans les capillaires des tissus périphériques. Environ la moitié des particules IDL du plasma se lie à un récepteur de LDL et sont captées par le foie. Le restant est transformé en LDL dans les tissus périphériques. (b) Chez les individus atteints d'hypercholestérolémie familiale les récepteurs LDL du foie sont peu nombreux ou absents en raison d'une déficience génétique. (c) chez les individus normaux qui s'alimentent régulièrement avec un régime riche en cholestérol, le foie est surchargé de cholestérol qui réprime la vitesse de synthèse des récepteurs de LDL.

L'hypercholestérolémie familiale est due aux facteurs génétiques et est donc héréditaire (**Figure 7c**). Elle est liée à l'incapacité du sujet atteint de réguler l'enzyme HMG-CoA réductase, et/ou à des mutations au niveau d'un gène appelé PCSK9, dont le rôle est la suppression de l'expression fonctionnelle des LDLR, provoquant ainsi une diminution des

taux de récepteurs des LDL à la surface cellulaire, causant une augmentation du taux du cholestérol LDL (TRAISSAC *et al.*, 2005; PHILIP et CONNELLY, 2009).

De même certaines maladies peuvent modifier le taux du cholestérol. C'est le cas des atteintes hépatiques ou thyroïdiennes, des maladies des reins (le syndrome néphrotique et l'insuffisance rénale) ou encore le diabète de type II (PARINI *et al.*, 1999).

### 3.4. Symptômes et complications de l'hypercholestérolémie

L'excès du cholestérol ne s'accompagne, en général, d'aucun symptôme, il s'accumule dans les artères (notamment celles du cœur) et forme progressivement, sur leurs parois, des dépôts graisseux (plaques de cholestérol) qui s'épaississent. Ceci est à l'origine des thromboses, infarctus du myocarde, accidents vasculaires cérébraux ou artérites des membres inférieurs (BATTU, 2013). En outre, TRAISSAC et ses collaborateurs (2005) ont montré qu'il pourrait y avoir un lien entre le cholestérol et la protéine bêta-amyloïde, peptide associé à la maladie d'Alzheimer.

Récemment, le caractère cytotoxique des oxystérols a été associé à la toxicité neuronale causée par l'accumulation de la plaque  $\beta$ -amyloïde dans la maladie d'Alzheimer (VAYA et SCHIPPER, 2007).

Dans l'hypercholestérolémie familiale, ces mêmes troubles (cités ci-dessus) se remarquent plus tôt et s'accompagnent de manifestations cutanées visibles à l'examen physique telles que des xanthes et un épaissement du tendon d'Achille dues aux dépôts extravasculaires (ABIFADELA *et al.*, 2007 ; PHILIP et CONNELLY, 2009).

### 3.5. Traitements de l'hypercholestérolémie

Pour réduire le taux de cholestérol, une alimentation diététique et un traitement médicamenteux sont prescrits.

#### 3.5.1. Mesures hygiéno-diététiques

Les mesures hygiéno-diététiques sont un aspect important du traitement de l'hypercholestérolémie, qu'elle soit diététique ou héréditaire, et doivent toujours être instituées, même si celles-ci sont insuffisantes pour atteindre les objectifs souhaités sur le LDL-C (FARNIER, 2013).

## 3.5.2. Traitement médicamenteux

Les statines sont le médicament le plus prescrit aux sujets atteints d'hypercholestérolémie. La sévérité de cette dernière requiert l'utilisation des statines les plus puissantes (atorvastatine, rosuvastatine et simvastatine). Les statines permettent l'inhibition de la HMG-CoA réductase (MARKS *et al.*, 2003; CIVEIRA *et al.*, 2004 ; ITO *et al.*, 2011).

Les autres possibilités thérapeutiques à considérer en cas d'intolérance totale aux statines sont l'utilisation de l'ézétimibe (inhibiteur de l'absorption intestinale du cholestérol (GE *et al.*, 2008), ou d'une résine séquestrante des acides biliaires (colestyramine) (ITO *et al.*, 2011). Mais les effets secondaires digestifs fréquents limitent souvent leur utilisation (FARNIER *et al.*, 2013).

Les inhibiteurs de PCSK9 pourraient constituer de nouvelles cibles pour le traitement de l'hypercholestérolémie (BLOM *et al.*, 2014).

*Chapitre II :*  
*Matériel et méthodes*

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires d'analyses physico-chimiques I et II de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

La présente thématique consiste à étudier l'activité hypocholestérolémiante d'extraits marins, plus précisément d'extraits d'algues, de chitine et de ses dérivés, préalablement préparés par notre promotrice, et d'un extrait d'algue verte *Ulva fasciata* récoltée par nous-même d'Azeffoun.

Ce travail consiste, en premier lieu en l'obtention de l'extrait brut de l'algue récoltée, puis, en l'étude *in vitro* de l'activité hypocholestérolémiante de tous les extraits suivant le protocole décrit par YOO et ses collaborateurs (2005).

## **1. Matériel**

### **1.1. Matériel biologique**

Les extraits préalablement préparés par Mme TAZDAÏT sont :

- les extraits des algues rouges : *Halymenia durvilei* et *Rhodella violacea* ;
- la fraction lipidique de *Rhodella violacea* ;
- la fraction glucidique de *Rhodella violacea* ;
- l'ulvane (polysaccharide extrait d'algues vertes) ;
- la chitine extraite de crevette;
- les dérivés de la chitine extraite de crevette : carboxyméthyl chitine, phtalimido chitine, chitosane, oxychitosane, carboxyméthyl chitosane, phtalimido chitosane.

L'extrait que nous avons-nous-même préparé est :

- l'extrait de l'algue verte *Ulva fasciata*.

### **1.2. Produits et réactifs utilisés**

- Acide sulfurique à 70% ;
- Furfural ;
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ;
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  ;
- $\text{HCl}$  ;
- $\text{NaOH}$  ;
- Azide sodium ( $\text{NaN}_3$ ) ;
- Acide cholique ( $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_5$ ).

### 1.3. Petit matériel et verrerie

- Mortier en porcelaine ;
- Micropipettes ;
- Tubes à essai ;
- Tubes secs ;
- Bêchers ;
- Entonnoir ;
- Fioles jaugées ;
- Eprouvette ;
- Barreaux magnétiques ;
- Boudins de dialyse (seuil de coupure : 8000 Da).

### 1.4. Appareillages

- Agitateur à plaque chauffante (VWR, USA) ;
- Agitateur magnétique (Rühro *mag*, HANNA) ;
- Balance de précision (KERN 770, Allemagne) ;
- Étuve (Mettler, Allemagne) ;
- pH-mètre (inoLab, Allemagne) ;
- Spectrophotomètre UV-visible (UV-9200, Ukraine).

## 2. Classification des algues utilisées

La taxonomie des algues utilisées est mentionnée dans le tableau III.

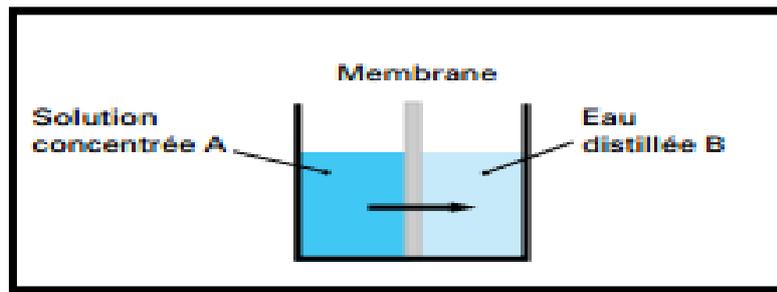
**Tableau III** : Taxonomie des algues *Halymenia durvilei*, *Rhodella violacea* et *Ulva fasciata*.

	<i>Halymenia durvilei</i>	<i>Rhodella violacea</i>	<i>Ulva fasciata</i>
Règne	Plantae	Plantae	Plantae
Embranchement	Rhodophyta	Rhodophyta	Chlorophyta
Classe	Florideophyceae	Porphyridiophyceae	Ulvophyceae
Ordre	Halymeniales	Porphyridiales	Ulvales
Famille	Halymeniaceae	Porphyridiaceae	Ulvaceae
Genre	<i>Halymenia</i>	<i>Rhodella</i>	<i>Ulva</i>
Espèce	<u><i>Halymenia durvilei</i></u>	<u><i>Rhodella violacea</i></u>	<u><i>Ulva fasciata</i></u>
Références	YOON <i>et al.</i> , 2006	DE JESUS RAPOSO <i>et al.</i> , 2013	CHAKRABORY <i>et al.</i> , 2010

### 3. Méthodes

#### 3.1. La dialyse

La dialyse est un procédé de séparation de substances dissoutes, fondé sur leurs différences de diffusibilité à travers des membranes (PASTOR et PAULI, 1995). Grâce à ce procédé, il est possible de s'appuyer sur la différence des coefficients de diffusion pour séparer des substances de masses moléculaires différentes (MARIGNAN, 1980).



**Figure 8.** Schéma représentatif d'une dialyse (PASTOR et PAULI, 1995).

La solution concentrée A contient des molécules de masses moléculaires élevées, des ions minéraux et des petites molécules. Les ions et les petites molécules traversent la membrane et passent dans le compartiment B jusqu'à ce que leur concentration soit égale de part et d'autre de la membrane, si l'on ne change pas l'eau en B (dialyse à l'équilibre), ou jusqu'à élimination totale si l'on renouvelle périodiquement ou en continu l'eau distillée du compartiment B. Les grosses molécules restent en A.

#### 3.2. Spectrométrie

L'absorption des radiations lumineuses par la matière dans la plage spectrale s'étendant du proche ultraviolet au très proche infrarouge, soit entre 180 et 1 100 nm, a été abondamment étudiée d'un point de vue fondamental. Cette partie du spectre est désignée par l'UV/Visible, parce qu'elle englobe les radiations perceptibles par l'œil humain (le visible de 400 à 700 nm). D'une manière générale, elle apporte peu d'informations structurales, mais elle a, en revanche, beaucoup d'applications en analyse quantitative. Les calculs de concentration qui découlent de la loi de Beer et Lambert ont donné naissance à la méthode connue sous le terme général de colorimétrie. Cette méthode s'applique non seulement aux composés qui possèdent un spectre d'absorption dans le visible mais aussi à tous ceux qui conduisent au moyen d'un réactif spécifique à un dérivé permettant une mesure d'absorbance (ROUESSAC et ROUESSAC, 2004).

L'absorption du rayonnement UV-VIS par les molécules permet de mesurer le nombre (ou plutôt la concentration) de ces molécules présentes dans le trajet du rayonnement. On ne mesure pas directement ce nombre, mais on procède à un étalonnage en utilisant des mélanges

étalons de concentrations connues des molécules que l'on veut doser. Ces étalons sont placés dans des cellules d'absorption traversées par le rayonnement UV-VIS. La quantité de rayonnement absorbée dans les zones d'absorption spécifiques des molécules à doser est déterminée par le spectrophotomètre (DI BENEDETTO et BREUIL, 2007).

À une longueur d'onde où la molécule absorbe, il existe une loi simple entre quantité de rayonnement transmis par le milieu et concentration des molécules qui absorbent. C'est la loi de Beer-Lambert qui relie absorption, à une longueur d'onde  $\lambda$ , et concentration  $c$  des molécules qui absorbent. Si l'intensité du rayonnement à la longueur d'onde  $\lambda$ , avant traversée de la cellule, est  $I^\circ_\lambda$ , l'intensité, après traversée de la cellule, sera  $I_\lambda$ , reliée à par la relation :

$$A = \lg \frac{I^\circ}{I} = \varepsilon l c$$

Avec  $A$  absorbance du milieu à la longueur d'onde  $\lambda$ , exprimée en nm dans l'UV-VIS,

$\lg \frac{I^\circ}{I}$  logarithme en base 10,

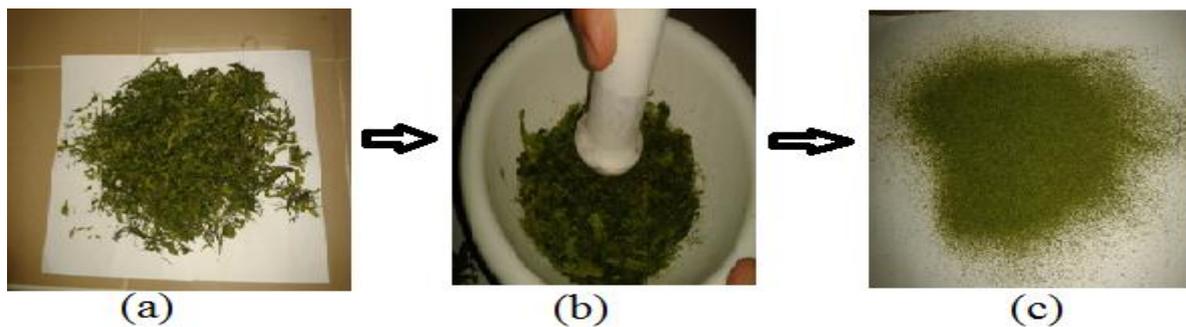
$\varepsilon$  coefficient spécifique d'absorbance molaire (coefficient d'extinction moléculaire) en  $L \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,

$l$  trajet optique de la cellule en cm,

$c$  concentration en  $\text{mole} \cdot L^{-1}$  des molécules qui absorbent à la longueur d'onde  $\lambda$ .

### 3.3. Obtention de l'extrait brut de l'algue *Ulva fasciata*

L'algue récoltée est rincée puis séchée à l'air libre pendant trois jours, puis, mise à l'étuve à 70°C pendant 1h afin d'éliminer toute trace d'humidité. L'algue séchée (**Figure9.a**) est broyée (**Figure9.b**), puis réduite en poudre à l'aide d'un mortier et d'un pilon en porcelaine (**Figure9.c**).



**Figure 9.** Obtention de l'extrait brut de l'algue *Ulva fasciata*. (a) algue séchée. (b) broyage de l'algue. (c) poudre d'algue.

