

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Akli Mohand Oulhaj- Bouira
Faculté des sciences et des sciences appliquées
Département Génie des Procédés



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

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie pharmaceutique

Activités biologiques d'un polysaccharide issu d'algue brune

Présenté par :

OUADAH Abderrahim Amine

TOUBAL MAAMAR Abderahmane

Soutenu le 04/07/2024

Devant le jury :

M. KERNANI R.	MCA	U. AMO Bouira	Président
M. BOUCELKHA A.	MCB	U. AMO Bouira	Encadrant
Mme. HAMMACHE F.	MCB	U. AMO Bouira	Co-Encadrant
Mme. GHEBRID N.	MCB	U. AMO Bouira	Examinatrice

Année universitaire : 2023-2024

Remerciements

À l'issue de cette étape importante de notre vie académique, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Nous sommes particulièrement reconnaissants à notre encadrant Monsieur A. BOUCELKHA, pour sa guidance précieuse, ses conseils éclairés et son soutien constant tout au long de ce projet. Ses encouragements étaient inestimables dans l'élaboration de ce travail de recherche.

Nous souhaitons également adresser nos vifs remerciements aux membres du jury, avec Mr. KERNANI en tant que président, Mme. GHEBRID en tant qu'examinatrice pour avoir pris le temps d'examiner ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers tous nos professeurs à la faculté des sciences et des sciences appliquées, ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire du département de génie des procédés de l'université de Bouira.

Dédicaces

À mes chers parents, Ce mémoire est le fruit de nombreuses heures de travail, de réflexion et d'apprentissage. Tout au long de ce parcours, votre soutien inestimable, votre amour inconditionnel, vos encouragements constants et vos sacrifices ont pavé le chemin vers la réussite et ont été ma source d'inspiration et de force.

*A mon cher frère **Mahdi** et à mes sœurs **Manar** et **Nihad**, qui m'ont toujours encouragé, soutenue et aidé, à vous que je dédie ce travail.*

*A nos amis et collègues de promotions, particulièrement **Abderahmane** avec qui j'ai eu le plaisir de travailler, merci pour les bons moments qu'on a passé. **Sami**, qui était tel un frère, toujours présents et prêt à offrir son aide précieuse.*

Abderrahim

Dédicaces

Je tiens à remercier tout d'abord Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience, qu'il nous a donné durant toutes les années d'étude.

Je dédie ce travail à mes chers parents qui ont été ma source d'inspiration, merci pour votre soutien constant, vos mots d'encouragement et votre présence.

*A mes chers frères **Abdelhak** et **Oussama** et ma sœur **Meriem** pour leur encouragement, et à toutes personnes de ma grande famille.*

*A mon cher ami **Abderrahim** qui a été mon binôme avec qui j'ai réalisé ce travail.*

*A mes amis **Mazigh** et **Sami** que leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été d'une grande aide.*

Abderahmane.

Sommaire

Introduction	2
1- Généralités sur les algues	4
1- 2- CLASIFICATION DES ALGUES	5
1- 3- COMPOSITION DES ALGUES	6
2- Les polysaccharides	7
2- 1- Agars et Carraghénanes	7
3- Les alginates	8
4- Les diverses applications des alginates	10
4- 1- Dans l'alimentaire	10
4- 2- Les cicatrisants	11
4- 3- Les laxatifs	11
4- 4- Les pansements gastriques et anti reflux	12
4- 5- Utilisation en galénique et pouvoir d'encapsulation	12
Les activités biologiques	4
1- Oxydants et antioxydants	15
1-1- L'oxydation	15
1-1-1- Les radicaux libres	15
1-1-1-1- La production des radicaux libres	16
1-1-1-2- L'action des radicaux libres à différents niveaux de l'organisme	16
1-2- Antioxydants	18
1-2-1- Modes d'action des antioxydants	18
1-2-2- Exemples d'antioxydants et leurs fonctions	18
2- L'inflammation	19
2- 1- Les anti-inflammatoires	20
2- 2- Les anti-inflammatoires stéroïdiens	21
2- 3- Les anti-inflammatoires non stéroïdien	21
3- Activité anti sécrétoire	21

3- 1- l'acidité gastrique et l'estomac.....	21
3- 1- Processus de la sécrétion acide.....	22
Matériel et méthodes	15
Introduction	24
1- Matériels	24
1-1- Matériel végétal	24
1-2- Appareils	24
1-3- Réactifs	25
2- Méthodes.....	25
2-1- Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformées de Fourier (FTIR).....	25
2- 2- Spectrophotométrie UV-Visible (UV-Visible).....	26
2-3- Hydrolyse partielle de l'alginate	26
2-4-Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA).....	28
2-5-Evaluation de l'activité anti oxydante : « Piègeage du radical DPPH ».....	29
2-6- Evaluation de l'activité anti acide.....	31
2-7- Evaluation de l'activité anti reflux	31
RESULTATS ET DISCUSSION	24
1- Caractérisation de l'alginate de sodium isolé de <i>S. scoparium</i> et commercial <i>par</i> FT-IR	34
2- Hydrolyse partielle de l'alginate de <i>s.scoparium</i>	35
3- L'activité anti inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA)	35
4- L'Activité anti oxydante : « Piègeage du radical DPPH ».....	37
5- Evaluation de l'activité anti acide	38
6- Evaluation de l'activité anti reflux.....	39
Conclusion.....	42

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de l'agarose	7
Figure 2 : Structures des carraghénanes.....	8
Figure 3 : Structure de l'acide Mannuronique et l'acide guluronique	9
Figure 4 : Structures des trois blocs d'alginate.....	9
Figure 5 : Représentation de l'activité hémostatique de l'alginate	11
Figure 6 : Hydrolyse partielle de l'alginate.....	28
Figure 7 : Mécanisme réactionnel du test de DPPH.....	30
Figure 8 : Montage expérimentale pour l'évaluation de l'activité anti reflux	32
Figure 9 : Spectres FT-IR du sodium alginate de l'algue brune S. scoparium	34
Figure 10 : Spectre FT-IR de l'alginate de sodium commercial.....	35
Figure 11 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines en fonction des concentrations	36
Figure 12 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations.....	37
Figure 13 : Profil de neutralisation de l'acide en fonction du temps	38
Figure 14 : Résultat du radeau formé par l'alginate de sodium	40

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition des algues	6
Tableau 2: Les antioxydants du corps	18
Tableau 3: Les antioxydants de l'alimentation	19
Tableau 4: les facteurs déclenchant de la réaction inflammatoire	20
Tableau 5: Liste des appareils utilisés	25

Liste des abréviations

DPPH :	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle
FT-IR:	Fourier-transform infrared spectroscopy
IC50 :	Concentration inhibitrice de 50%
R% :	Rendement
UV-Vis :	Ultra visible

Résumé :

Cette recherche se focalise sur l'étude des activités biologiques de l'alginate de sodium, mettant en lumière son potentiel prometteur dans le domaine pharmaceutique. Les résultats obtenus ont démontré un fort potentiel d'inhibition lors du test de dénaturation thermique des protéines allant jusqu'à 56,22% avec l'acide polyguluronique. De plus, le test de piégeage des radicaux libres (DPPH) a montré des résultats positifs, cohérents avec ceux rapportés dans d'autres études, avec un maximum de 75,11% enregistré par l'acide polyguluronique. En outre, l'alginate de sodium s'est avéré particulièrement efficace pour neutraliser les milieux acides, ce qui justifie son utilisation fréquente dans les médicaments antiacides et contre le reflux gastrique.

Mots clé : Alginate de sodium – activités biologiques – acidité gastrique- *Stypocaulon scoparium*

Abstract :

This research focuses on studying the biological activities of sodium alginate, highlighting its promising potential in the pharmaceutical field. The results obtained have demonstrated a strong inhibition potential in the thermal denaturation test of proteins of up to 56.22% with the polyguluronic acid. Additionally, the DPPH radical scavenging assay showed positive results consistent with those reported in other studies, the polyguluronic acid showed a maximum of 75.11%. Moreover, sodium alginate has proven to be particularly effective in neutralizing acidic environments, which justifies its frequent use in antacid medications and against gastric reflux.

Key words: Sodium alginate – Biological activities – Stomach acidity - *Stypocaulon scoparium*

ملخص:

تركز هذه الدراسة على دراسة الأنشطة البيولوجية لألجينات الصوديوم، مما يسلط الضوء على إمكانياتها الواعدة في مجال الصيدلة. أظهرت النتائج المتحصل عليها قدرة قوية على التثبيط في اختبار التحلل الحراري للبروتينات بنسبة تصل إلى 56.22% مع حمض بوليغلورونات. بالإضافة إلى ذلك، تم تسجيل نسبة قصوى تبلغ 75.11% مع الأسيتيل بوليغلورونات في اختبار التثبيط. كما ثبت أن ألجينات الصوديوم فعّالة بشكل خاص في تعديل البيئات الحمضية، مما يبرر استخدامها المتكرر في الأدوية المضادة لحموضة ومكافحة ارتداد حمض المعدة.

الكلمات المفتاحية: ألجينات الصوديوم – أنشطة بيولوجية – حموضة المعدة – ستيبوكولون سكوباريوم

Introduction

Introduction

L'alginate de sodium, un polysaccharide extrait d'algues brunes, suscite un intérêt croissant dans le domaine des biomatériaux en raison de ses propriétés uniques et de sa polyvalence biologique (Lee & Mooney, 2012). Cette biomolécule naturelle présente une structure chimique particulière qui lui confère des capacités de gélification et de biocompatibilité remarquables, essentielles pour diverses applications médicales et biotechnologiques (Draget et al., 1997). Au-delà de ses applications traditionnelles en tant qu'agent gélifiant et épaississant dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique, l'alginate de sodium a récemment attiré l'attention pour ses activités biologiques potentielles, telles que ses propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et cicatrisantes (Pawar & Edgar, 2012). De plus, des technologies telles que la microencapsulation utilisent l'alginate pour modifier la cinétique de libération des principes actifs encapsulés. (Djebri. 2018)

Le présent travail vise à explorer les divers blocs de l'alginate de sodium et à évaluer leurs activités biologiques spécifiques, notamment leur potentiel antioxydant, anti-inflammatoire, anti-acide et anti-reflux. Cette étude ambitionne de comprendre comment chaque bloc constitutif de l'alginate de sodium contribue à ces activités biologiques distinctes, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles applications thérapeutiques et médicales. Ce mémoire est structuré en quatre chapitres distincts :

Le premier chapitre aborde les généralités sur les algues.

Le deuxième chapitre explore en détail les activités biologiques.

Le troisième chapitre est dédié à la partie pratique de l'étude.

Le quatrième chapitre présente les résultats obtenus, suivis d'une discussion et d'une interprétation approfondie.

Enfin, une conclusion synthétise les principaux résultats et ouvre des perspectives pour de futures recherches.

CHAPITRE I :

Généralités sur les algues

1- Généralités sur les algues

L'étude des algues est une discipline scientifique appelée phycologie. Les algues représentent un embranchement distinct dans le règne végétal. Ce sont des organismes chlorophylliens qui se trouvent principalement dans les milieux aquatiques ou humides, comme les océans, les lacs, les mares et les ruisseaux **(Larousse)**

Les algues n'ont pas de structures caractéristiques telles que feuilles, racines, vaisseaux, fleurs ou graines comme les plantes terrestres **(Larousse)**. Plutôt que de feuilles, les algues possèdent des structures appelées thalles, qui représentent leur corps végétatif non différencié. Les tailles des thalles peuvent varier considérablement, allant de quelques micromètres pour les algues unicellulaires à plusieurs mètres pour les plus grandes espèces. Certaines algues possèdent également des flotteurs pour rester à la surface de l'eau et bénéficier de la lumière solaire nécessaire à la photosynthèse. **(Raven et Giordano, 2014)**

Elles jouent un rôle crucial dans les écosystèmes aquatiques en formant une partie essentielle de la chaîne alimentaire. Bien qu'elles se trouvent principalement dans les eaux salées, certaines espèces peuvent également prospérer en eau douce. Les algues sont moins courantes en milieu aérien et nécessitent généralement une humidité élevée pour survivre **(Reviere, 2002)**.

Comme les autres plantes chlorophylliennes, les algues sont autotrophes, ce qui signifie qu'elles peuvent produire leur propre énergie par photosynthèse.