### 3.4. Etude de l'activité hypocholestérolémiante

L'étude de l'activité hypocholestérolémiante a été effectuée *in vitro* selon le protocole décrit par YOO *et al.* (2005). Le principe de cette expérimentation est de mesurer la capacité des échantillons à séquestrer l'acide cholique et ainsi retarder sa diffusion au travers d'une membrane de dialyse. Ceci est mis en évidence par la mesure de l'effet retardation de l'acide cholique (CRI). En effet la relation qui lie la chélation de l'acide cholique et l'effet hypocholestérolémiant est le faite que le blocage du cycle entéro-hépatique de celui-ci induit l'organisme à puiser des réserves de cholestérol afin de produire des acides biliaires, ce qui diminue le taux du cholestérol sanguin.

Le CRI (Cholic acid Retardation Index) de chaque prélèvement est calculé par l'équation suivante :

$$CRI (\%) = \left[ 1 - \left( \frac{\text{quantité d'acide cholique diffusée du boudin contenant l'échantillon}}{\text{quantité d'acide cholique diffusée du boudin témoin (sans échantillon)}} \right) \right] \times 100$$

#### 3.4.1. Protocole expérimental

La membrane de dialyse (8000 Da) est plongée dans une solution d'azide sodium à 0,1% (dans de l'eau distillée) pendant 24 h sous agitation lente.

0,04 g d'échantillon sont mélangés à 6mL d'une solution contenant 15mM d'acide cholique et 0,1% d'azide sodium (dans du tampon phosphate) (**Figure10.a**).

Après 18 h d'agitation, la solution contenant l'échantillon est versée dans le boudin de dialyse (**Figure10.b**). Ce dernier est plongé dans 70mL de tampon phosphate sous agitation à 37 °C (**Figure10.c**).

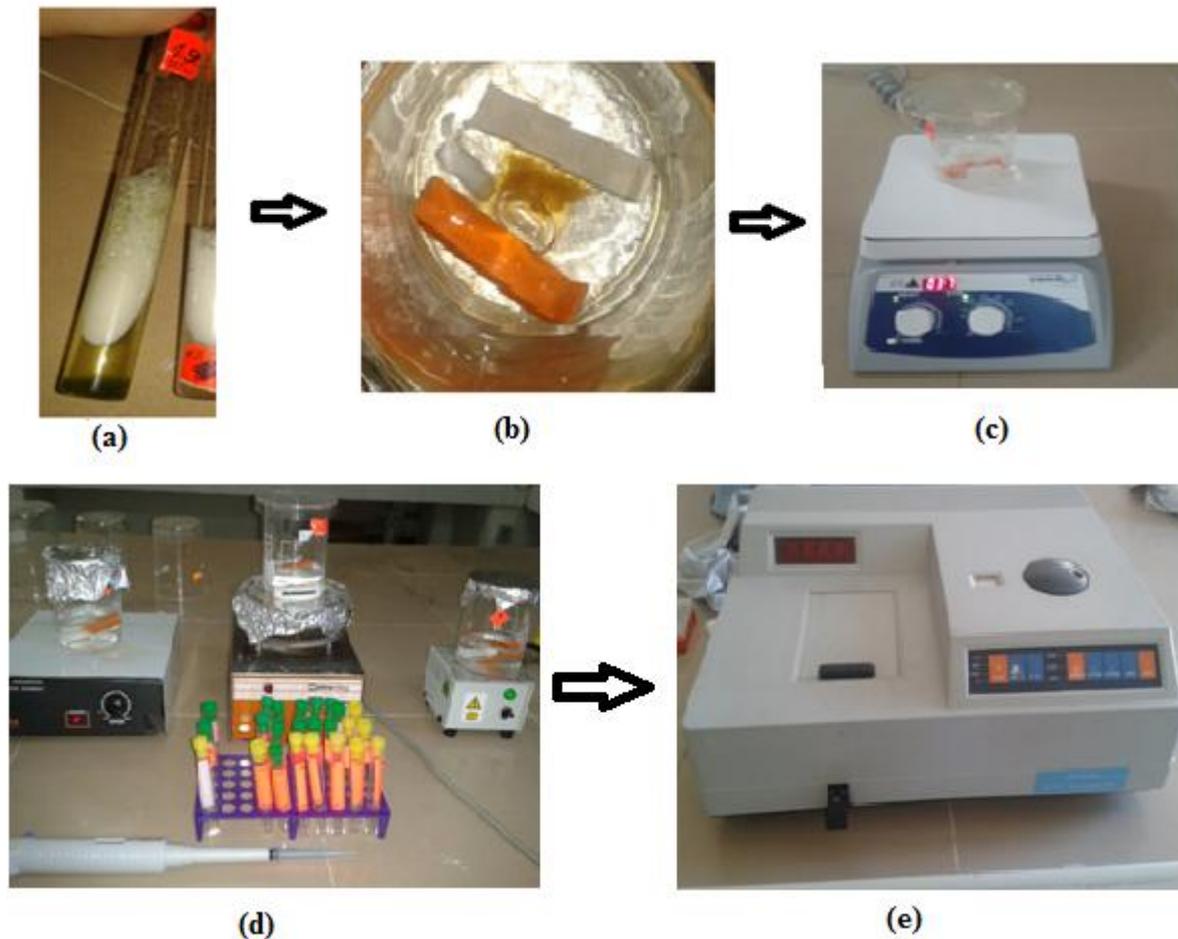
Au cours de la dialyse des prélèvements de 1 mL du dialysat sont effectués, et ce au temps suivants : 10min, 30min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h et 24h (**Figure10.d**).

Les prélèvements sont immédiatement analysés comme suit :

0,2mL sont mélangés à 1mL d'acide sulfurique à 70%. Après 5 min, 1mL de furfural à 0,25% est rajouté. Le tout est agité pendant 60min. L'absorbance est mesurée à 510 nm par spectrophotométrie (**Figure10.e**).

Les concentrations sont calculées en suivant la loi de Beer et Lambert, sachant qu'un prélèvement dont la concentration est connue est utilisé.

Le calcul des CRI des différents prélèvements est effectué selon l'équation citée si dessus.



**Figure 10.** Etude de l'activité hypocholestérolémiante. (a) tube à essai contenant l'échantillon préparé. (b) boudin de dialyse contenant l'échantillon à étudier immergé dans un tampon phosphate. (c) agitation du boudin de dialyse. (d) prélèvement du dialysat à différents temps de dialyse. (e) analyse au spectrophotomètre.

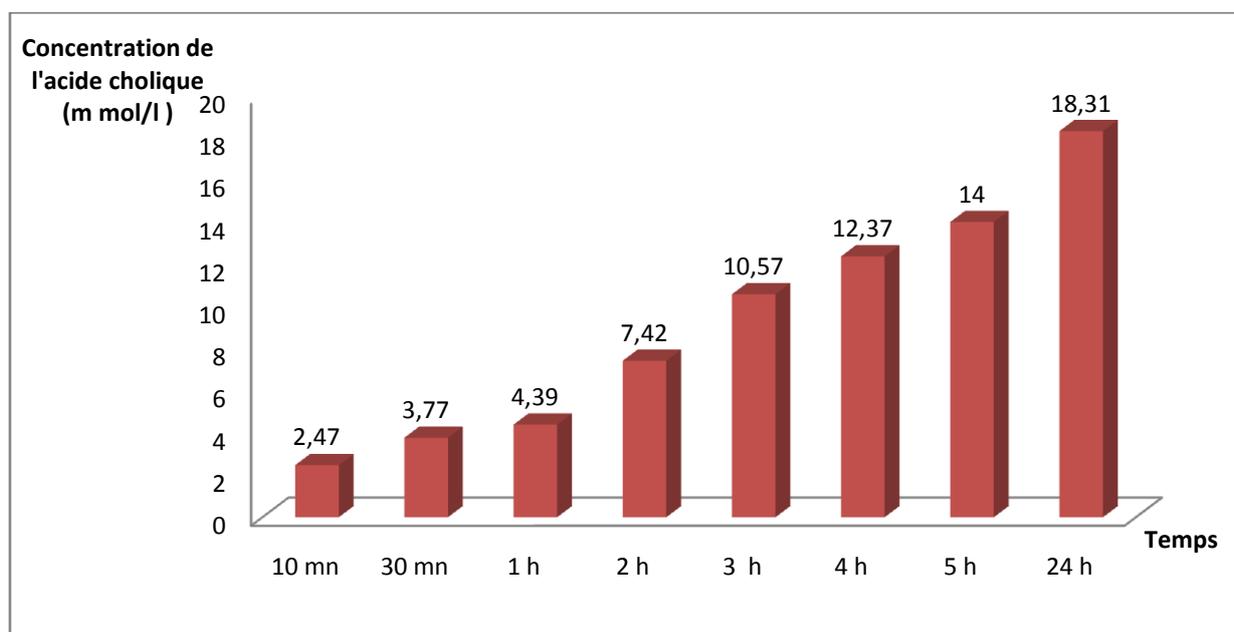
### Remarque

La préparation d'un litre de tampon phosphate à 50mM, pH 7,0 revient à mettre 4,08 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  et 7,16 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  dans un litre d'eau distillé tout en ajustant le pH à 7,0 avec du NaOH ou de l'HCl.

*Chapitre III :*  
*Résultats et discussion*

Dans la présente étude, l'évaluation de l'activité hypocholestérolémiant *in vitro* revient à mesurer la capacité des échantillons à se complexer aux acides biliaires. Cette capacité chélatrice vis-à-vis de la bile est étudiée par la méthode de dialyse à l'équilibre selon le protocole de YOO *et al.* (2005); elle est représentée par la quantité d'acide cholique retenue dans un boudin de dialyse en présence de l'échantillon à étudier, quand celui-ci diffuse vers un tampon phosphate.

Les concentrations de l'acide cholique diffusé obtenu à partir du boudin témoin sont représentées sous forme histogramme dans la figure 11.



**Figure 11.** Histogramme représentant la concentration de l'acide cholique diffusée du boudin témoin en fonction du temps.

La figure 11 montre que les concentrations de l'acide cholique diffusées du boudin témoin sont en augmentation croissante, allant de 2,47 m mol/l (10 mn) à 18,31 m mol/l (24h). Étant le boudin témoin celui-ci est effectué en absence d'échantillon, par conséquent l'acide cholique n'est pas retenu et diffuse passivement vers le dialysat. Selon les principes de la diffusion l'acide cholique diffusera selon le gradient de concentration, du milieu le plus concentré au moins concentré ce qui donne une observation de concentrations croissantes au niveau du dialysat.

Les concentrations de l'acide cholique diffusé en présence des différents échantillons étudiés sont regroupées dans le tableau IV.

**Tableau IV** : les concentrations de l'acides cholique diffusible en présence des différents échantillons étudiés

Echantillons	[acides cholique] (m mol/l)							
	10mn	30mn	1H	2H	3H	4H	5H	24H
<b>Chitine</b>	0,18	2,78	3,52	7,05	6,58	9,27	12,9	17,6
<b>Phtalimido Chitine</b>	0,8	2,23	3,22	5,25	7,42	6,31	7,79	9,59
<b>Carboxyméthyl Chitine</b>	2,11	4,08	8,96	13,6	15,7	16	15,4	15,6
<b>Chitosane</b>	1,23	1,36	2,53	4,63	7,54	9,52	11,07	16,39
<b>Phtalimido Chitosane</b>	1,79	2,22	3,21	6,06	8,35	9,83	11,75	16,14
<b>Oxychitosane</b>	1,11	2,04	3,03	4,95	7,79	8,97	11,26	15,9
<b>Carboxyméthyl Chitosane</b>	0,12	1,18	2,04	3,71	4,45	4,95	4,76	8,23
<i>Haliménia durvilei</i>	1,29	1,91	2,84	6,06	9,27	8,66	12,74	17,56
<i>Rhodella violacea</i>	1,17	2,41	3,77	5,81	7,23	9,27	10,26	18,49
<b>Ulvane</b>	1,17	2,28	4,51	6,92	10,63	13,3	15,15	19,54
<i>Ulva fasciata</i>	2,04	3,09	3,83	7,42	9,95	11,36	14,84	20,35
<b>Fraction lipidique de <i>Rhodella violacea</i></b>	1,54	1,54	2,47	4,14	7,73	10,39	11,81	15,71
<b>Fraction polysaccharidique de <i>Rhodella violacea</i></b>	0,3	1,48	2,16	5,56	7,97	6,61	6,86	8,04
<b>Témoins</b>	2,47	3,77	4,39	7,42	10,57	12,37	14,1	18,31

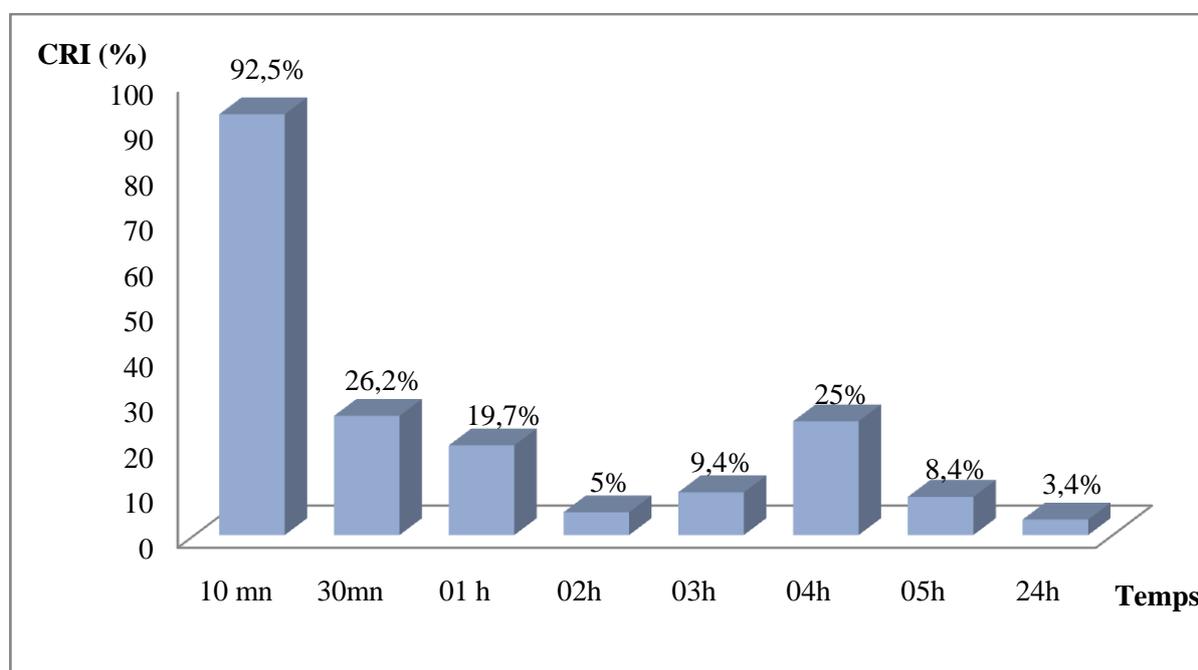
Les résultats présentés dans le tableau IV indiquent une variation des concentrations de l'acide cholique diffusible en fonction du temps et des échantillons étudiés. Les valeurs minimales observées à 10 mn de dialyse étant selon leur ordre de croissance respectivement obtenues en présence des échantillons suivant : carboxyméthyl chitosane, chitine, fraction polysaccharidique de *Rhodella violacea*, phtalimido chitine , oxychitosane , ulvane, *Rhodella violacea*, chitosane, *Halyménia durvilei*, phtalimido chitosane, fraction lipidique de *Rhodella violacea*, *Ulva fasciata* , carboxyméthyl chitine , témoin. La valeur minimale est de 0,12 m mol/l comparé à celle du boudin témoin qui est de 2,47 m mol/l.