Les algues présentent une grande diversité de couleurs de thalle, attribuables à la présence ou non de pigments. On peut les regrouper en trois principales familles : les algues rouges, les algues vertes et les algues brunes. Bien que leurs teintes diffèrent, toutes ces familles possèdent de la chlorophylle. **(Raven et Giordano, 2014 ; Reviere, 2002)**

Les macro-algues sont les plus familières et les plus étudiées à ce jour. Elles sont pourvues de crampons à leur base, qui leur permettent de s'ancrer à un support. Ces crampons sont reliés à un pédoncule de longueur variable, appelé stipe. Les macro-algues absorbent leurs nutriments par leur thalle, qui est en contact direct avec l'eau. À l'extrémité de l'algue se trouve une fronde qui peut adopter différentes formes, telles que des filaments, des cordons ou des lanières.

1- 2- CLASIFICATION DES ALGUES

La classification phylogénétique et taxonomique des algues, ou phycophytes, pose des défis en raison de leur diversité. En effet, elles ne constituent pas un groupe taxonomique distinct et sont souvent regroupées avec les lichens et les champignons en tant que Thallophytes parmi les végétaux. Les algues sont donc considérées comme des Thallophytes chlorophylliens (**Reviere, 2002**) .

Leur classification complexe découle du fait qu'elles ne forment pas un ensemble uniforme. Certaines algues sont des procaryotes, unicellulaires et dépourvues de noyau, tandis que d'autres sont des eucaryotes, souvent pluricellulaires avec un noyau dans chaque cellule. Leur capacité à se déplacer varie également, tout comme leur taille, allant des micro-algues de quelques micromètres aux macro-algues de plusieurs mètres de long (**Roland et al., 2008**)

De plus, la couleur et la répartition des pigments qui varient considérablement. Les algues sont classées en différents groupes, avec seulement un groupe étant procaryote (les cyanobactéries), tandis que les autres sont des eucaryotes (**Reviere, 2002**) :

- Les algues bleues, (cyanobactéries) appartiennent au règne des Eubacteria et sont des procaryotes.
- Les algues vertes, appartiennent à l'ensemble des Chlorophytae, peuvent être marines, d'eau douces ou encore aériennes.
- Les algues rouges ou Rhodophytes, sont le taxon frère des Chlorophytae.
- Les Euglénophyceae, sont des algues unicellulaires flagellées incolores
- Les Cryptophytae, sont des unicellulaires flagellés incolores aux plastes rouges ou bleus.
- Les Haptophytae, sont des algues unicellulaires caractérisées par un organe particulier, l'haptonème.
- Les algues brunes ou Phaeophyceae, dont les plus connues sont les algues brun-dorées ou Ochrophytae.
- Les Diatomées, sont des algues unicellulaires avec coque externe en silice et sont retrouvées dans tous les milieux aquatiques.
- Les Dinophytae, sont des algues unicellulaires souvent biflagellées.

1- 3- COMPOSITION DES ALGUES

Les algues sont constituées par plusieurs composants tels que les acides aminés, les protéines, les pigments, les lipides, ainsi que les polysaccharides qui sont considéré comme élément actif (tableau 01).

Tableau 1 : Composition des algues

Les composés phénoliques	<p>Sont des substances qui contenant au moins un phénol et un alcool, il se trouve parmi les composants de plusieurs plantes</p> <p>Le rôle de ses composants est de protéger la plantes contres l'oxydation grâce à son activité anti oxydantes (Hentati et al., 2020 ; Pimentel et al., 2018)</p>
Les acides aminés	<p>Les acides aminés et les protéines présentent une forte proportion dans les algues, ce qui explique leur utilisation dans le domaine agroalimentaire (Pereira, 2011)</p>
Les pigments	<p>Il existe trois types des pigments :</p> <ul style="list-style-type: none">- Les phycobilines qui donnants la couleur rouge aux algues, ils sont utilisés comme colorants alimentaires (Hentati et al., 2020)- Les chlorophylles se trouvent dans la majorité des plantes, ils sont responsables de la photosynthèse (Hentati et al., 2020)- Les caroténoïdes, se présentent en forte proportions chez les algues brunes, leur donnant une couleur distincte (Hentati et al., 2020)
Les lipides	<p>Les algues présentent une faible concentration de lipides (acides gras essentiels) par rapport aux autres plantes (Pereira, 2011)</p>

produit lors du refroidissement. Une propriété significative de ces gels est leur réversibilité, en les exposant à nouveau à des températures élevées, le gel précédemment formé peut être liquéfié à nouveau (Pereira, 2018 ; Vaithilingam *et al.*, 2011)

Les carraghénanes

La stéréoisomérisation des sous-unités fait la différence majeure entre les agars et les carraghénanes. Les carraghénanes sont donc formés de deux sous-unités en alternance (**Figure 02**) :

- Une sous-unité A, (1,3) β -D-galactopyranose
- Une sous-unité B, (1,4) α -D-galactopyranose ou pouvant aussi exister sous la forme (3,6) anhydro- α -D- galactose

Il existe plusieurs familles de carraghénanes en fonction de leur niveau de sulfatation et de leurs éventuelles liaisons avec d'autres groupements tels que les groupes méthyle ou pyruvate, entre autres. Parmi ces familles, on trouve les β , μ , ι , λ , κ -carraghénanes, pour n'en mentionner que quelques-unes. Parmi celles-ci, les carraghénanes λ , ι et κ sont les plus couramment employés. (Pimentel *et al.*, 2018)

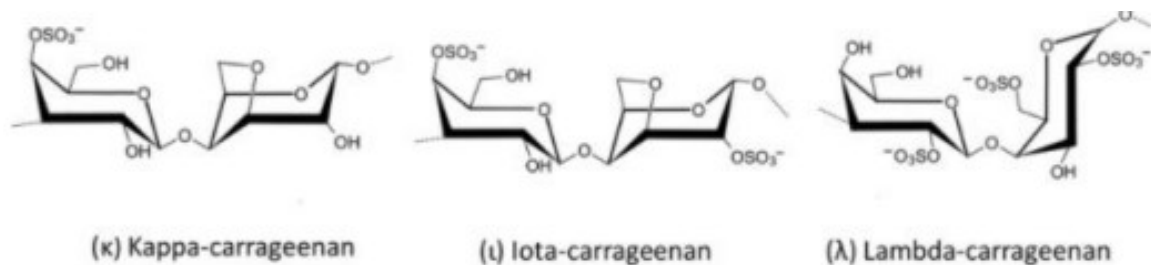


Figure 2 : Structures des carraghénanes (Pereira, 2018)

3- Les alginates

Les alginates sont des polymères composés d'acide mannuronique et guluronique comme unités de base (figure 3). Chaque monomère contient un groupement carboxyle, ce qui leur confère un caractère anionique variable selon le pH. Ces polymères peuvent être extraits sous forme de sels (appelés alginates) ou d'acides (acides alginiques). Les parties du polymère constituées d'acide guluronique adoptent une structure enroulée, formant des cavités dans lesquelles des ions divalents tels que Ca^{2+} , ou trivalents comme Fe^{3+} ou Al^{3+} , peuvent se loger. Cela confère de la stabilité à la structure et lui donne des propriétés gélifiantes (Puscaselu, 2020)

Les alginates sont présents dans les parois cellulaires des algues et contribuent à leur flexibilité et à leur structure, donc ils sont extraits des algues en précisant que la quantité et la qualité des alginates varient en fonction de divers facteurs tels que le lieu de vie de l'algue, son âge et les saisons. (Puscaselu, 2020)

Les deux acides D-mannuronique et l'acide L-guluronique sont liés à travers des liaisons osidiques $\beta(1-4)$ pour former l'acide alginique selon plusieurs schémas existants Boucelkha *et al.*, 2017)

- La forme d'acides D-mannuronique seuls (M-M-M-M-).
- La forme d'acide L-guluronique seuls (G-G-G-G-).
- La forme d'acide D-mannuronique et L-guluronique associés (M-G-M-G-) (figure4)

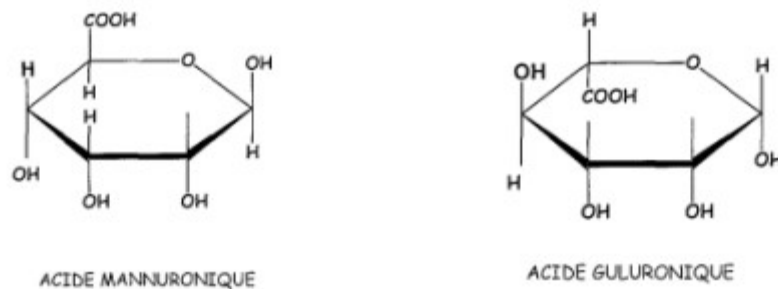


Figure 3 : Structure de l'acide Mannuronique et l'acide guluronique (Dumont, 2016)

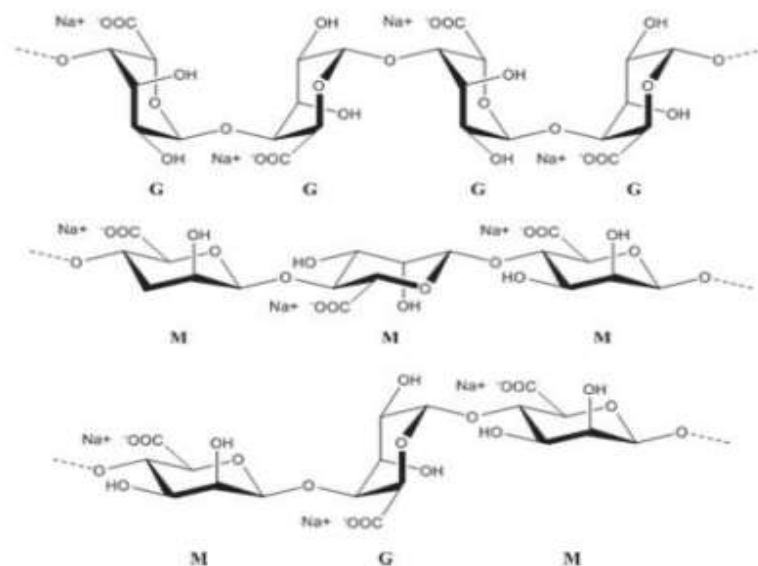


Figure 4 : Structures des trois blocs d'alginates (Dumont, 2016) .

4- Les diverses applications des alginates

Les alginates sont extrêmement polyvalents et sont utilisés dans divers secteurs en raison de leurs propriétés gélifiantes, stabilisantes et biocompatibles.

4- 1- Dans l'alimentaire

L'alginate est couramment utilisé dans l'industrie alimentaire pour modifier certaines caractéristiques des aliments telles que la rhéologie (épaississement), la capacité de rétention d'eau, la stabilisation des émulsions et la formation de films. Des revêtements combinant des composés actifs et de l'alginate ou des structures en couches minces sont utilisés pour augmenter la période de stockage de la tomate, des champignons, des crevettes, de fromage à faible teneur en matières grasses et de viande. En raison de ses propriétés d'épaississement et de gélification, il peut être utilisé dans les sauces, les confitures, les sirops, les garnitures de crème glacée et dans les tartes aux fruits, ainsi que dans l'alimentation animale. Dans le processus de production de crème glacée, l'utilisation d'alginate de propylène glycol à faibles concentrations permet d'obtenir une texture douce, des cristaux de glace peu nombreux et offre une sensation agréable aux clients de la production à la consommation (**Pereira, 2018**)

Les alginates sont aussi utilisés pour garder la stabilisation des boissons aux fruits. L'alginate est utile dans la mayonnaise et la vinaigrette, que nous connaissons sous le nom d'émulsions eau-dans-huile. Les structures d'alginate de calcium sont considérées par l'industrie de la viande comme une alternative aux boyaux naturels d'animaux. Dans une étude de 2015 sur le remplacement des structures d'alginate par des revêtements naturels dans les saucisses fermentées, il a été constaté qu'à 12 °C, les revêtements d'alginate pouvaient constituer une alternative appropriée aux revêtements naturels. Les propriétés physiologiques et rhéologiques des alginates, ainsi que leurs applications en tant que stabilisants, épaississants, gels ou additifs pharmaceutiques, sont fortement influencées par la composition en acides uroniques (rapport M/G) et la distribution des monomères le long des chaînes (**Comaposada et al., 2015**). L'alginate est utilisé en raison de sa faible solubilité dans l'eau et de sa haute viscosité, en particulier dans les produits alimentaires. Ce polysaccharide possède des propriétés antioxydantes et prévient le rôle désagréable des radicaux libres et des dommages oxydatifs dans les aliments, améliorant ainsi la qualité de la nutrition (**Khajouei et al., 2018**). Ses propriétés structurales telles que le poids moléculaire, la composition en monosaccharides et le branchement glycosidique affectent son activité antioxydante. Le poids moléculaire et le

rapport M/G des alginates jouent un rôle important dans leur capacité à inhiber les radicaux libres. (Comaposada *et al.*, 2015)

4- 2- Les cicatrisants

Une cicatrice de la peau résulte de plusieurs étapes, commençant par une coagulation au niveau d'une plaie qui va former un clou plaquettaire, la deuxième étape est l'inflammation qui fait appel aux cytokines pour éliminer les micro-organismes étrangers en réduisant l'inflammation. La reconstruction de la zone endommagée commence dans cette étape en forment les vaisseaux sanguin c'est l'étape d'angiogenèse. (Reinke *et al.*, 2012)

Les alginates sont utilisés comme des pansements absorbants, l'application de ces pansements sur des plaies permet l'échange d'ions de sodium et de calcium entre les fibres d'alginates et les tissus biologiques, donc une activité hémostatique aura lieu (Pilon, 2016) (figure 05)

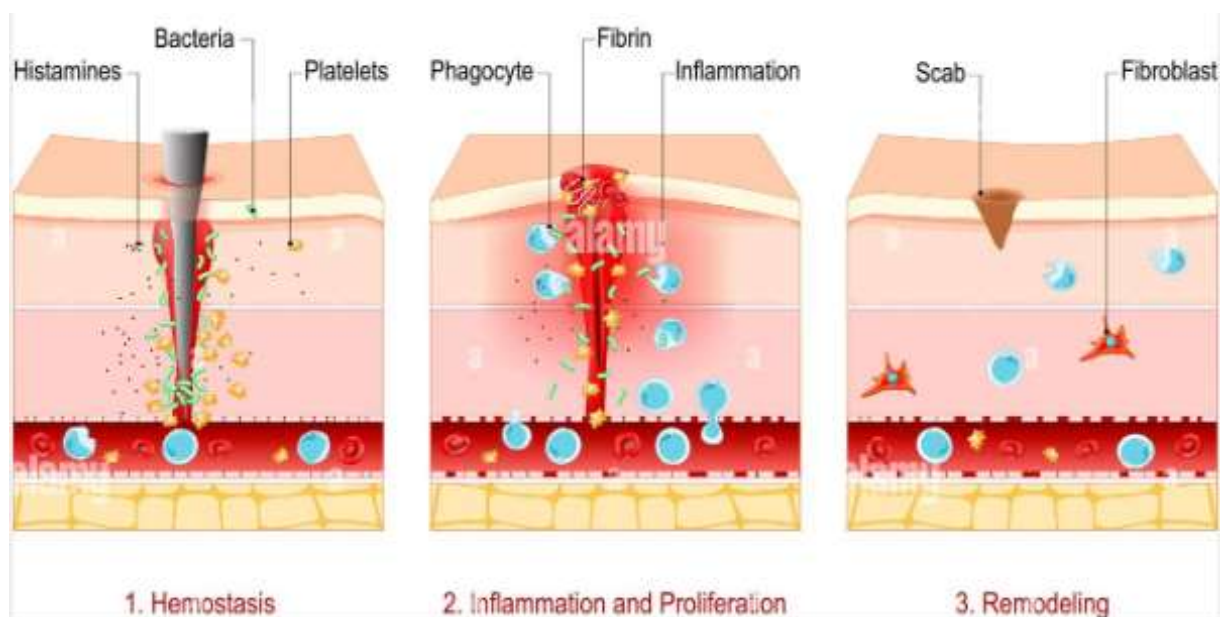


Figure 5 : Représentation de l'activité hémostatique de l'alginate (NOVSYSTEM, 2022)

4- 3- Les laxatifs

La diminution des selles est la cause principale de la constipation chez l'être humain, la forte proportion en fibres et en phycocoloïde rend les alginates un élément indispensable dans la composition des laxatifs.

En présence d'eau les phycocoloïdes vont se gonfler en augmentant le volume des sels ce qui permet une décente facile au niveau de tube digestif. (Vidal, 2012)

4- 4- Les pansements gastriques et anti reflux

Le reflux gastrique RGO est un phénomène courant chez les adultes, c'est la remontées d'une partie du contenu de l'estomac dans l'œsophage à cause de la faiblesse du muscle fermant (SNFGE. 2018)

Les alginates sont souvent utilisés dans les pansements gastriques et les médicaments anti reflux, la présence des alginates dans se types de médicament permet la formation d'un radeau même en petite quantité. Les alginates peuvent aussi éliminer les brûlures de l'estomac en neutralisent l'acidité comme GAVISCON (Mandel KG *et al.*, 2000) .

4- 5- Utilisation en galénique et pouvoir d'encapsulation

L'utilisation des alginates est très fréquente dans la pharmacie galénique, pas seulement pour l'amélioration de l'aspect et le goût mais aussi pour prolonger la durée de conservation en séparant l'actif des autres composants du mélange, favorisant la stabilité du principe actif. (Lee et Mooney, 2012)

La biocompatibilité des alginates avec le l'organisme humain les rends un candidat favori pour le procédé d'encapsulation. L'encapsulation sert a créé une micro sphère en suivant plusieurs procédés possibles (procédé d'extrusion, d'atomisation, d'émulsion/gélification) en se basant sur les propriétés de gélifications. A la fin du procédé une membrane polymérique est obtenue, qui encapsule le principe actif à l'intérieur.

Le type de molécules qui peuvent traverser la membrane capsulaire est dicté par plusieurs facteurs, notamment la distribution et la taille des pores de la capsule (par exemple, les pores du gel d'alginate varient de 5 à 150 nm) et les caractéristiques biochimiques des molécules, telles que le poids moléculaire, la taille, la forme et la présence de groupes chargés. Bien que le poids de la molécule soit seulement partiellement responsable de sa capacité à diffuser à l'intérieur et à l'extérieur des capsules, il s'agit d'un paramètre utile lors de la comparaison de la capacité de différents agents de signalisation à influencer la réponse immunitaire contre les capsules. (Vaithilingam *et al.*, 2011)

Il est possible aussi de préserver ce principe actif en l'encapsulant dans une sphère d'alginate, ce qui lui offre une protection contre les influences extérieures. Cette encapsulation retient le principe actif jusqu'à ce que la bille d'alginate se dissolve lors de son utilisation, libérant ainsi le principe actif. Cette méthode présente un intérêt particulier dans le domaine des formes orales, car elle permet la création de formulations à libération retardée (une libération

modifiée). Par exemple, elle peut protéger un principe actif sensible au pH acide de l'estomac, mais qui doit être actif plus loin dans le tube digestif une fois que l'enveloppe d'alginate s'est dissoute. La libération prolongée réduit les prises journalières et améliore la bio disponibilité du principe actif. Par ailleurs, la recherche se concentre également sur l'encapsulation de principes actifs lipophiles et de protéines, des composés qui sont actuellement difficiles voire impossibles à utiliser par voie orale (**Wagle, 2020**)

CHAPITRE II :
Les activités biologiques

1- Oxydants et antioxydants

1-1- L'oxydation

Plusieurs études récentes ont identifié des éléments communs qui contribuent à la fois au processus de vieillissement et à des maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (comme Parkinson et Alzheimer), ainsi que diverses allergies et autres maladies chroniques. **(Le Cren, 2004)**.

Lorsque la cellule consomme de l'oxygène, cela déclenche de nombreuses réactions d'oxydation qui conduisent à la production d'énergie ainsi qu'à la formation de divers sous-produits connus sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). **(Pokorny et al., 2001)**

L'organisme dispose d'un vaste système de défense principalement constitué d'antioxydant enzymatique, pour contrer ces ERO. Cependant, lorsque les agressions, amplifiées par les radicaux libres internes et externes se multiplient, ce système de défense peut parfois être dépassé. C'est à ce stade que survient un phénomène appelé "stress oxydatif", provoquant des dégâts. **(Le Cren, 2004)**. C'est à ce niveau qu'interviennent un système de régénération non enzymatique dits antioxydants, généralement de sources végétales, consommé par l'humain. **(Chaouche, 2020)**. En termes généraux, le stress oxydatif se caractérise par un déséquilibre entre les agents oxydants et les systèmes de défense (antioxydants), entraînant souvent des dommages cellulaires qui peuvent être irréversibles. **(Desmier, 2016)**

1-1-1- Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des entités chimiques possédant un électron non apparié. Ce déséquilibre est temporaire et peut être réglé soit en acceptant un électron, soit en transférant cet électron libre à une autre molécule **(Chaouche, 2020)**.

Les radicaux libres sont classés sous deux catégories : Les radicaux libres primaires (RL), sont directement formés à partir de l'oxygène. Les radicaux libre secondaires eux sont formés par l'action d'un radical libre primaire sur une composante cellulaire (acides nucléiques, lipides membranaires, protéines) résultats des fois à la formation de complexes tel le peroxy-nitrite (ONOO^-) qui va encombrer la voie respiratoire et endommager les composants mitochondriaux **(Oldham et al., 1998; Le Cren, 2004)**

1-1-1- La production des radicaux libres

Les ERO peuvent être produits, d'une manière endogène, par de nombreux types de réaction biochimique telle que la respiration : dans les mitochondries, lors du transfert d'électron à la chaîne respiratoire, l'enzyme membranaire, la NADPH oxydase, a pour fonction spécifique de produire le radical superoxyde, afin de neutraliser les bactéries ou les virus. Le fer et le cuivre, des ions métalliques et remarquables promoteurs de processus radicalaires convertissent le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en radical hydroxyle (·OH), une entité encore plus toxique (Oldham *et al.* 1998) .

Les espèces réactives de l'oxygène sont également produites en réponse à des agents oxydants environnementaux, dit production exogène, tels que le tabac, la pollution atmosphérique, l'exposition au soleil et aux rayons ultraviolets, les radiations ionisantes, un exercice physique intense, le stress, une alimentation déséquilibrée, la consommation d'alcool, l'exposition à l'amiante, aux pesticides, etc (Afonso *et al.*, 2007).

1-1-1-2- L'action des radicaux libres à différents niveaux de l'organisme

Les radicaux libres attaquent différents endroits du corps, ayant trois grandes cibles privilégiées

Les acides nucléiques

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), notamment le radical hydroxyle, ont la capacité d'endommager les acides nucléiques. Ils peuvent causer des cassures, des mutations ou perturber le processus de réparation de l'ADN. De plus, les ERO peuvent altérer la transcription ou la traduction de l'ADN, ce qui peut entraîner la production de protéines déformées. Ces altérations peuvent être responsables de processus mutagènes ou d'un vieillissement prématuré (Valko *et al.*, 2006) .

Les protéines et acides aminés

Les ERO peuvent oxyder les protéines et les acides aminés, favorisant ainsi la formation de produits carbonylés ou hydroxylés. Ces modifications entraînent une altération des protéines, ce qui peut activer ou désactiver les systèmes enzymatiques associés. Les acides aminés soufrés, basiques et aromatiques sont particulièrement sensibles à ces oxydations, qui peuvent se produire selon trois types différents (Desmier, 2016) .

- Par fragmentation des protéines et formation de produits carbonylés impliqués dans les maladies liées à un dysfonctionnement des neurotransmetteurs dans l'organisme. C'est le cas notamment dans l'épilepsie (**Pearl et al., 2006**).

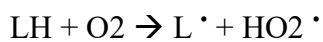
- Par réaction lors de la peroxydation lipidique qui conduit à l'accumulation des lipoprotéines contribuant au développement des plaques d'athérome qui, à leur tour, peuvent induire la formation d'un caillot bloquant la circulation sanguine (**Desmier, 2016**).

- Par réaction de glyco-oxydation qui peut se traduire par une augmentation de la glycémie, notamment en cas de diabète (**Desmier, 2016**).

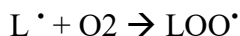
Les lipides

Les peroxydations lipidiques vont altérer la structure des cellules animale ou végétale, et sont responsables de la dégradation organoleptique des aliments. Cette peroxydation lipidique se déroule en trois phases (**Penfield, 1990**):

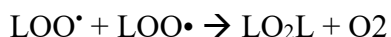
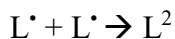
- L'initiation où se forme un premier radical libre «L•». L'arrachement du proton «H⁺» de la chaîne d'un acide gras «LH», qui est un composé radicalaire très réactif vis-à-vis de l'oxygène.