Les valeurs de concentration de l'acide cholique obtenues en présence de tous les échantillons étudiés augmentent graduellement en fonction du temps de dialyse à l'exception des valeurs obtenus avec la carboxyméthyl chitine qui se stabilisent à partir de 4h de dialyse.

## 1. Etude de l'activité hypocholestérolémiante de la chitine, de la phtalimido chitine et de la carboxyméthyl chitine

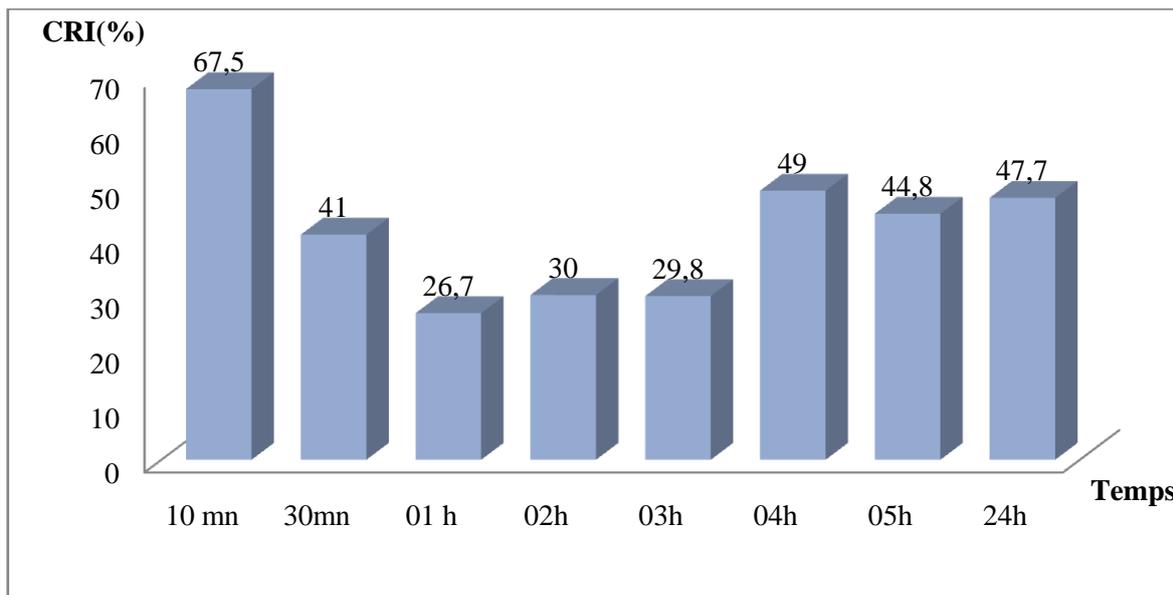
Les histogrammes représentant l'effet retard exercé sur l'acide cholique à des temps différents par la chitine, la phtalimido chitine et la carboxyméthyl chitine sont représentés dans les figures 12, 13 et 14.

La figure 12 montre que la chitine présente une capacité chélatrice vis-à-vis de l'acide cholique élevée mais limitée dans le temps. En effet, celle-ci est estimée à 92,5% à 10mn de diffusion puis s'estompe pour atteindre 3,4% au bout de 24h de diffusion.



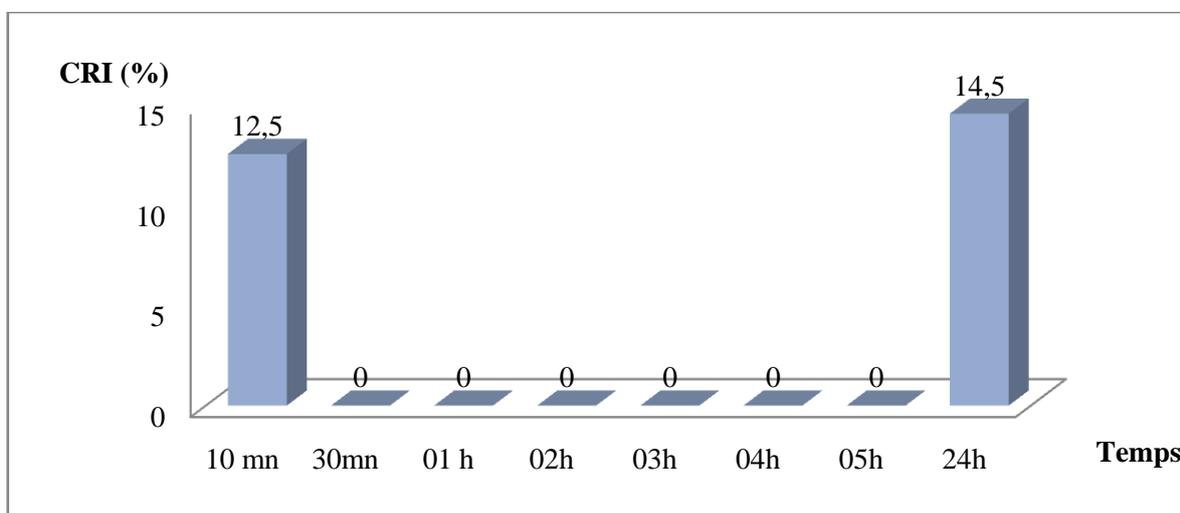
**Figure 12 :** Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la chitine en fonction du temps.

Par contre, en ce qui concerne la phtalimido chitine, la capacité chélatrice vis-à-vis de l'acide cholique semble plus stable. En effet, celle-ci est estimée à 67,5% à 10mn de diffusion puis s'estompe légèrement pour atteindre 47,7% au bout de 24h de diffusion.



**Figure 13.** Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la Phtalimido-chitine en fonction du temps.

La carboxyméthyl chitine, quant à elle, a une très faible capacité chélatrice vis-à-vis de l'acide cholique. En effet, celle-ci est obtenue seulement à 10mn de diffusion avec 12,5% et au bout de 24h de diffusion avec 14,5%.



**Figure 14.** Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la carboxyméthyl chitine en fonction du temps.

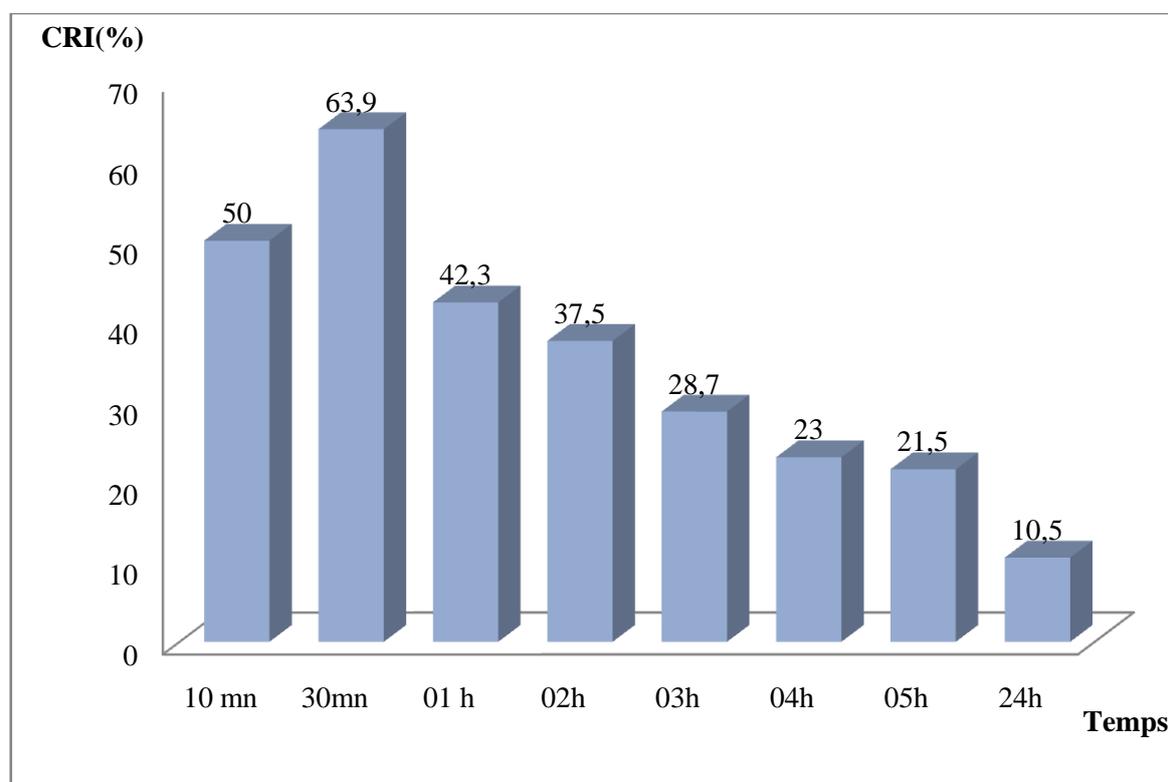
L'instabilité des valeurs de l'effet retard de la chitine pourrait être liée à l'insolubilité de la chitine, car cette propriété est désavantageuse pour ses applications. Ses modifications chimiques ont permis d'obtenir des dérivés ayant des capacités chélatantes vis-à-vis de l'acide cholique plus stables, c'est le cas de la phtalimido chitine.

HUANG *et al.*, (2013) ont rapporté dans leur étude que la  $\beta$ -chitine, qu'ils ont extrait du calamar, présente une capacité chélatante des acides biliaries. Cependant ils trouvent aussi que la T-chitine (TEMPO mediated 6-carboxy chitine) un dérivé qu'ils ont obtenu de la  $\beta$ -chitine exerce une capacité de liaison aux acides biliaire bien plus forte que celle de la chitine elle-même. Par rapport à la  $\beta$ -chitine native, l'introduction de groupes carboxy a amélioré la solubilité de la T-chitine. Par conséquent, l'amélioration de la solubilité de ces échantillons devrait être envisagée pour améliorer leurs activités biologiques telle que la capacité de liaison aux acides biliaries (WANG *et al.*, 2011).

## 2. Etude de l'activité hypocholestérolémiante du chitosane et ses dérivés

Les histogrammes représentant l'effet retard exercé sur l'acide cholique à des temps différents par le chitosane et de ses dérivés sont présentés dans les figures 15, 16, 17 et 18.

La figure 15 montre que le chitosane présente une capacité chélatrice vis-à-vis de l'acide cholique élevée (63,9%) à des temps de diffusion inférieurs à 30mn. Par contre, cette capacité baisse avec le temps pour atteindre 10,5% au bout de 24h de diffusion.



**Figure 15.** Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par le chitosane en fonction du temps.

Cet effet hypocholestérolémiant obtenu est en accord avec les résultats d'une précédente étude *in vitro* faite par ZHOU *et al.* (2006) ou ils notèrent également que l'échantillon de chitosane ayant la plus forte capacité de liaison d'un acide biliaire choisi ne présente pas nécessairement la plus forte capacité de liaison d'autres acides biliaires. En outre, nos résultats sont aussi en accord avec ceux des études effectuées *in vivo* par GALLAHER *et al.* (2000), ZHANG *et al.* (2008) et LAMIAA et BARAKAT (2011) sur l'effet hypolipidémiant du chitosane. Ils indiquent que le chitosane exerce un effet hypolipidémiant, hypotriglycéridémique et hypocholestérolémiant quand il est administré à la fois chez les rats normo-cholestérolémiques et hypercholestérolémiques, induisant une réduction des concentrations plasmatiques du C-LDL.

MAYAKRISHNAN *et al.* (2013) confirment que le chitosane peut prévenir efficacement l'hypercholestérolémie même avec un régime riche en graisse, car les résultats de leurs études ont montré que les niveaux plasmatiques et hépatiques du cholestérol total et du triacylglycérol dans le groupe hypercholestérolémique nourri au chitosane n'étaient que légèrement plus élevés que ceux du groupe sain nourri au chitosane.