- La propagation où l'oxygène fixé donne un radical peroxy «LOO•» qui réagit avec une autre molécule d'acide gras «LH» et conduit à un hydroperoxyde «LOOH» et un néo radical libre qui va à son tour s'oxyder.



- La terminaison, entraînée par la réaction de deux radicaux pour donner une espèce moléculaire ou par intervention d'un composé antioxydant, dit «briseur de chaîne».



1-2- Antioxydants

Un antioxydant est défini comme une substance chimique relativement complexe, qui réduit le stress oxydatif dans l'organisme en libérant un ou plusieurs électrons (**Desmier, 2016**). Certains antioxydants sont produits naturellement par le corps, tels que les enzymes, tandis que d'autres proviennent de l'alimentation, comme les minéraux, les vitamines et les métabolites secondaires. Certains sont à la fois synthétisés en petites quantités par l'organisme et apportés par l'alimentation (**Pokorny et al., 2001**). Les composés phytochimiques suscitent actuellement un regain d'intérêt en tant que sources d'antioxydants naturels. L'objectif est de les intégrer dans les aliments et les produits pharmaceutiques pour remplacer les antioxydants de synthèse, qui présentent des périls potentiels pour la santé en raison de leurs effets carcinogènes ou mutagènes (**Le Cren, 2004**).

1-2-1- Modes d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en fonction de leurs modes d'action en: systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres (**Desmier, 2016**). Ils agissent pour prévenir la formation de radicaux libres en inhibant le processus d'initiation des réactions en chaîne précédemment décrites, neutraliser directement les espèces réactives de l'oxygène (ERO).

1-2-2- Exemples d'antioxydants et leurs fonctions

Les tableaux 01 et 02 présentent une variété d'antioxydants présents dans l'organisme et dans l'alimentation, ainsi que leur rôle dans la neutralisation des radicaux libres.

Tableau 2: Les antioxydants du corps (**LALAOUI, 2019**)

Antioxydants de l'organisme	Fonction
Superoxyde dismutase (SOD) à base de zinc et cuivre	Enzyme. Neutralise les radicaux superoxydes en les transformant en peroxyde d'hydrogène
Superoxyde dismutase (SOD) à base de manganèse Enzyme.	Neutralise les radicaux superoxydes en les transformant en peroxyde d'hydrogène
Catalase	Enzyme. Neutralise les peroxydes d'hydrogène en les transformant en eau et oxygène

Glutathion peroxydase (à base de sélénium)	Enzyme. Neutralise les peroxydes d'hydrogène en les transformant en eau et oxygène
Transferrine/Lactoferrine	Protéines. Transportent le fer.
Mélatonine	Hormone anti-oxydante.

Tableau 3: Les antioxydants de l'alimentation (LALAOUI, 2019).

Antioxydants de l'alimentation	Fonction
Vitamine C (fruits, légumes)	Réagit avec les radicaux libres dans le plasma (sang) et à l'intérieur des cellules. Régénère la vitamine E et le bêta-carotène.
Vitamine E (germe de blé, noix, amandes, huiles végétales)	Réagit avec les radicaux libres dans les milieux gras. Protège les membranes, les graisses circulantes, et les protéines.
Cystéine (viandes, végétaux)	Précurseur du glutathion.
Acide phytique (céréales complètes)	Minimise la concentration des formes réactives des minéraux (fer, cuivre, manganèse) qui peuvent donner naissance à des radicaux libres.
Polyphénols (fruits, légumes)	Réagissent avec les radicaux libres dans les milieux aqueux et/ou gras. Protègent la vitamine C.

2- L'inflammation

L'inflammation est une réponse complexe et naturelle du corps à une agression, telle qu'une infection, une blessure ou une irritation. C'est un mécanisme de défense essentiel qui vise à protéger les tissus et à favoriser leur réparation. Lorsqu'une partie du corps est agressée, diverses cellules immunitaires, comme les macrophages et les lymphocytes, ainsi que des substances chimiques telles que les cytokines et les prostaglandines, interviennent pour signaler et coordonner la réponse inflammatoire. Les principaux signes classiques de l'inflammation sont la rougeur, la chaleur, le gonflement et la douleur, qui reflètent l'afflux de sang et d'autres

composants vitaux vers la zone affectée. Bien que l'inflammation ait principalement une fonction protectrice, une inflammation prolongée ou chronique peut être néfaste et contribuer au développement de diverses maladies, y compris les maladies auto-immunes, les maladies cardiovasculaires et même le cancer. Ainsi, comprendre les mécanismes de l'inflammation et son contrôle est crucial pour la gestion efficace de la santé et des maladies (**Danowski, 1991 ; Trabsa, 2015**)

Lors d'une agression biologique ou chimique l'organisme réagit par une réaction inflammatoire pour éliminer l'agent infectieux, le traitement de l'inflammation elle-même prime souvent pour le médecin sur le traitement de la cause, ils font donc appelle a deux types des anti-inflammatoires : anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et non stéroïdiens (AINS) (**Ndiaye et al., 2017**).

Tableau 4: les factures déclenchant de la réaction inflammatoire (**Danowski, 1991**)

Origine	Facteur déclenchant l'inflammation
Origine exogène	Agents physiques : Brulures, gelures, radiations, coupures, piqûres ...
	Agents chimiques : Acides, bases, médicaments.
	Agents biologiques : bactéries, virus, parasites, toxines
Origine endogène	- Microcristaux : Goutte hondrocalcies articulaires, rhumatismes a hydroxypâtîtes. -Auto anticorps. - Libération enzymatique.

2- 1- Les anti-inflammatoires

Le traitement anti-inflammatoire vise à réguler la réponse excessive et non spécifique des tissus pour prévenir la transition de l'inflammation aiguë vers une phase chronique (**Muster, 2005**). Ce sont des médicaments largement utilisés mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (Irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) (**Trabsa, 2015**).

2- 2- Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou glucocorticoïdes sont des molécules qu'ils ont un rôle très important vue leur propriété thérapeutique et leur action sur les systèmes métaboliques. Ils sont utilisés pour limiter les symptomatologies inflammatoires au niveau des organes ou des articulations, ou pour arrêter certaine réaction d'hyper sensibilité (effet anti allergique), aussi pour traiter certain maladie auto immunes ou pour permettre la tolérance des organes ou cellule transplantée (effet immunosuppresseur)

2- 3- Les anti-inflammatoires non stéroïdien

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont répartie en de plusieurs familles selon la fonction qu'ils possèdent ou selon leur sélectivité d'action comme :

- Dérivés oxicam,
- Inhibiteurs sélectifs de la COX-2,
- Dérivés indoliques,
- Les fénamates.

Ces types d'anti-inflammatoires exercent plusieurs effets thérapeutiques :

- Effet antalgique direct sur site d'inflammation.
- Effet anti-aggrégant plaquettaire.
- Effet anti-pyrétique.

3- Activité anti sécrétoire

3- 1- l'acidité gastrique et l'estomac

L'estomac joue un rôle central dans le système digestif en assurant la dégradation initiale des aliments et la préparation des nutriments pour l'absorption ultérieure. Situé entre l'œsophage et le duodénum (première partie de l'intestin grêle), l'estomac est un organe musculaire expansible doté d'une muqueuse spéciale qui produit des sucs gastriques contenant des enzymes et de l'acide chlorhydrique. **(Lewin, 1985)**

En plus de la digestion chimique, l'estomac a un rôle de barrière protectrice grâce à son environnement acide, qui tue de nombreux microbes ingérés avec les aliments. Cette acidité est également cruciale pour l'activation de certaines enzymes digestives **(Lewin, 1985)**

L'estomac régule également la libération des aliments dans l'intestin grêle, permettant une digestion et une absorption efficaces des nutriments essentiels

3- 1- Processus de la sécrétion acide

Les cellules pariétales sécrètent de l'acide chlorhydrique en utilisant des protéines transmembranaires appelées pompes à protons situées à leur pôle apical. Ces pompes transportent des ions H^+ dans la lumière gastrique en échange d'ions K^+ , processus rendu possible par l'énergie libérée lors de l'hydrolyse de l'ATP (adénosine triphosphate). **(Gillard, 2022)**

À proximité de cette pompe, d'autres canaux facilitent le recyclage des ions K^+ . Ces canaux sont associés à des transporteurs qui permettent le cotransport des ions Cl^- . Une fois dans la lumière stomacale, les ions H^+ se combinent ensuite avec les ions Cl^- pour former l'acide chlorhydrique. **(Vaubourdolle et Porquet, 2013)**

L'activation des cellules pariétales est régulée par plusieurs mécanismes neurohormonaux. En réponse à des stimuli d'acidité, les pompes à protons se déplacent vers le pôle apical et fusionnent avec la membrane du canalicule sécrétoire de la cellule. Ce processus permet de maintenir un pH moyen quotidien de l'estomac d'environ 1,8. **(Lewin, 1995 ; AFSAPS, 2007)**

CHAPITRE III :

Matériel et méthodes

Introduction

Afin d'évaluer certaines activités biologiques des alginates, des polyguluronates et des oligoguluronates, plusieurs tests ont été employés: **test de l'activité anti inflammatoire in vitro** , **l'activité anti oxydante : « Piègeage du radical DPPH »**, **l'activité anti acide** et **évaluation de l'activité anti reflux**

Cependant notre évaluation c'est déroulée du mois février au mois de mai 2024. Les différentes activités biologiques ont été effectuées au niveau du Laboratoire de génie des procédés de l'université de Bouira.

1- Matériels

1-1- Matériel végétal

Deux types d'alginate ont été utilisés, commercial et celui extrait et caractérisé de l'algue brune *Stypocaulon scoparium*, récoltée de la côte méditerranéenne de l'Algérie dans la région de Bejaia dans le cadre d'une étude réalisée par BOUCELKHA et al ; (2017) , Dans le même contexte des oligosaccharides de type oligoguluronate obtenus par dégradation enzymatique (alginate lyase) ont été testés pour déterminer leurs propriétés biologiques. (**BOUCELKHA et al., 2017**).

1-2- Appareils

Tableau 5: Liste des appareils utilisés

Appareillage	Marque
Agitateur magnétique	VELP
Centrifugeuse	HETTICH
Chauffe ballon	WiseTherm
Etuve	BINDER
pH mètre	OHAUS
Bain marie	MEMMERT
Balance de précision	KERN
Vortex	VELP
Spectrophotomètre UV-Visible	SHIMADZU
Spectrophotomètre FT-IR	JASCO

1-3- Réactifs

HCl (Biochem) DPPH (Tokyo Chemical Industry Co. (TCI)), L'albumine sérique bovine (BSA). Na₂CO₃, NaCl, KCl (Biochem), KH₂PO₄ (Honeywell) Na₂HPO₄ (Specilab) Ethanol (VWR Chemicals).

2- Méthodes

2-1- Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformées de Fourier (FTIR)

PRINCIPE

La spectroscopie infrarouge est une technique analytique permettant d'identifier les groupements fonctionnels présents dans les matériaux (Mackie, 1971)

Mode opératoire

Le mode opératoire en FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) implique la préparation de l'échantillon selon les spécifications requises, l'initialisation de l'appareil et le réglage des paramètres de mesure tels que la résolution spectrale et le nombre de scans. Une fois l'échantillon placé dans la cellule de mesure, l'acquisition du spectre infrarouge est réalisée, enregistrant l'absorbance à différentes longueurs d'onde. Les données sont ensuite traitées pour produire un spectre infrarouge, qui est interprété pour identifier les bandes caractéristiques d'absorption, comparées à des références pour déterminer la composition ou la structure

chimique de l'échantillon, et enfin, les résultats sont rapportés avec les conditions de mesure et les conclusions pertinentes. (JASCO, 2004)

2- 2- Spectrophotométrie UV-Visible (UV-Visible)

Principe

C'est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance d'une substance chimique en solution. (Mackie, 1971)

Mode Opérateur

Elle obéit à la loi de Beer Lambert. Avant de commencer les tests, les longueurs d'onde « λ max » qui correspondent aux absorptions maximums de colorants étudiés est déterminée par balayage entre 350 et 900 nm en utilisant un spectroDirect de marque SHIMADZU. Les courbes d'étalonnages sont ensuite établies à ces longueurs d'onde max pour différentes concentrations connues des composés à doser. Les concentrations résiduelles des colorants après les activités biologiques étudiées sont déterminées à partir de ces courbes d'étalonnages.

2-3- Hydrolyse partielle de l'alginate

L'alginate commercial est partiellement hydrolysé selon la méthode modifiée de Leal et al. (2008).