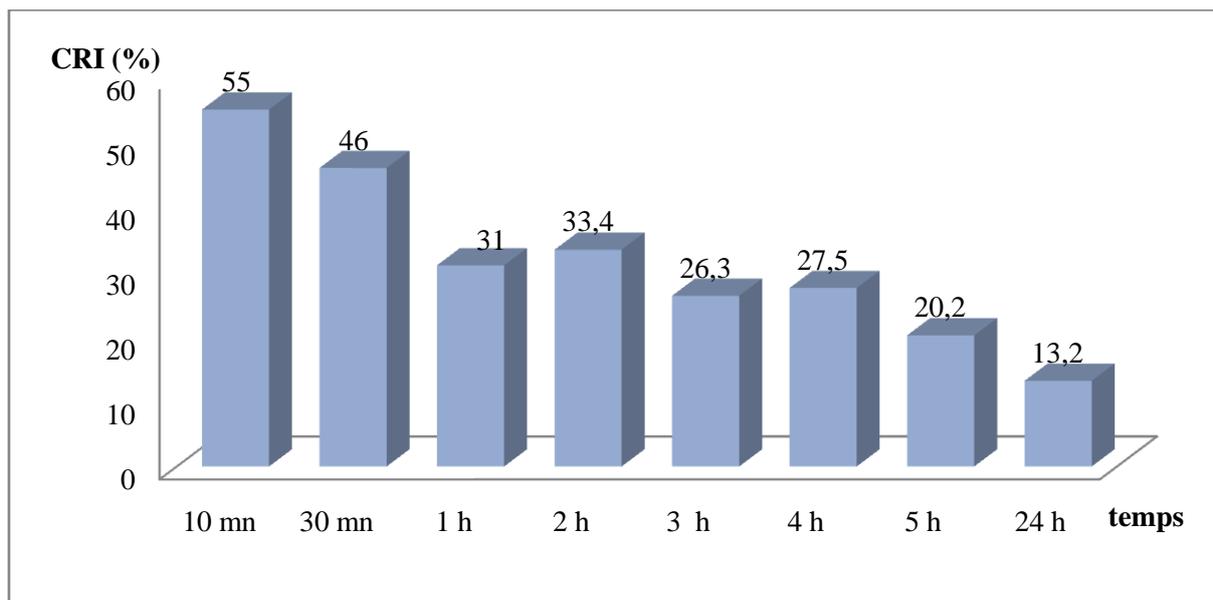
Le chitosane réduit significativement le niveau du cholestérol total et des triacylglycérol dans le plasma et le foie et augmente l'excrétion fécale de graisses et du cholestérol (KANAUCHI *et al.*, 1994). SHIELDS *et al.* (2003) rajoutent que ce fait est en raison de sa liaison aux lipides dans le tractus gastro-intestinal pour réduire l'absorption des graisses. Ce qui est approuvé par YAO et CHIANG (2006).

JEON *et al.* (2000) précisent que le chitosane est une fibre d'origine animale présentant une activité hypocholestérolémiante. A la différence des fibres végétales, les groupes amine du chitosane captent des protons dans les fluides acides de l'estomac ce qui entraîne la formation de groupes aminés protonés, ainsi les molécules chargées négativement comme les acides biliaires présentent des interactions avec le chitosane.

Afin d'améliorer cette activité, des modifications chimiques ont été réalisées pour obtenir l'oxychitosane, le carboxyméthyl-chitosane ainsi que le phtalimido chitosane dont les résultats sont présentés dans les figures 16, 17 et 18.

La figure 16 présente une capacité chélatrice de l'oxychitosane vis-à-vis de l'acide cholique élevée. Cette dernière semble diminuer avec le temps de diffusion. En effet, elle passe de 55% à 10mn pour atteindre 13,2% au bout de 24h de diffusion. Ces résultats sont similaires avec

ceux de YOO et ses collaborateurs (2005) qui obtiennent aussi un effet hypocholestérolémiant important de l'oxychitosane et qui s'affaiblie au bout de 24h. Cependant le degré et la nature d'oxydation influencent l'activité chélatrice de cet échantillon et au-delà d'un certain seuil, elle peut même exercer l'effet inverse. YOO *et al.* (2005) suggèrent que l'incorporation excessive de charges négatives au chitosane conduit à l'agrégation des molécules de l'oxychitosane ce qui minimise son activité.



**Figure 16.** Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par l'oxychitosane en fonction du temps.

La figure 17 présente la capacité chélatrice du phtalimido chitosane vis-à-vis de l'acide cholique. Celle-ci semble faible mais plutôt stable ; elle diminue légèrement avec le temps. En effet, elle passe de 27,5% à 10mn pour atteindre 11,8% au bout de 24h de diffusion.

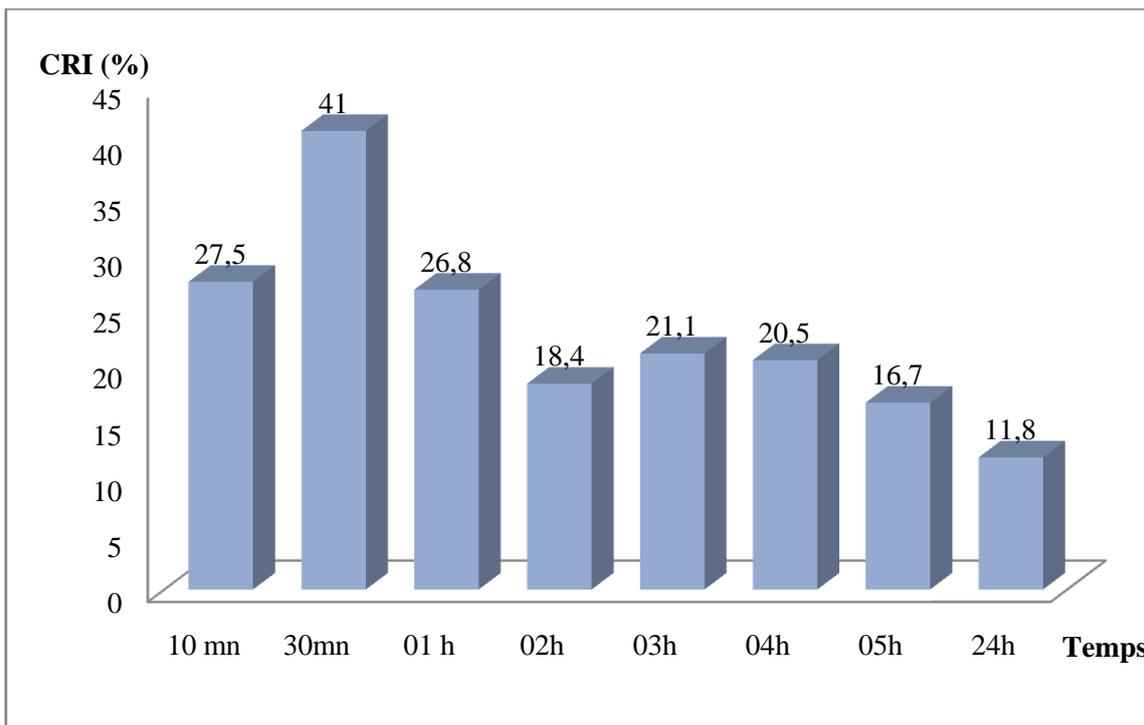


Figure 17. Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par le Phtalimido chitosane en fonction du temps.

L'histogramme représentant l'effet retard exercé sur l'acide cholique à des temps différents par le carboxyméthyl chitosane est représenté dans la figure 18.

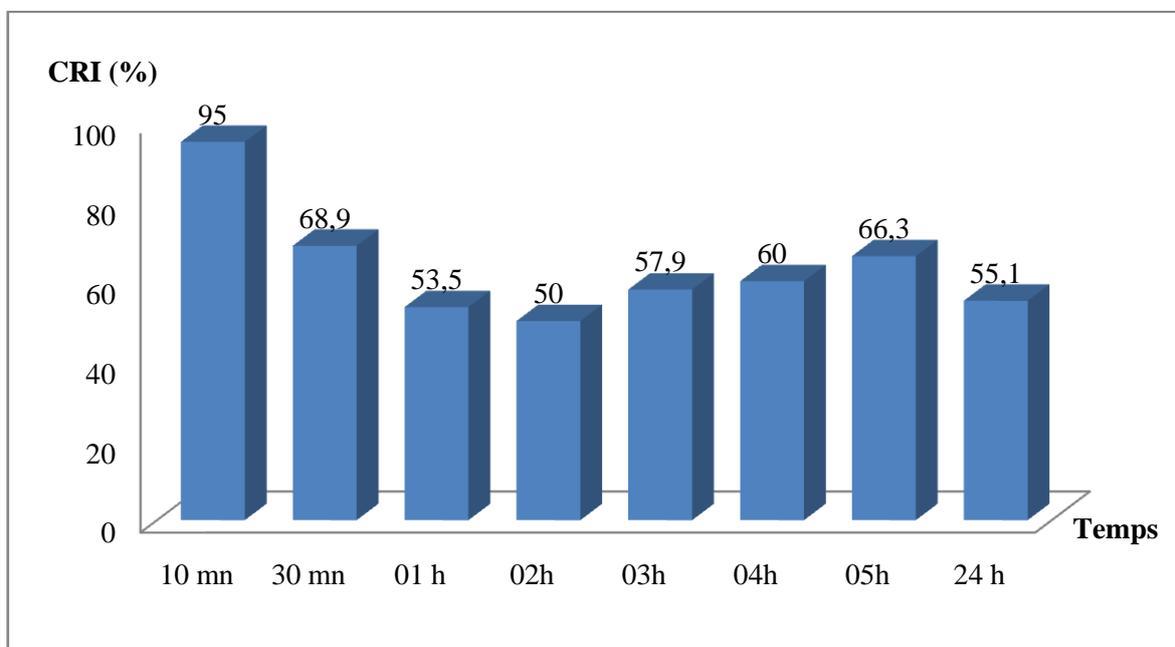


Figure 18. Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par le caroxyméthyl chitosane en fonction du temps.

L'effet CRI le plus marquant observé dans notre étude est attribué au carboxyméthyl chitosane. Celui-ci a présenté un effet séquestrant très puissant dont le seuil maximum est de 95% (**Figure 18**). Ce qui est notable concernant cet échantillon c'est le maintien de cet effet supérieur à 50% jusqu'à 24h de dialyse. On note aussi que cet effet est considérablement important par rapport au CRI du chitosane natif. C'est aussi ce qui est rapporté par l'étude *in vitro* de ZHAO *et al* (2011), ou ils trouvèrent que la capacité chélatrice des acides biliaires de cinq carboxyméthyl chitosane (degrés de substitution varié) est significativement supérieure à celle du chitosane natif, même si elle diffère d'un carboxyméthyl chitosane à un autre.

Selon NARAYANAN *et al.* (2014) l'introduction de groupements carboxyméthyles est la méthode la plus avantageuse pour améliorer la solubilité du chitosane à des pH neutre et alcalin. UPADHYAYA *et al.* (2013) rajoutent que ces groupement n'affectent pas les propriétés caractéristiques du chitosane. Cependant celui-ci dépend de la méthode d'obtention de ce dérivé du degré de substitution ainsi que de la position de substitution (MUZZARELLI *et al.*, 1982). Les résultats de l'étude de CHEN *et al.* (2003) montrent que le degré de carboxyméthylation croissant améliore l'efficacité des propriétés du chitosane, mais au-delà d'un certain niveau, l'effet opposé pourrait être observé.

### 3. Etude de l'activité hypocholestérolémiante des extraits d'algues marines

Notre étude ne s'est pas portée seulement sur la chitine et ses dérivés mais aussi sur des extraits d'algues dont les résultats sont présentés sous forme histogramme. Chaque échantillon a son histogramme approprié.

L'utilisation des micro et macro-algues ont pris de l'ampleur en raison de leurs bienfaits sur la santé (DE JESUS RAPOSO *et al.*, 2013). C'est ce qui nous a amené à étudier leur contribution dans la diminution de l'hypercholestérolémie.

Les résultats de l'étude de l'activité hypocholestérolémiante des algues rouges *Halymenia durvilei* et *Rhodella violacea* sont représentés sous forme d'histogrammes dans les figures 19 et 20 respectivement.

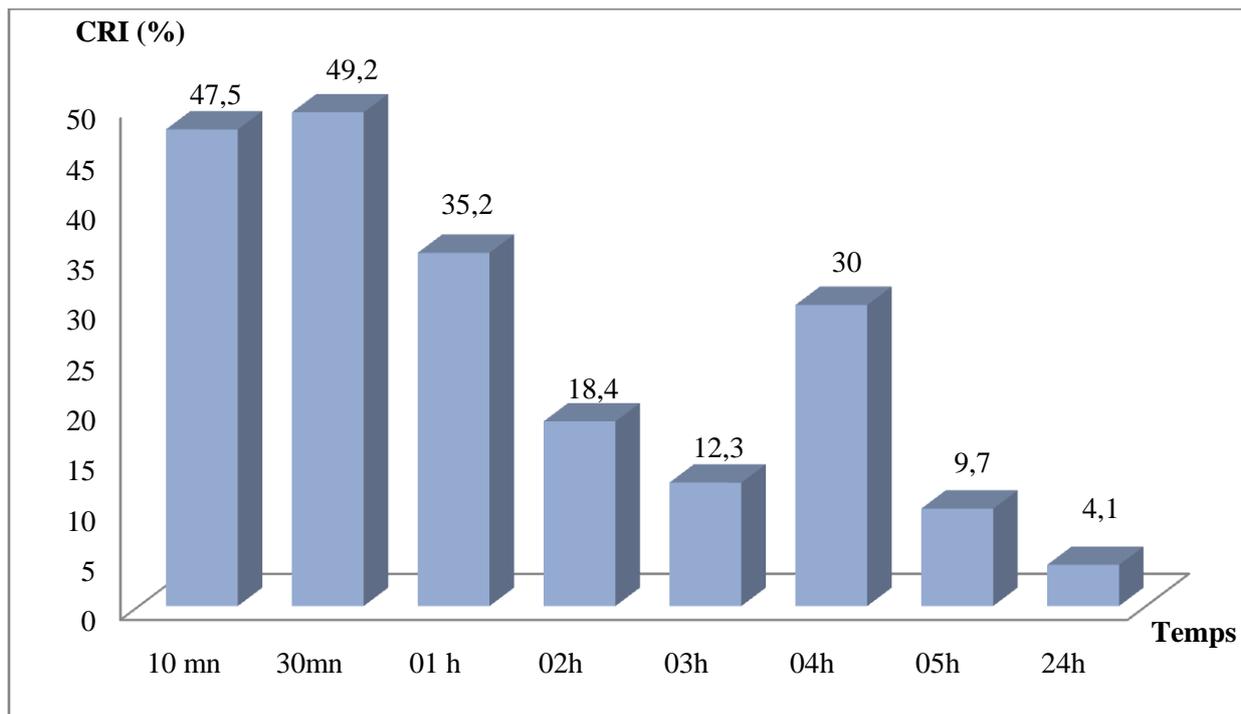


Figure 19. Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par *Halymenia durvilei* en fonction du temps.