L'alginate est dissout dans 100ml d'eau, puis 3ml d'HCl 3M y ont été ajoutés et le tout était chauffé à 40°C pendant 30min, suivie d'une centrifugation à 3000tr/min.

Le surnageant est neutralisé (pH=7) par NaOH 0.1M, 100ml d'éthanol a été ajouté et après une deuxième centrifugation à 4000 tr/min pendant 20 min le précipité obtenu est dilué dans de l'eau distillée et mis au congélateur. C'est « **les blocs MG** », Le culot de la 1^{ère} centrifugation, additionné de 100 ml de HCl 0.3M est chauffé à reflux à 40°C pendant 2 h puis centrifugé 4000tr/min pendant 20 min.

Le culot est neutralisé, ensuite acidifié avec HCl 1M, jusqu'à pH= 2.4 et puis centrifugé, 3000 tr/min pendant 15min : le Surnageant est neutralisé , il représente les « **Blocs M** ».

Le Culot_neutralisé, « **Blocs G** » .

Les contenus des béchers sont ensuite versés dans des cristallisaires et mis dans l'étuve à 40°C pendant 24 heures pour sécher, la masse obtenue est pesée et gardée dans un contenant hermétique.

Le protocole est résumé dans la figure ci-dessous :

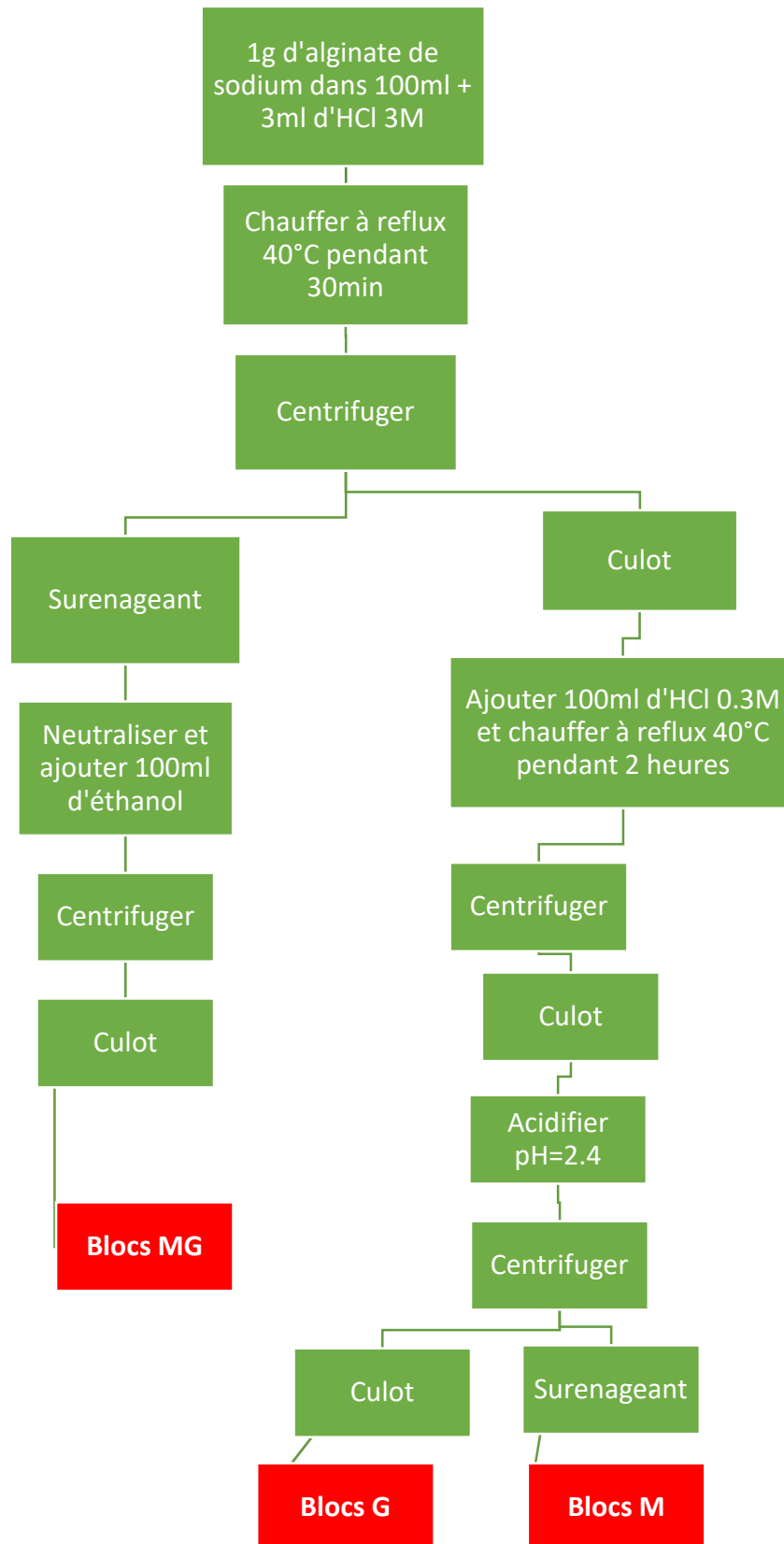


Figure 6 : Hydrolyse partielle de l'alginate

Calcul du rendement

Le rendement désigne la masse obtenue après séchage, exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale, calculé suivant la formule présentée ci-dessous :

$$R(\%) = [M/M_0] \times 100$$

- R (%) : Rendement exprimé en %
- M : Masse en gramme de la fraction sec obtenue
- M₀ : Masse en gramme de la poudre d'alginate (1g)

2-4-Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA)

Principe

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines consiste à étudier comment les substances testées peuvent empêcher la dénaturation des protéines sous l'effet de la chaleur. En effet, la dénaturation thermique des protéines est un processus couramment observé lors d'une inflammation, et elle est associée à une série de réactions biochimiques qui aggravent les symptômes inflammatoires. Ainsi, les substances qui sont capables d'inhiber cette dénaturation thermique peuvent potentiellement présenter des propriétés anti-inflammatoires. Cette méthode d'évaluation in vitro permet de déterminer l'efficacité des composés testés à moduler cette réaction biochimique spécifique, offrant ainsi des indications sur leur potentiel pour le traitement des inflammations. (Kandikattu *et al.*, 2013)

Mode opératoire

L'analyse de l'effet de l'alginate *S. scoparium*, du polysaccharide et de l'oligosaccharides de l'acide guluronique sur la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) induite par la chaleur a été réalisée avec des modifications mineures en utilisant une méthode développée par Ghosh *et al.*, 2015.

Préparation des dilutions : Les différentes concentrations sont préparées à partir d'une solution mère d'une concentration de 2 mg/ml. Les concentrations préparées sont choisies pour couvrir une gamme allant de 0,250 mg/ml à 1,5 mg/ml.

3 solutions sont préparées afin de pouvoir calculer le pourcentage d'inhibition :

- **Solutions d'essai (Ae)** : Prélever 50µL de chaque concentration et ajouter 450µL de BSA.
- **Solutions contrôle produit (Acp)** : Prélever 50µL de chaque concentration et ajouter 450µL d'eau distillée.
- **Solution Contrôle (Ac)**: 50µL d'eau distillée + 450µL BSA.

Les tubes sont laisser incubé à une température de 37°C pendant 20 minutes, la température est ensuite augmentée à 57°C pendant une durée de 3 minutes. Cette élévation de température vise à induire spécifiquement la dénaturation de la BSA, simulant ainsi des conditions de stress thermique auxquelles les protéines peuvent être exposées dans le cas d'inflammation.

Après refroidissement, un volume de 2.5ml de PBS a été ajouté à chaque tube, ensuite vortexé. L'inhibition a été évaluée à une longueur d'onde 255 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Le contrôle décrit une dénaturation des protéines à 100 %. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \left(\frac{Ae - Acp}{Ac} * 100 \right)$$

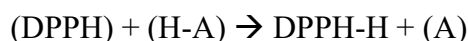
A partir des résultats obtenus L'IC50 serai calculé.

L'IC50 représente la concentration nécessaire pour inhiber 50 % la dénaturation du BSA.

2-5-Evaluation de l'activité anti oxydante : « Piègeage du radical DPPH »

Principe

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable (sous forme de poudre) de couleur violette qui devient jaune lorsqu'il est neutralisé (**Milardovic et al., 2006**). Le test au DPPH utilise cette caractéristique pour démontrer l'activité de capture des radicaux libres. La réaction de capture entre le DPPH et un antioxydant (HA) peut être écrite comme suit :



Les antioxydants réagissent avec le DPPH et le réduisent en DPPH-H, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance. Le degré de décoloration indique le potentiel de capture des composés antioxydants ou des extraits en termes de capacité de donation d'hydrogène. (Krishnanand *et al.*, 2012)

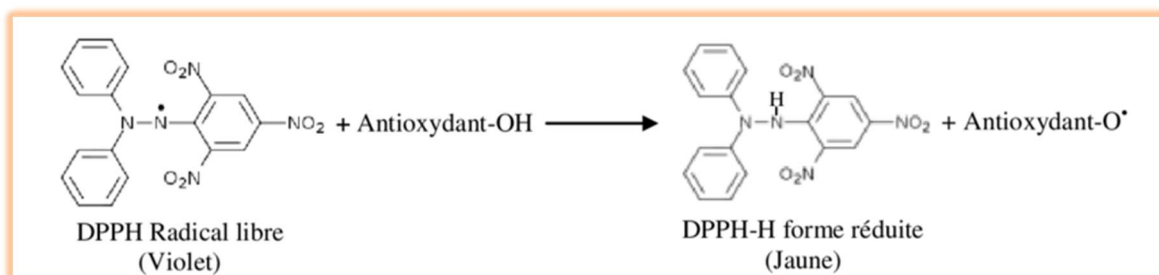


Figure 7 : Mécanisme réactionnel du test de DPPH (Boutlelis, 2014)

Mode opératoire

L'activité antioxydante de l'alginate, du polysaccharide et de l'oligosaccharides acide guluronique a été évaluée avec la méthode du DPPH suivant le protocole modifié de Elbayoumi et al, 2021.

4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol (voir annexe),

Pour préparer les échantillons, différentes concentrations ont été préparées, 0,5 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,1 mg/ml et 0,05 mg/ml. Un volume de 1 ml de chaque concentration a été mis dans un tube individuel. Ensuite, 1 ml de la solution de DPPH a été ajouté à chaque tube contenant les différentes concentrations des échantillons à tester. Les tubes sont vortexé puis placés dans un endroit à l'abri de la lumière et laissés à incuber pendant 30 minutes.

Après les 30min l'absorbance a été évaluée à une longueur d'onde 527 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Calcul du pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_c - A_s}{A_c} * 100$$

Ac : Absorbance de DPPH seul.

As : Absorbance de DPPH avec extrait.

A partir des résultats obtenus L'IC50 est calculée, elle représente la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radical libre DPPH. En outre, plus l'IC50 est faible, plus le pouvoir antioxydant est important.

2-6- Evaluation de l'activité anti acide

Principe

L'activité anti-acide repose sur la capacité des anti-acides à neutraliser l'acidité dans l'estomac. **(Riet-Nales *et al.*, 2001)**

Mode opératoire

Afin de simuler, in vitro, l'effet de neutralisation des sécrétions gastriques par l'alginate de sodium au niveau de l'estomac, on prépare un bécher contenant 20 ml d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl 0.1 M). Le pH initial de cette solution est mesuré à 1.15. Cette solution est maintenue à une température constante d'environ +/- 37°C. Ensuite, une solution d'alginate de sodium préparée à une concentration de 10 mg/ml est ajoutée en continu à la solution d'acide chlorhydrique.

L'alginate de sodium est introduit dans la solution d'acide chlorhydrique à un débit constant et régulier, afin d'observer l'effet de cette addition sur le pH de la solution. Pendant toute la durée de l'expérience, des mesures du pH de la solution sont prises à des intervalles réguliers. Ces mesures sont effectuées à l'aide du même pH-mètre utilisé pour la mesure initiale. L'enregistrement de la variation du pH au fil du temps permettra d'observer comment l'ajout continu d'alginate de sodium affecte l'acidité de la solution d'acide chlorhydrique. **(Riet-Nales *et al.*, 2001)**

2-7- Evaluation de l'activité anti reflux

Principe

Les médicaments anti-reflux agissent en réduisant l'acidité de l'estomac pour soulager les symptômes tels que les brûlures d'estomac et les régurgitations acides. Le traitement du reflux gastro-œsophagien se fait en utilisant des agents qui forment un gel protecteur sur la surface de l'estomac qui flotte au-dessus du contenu gastrique, agissant comme une barrière protectrice contre les reflux acides pour réduire l'irritation. **(Riet-Nales *et al.*, 2001)**

Mode opératoire

50 ml d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl 0,1 M) est versée dans un bécher qui est ensuite placé dans un bain-marie préchauffé à une température de 37°C, assurant ainsi des conditions de réaction contrôlées et proches de celles du corps humain. En parallèle, une solution d'alginate de sodium/bicarbonate de sodium, contenant respectivement 12,5 mg/ml et 6,7 mg/ml, est préparée. À l'aide d'une seringue de précision, 5 ml de cette solution d'alginate de sodium/bicarbonate de sodium est soigneusement déposé au centre du bécher, permettant ainsi une dispersion uniforme dans le milieu réactionnel. Une fois que la solution a été ajoutée, le bécher est laissé incuber dans le bain-marie à 37°C pendant une durée de 30 minutes. L'incubation dans le bain-marie garantit un environnement thermiquement stable et uniforme, favorisant ainsi des conditions optimales pour l'avancement de la réaction. (BP, 2007)



Figure 8: Montage expérimentale pour l'évaluation de l'activité anti reflux

CHAPITRE IV :
RESULTATS ET
DISCUSSION

1- Caractérisation de l'alginate de sodium isolé de *S. scoparium* et commercial par FT-IR

Les spectres FT-IR de l'alginate de sodium isolé de *S. scoparium* et commercial sont présentés dans les Figures 9 et 10.

Pour les deux spectres, une large bande à 3432 cm^{-1} est assignée aux vibrations de OH. Le signal faible à 2929 cm^{-1} est dû aux vibrations de CH, et la vibration asymétrique d'O-C-O est centrée à 1612 cm^{-1} . La bande à 1415 cm^{-1} peut être due à la vibration de recourbement de C-OH avec une contribution du groupe O-C-O de carboxylate (Mathlouthi et Koenig 1986; Silverstein *et al.*, 1991). Les bandes faibles du 1322 cm^{-1} au 1125 cm^{-1} et 109 cm^{-1} peuvent être assignées à la déformation de C-C-H et d'O-C-H et aux vibrations de CO des anneaux de pyranose, respectivement; la bande à 1029 cm^{-1} peut être également due à la vibration de CO. D'ailleurs, la région anomérique entre 950 et 750 cm^{-1} est la plus controversée en hydrates de carbone (Mathlouthi et Koenig 1986).

Le spectre a montré une bande à 945 cm^{-1} qui a été assigné à la vibration de CO des résidus d'acides uroniques. Plus de signaux à 900 et 815 cm^{-1} ont été assignés au α -L-gulonique et aux résidus acides mannuroniques, respectivement (Mathlouthi et Koenig 1986; Chandía *et al.*, 2001 ; Boucelkha *et al.*, 2017).

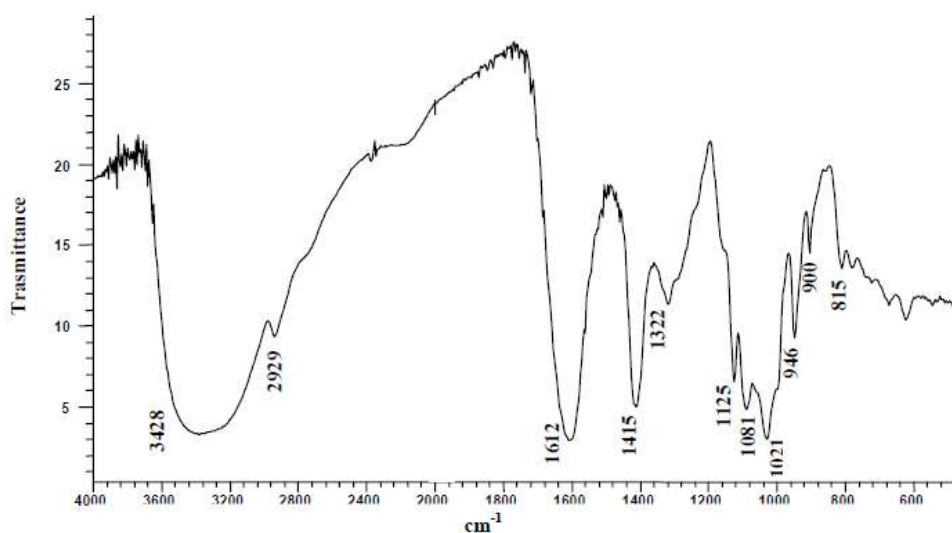


Figure 9: Spectres FT-IR du sodium alginate de l'algue brune *S. scoparium* (BOUCELKHA *et al.*, 2017)

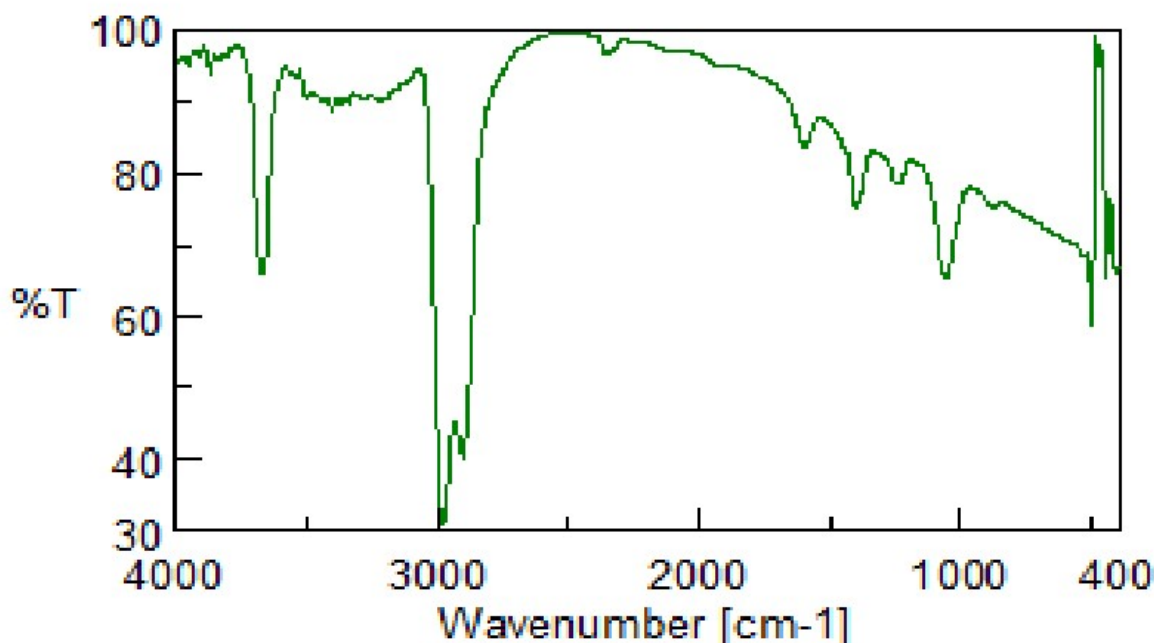


Figure 10: Spectre FT-IR de l'alginate de sodium commercial

2- Hydrolyse partielle de l'alginate de *s.scoparium*

L'hydrolyse partielle de l'alginate de *s.scoparium* a donnée trois fractions obtenues avec un rendement de récupération de 75.7 %. La première fraction, obtenue lors de la première étape d'hydrolyse avec HCl 0,3 M, était principalement composée de blocs hétéropolymériques (blocs MG). La deuxième fraction, soluble à pH 2.85, était riche en blocs d'acide polymannuronique (blocs M). La troisième fraction, insoluble à pH 2.85, était principalement composée de blocs d'acide polyguluronique (blocs G) (BOUCELKHA *et al.*, 2017).

3- L'activité anti inflammatoire *in vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA)

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (Barros *et al.*, 2008 ; Bagad *et al.*, 2011). Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons : électrostatiques, hydrogènes, hydrophobes et disulfures qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (Mizushima, 1964 ; Barros *et al.*, 2008).

En principe, les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phénylbutazone et l'indométacine n'inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (Sangeetha *et al.*, 2011).

La **Figure 11**, illustre le taux d'inhibition de la dénaturation de la BSA par l'alginate, les blocs G et les oligogulonates de l'algue *S. scoparium*, de, à des concentrations variant de 0.25 à 2mg/ml. Les résultats sont exprimé en pourcentage d'inhibition.

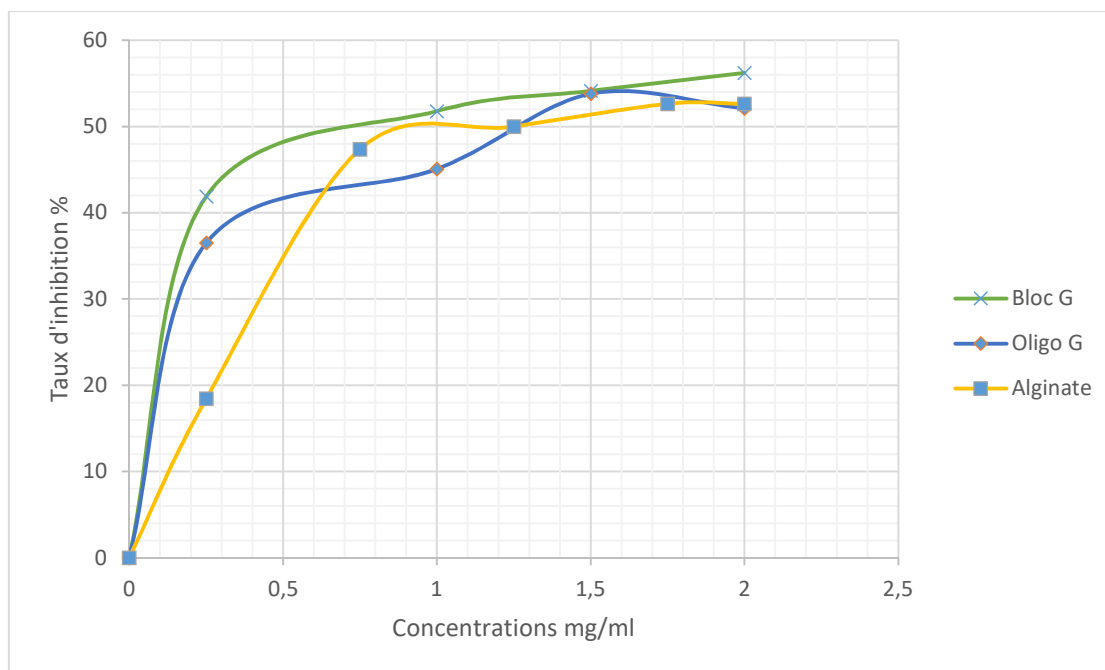


Figure 11: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines en fonction des concentrations

D'après la **Figures 11**, un taux d'inhibition important (56.22 %) est observé à 2 mg/ml, pour le polyguronate (Bloc G), 52.63% pour l'Alginate *S. Scoparium*, tandis que pour l'oligogulonate un taux de 53.79% , à est enregistré à 1.5 mg/ml. Ceci peut être expliqué par la relation entre le poids moléculaire des sucres et l'activité anti inflammatoire, de même la structure des oligosaccharides détermine leur activité ; par exemple, les oligosaccharides d'alginate générés par la dégradation oxydative sont un inhibiteur plus puissant de l'inflammation que les oligosaccharides préparés par d'autres méthodes. (Xing *et al.* 2020)

Les valeurs d'IC50 obtenues de l'alginate de *S. scoparium*, du polyguronates et de l'oligogulonate sont respectivement 1.54mg/ml, 1.24mg/ml et 1.48mg/ml ; démontrant une activité antiinflammatoire à des doses relativement faibles.

Cependant de des IC 50 plus faibles (0.032mg/ml), ont été trouvés avec le Diclofénac, un anti-inflammatoire, de référence (Galisteo, 2021).

En outre, des dérivés aromatiques de l'alginate sont utilisés pour améliorer les propriétés anti-inflammatoires de l'alginate, d'où l'IC50 est de 0.5mg/ml (Elbayoumi *et al.*, 2021).