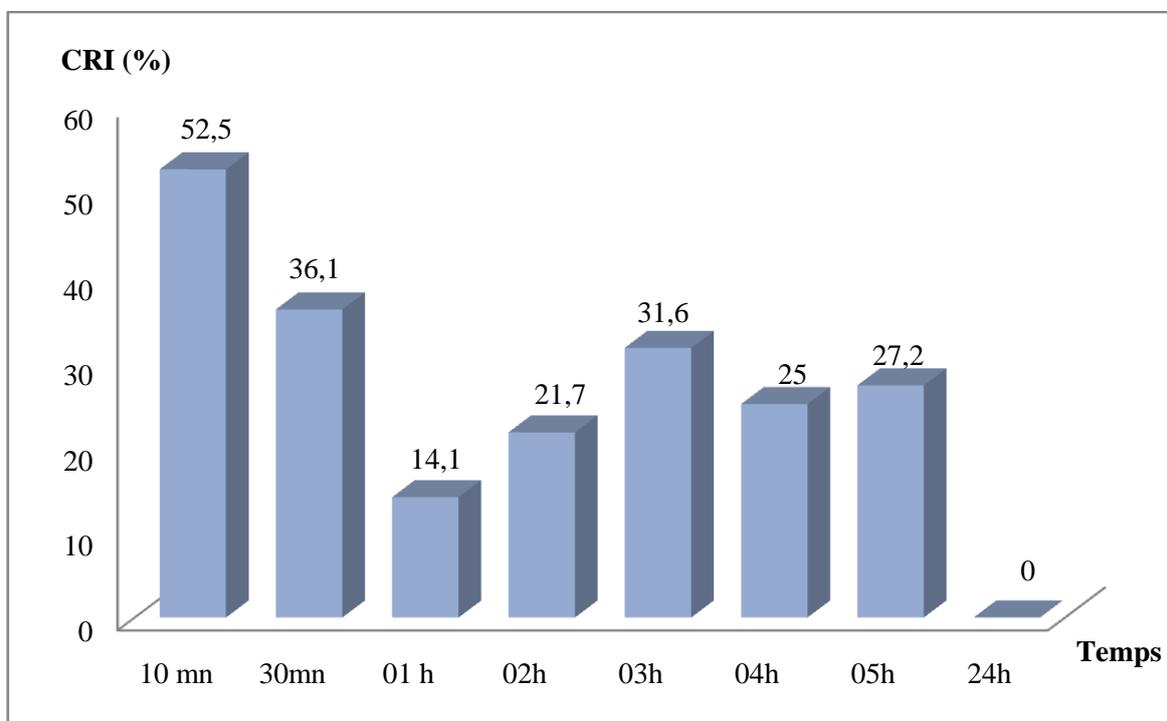


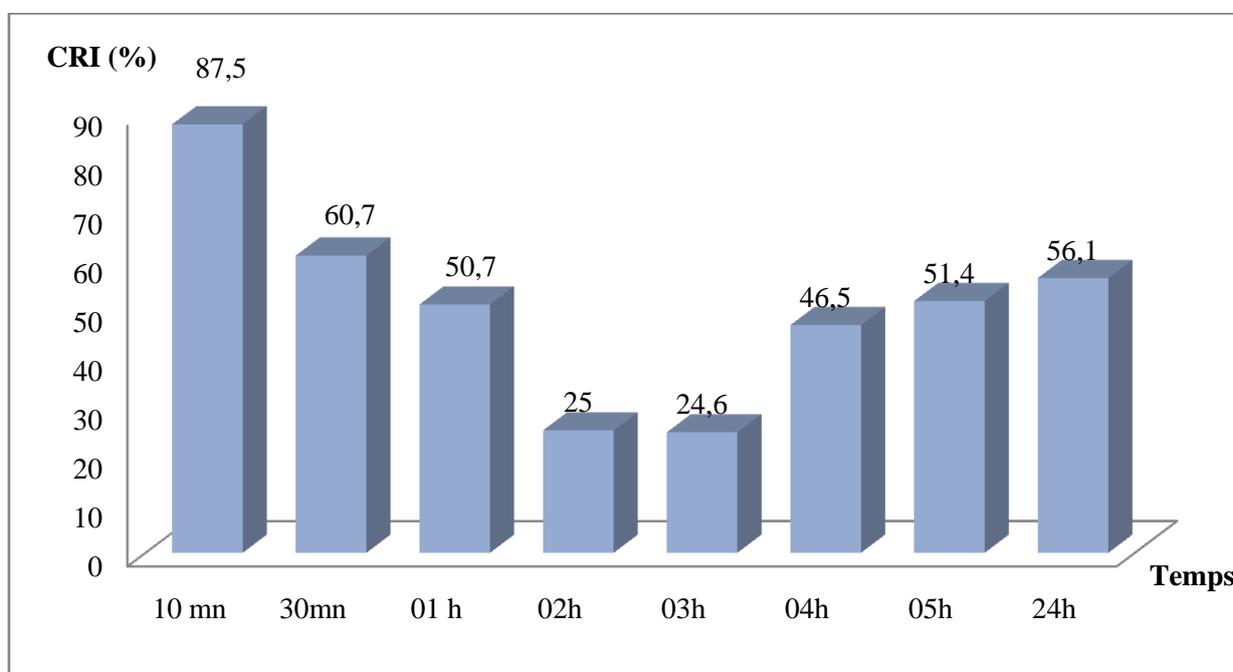
Figure 20. Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par *Rhodella violacea* en fonction du temps.

D'après les figures 19 et 20, les deux algues *Halymenia durvilei* et *Rhodella violacea* présentent une activité chélatrice de l'acide cholique notable jusqu'à 1h de diffusion avec un effet CRI de 35% et 14%, respectivement, puis s'affaiblie graduellement jusqu'à disparaître complètement chez *Rhodella violacea*.

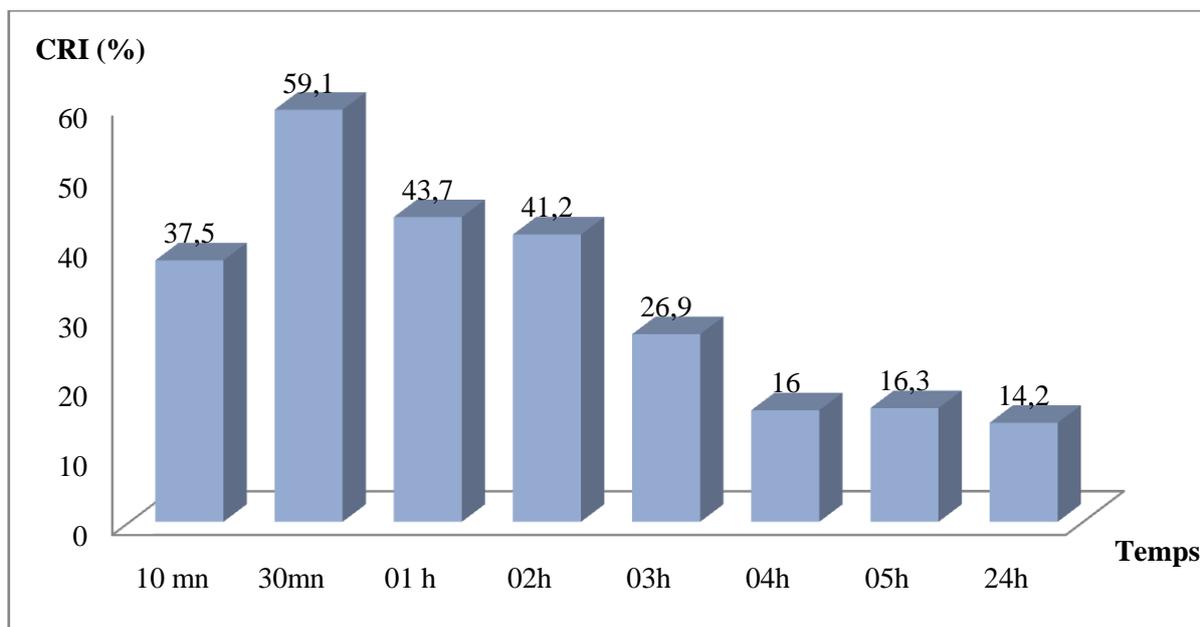
Cependant les fractions lipidique et polysaccharidique de *Rhodella violacea* marquent un effet plus important que celui de l'algue elle-même (figures 21 et 22) les CRI étant de 47,7% et 50,7%, respectivement, à une 1h de dialyse.

D'après CRAIGIE (1990), les algues rouges ou rhodophycées sont connues et exploitées pour leurs polysaccharides. D'ailleurs, c'est la fraction polysaccharidique de *Rhodella* qui indique l'activité chélatrice la plus marquante avec une retardation de la diffusion de l'acide cholique de 87,5% à 10mn (**Figure 22**), décroissante mais reste maintenue supérieur à 45% pour tous les temps de diffusion sauf celle de 2h et 3h.

Il est à noter que les polysaccharides issus des micro-algues sont des substances prometteuses dans la réduction des maladies coronariennes autant qu'agents hypocholestérolémiants surtout en ce qui concerne les polysaccharides sulfatés (DVIR *et al.*, 2000 ; DVIR *et al.*, 2009 ; DE JESUS RAPOSO *et al.*, 2013)

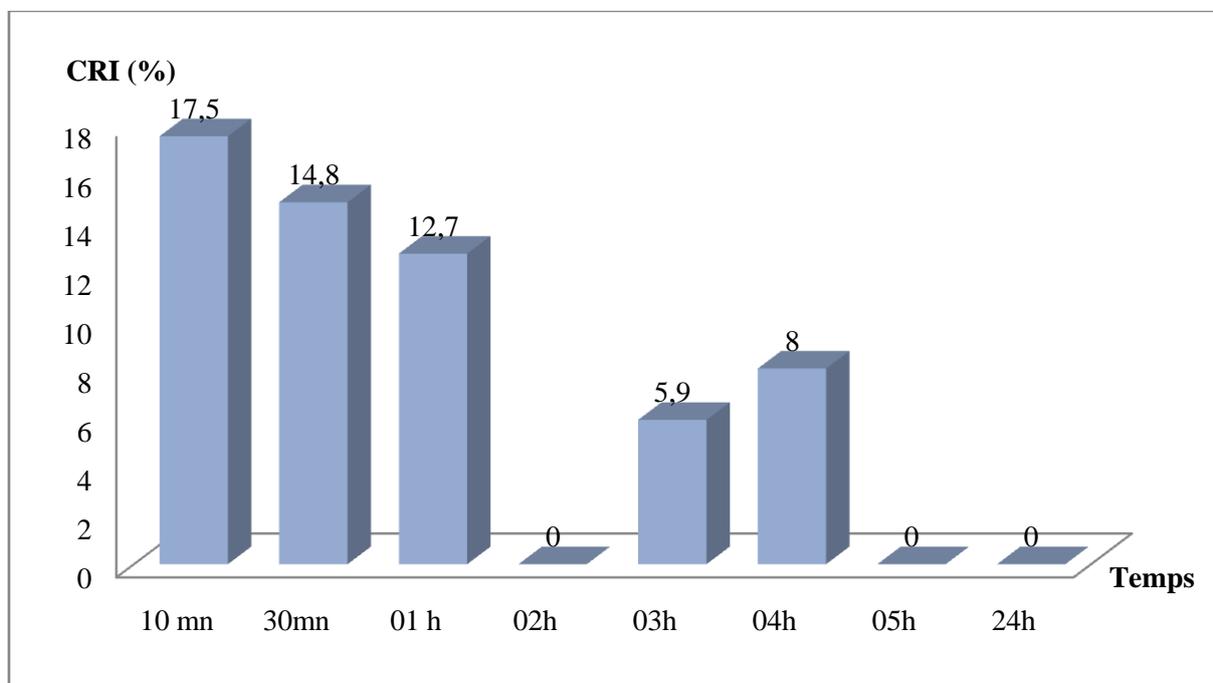


**Figure 21.** Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par la fraction polysaccharidique de *Rhodella violacea* en fonction du temps.



**Figure 22.** Histogramme représentant l’effet de rétention de l’acide cholique exercé par la fraction lipidique de *Rhodella violacea* en fonction du temps.

Les résultats de l’étude du potentiel hypocholestérolémiant d’*Ulva fasciata* sont présentés dans la figure 23.

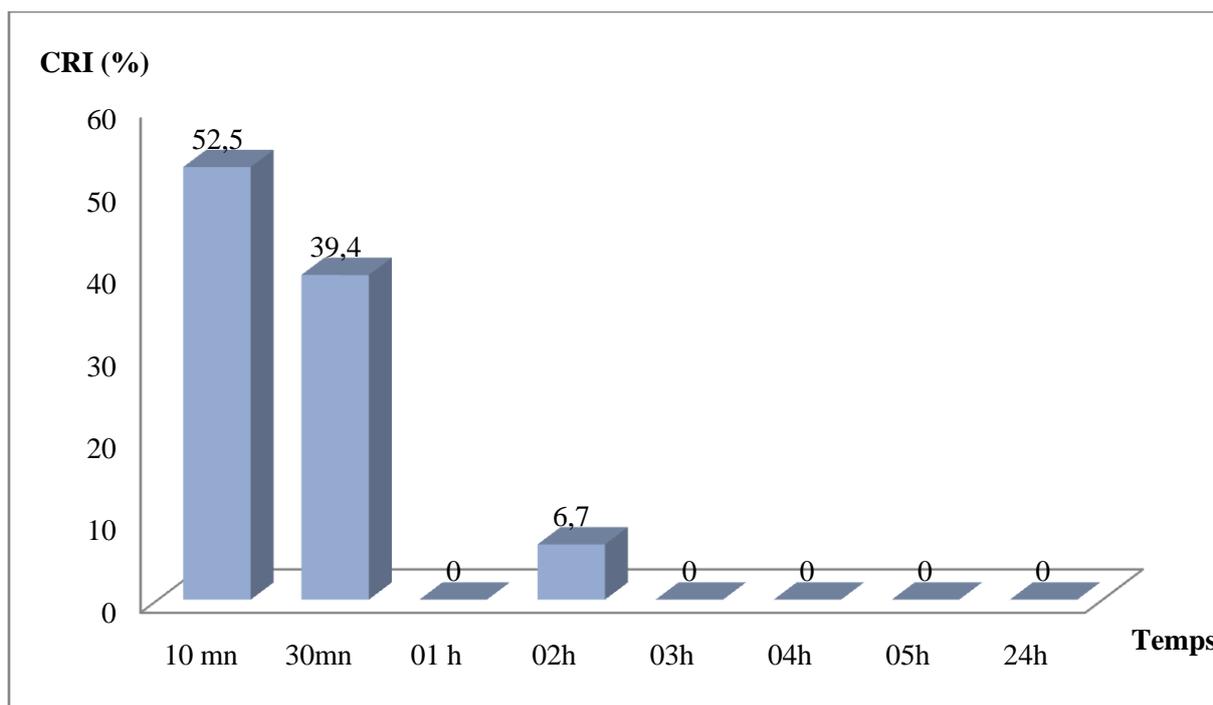


**Figure 23.** Histogramme représentant l’effet de rétention de l’acide cholique exercé par *Ulva fasciata* en fonction du temps.

La figure montre que l'algue *Ulva fasciata* étudiée ne marque pas d'effet retard important. Celui-ci n'atteignant pas les 20% disparaît à partir de 2h de diffusion (**Figure.23**). Cependant, *Ulva sp* est utilisée à des fins médicales depuis des siècles. En chine il l'utilisait traditionnellement pour traiter l'hypercholestérolémie (TSENG *et al.*, 1984). Ce résultat contradictoire obtenu pourrait être argumenté soit par la différence d'espèces utilisées dans nos études, sachant que la composition biochimique varie d'une espèce à une autre (LAHAYE et ROBIC, 2007), soit en raison du mécanisme d'action qu'elle exerce, car certaines études ont rapporté qu'il est possible que *Ulva fasciata* réduise le cholestérol en inhibant l'enzyme HMG CoA réductase (BOBEK *et al.*, 1995 ; MATLOUB *et al.*, 2013).

De même que les rhodophycées, les chlorophycées sont aussi exploitées pour leurs polysaccharides sulfatés (ulvane).

Les résultats de l'étude de l'activité hypocholestérolémiant de l'ulvane sont présentés dans la figure 24.



**Figure 24.** Histogramme représentant l'effet de rétention de l'acide cholique exercé par l'ulvane en fonction du temps.

Alors que WIJESEKARA *et al.* (2011) montrent que l'ulvane est un agent hypocholestérolémiant potentiel, l'évaluation de sa capacité chélatrice vis-à-vis de la bile dans notre présente étude a donné des résultats nuls exceptés ceux obtenus à 10 et 30 mn de

diffusion avec 50 et 39 % d'effet retard, respectivement (figure.24). Cependant, il est à noter que l'activité de ces polysaccharides dépend de plusieurs paramètres structuraux tels le degré et la position de sulfatation ainsi que les ramifications glucosidique (MELO *et al.*, 2002 ; HUIMIN *et al.*, 2005). Selon YU *et al.* (2003b), l'activité antihyperlipidémique d'ulvane dépend aussi de la masse moléculaire de ses fractions.

YU *et al.* (2003a) ont montré que lorsque ulvane est dégradé en petites fractions, la viscosité diminue et la capacité d'interférer avec les acides biliaires est minimisée voire disparue.

MARLETT *et al.* (2002) attestent que l'activité hypocholestérolémiant d'ulvane résulte de son action gélifiante en présence des ions calcium, augmentant ainsi la viscosité de la lumière intestinale ce qui, par conséquent, interfère l'absorption des acides biliaires de l'iléon. Ceci peut argumenter la faible capacité chélatante d'ulvane obtenue dans notre étude.

A noter que la composition glucidique d'ulvane est extrêmement variable (PARADOSSI *et al.*, 2002 ; ROBIC *et al.*, 2009). Celle-là varie selon l'espèce auquel la fraction glucidique appartient, notant que même au sein d'une même espèce la composition peut différer d'une période de collecte à une autre (LAHAYE *et* ROBIC, 2007).

*Conclusion*

La présente étude a porté sur l'évaluation du potentiel hypocholestérolémiant d'un certain nombre d'extraits d'origine marine.

L'effet observé le plus marquant est attribué au carboxyméthyl chitosane. Celui-ci ayant présenté un effet chélatant de l'acide cholique très puissant (95%), à 10 min de diffusion, et qui s'est maintenu à 55,1% après 24h de diffusion.

Cette étude a révélé que l'activité hypocholestérolémiante est dépendante de plusieurs paramètres telle que la source des échantillons mais, même issus d'une même source, des facteurs tels le protocole d'obtention, le mode de préparation et même la période de collecte, influencent les propriétés physicochimiques des extraits, influençant ainsi leurs activités.

L'insolubilité de la chitine et du chitosane, dans le tampon phosphate employé, réduit leur potentiel hypocholestérolémiant par rapport à d'autres dérivés modifiés par oxydation, introduction de groupements carboxyméthyles ou phtalimides.

Cette étude a permis de définir trois classes d'échantillons, selon l'efficacité de leur capacité chélatrice vis-à-vis de la bile. Il s'agit de :

- échantillons appartenant à la gamme dont l'effet CRI est inférieur à 20% comprenant la carboxyméthyl chitine, l'extrait d'*Ulva fasciata* et ulvane ;
- échantillons appartenant à la gamme dont l'effet CRI varie de 20% à 40% comprenant la phtalimido chitine, le chitosane, l'oxychitosane, le phtalimido chitosane, l'extrait de *Halymenia durvilei*, l'extrait de *Rhodella violacea* et sa fraction lipidique ;
- échantillons appartenant à la gamme dont l'effet CRI est supérieur à 40% comprenant la fraction polysaccharidique de *Rhodella violacea* et le carboxyméthyl chitosane.

En perspective, il serait souhaitable d'étudier l'influence des paramètres cités ci-dessus sur l'activité hypocholestérolémiante des extraits marins, ainsi que d'établir une corrélation entre leurs propriétés physicochimiques et leur capacité chélatrice vis-à-vis de la bile. Il serait intéressant également d'évaluer cette capacité chélatrice vis-à-vis des autres acides biliaires tel l'acide chénodéoxycholique et l'acide désoxycholique. Et pour compléter l'étude, il serait intéressant de caractériser les molécules chélatrice des extraits d'algues et de les tester *in vivo*.

*Références  
bibliographiques*

- ❖ **ABIFADELA M., RABES J.P., BOILEAU C. et VARRET M. (2007).** After the LDL receptor and apolipoprotein B, autosomal dominant hypercholesterolemia reveals its third protagonist: PCSK9?, *Annales d'Endocrinologie*, 68, 138–146.
  - ❖ **ABOU ZEID A.H., ABOUTABL E.A., SLEEM A.A. et EL-RAFIE H.M. (2014).** Water soluble polysaccharides extracted from *Pterocladia capillacea* and *Dictyopteris membranacea* and their biological activities, *Carbohydrate Polymers*, 113, 62–66.
  - ❖ **AGILI F.A. et MOHAMED S.F. (2012).** Polysaccharides from *Padina pavonia*: Chemical structural and antioxidant activity, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(5), 277–283.
  - ❖ **AGRAWAL G.K., RAKWAL R., TAMOGAMI S., YONEKURA M., KUBO A., et SAJI H. (2002).** Chitosan activates defense/stress response(s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 40, 1061-1069.
  - ❖ **AILHAUD G. (1977).** Les Lipoprotéines Circulantes et la Régulation du Métabolisme du Cholestérol, *Biochimie*. 59, 8-9.
  - ❖ **AL SAGHEER F.A., AL-SUGHAYER M.A., MUSLIM S. et ELSABEE M.Z. (2009).** Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf, *Carbohydrate Polymers*, 77(2), 410-419.
  - ❖ **ALLARD-LATOURE A., BERTIN M., GÉLÉBART A.L., GIRAUDON M., LEVENEUR L., PEGORARO S., RENOUL C. et SOULE M. (2007).** Les algues alimentaires : un potentiel important à découvrir, *La Revue De L'observatoire Des IAA De Bretagne*, 87.
  - ❖ **ALVES N.M., et MANO J.F. (2008).** Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, 43, 401-414.
  - ❖ **ARANAZ I., HARRIS R. et HERAS A. (2010).** Chitosan amphiphilic derivatives. Chemistry and applications, *Current Organic Chemistry*, 14, 308-330.
  - ❖ **BATTU C. (2013).** La prise en charge nutritionnelle d'un adulte atteint d'hypercholestérolémie, *Actualités Pharmaceutiques*, 531.
  - ❖ **BIXLER H.J. et PORSE H. (2010).** Decade of change in the seaweed hydrocolloids industry, *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 321–335.
-

- ❖ **BLACKMAN A.J., DRAGAR C. et WELLS R.J. (1979).** A new phenol from the brown alga *Perithalia caudata* containing a “reverse” isoprene unit at the 4-position, *Australian Journal of Chemistry*, 32, 2783–2786.
  - ❖ **BLOM D.J., HALA T. et BOLOGNESE M. (2014).** Anti-PCSK9 : nouvelle classe thérapeutique contre le mauvais cholestérol, *Revue Francophone des Laboratoires*, 465.
  - ❖ **BOBEK P., HROMADOVÁ M. et OZDÍN L. (1995).** Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) reduces the activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase in rat liver microsomes, *Experientia*, 51, 589-91.
  - ❖ **BORNET A. et TEISSEDE P.L. (2008).** Chitosane, chitin-glucan and chitin effects on minerals (ion, lead, cadmium) and organic (ochratoxin A) contaminants, *Wines European Food Research and Technology*, 226(4), 681-689.
  - ❖ **CACAMESSE S., AZZOLINA R., RURNARI G., GORMACI M. et GRASSO S. (1980).** Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae, *Botanica Marina*, 23 285-288.
  - ❖ **CARILLON R. (1989).** Anatomie et Physiologie à l’Usage Des Infermières, 6<sup>ème</sup> éd, DOIN, Paris.
  - ❖ **CAYLA A. (2007).** Thématique : Les Matériaux Issus de Ressources Renouvelables : Application aux Nontissés, Ecole Nationale Supérieure des Arts et Industries Textiles, France.
  - ❖ **CHAI T.T., KWEK M.T., ISMAIL N.I.M., OOI J.L.S., AMRI A.Y., MANAN F.A., LAW Y.C. et WONG F.C. (2015).** Antioxidant Activities of Methanol Extract and Solvent Fractions of Marine Macroalga, *Avrainvillea erecta* (Berkeley) A. Gepp and E.S. Gepp (Dichotomosiphonaceae), *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14 (3), 503-509.
  - ❖ **CHAKRABORTY K., LIPTON A.P., PAULRAJ R., REKHA D. (2010).** Guaiane sesquiterpenes from seaweed *Ulva fasciata*, delile and their antibacterial properties, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 2237–2244.
  - ❖ **CHANDINI S. K., GANESAN P. et BHASKAR N. (2008).** *In vitro* antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India, *Food Chemistry*, 107(2), 707–713.
  - ❖ **CHANG C.C., SAKASHITA N., ORNVOLD K., LEE O., CHANG E.T., DONG R., LIN S., LEE C.Y., STROM S.C., KASHYAP R., FUNG J.J., FARESE R.V., JR., PATOISEAU J.F., DELHON A. et CHANG T.Y. (2000).** Immunological quantitation and localization of ACAT-1 and ACAT-2 in human liver and small intestine, *The Journal of Biological Chemistry*, 275(36), 28083-280927.
-

- ❖ **CHANG T.Y., CHANG C.C., OHGAMI N. et YAMAUCHI Y. (2006).** Cholesterol sensing, trafficking, and esterification, *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 22, 129-157.
  - ❖ **CHATTERJEE S., CHATTERJEE B.P. et GUHA A.K. (2004).** Clarification of fruit juice with chitosan, *Process Biochemistry*, 39(12), 2229-2223.
  - ❖ **CHEN L., DU Y. et ZENG X. (2003).** Relationships between the molecular structure and moisture-absorption and moisture-retention abilities of carboxymethyl chitosan II. Effect of degree of deacetylation and carboxymethylation, *Carbohydrate Research*, 338, 333–340.
  - ❖ **CHISTI, Y. (2007).** Biodiesel from microalgae, *Biotechnology Advances*, 25, 294–306.
  - ❖ **CHOI Y.S., HONG S.R., LEE Y.M., SONG K.W., PARK M.H. et NAM Y.S. (1999).** Study on gelatin containing artificial skin: preparation and characteristics of novel gelatin alginate sponge, *Biomaterials*, 20(5), 409-417.
  - ❖ **CIVEIRA F. (2004).** Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia, *Atherosclerosis*, 173, 55-68.
  - ❖ **CRAIGIE J.S. (1990).** Cell walls, Sheath K.M. (eds), *Biology of the red algae*, Cambridge University Press., 221-259.
  - ❖ **CRINI G., BADOT P.M. et GUIBAL E. (2009).** Chitine et Chitosane. Du Polymère à l'application: presses universitaires de Franche-Comté, Amazon, France. 20-41.
  - ❖ **DE JESUS RAPOSO M.F., DE MORAIS R.M.S.C. et DE MORAIS A.M.M.B. (2013).** Bioactivity and Applications of Sulphated Polysaccharides from Marine Microalgae, *Marine Drugs*, 11, 233-252.
  - ❖ **DE REVIERS B. (2002).** Biologie et Phylogénie Des Algues, Tome 1, Edition Belin, ISBN : 2-7011-3083-2.
  - ❖ **DESLANDES E., PONDAVEN E., AUPERIN T., ROUSSAKIS C., GUÉZENNEC J., STIGER V. et PAYRI C. (2000).** Preliminary study of the in vitro anti-proliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6), *Journal of Applied Phycology*, 12 257–262.
  - ❖ **DESPRES J-P., ARSENAULT B.J., COTE M., CARTIER A. et LEMIEUX I. (2008).** Abdominal obesity: The cholesterol of the 21st century?, *Canadian Journal of Cardiology*, 24 (Suppl D):7D-12D.
  - ❖ **DEVAKI T., SATHIVEL A. et BALAJI RAGHAVENDRAN H.R. (2009).** Stabilization of mitochondrial and microsomal function by polysaccharide of *Ulva lactuca*
-