L'alginate peut être en général utilisé comme transporteur de protéines pour les protéger de la dégradation et réduire la dénaturation, d'où son activité anti-inflammatoire. L'alginate peut former des liaisons ioniques avec les protéines, en raison de sa charge négative. Ces interactions peuvent contribuer à la stabilisation de la structure des protéines et à la prévention de leur dénaturation. (JAIN *et al.* 2007)

4- L'Activité anti oxydante : « Piégeage du radical DPPH »

Le test de piégeage du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazil (DPPH) est la méthode la plus populaire et couramment utilisée pour déterminer la capacité antioxydante ; l'électron libre de l'atome d'azote dans le DPPH est réduit pour former de l'hydrazine en recevant un atome d'hydrogène des antioxydants, cependant, le test ne démontre pas pleinement le potentiel de piégeage des radicaux dans les cellules ou les aliments, et les interférences stériques ne tiennent pas compte de toutes les synergies du test. (Gulcin *et al.*, 2023)

La Figure 12 illustre le taux d'inhibition du radical DPPH par l'alginate *S. scoparium*, des blocs G et des oligosaccharides, exprimé en fonction des concentrations allant de 0.05 à 0.5g/ml.

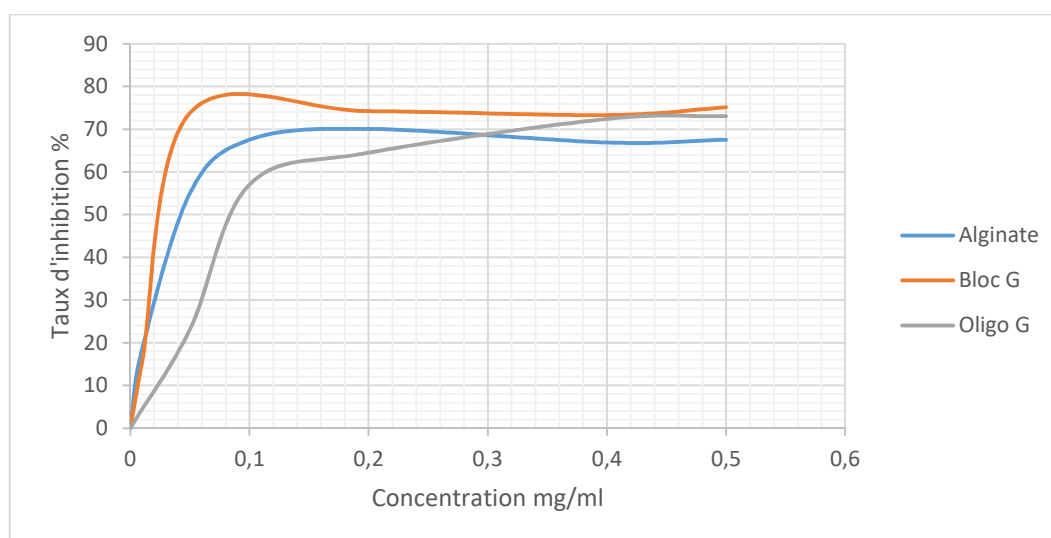


Figure 12: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations

A la lumière de la **Figures 12**, on constate que l'augmentation du taux d'inhibition des 3 extraits testés est proportionnelle à la concentration. Le taux d'inhibition maximal était enregistré par l'acide polyguluronique (Bloc G), 75.11% à 0.5mg/ml ; suivie par l'oligoguluronique, 73.07% à la même concentration. L'Alginate de *S. Scoparium* a montré un taux maximal de 70.06 % à une concentration de 0.2mg/ml. Un résultat dans les limites de celui obtenus par une étude sur les alginates extraits de l'algue brune tunisienne *Cystoseira barbata* , avec un taux d'inhibition de 74% à une concentration de 0.5mg/ml (**Sellimi et al., 2014**),

Les valeurs d'IC50 obtenues de l'alginate *S .scoparium*, de l'acide polyguluronique et de l'oligoguluronate sont respectivement 0.187mg/ml, 0.133 mg/ml et 0.216 mg/ml. Ces résultats révèlent une activité anti oxydante importante, certes, ils restent loin des antioxydants commerciaux tels que l'acide ascorbique avec un IC50 de 0.061mg/ml (**Nariya et al., 2013**) et une inhibition totale du radical DPPH, mais en prenant en considération la biocompatibilité et l'absence de toxicité de l'alginate, la prise de doses élevées ne présente aucun risque physiologique, l'alginate *S .scoparium* se montre un candidat intéressant pour l'utilisation dans les compléments alimentaires ou dans l'agroalimentaire pour ces caractéristiques antioxydantes.

5- Evaluation de l'activité anti acide

Les résultats de la variation du pH de l'acide chlohyrique en fonction du temps enregistrés par l'alginate commercial et le contrôle utilisé (NOBAC) sont présenter sur la figure ci-dessous :

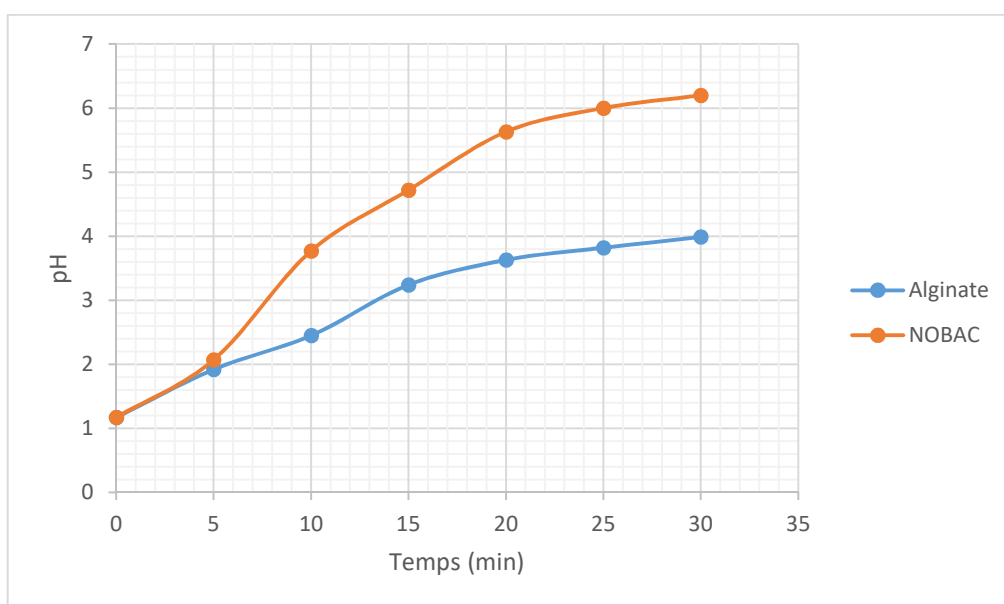


Figure 13 : Profil de neutralisation de l'acide en fonction du temps

La **figure 13**, nous montre que l'addition de 10 mg/ml du sodium alginate, induit une augmentation remarquable du pH dès les premiers volumes ajoutés ; cette augmentation continue en fonction du temps jusqu'à atteindre pH= 3.9.

D'autre part, le contrôle positif à montrer une valeur bien plus importante, un pH final de 6.2 avec une zone de croissance rapide de [5min-10min]. Cette différence est peut être due aux conditions physiologiques du test effectuer, puisque le pH gastrique n'est pas constant en raison des sécrétions continue de l'acide chlorhydrique au niveau de l'estomac, **(Riet-Nales et al, 2001)** ; d'où la nécessité de valider cette méthode par un antiacide commercial « NOBAC ». Ainsi, les résultats obtenus soutiennent le fait que l'alginate de sodium est un inhibiteur efficace des sécrétions gastrique ainsi sa capacité réguler l'acidité gastrique. Avec un effet immédiat, mais de courte durée, en cas de reproduction régulière des brûlures, les médecins peuvent prescrire d'autres médicaments inhibiteurs de la pompe à protons **(Vidal.fr, 2020)**.

6- Evaluation de l'activité anti reflux

Dans la figure 14, la formation du radeau était bien évidente et remarquable, un radeau séparant le bécher en deux phases distinctes d'une épaisseur de 1.2 cm. Un résultat positif indiquant la capacité de l'alginate de sodium couplé au bicarbonate de sodium à former un gel visqueux surnageant un acide, et partant, la capacité à apaiser les brûlures d'estomac agissant comme pansement digestif protégeant l'œsophage des remontées acides en le « tapissant d'un film protecteur » **(Vidal.fr, 2020)**.



Figure 14 : Résultat du radeau formé par l'alginate de sodium

Conclusion

Conclusion

De nos jours, de nombreuses plantes aromatiques et médicinales sont reconnues pour leurs propriétés biologiques remarquables, qui trouvent de multiples applications dans des secteurs tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt s'explique par le fait que les plantes médicinales sont une source riche et inépuisable de substances bioactives. En outre, les préoccupations croissantes concernant les effets secondaires des médicaments poussent les consommateurs à se tourner vers des traitements plus doux pour l'organisme.

Dans le présent travail, l'alginate étudié a présenté des activités biologiques remarquables. La séparation des blocs M, G et MG par hydrolyse partielle de l'alginate a permis d'obtenir un rendement de récupération de 75.7%, qui diffère en fonction de plusieurs facteurs, notamment de l'algue et de sa provenance.

L'activité antiinflammatoire de l'alginate *s.scoparium* a été évaluée in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA). Les résultats indiquent des taux d'inhibitions importants allant jusqu'à 56.22% par l'acide polyguluronique avec un IC50 de 1.24mg/ml.

L'activité antioxydante de l'alginate *s.scoparium* a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'activité antiradicalaire est élevée avec l'acide polyguluronique (Bloc G), avec un IC50 de 0.133mg/ml ; ceux de l'alginate *s.scoparium* et de l'acide oligoguluronique sont un plus élevés.

Les activités anti acide et anti reflux eux ont été effectuées par l'alginate commercial à défaut de quantités nécessaires afin de réaliser leurs protocoles expérimentaux.

Les résultats de la neutralisation in vitro de l'acide chlorhydrique ont montré un pouvoir optimal de l'alginate à inhiber l'acidité des milieux, ainsi réguler le pH.

A propos de l'activité anti reflux, un radeau d'une épaisseur considérable qui surnageant la surface de l'acide s'est formé, montrant ainsi le pouvoir de l'alginate de sodium à agir comme pansement gastrique.

A la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'enrichir cet étude en effectuant d'autres testes suivant d'autres protocoles afin de bien comprendre les mécanismes exactes responsables des différents activités. Ainsi, tous les résultats obtenus in vitro ne représentent

qu'une première étape dans la recherche. Une étude in vivo est recommandée pour obtenir une compréhension plus approfondie des activités biologiques de l'alginate.

Ces résultats peuvent servir à une base de départ ou même de motivation pour de futures exploitations de l'alginate de sodium à des secteurs plus diversifiés.

References

REFERENCES

« **About performant solutions to accelerate skin-wound healing** » 2022, 26 Septembre. In **NOVSYSTEM**. En ligne. « <https://www.novsystem.com/2022/09/26/about-performant-solutions-to-accelerate-skin-wound-healing/> » Consulté le 15/06/2024

« **Algues (fucus, laminaire, varech) – Phytothérapie** » [Internet]. VIDAL 17 septembre 2012. <https://www.vidal.fr/parapharmacie/phytotherapie-plantes/algues-fucus-laminaire-varech.html>

« **Comment soulager les brûlures d'estomac et le RGO ?** » 2020, 02 Mars. In **VIDAL**. En ligne. « <https://www.vidal.fr/maladies/estomac-intestins/brulures-estomac-rgo/traitements.html> » .Consulté le 13/05/2024

Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A. 2007. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74(4): 324-329.

Afsaps. Recommandations de bonne pratique - Les anti-sécrétoires gastriques chez l'adulte. nov 2007;

Ali Boutlelis, Djahra. (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L..

Bagad, Y. M., Umalkar, A. R., Tatiya, A. U., et Surana, S. J. (2011). Investigation of antiinflammatory and analgesic activity of *Bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res*, 4 :5, 1326-132.

Baings B. 2013. Les molécules marines pour la santé et la recherche médicale. Institut Océanographique - Fondation Albert Ier, Prince de Monaco https://www.oceano.org/wp-content/uploads/2020/02/40.Mole%CC%81cules-marines_Baings.pdf

Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., et Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food chemistry*, 111 :1, 61-66.

Boucelkha, A., Petit, E., Elboutachfai, R. et al. Production of guluronate oligosaccharide of alginate from brown algae *Stypocaulon scoparium* using an alginate lyase. *J Appl Phycol* **29**, 509–519 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0928-y>

BP. (2007). Alginate raft-forming oral suspension. In: British pharmacopoeia. London: The Stationary Office.