## Références bibliographiques

---

- on dgalactosamine induced hepatitis in rats, *Chemico-Biological Interactions*, 177(2), 83–88.
- ❖ **DI BENEDETTO D. et BREUIL P. (2007)**. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible, *Techniques de l'Ingénieur*, p2795.
  - ❖ **DU X., BROWN A.J. et YANG H. (2015)**. Novel mechanisms of intracellular cholesterol transport: oxysterol-binding proteins and membrane contact sites, *Current Opinion in Cell Biology*, 35, 37-42.
  - ❖ **DURAND J. R. et LEVEQUE C. (1980)**. Flore et Faune Aquatiques de l'Afrique Sahélo-Soudanienne, Volume 1, ISBN 2709905213.
  - ❖ **DURAND V. et VERGINI T. (2010)**. Le chitosane : un biopolymère d'avenir pour les papiers Antimicrobiens ?, Mémoire d'ingénieur, école Grenoble INP-PAGORA d'ingénieur internationale en science du papier, de la communication imprimée et des biomatériaux, France.
  - ❖ **DVIR I., CHAYOTH R., SOD-MORIAH U., SHANY S., NYSKA A., STARK A.H., MADAR Z. et ARAD S.M. (2000)**. Soluble polysaccharide of red microalga *Porphyridium sp.* alters intestinal morphology and reduces serum cholesterol in rats, *British Journal of Nutrition*, 84, 469–476.
  - ❖ **DVIR I., STARK A.H., CHAYOTH R., MADAR Z. et ARAD S.M. (2009)**. Hycholesterolemic effects of nutraceuticals produced from the red microalga *Porphyridium sp.* in rats, *Nutrients*, 1, 156–167.
  - ❖ **ETAHIRI S., BULTEL-PONCÉ V., CAUX C. et GUYOT M. (2001)**. New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*, *Journal of Natural Products*, 64(1-2), 1024-1027.
  - ❖ **ETAHIRI S., BULTEL- PONCE V. et ASSOBBHEI O. (2004)**. Une nouvelle molécule à activité antibiotique à partir de l'algue rouge *Pterosiphonia complanata*, Brevet Marocain, 27732.
  - ❖ **ETAHIRI S., EL KOURI A., BULTEL-PONCE V., GUYOT M. et ASSOBBHEI O. (2007)**. Antibacterial bromophenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*, *Natural Product communications*, 2, 749-752.
  - ❖ **FAO. (2012)**. La Situation Mondiale Des Pêches Et De L'aquaculture. Rome.
  - ❖ **FAO. (2014)**. La Situation Mondiale Des Pêches Et De L'aquaculture. Possibilité et déficit. Rome.
-

- ❖ **FARNIER M., BRUCKERT E., BOILEAU C., et KREMPF M. (2013).** Diagnostic et traitement des hypercholestérolémies familiales (HF) chez l'adulte : recommandations de la nouvelle société française d'athérosclérose (NSFA), *La Presse Medicale*, 42, 930-950.
  - ❖ **FISCH, K.M., BOHM, V., WRIGHTAND, A.D. et KONIG, G.M. (2003).** Antioxydative meroterpenoids from the brown alga *Cystoseira crinite*, *Journal of Natural Products*, 66, 968–975.
  - ❖ **FLEURY B.G., KELECOM A., PERIERA R.C. et TEIXERA V.L. (1994).** Polyphenol, terpene and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Pheophyta), *Botanica Marina*, 37 457- 462.
  - ❖ **FUJITANI N., SAKARI S., YAMAGUSHI, Y. et TAKENAKA H. (2001).** Inhibitory effects of microalgae on activation of hyaluronidase, *Journal of Applied Phycology*, 13, 489–492.
  - ❖ **GALLAHER C.M., MUNION J., HESSLINK R., WISE J. et GALLAHER D.D. (2000).** Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats, *Journal of Nutrition*, 130, 2753-2759.
  - ❖ **GE L., WANG J., QI W., MIAO H.H., CAO J. et QU X.Y. (2008).** The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1, *Cell Metabolism*, 7, 508-519.
  - ❖ **GLOMBITZA K. W., STOFFELEN H., MURAWISKI U., BIELACZEK J. et EGGE H. (1974).** Antibiotics from algae. Bromophenols from Rhodomelaeacea, *Planta Medica*, 25, 105-114.
  - ❖ **GOLDSTEIN J.L. et BROWN M.S. (1984).** Progress in understanding the LDL receptor and HMG-CoA reductase, two membrane proteins that regulate the plasma cholesterol, *Journal of lipids research*, 25, 1450-1461.
  - ❖ **GUZMAN S., GATO A. et CALLEJA J.M. (2001).** Anti-Inflammatory, analgesic and free radical scavenging activities of the marine microalgae *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricorutum*, *Phytotherapy Research*, 15, 224–230.
  - ❖ **HO S.H., CHANG J.S., LAI Y. et CHING-NEN N.C. (2014).** Achieving high lipid productivity of a thermotolerant microalga *Desmodesmus* sp. F2 by optimizing environmental factors and nutrient conditions, *Bioresources Technology*, 156, 108–116.
  - ❖ **HSIAO H.Y., TSAI C.C., CHEN S.M., HSIEH B.C. et CHEN R.L.C. (2004).** Spectrophotometric determination of diacetylation degree of chitinous materials dissolved in phosphoric acid, *Macromolecules Bioscience*, 4 (10), 619-921.
-

- ❖ **HUANG J., CHEN W.W., HU S., GONG J.Y., LAI H.W., LIU P., MEI L.H. et MAO J.W. (2013).** Biochemical activities of 6-carboxy-chitin derived from squid pens, *Carbohydrate Polymers*, 91, 191–197.
  - ❖ **HUANG X., ZHOU H. et ZHANG H. (2006).** The effect of Sargassum fusiforme polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*, *Fish and Shellfish Immunology*, 20(5), 750–757.
  - ❖ **HUIMIN Q., ZHANG Q., ZHAO T., CHEN R., ZHANG H., NIU X. et LI Z. (2005).** Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) *in vitro*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 37, 195–199.
  - ❖ **IKURA K., HANAI K., SHINJYO T. et UCHIGATA Y. (2015).** HDL cholesterol as a predictor for the incidence of lower extremity amputation and wound-related death in patients with diabetic foot ulcers, *Atherosclerosis*, 239, 465-469.
  - ❖ **ITO M.K., MCGOWAN M.P. et MORIARTY P.M. (2011).** Management of familial hypercholesterolemias in adult patients: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia, *Journal of Clinical Lipidology*, 5 (Suppl. 3), S38-45.
  - ❖ **IWAMOTO H. (2004).** Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species. Chlorella, RICHMOND A, ed. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. UK: *Blackwell Science*, 255-263.
  - ❖ **JAYAKUMAR R., PRABAHARAN M., KUMAR P.T.S., NAIRA S.V. et TAMURA H. (2012).** Biomaterials Based on Chitin and Chitosan in Wound Dressing Applications, *Biotechnology Advance*, 29(3), 322-337.
  - ❖ **JAYKOMAR R., PRABAHARAN M., NAIR S.V., TOKURA S., TAMURA H. et SELVAMURUGAN N. (2010).** Novel Carboxyméthyl Derivatives of Chitin and Chitosan Materials and their Biomedical applications, *Materials Science*, (55), 675-709.
  - ❖ **JEON Y.J., SHAHID I.F. et KIM S.K. (2000).** Preparation of chitin and chitosan oligomers and their application in physiological functional foods, *Food Reviews International*, 16, 159–176.
  - ❖ **JI Y.L., WOLF P.S., RODRIGUEZ I.A. et BOWLIN G.L. (2012).** Preparation of chitin nanofibril/polycaprolactone nanocomposite from a nonaqueous medium suspension, *Carbohydrate Polymers*, 87, 2313-2319.
-

- ❖ **JOHN L. et GLONSET M. D. (1985).** *Metabolisme Du Cholesterol*, Ed MASSON, PARIS.
  - ❖ **JONES C.S. et MAYFIELD S.P. (2012).** Algae biofuels: versatility for the future of bioenergy, *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 346–351.
  - ❖ **KALAYDJIAN R., DAURES F., GIRARD S., VANISEGHEM S., LEVREL H. et MONGRUEL R. (2010).** Données Économiques Maritimes Françaises 2009. Ifremer.
  - ❖ **KANAUCHI O., DEUCHI K., IMASATO Y. et KOBAYASHI E. (1994).** Increasing effect of a chitosan and ascorbic acid mixture on fecal dietary fat excretion, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 58, 1617-20.
  - ❖ **KHAIR H. M. et EL-SHAFAY S. M. (2013).** Seasonal variation in the biochemical composition of some common seaweed species from the coast of Abu Qir Bay, Alexandria, Egypt, *Oceanologia*, 55(2), 435–452.
  - ❖ **KHOUSHAB F. et YAMABHAI M. (2010).** Chitin research revisited, *Marine Drugs*, 8(7), 1988-2012.
  - ❖ **KOIDE S.S. (1998).** Chitin-chitosan: properties, benefits and risks, *Nutrition Research*, 18, 1091-1101.
  - ❖ **KRAJEWSKA B. (2004).** Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review, *Enzyme Microbiology Technology*, 35, 126–39.
  - ❖ **KTARI L. et GUYOT M. (1999).** A cytotoxic oxysterol from the marine algae *Padina pavonica*, *Journal of Applied Phycology*, 11, 511-513.
  - ❖ **KUMAR P.T.S., SRINIVASAN S., LAKSHMANAN V.K., TAMURA H., NAIR S.V., et JAYAKUMAR R. (2011).** A Review of chitin and Chitosan applications, *Reactive and Functional Polymers*, 46, 1-27.
  - ❖ **KUMIRSKA J., WEINHOLD M.X., SAUVAGEAU J.C.M., THOMING J., KACZYNSKI Z. et STEPNOWSKI P. (2009).** Determination of the pattern of acetylation of low-molecular-weight Chitosan used in biomedical application, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analyzing*, 50(4), 587-590.
  - ❖ **KUMIRSKA J., WEINHOLD M.X., THÖMING J. et STEPNOWSKI P. (2011).** Biomedical Activity of Chitin/Chitosan Based Materials—Influence of Physicochemical Properties Apart from Molecular Weight and Degree of N-Acetylation, *Polymers*, 3, 1875-1901.
  - ❖ **LAHAYE M. et ROBIC A. (2007).** Structure and functional properties of ulvan, a polysaccharide from green seaweeds, *Biomacromolecules*, 8(6), 1765–1774.
-

- ❖ **LAMIAA A. et BARAKAT A. (2011).** Hypolipidemic and anti-atherogenic effects of dietary chitosan and wheat bran in high fat-high cholesterol fed rats, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 30-37.
  - ❖ **LEMONDE M., BIASOTTO F. et ALEX S. (2011).** Biopolymères: Chitine et chitosane, Un Monde à part, *Revue de l'Ordre Des Chimistes du QUEBEC*, 3(26), 9-14.
  - ❖ **LITTLER M.M., LITTLER D.S., BLAIR S.M. et NORRIS J.N. (1985).** Deepest known plant life discovered on an uncharted seamount, *Science*, 227, 57-59.
  - ❖ **LU Y., SUN Q., SHE X., XIA Y., LIU Y. et YANG D. (2013).** Fabrication and characterization of  $\alpha$ -chitin nanofibers and highly transparent chitin films by pulsed ultrasonication, *Carbohydrate Polymers*, 98, 1497-1504.
  - ❖ **MARIGNAN R. (1980).** Dialyse, *Technique de l'Ingénieur*, p1525.
  - ❖ **MARK H.F., BIKALES N.M., OVERBERGER C.G. et MENGES G. (1985).** (Eds.), Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Vol. 1, Wiley, New York, p. 20
  - ❖ **MARKS D., THOROGOOD M., NEIL H.A. et HUMPHRIES S.E. (2003).** A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolemia, *Atherosclerosis*, 168, 1-14.
  - ❖ **MARLETT J. A., MCBURNEY M. I. et SLAVIN J. L. (2002).** Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber, *Journal of American Diabetes Association*, 102, 993-1000.
  - ❖ **MATA T.M., MATINS A.A. et CAETANO N.S. (2010).** Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. Renewable Sustainable, *Energy Reviews*, 14, 217-232.
  - ❖ **MATLOUB A., EL-SHERBINI M., BORAI I. H., EZZ M. K., RIZK M.Z., ALY H.F. et FOUAD G. I. (2013).** Assessment of Anti-hyperlipidemic Effect and Physico-chemical Characterization of Water Soluble Polysaccharides from *Ulva Fasciata*, *Journal of Applied Sciences Research*, 9(4), 2983-299.
  - ❖ **MAYAKRISHNAN V., KANNAPPAN P., ABDULLAH N. et ALI AHMED A.B. (2013).** Cardioprotective activity of polysaccharides derived from marine algae: An overview, *Trends in Food Science & Technology*, 1-7
  - ❖ **MAZIERE J.C., MAZIERE C., MORA L. et POLONOVSKI J. (1981).** Métabolisme du cholestérol dans les fibroblastes de hamsters normaux et trans/brmés par le virus SV 40. Effet des lipoprotéines de basse densité, *Biochimie*, 63, 221-226.
-

- ❖ **MELO M.R.S., FEITOSA J.P.A., FREITAS A.L.P. et DE PAULA R.C.M. (2002).** Isolation and characterization of soluble sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria coreana*, *Carbohydrate Polymers*, 79, 491-498.
  - ❖ **MEUNIER M., DAURES F. et GGIRAD S. (2013).** Etat des lieux des secteurs pêche et aquaculture et de la consommation des produits aquatiques. Approche nationale (France) et régionale (Bretagne), publication électroniques Amures, Série Rapports R-32-2013.
  - ❖ **MOGHADAM M.H., FIROUZI J., SAEIDNIA S., HAJIMEHDIPOOR H., JAMILI S., RUSTAIYAN A. et GOHARI A. R. (2013).** A cytotoxic hydroperoxy sterol from the brown alga, *Nizamuddiniana zanardinii*, *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21, 24.
  - ❖ **MORIERA M.D.R., ROURA S.I. et PONCE A. (2011).** Effectiveness of Chitosan edible coatings to improve microbiological and sensory quality of fresh cut broccoli, *LWT-Food Science and Technology*, 44, 2335-2341.
  - ❖ **MUZZARELLI R. A. A., TANFANI F., EMANUELLI M. et MARIOTTI S. (1982).** N-(carboxymethylidene) chitosans and N-(carboxymethyl)-chitosans-novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate, *Carbohydrate Research*, 107, 199–214.
  - ❖ **MUZZARELLI R.A.A. et MUZZARELLI C. (2005).** Chitosan chemistry: relevance to the biomedical sciences in: polysaccharides I. structure, characterization and use, *Advances in Polymer Science*, 186, 151.
  - ❖ **MUZZARELLI R.A.A., BOURDANT J., MEYER D., MANNO N., DE MARCHIS M. et PAOLETTI M.G. (2012).** Current views on fungal chitin/Chitosan, human chitinase, food precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial, *Carbohydrate polymers*, 87,995-1012.
  - ❖ **NAIR P.P. et KRITCHEVSKY D. (1971).** The bile acids: chemistry, physiology, and metabolism, Ed. série NAIR P.P. et KRITCHEVSKY D. Vol 1 et 2, Plenum Press: New York.
  - ❖ **NAMVAR F., BAHARARA J. et MAHDI A. A. (2014).** Antioxidant and anticancer activities of selected Persian Gulf algae, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 29(1), 13–20.
  - ❖ **NARAYANAN D., JAYAKUMAR R. et CHENNAZHI K.P. (2014).** Versatile carboxymethyl chitin and chitosan nanomaterials: a review, *PubMed*, 6(6), 98-574.
  - ❖ **NESS G.C. (2015).** Physiological feedback regulation of cholesterol biosynthesis: Role of translational control of hepatic HMG-CoA reductase and possible involvement of oxysterols, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1851, 667–673.
-

## Références bibliographiques

---

- ❖ **OHTA K., TANIGUCHI A., KONISHI N., et HOSOKI T. (1999).** Chitosan treatment affects plant growth and flower quality, *Eustoma grandiflorum*. *Horticultural Science*, 34, 233-234.
  - ❖ **OMS (2014).** Le rapport sur la situation mondiale des maladies non transmissibles, in [www.who.int](http://www.who.int).
  - ❖ **PAINTER T.J. (1982).** Algal polysaccharides. In the polysaccharides, Edited by A.G.O. Edition Academic Press, 195-285.
  - ❖ **PARADOSSI G., CAVALIERI F. et CHIESSI E. (2002).** A conformational study on the algal polysaccharide ulvan, *Macromolecules*, 35, (16), 6404-6411.
  - ❖ **PARINI P., ANGELIN B. et RUDLING M. (1999).** Cholesterol and lipoprotein metabolism in aging. Reversal of hypercholesterolemia by growth hormone treatment in old rats, *Arteriosclerosis, Thrombosis and vascular Biology*, 19 832–839.
  - ❖ **PASTOR J. et PAULI A.M. (1995).** Dialyse, *Techniques de l'Ingénieur*, p1527.
  - ❖ **PEREZ R. (1997).** Ces algues qui nous entourent. Conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisation, culture. Ed E. Ifremer. Plouzané, 272.
  - ❖ **PERSON J. (2011).** Algues, filières du futur. Édition Adebitech Romainville, 163.
  - ❖ **PHILIP W. et CONNELLY P.D. (2009).** L'hypercholestérolémie familiale: pourquoi Tous les endocrinologues devraient connaître Le gène PCSK9, *Endocrinologie : Conférences Scientifiques*, 9 (3), 118-076F.
  - ❖ **RADMER, R.J. et PARKER, B.C. (1994).** Commercial application of algae: opportunities and constraints, *Journal of Phycology*, 6, 93-98.
  - ❖ **RAVI B.N., MURPHY P.T., LIDGARD R.O., WARREN R.G. et WELLS R.J.C. (1982).** 18 terpenoid metabolites of the brown alga *Cystophora moniliformis*, *Australian Journal of Chemistry*, 35 171-182.
  - ❖ **RAVI KUMAR M.N.V. (2000).** A review of chitin and chitosane applications, *Reactive and functional Polymers*, 46, 1-27.
  - ❖ **REPA J.J. et MANGELSDORF D.J. (2000).** The role of orphan nuclear receptors in the regulation of cholesterol homeostasis, *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16, 459-481.
  - ❖ **RINAUDO M. (2006).** Chitin and Chitosan: properties and applications, *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603-632.
  - ❖ **ROBIC A., GAILLARD C., SASSI J.F., LERAT Y. et LAHAYE M. (2009).** Ultrastructure of Ulvan: A polysaccharide from green seaweeds, *Biopolymers*, 91 (8), 652-664.
-

- ❖ **RODRIGUES D., ALVES C., HORTA A., PINTEUS S., SILVA J., CULIOLI G., THOMAS P. et PEDROSA R. (2015).** Antitumor and Antimicrobial Potential of Bromoditerpenes Isolated from the Red Alga, *Sphaerococcus coronopifolius*, *Marine Drugs*, 13, 713-726.
  - ❖ **RODWELL V.W., NORDSTROM J.L. et MITSCHELEN J.J. (1976).** Regulation of HMG-CoA reductase?, *Advances in Lipid Research*, 14, 1-74.
  - ❖ **RODWELL V.W., NORDSTROM J.L. et MITSCHELEN J.J. (1976).** Regulation of HMG-CoA reductase, *Advances in Lipid Research*, 14, 1-74.
  - ❖ **ROUESSAC F. et ROUESSAC A. (2004).** Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes, 6ed., DUNOD , Paris.
  - ❖ **ROUSSY J., VOOREN M.V., DEMPSEY B.A. et GUIBAL E. (2005).** Influence of Chitosan characteristics on the coagulation and flocculation of Bentonite suspensions, *Water Research*, 39, 3247-3258.
  - ❖ **SALAH R., MICHAUD P., MATI F., HARRAT Z., LOUNICI H., ABDI N., DROUICHE N. et MAMMARI N. (2013).** Anticancer activity of chemically prepared shrimp low molecular weight chitin evaluation with the human monocyte leukaemia cell line, THP-1, *International Journal of Biological Macromolecules*, 52,333-339.
  - ❖ **SCHULZ P., RODRÍGUEZ M., DEL BLANCO L., PISTONESI M. et AGULLÓ E. (1998).** Emulsification properties of chitosan, *Colloid Polymers Science*, 276, 1159-1165.
  - ❖ **SHIELDS K.M., SMOCK N., MCQUEEN C.E. et BRYANT P.J. (2003).** Chitosan for weight loss and cholesterol management, *American Journal of Health System Pharmacy*, 60, 1310-12, 5-6.
  - ❖ **SIPERSTEIN M.D. et FAGAN V.M. (1966).** Feedback control of mevalonate synthesis by dietary cholesterol, *Journal of Biology and Chemistry*, 241, 602-609.
  - ❖ **SMIT A.J. (2004).** Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products, *Journal of a Applied Phycology*, 16, 254-262.
  - ❖ **SOUIDI M., DUBRAC S. et PARQUET M. (2004).** Oxysterols: metabolism, biological role and associated diseases, *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 28, 279-293.
  - ❖ **SOYLEMEZ S., UDUM Y.A., KESIK M., HIZLIATES C. G., ERGUN Y. et TOPPARE L. (2015).** Electrochemical and optical properties of a conducting polymer and its use in a novel biosensor for the detection of cholesterol, *Sensors and Actuators B: chemical*, 212 , 425-433.
-

- ❖ **TIAGO H. S., ANABELA A., ELENA G. P., LARA L. R., MANUELA E. G. et RUI A. S. (2012).** Marine algae sulfated polysaccharides for tissue engineering and drug delivery approaches, *Biomatter*, 2(4), 1–12.
  - ❖ **TRAISSAC T., SALZMANN M., RAINFRAY M., EMERIAU J.P. et BOURDEL-MARCHASSON I. (2005).** Quelle signification pour le taux de cholestérol après 75 ans ?, *Presse Medicale.*, 34, 1525-1532.
  - ❖ **TSENG C.K et CHANG C.F. (1984).** Chinese seaweeds in herbal medicine, *Hydrobiologia*, 116/117, 152–5.
  - ❖ **TZIVELEKA L.A., ABATIS D., PAULUS K., BAUER R., VIGIAS C. et ROUSSIS V. (2005).** Marine polyprenylated hydroquinones, quinones, and chromenols with inhibitory effects on leukotriene formation, *Chemistry Biology*, 2, 901–909.
  - ❖ **UPADHYAYA L., SINGH J., AGRAWAL V. et TEWARI R.P. (2013).** Biomedical applications of carboxymethyl chitosans, *Carbohydrate Polymers*, 91 (1), 452-66.
  - ❖ **VADIGUIE P. (200).** Biochimie Clinique, 2<sup>ème</sup> éd Médicals Internationals, France.
  - ❖ **VALLIMIM. A., BARBOSA1 J. E., CAVALCANTI1 D.N., DE-PAULA J.C., GALVÃO DA SILVA1 V.A.G., TEIXEIRA1 V.L. et DE PALMER PAIXÃO I.C.N. (2010).** *In vitro* antiviral activity of diterpenes isolated from the brazilian brown alga *canistrocarpus cervicornis*, *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(22), 2379-2382.
  - ❖ **VAYA J. et SCHIPPER H.M. (2007).** Oxysterols, cholesterol homeostasis, and Alzheimer disease, *Journal of Neurochemistry*, 102(6), 1727-1737.
  - ❖ **VOET D. et VOET J.G. (2005).** Biochimie, 2<sup>ème</sup> Ed de Boeck, Paris, ISBN : 28041-47959.
  - ❖ **WANG Y. J., LIU S.W., YANG Z. X., ZHU Y. B., WU Y. F. et HUANG J. (2011).** Oxidation of  $\beta$ -glucan extracted from *Poria Cocos* and its physiological activities, *Carbohydrate Polymers*, 85, 798–802.
  - ❖ **WATERHAM H.R. et WANDERS R.J. (2000).** Biochemical and genetic aspects of 7-dehydrocholesterol reductase and Smith-Lemli-Opitz syndrome, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1529(1-3), 340-356.
  - ❖ **WIJESEKARA I., PANGESTUTI R. et KIM S.K. (2011).** Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae, *Carbohydrate Polymers*, 84, 14–21.
  - ❖ **WOLFF E., DESMARCHELIER C., NICOLAY A., LAIRON D. et BOREL P. (2011).** Une combinaison de SNPs localisés dans des gènes impliqués dans le
-

métabolisme du cholestérol explique, en partie, la variabilité d'absorption du cholestérol chez des hommes sains, *Nutrition clinique et métabolisme*, 28, S67–S240.

- ❖ **WU S.C., WANG F.J. et PAN C.L. (2010).** The comparison of anti-oxidative properties of seaweed oligosaccharides fermented by two lactic acid bacteria, *Journal of Marine Science and Technology*, 18, 537-545.
  - ❖ **YAO H. T. et CHIANG M. T. (2006).** Effect of chitosan on plasma lipids, hepatic lipid and fecal bile acid in Hamsters, *Journal of Food and Drug Analysis*, 14,183-189.
  - ❖ **YI H., WU L.Q., BENTLEY W.E., GHODSSI R., RUBLOFF G.W., CULVER J.N. et PAYNE G.F. (2005).** Biofabrication with chitosan, *Biomacromolecules*, 6, 2881-2894.
  - ❖ **YOO S.H., LEE J.S., PARK S.Y., KIM Y.S., CHANG P.S. et LEE H.G. (2005).** Effects of selective oxidation of chitosan on physical and biological properties, *International Journal of Biological Macromolecules*, 35, 27–31.
  - ❖ **YOON H.S., MULLER K.M., SHEATH R.G., OTT F.D. et BHATTA-CHARYA D. (2006).** Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta), *Journal of Phycology*, 42, 482-492.
  - ❖ **YU P., LI N., LIU X., ZHOU G., ZHANG Q. et LI P. (2003).** Antihyperlipidemic effects of different molecular weight sulphated polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta), *Pharmacological Research*, 48 (6), 543–549.
  - ❖ **YU P., QUANBIN Z., NING L., ZUHONG X., YANMEI W. et ZHIEN L. (2003).** Polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) and preliminary studies on their antihyperlipidemia activity, *Journal of Applied Phycology*, 15, 21–27.
  - ❖ **ZHANG J., LIU J., LI L. et XIA W. (2008).** Dietary chitosan improves hypercholesterolemia in rats fed high fat diets, *Nutrition Research*, 28, 383-390.
  - ❖ **ZHAO D., HUANG J., HU S., MAO J. et MEI L. (2011).** Biochemical activities of N,O-carboxymethyl chitosan from squid cartilage, *Carbohydrate Polymers*, 85, 832–837.
  - ❖ **ZHOU J., HU N., WU Y. L., PAN Y. J. et SUN C. R. (2008).** Preliminary studies on the chemical characterization and antioxidant properties of acidic polysaccharides from *Sargassum fusiforme*, *Journal of Zhejiang University Science*, B. 9(9), 721–727.
  - ❖ **ZHOU K.W., XIA C., ZHANG J. et YU L. (2006).** *In vitro* binding of bile acids and triglycerides by selected chitosan preparations and their physicochemical properties, *LWT-Food Science Technology*, 39, 1087-92.
  - ❖ **ZUBIA D., ROBLEDO D. et FREILE-PELEGRIN Y. (2007).** Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico, *Journal of Applied Phycology*, 449-458.
-