Chaouche, Tarik Med. (2020). activités biologiques de quelques plantes médicinales. 10.13140/RG.2.2.32719.23207.

Chandía NP, Matsuhira B, Vásquez AE (2001) Alginic acids in *Lessonia trabeculata*: characterization by formic acid hydrolysis and FT-IR spectroscopy. *Carbohydr Polym* 46:81–87

Comaposada J., Gou P., Marcos B., Arnau J. Physical Properties of Sodium Alginate Solutions and Edible Wet Calcium Alginate Coatings. *LWT—Food Sci. Technol.* 2015;**64**:212–219. doi: 10.1016/j.lwt.2015.05.043. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

D A van Riet-Nales. « An improved in vitro method for the evaluation of antacids with in vivo relevance ». 2002.

Danowski, R. (1991). Inflammation en rhumatologie. In *Annales de Kinésithérapie*, 18,233-240.

Djebri, N. & Boukhalfa, N. & Boutahala, M. (2018). Les Alginates Et Leurs Applications En Ingenierie: Application A La Construction D'un Biomateriau [Articles Scientifiques Et Publications, Université Kasdi Merbah - Ouergla].

Dumont M. Elaboration et caractérisation de fibres mixtes alginate / chitosane. [Université de Lyon] ; 2016. 191p.

Elbayomi, S.M.; Wang, H.; Tamer, T.M.; You, Y. Enhancement of Antioxidant and Hydrophobic Properties of Alginate via Aromatic Derivatization: Preparation, Characterization, and Evaluation. *Polymers* 2021, 13, 2575. <https://doi.org/10.3390/polym13152575>

fractions in three species of brown seaweeds. *Carbohydr Res*, 343, 308-316.

Galisteo A, Jannus F, García-García A, Aheget H, Rojas S, Lupiañez JA, Rodríguez-Diéguez A, Reyes-Zurita FJ, Quílez Del Moral JF. Diclofenac N-Derivatives as Therapeutic Agents with Anti-Inflammatory and Anti-Cancer Effect. *Int J Mol Sci.* 2021 May 11;**22**(10):5067. doi: 10.3390/ijms22105067. PMID: 34064702; PMCID: PMC8151993.

Gheorghita Puscaselu R, Lobiuc A, Dimian M, Covasa M., Alginate: From Food Industry to Biomedical Applications and Management of Metabolic Disorders., *Polymers (Basel)*., 2020, 20, 12, 10, 2417).

Ghosh Susmita, Saha Kalyani, Dasgupta Subir Chandra, Gomes Antony. In vitro and in vivo anti-arthritis and anti-inflammatory activity of Bungarus fasciatus venom. *Journal of toxins*. 2015

Gulcin, I.; Alwasel, S.H. DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes* 2023, 11, 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>

Gulcin, I.; Elias, R.; Gepdiremen, A.; Chea, A.; Topal, F. Antioxidant activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania rotunda*: Cepharanthine and fangchinoline. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* 2010, 25, 44–53. [CrossRef] [PubMed]

Hentati F, Tounsi L, Djomdi D, Pierre G, Delattre C, Ursu AV, et al. Bioactive Polysaccharides from Seaweeds. *Molecules*. Janv 2020;25(14):3152.

Hosseini SM, Hosseini H, Mohammadifar MA, et al. (2013). Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. *Int J Biol Macromol.* 62:582–588. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.09.054

Jain, A.; Gupta, Y.; Jain, S.K. Perspectives of biodegradable natural polysaccharides for site-specific drug delivery to the colon. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2007, 10, 86–128.

JASCO. (2004). Fourier Transform Infrared Spectrometer FT/IR- 4000 and 6000 series Operational Manual. Jasco P/N: 0302-1899A. <https://neutrons.ornl.gov/>

Kandikattu, K., Bharath Rathna Kumar, P., Venu Priya, R., Sunil Kumar, K., Ranjith Singh.B.Rathore. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1:5,729-730.

Khajouei R.A., Keramat J., Hamdami N., Ursu A.-V., Delattre C., Laroche C., Gardarin C., Lecerf D., Desbrières J., Djelveh G., et al. Extraction and Characterization of an Alginate from the Iranian Brown Seaweed *Nizimuddinia zanardini*. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018;118:1073–1081. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.154. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

Krishnanand Mishra., Himanshu Ojha., Nabo Kumar Chaudhury. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH_ assay: A critical review and results. Food Chemistry 130 p 1036–1043.

Lahaye M. Chemistry and physico-chemistry of phycocolloids. Cah Biol Mar. 1 janv 2001;42:137-57.

Larousse É. Définitions : algue - Dictionnaire de français Larousse [Internet].

<https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/algue/2242>

Le Cren F, 2004. les antioxydants, la révolution du XXIe siècle, 2eme édition.

Leal, D., Matsuhira, B., Rossi, M., Caruso, F. (2008). FT-IR spectra of alginic acid block

Lee KY, Mooney DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. Prog Polym Sci. 1 janv 2012;37(1):106-26.

Lewin MJM. La sécrétion acide de l'estomac: un mecanisme biologique peu commun. Médecine/sciences. sept 1985;(5):234-40.

Lewin M. Les inhibiteurs de la pompe à protons gastrique : mode d'action et intérêt thérapeutique. Med Sci (Paris). 1995;11(1):62.

Mackie W (1971) Semi-quantitative estimation of the composition of alginates by infra-red spectroscopy. Carbohydr Res 20:413–415

Mathlouthi M, Koenig JL (1986) Vibrational spectra of carbohydrates. Adv Carbohydr Chem Biochem 44:7–89

Miladovic, S., Ivekovic, D. et Bozidar, S.G. (2006). A novel amperometric method method for antioxydant activity determination using DPPH free radical. Bioelectrochemistry, 68 (2): 175-180.

Mizushima Y. (1964). Inhibition de la dénaturation de protéines par des agents antirhumatiques ou antiphlogistiques. Arch Int PharmacodynTher, 149,1-7

Morgane Gillard. Les effets néfastes d'un traitement au long cours par inhibiteur de la pompe à protons. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. ffdumas-04207421f

Muster, D. (2005) .Médicaments de l'inflammation. Edition Elsevier Paris. 21-29.

Nariya PB, Bhalodia NR, Shukla VJ, Acharya R, Nariya MB. In vitro evaluation of antioxidant activity of *Cordia dichotoma* (Forst f.) bark. *Ayu.* 2013 Jan;34(1):124-8. doi: 10.4103/0974-8520.115451. PMID: 24049418; PMCID: PMC3764870.

Oldham KM, Bowen PE, 1998. Oxidative stress in critical care: is antioxidant supplementation beneficial. *Journal of the American Diet Association*, 98(9): 1001-1008

Pawar, S.N. and Edgar, K.J. (2012) Alginate Derivatization: A Review of Chemistry, Properties and Applications. *Biomaterials*, 33, 3279-3305.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.007>

Pearl PL, Taylor JL, Trzcinski S, Sokohl A. The pediatric neurotransmitter disorders. *J Child Neurol.* mai 2007;22(5):606-16.

Penfield MP, Campbell AM, 1990. Fats and their lipids constituents. *Chemical reactions of lipids. Experimental food science*, 3eme Edition. San Diego: Academic Press.

Pereira L. Seaweeds as Source of Bioactive Substances and Skin Care Therapy
Cosmeceuticals, Algoteraphy, and Thalassotherapy. Cosmetics. déc 2018;5(4):68.

Petek Sylvain. Substances naturelles : des trésors cachés. In : Payri Claude (ed.), Moatti Jean-Paul (pref.). *Nouvelle-Calédonie : archipel de corail.* Marseille (FRA), Nouméa : IRD, Solaris, 2018, p. 205-210.

Pillon F. Les différents types de pansements. *Actual Pharm.* 1 mars 2016;55(554):27-9.

Pimentel FB, Alves RC, Rodrigues F, P. P. Oliveira MB. Macroalgae-Derived Ingredients for Cosmetic Industry—An Update. *Cosmetics.* mars 2018;5(1):2.

Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M, 2001. *Antioxidants in food, Practical applications.* Woodhead Publishing Limited.

Pr LALAOUI KORRICHI. (2019). STRESS OXYDANT ET TOXICITE. Departement Biologie Animale, Université Frères Mentouri –Constantine. <https://www.umc.edu.dz/>

Raven JA, Giordano M. Algae. *Curr Biol CB.* 7 juill 2014;24(13):R590-595.

Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res.* 2012;49(1):35-43. doi: 10.1159/000339613. Epub 2012 Jul 11. PMID: 22797712.

- Reviere B** de. Biologie et phylogénie des algues. Parigi: Belin; 2002. 255p.
- Roland J-C, El-Maarouf Bouteau H, Bouteau F.** Atlas biologie végétale. Paris: Dunod; 2008. 152p.
- S. Sellimi, I. Younes, H.B. Ayed, H. Maalej, V. Montero, M. Rinaudo, M. Dahia, T. Mechichi, M. Hajji, M. Nasri,** Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed, International Journal of Biological Macromolecules (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.016>
- Sangeetha, M, Kousalya, K, Lavanya R, Cherukuru, S Chamundeeswari, D, UmaMaheswara, R. (2011).** In-vitro Anti-inflammatory and Anti-Arthritic Activity of Leaves of CleodendronInerme. RJPBCS 2:1,822-827.
- Sene, Madieye & Ndiaye, Mamadou & Barboza, Firmin & Sene, Mbaye & Diatta, William & Sarr, Abdou & Ndiaye-Sy, Awa & Dieye, Amadou & Sy, Guata. (2017).** Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de Elaeis guineensis Jacq. (ARECACEAE) sur l'oedème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 10. 2568. 10.4314/ijbcs.v10i6.13.
- Silverstein RM, Clayton Bassier G, Morrill TC (1991)** Spectrometric identification of organic compounds. Wiley, New York
- Société nationale française de gastro-entérologie (SNFGE).** Reflux gastro-œsophagien (RGO). Conseil de pratique. Site internet : SNFGE. Paris ; 2018 [consulté le 11 juillet 2022])
- Thomas DESMIER,** "LES ANTIOXYDANTS DE NOS JOURS : DEFINITION ET APPLICATIONS", THÈSE DE DOCTORAT EN PHARMACIE, Limoges, Université de Limoges, 2016.
- Trabsa, H. (2015).** Activité antioxydantes et anti-inflammatoire des fractions des plantes :sedum sediforme et lyciumarabicum .Thèse de doctorat en sciences Spécialité : Biochimie. Université ferhet abbas sétif 1.19
- Vaithilingam V., Kollarikova G., Qi M., Lacik I., Oberholzer J., Guillemin G. J., et al.. (2011).** Effect of prolonged gelling time on the intrinsic properties of barium alginate microcapsules and its biocompatibility. J. Microencapsul. 28, 499–507. 10.3109/02652048.2011.586067 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar] [Ref list])

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 10 mars 2006;160(1):1-40.

Vaubourdolle M, Porquet D. Médicaments. Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer; 2013.

Wagle SR, Kovacevic B, Walker D, Ionescu CM, Shah U, Stojanovic G, et al. Alginate based drug oral targeting using bio-micro/nano encapsulation technologies. *Expert Opin Drug Deliv.* oct 2020;17(10):1361-76.

Xing M, Cao Q, Wang Y, Xiao H, Zhao J, Zhang Q, Ji A, Song S. Advances in Research on the Bioactivity of Alginate Oligosaccharides. *Mar Drugs.* 2020 Feb 28;18(3):144. doi: 10.3390/md18030144. PMID: 32121067; PMCID: PMC7142810.

Annexe

Annexe 1 : Préparation des solutions

1) Préparation du DPPH

4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol, couvrir la fiole avec du papier aluminium et laisser agiter jusqu'à dissolution complète.

Ainsi, 10ml DPPH dans 15ml de mélange eau/ éthanol (50/50, v/v).

2) Tampon phosphate saline (PBS) pH 6.4

400ml d'eau distillée, on y ajoute 4g de NaCl, 0.72g Na₂HPO₄, 0.1g KCl et 0.12g de KH₂PO₄. On ajuste le pH à 6,4 avec du HCl 0.1M et puis on ajoute l'eau distillée jusqu'à atteindre les 500ml.

3) BSA 0.5% : Peser 500mg d'Albumine sérum bovine et la faire diluer dans 100ml de tampon phosphate saline (PBS) (pH=6.4).