

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA 1

Faculté des sciences
Département de Chimie

THÈSE DE DOCTORAT

Chimie

Spécialité : Chimie des Substances Naturelles et de Biomolécules

ETUDE CHIMIQUE ET VALORISATION DE L'ACTIVITE
ANTIMICROBIENNE DES FRACTIONS VOLATILES EXTRAITES
D'ALGUES MARINES - APPROCHE METABOLOMIQUE

RIAD Nacéra

Devant le jury composé de :

H. BOUTOUMI	Professeur	Université Saad Dahlab Blida 1	Président
A. ROUIBI	Professeur	Université Saad Dahlab Blida 1	Examineur
S. AKKAL	Professeur	Université Constantine 1	Examineur
K. ARAB	Professeur	Université de Boumerdes	Examineur
M. EL HATTAB	Professeur	Université Saad Dahlab Blida 1	Directeur de thèse
M.R. ZAHI	MCB	Université Saad Dahlab Blida 1	Codirecteur de thèse

Blida, 2021

ملخص

الدراسة الكيميائية وتقييم نشاط مضادات الميكروبات للأجزاء المتبخرة المستخرجة من الطحالب البحرية- نهج الايض

تتكون الدراسة الحالية من ثلاثة أجزاء تجريبية. يتعلق الجزء الأول بالدراسة الكيميائية وتحديد النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية والكسور المتبخرة لنوعين من الطحالب البنية ، وهما على التوالي ديكتيوتيريس مومبرناسيا و دكتيوتا ديكتوتا ، تم تحضير الزيوت الأساسية و الكسور المتبخرة من الطحالب البحرية (الجافة و الطازجة) و المستخلص الخام. تم اخضاع الزيوت التي تم الحصول عليها للتحليل الكيميائي بواسطة الكروماتوغرافية الغازية المزودة مع مطيافية الكتلة من اجل تحديد محتوى المكونات في الزيتين. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في التركيب الكيميائي للطحلب ديكتيوتيريس مومبرناسيا وجود الهيدروكربونات ذات 11 ذرة كربون، سيسكيتاربين وبصفة خاصة مركبات الكبريت، بينما يتميز التركيب الكيميائي للطحلب دكتيوتا ديكتوتا بهيمنة مركبات السسكيتربين كما لوحظ وجود ديترينين.

تم تحديد النشاط المثبط للمكروبات عن طريق اختبار ستة سلالات نصفها كانت ذات جرام موجب والنصف الاخر كانت ذات جرام سالب، تم تقييم قوة مضادات الميكروبات عن طريق تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط لكل سلالة . كانت زيوت الطحلب ديكتيوتيريس مومبرناسيا نشطة للغاية بشكل خاص ضد ستافيلوكوكيس اوريس و اقروبيكتريوم تمفسيان بينما اظهرت زيوت الطحلب دكتيوتا ديكتوتا نشاطاً قوياً ضد كل من السلالات ايشريشيا كولي ستافيلوكوكيس اوريس ميكروكوكيس ليتوس و انتيروكوكيس فياسيوم.

يتناول الجزء الثاني دراسة تأثير اضافة الفاعل بالسطح إلى مياه التقطير المائي على المردود والتركيب الكيميائي للزيت المستخلص. تم اضافة التريتون -X100 – بتركيز متزايدة في عملية استخلاص الزيوت عن طريق التقطير المائي للطحلب ديكتيوتيريس مومبرناسيا. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح بان الزيادة في المردود متعلقة بزيادة تركيز التريتون متبوعة بثبات واخيرا انخفاض.

الجزء الثالث مخصص لدراسة تأثير التغيرات الموسمية على التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية للطحلب ديكتيوتيريس مومبرناسيا، حيث تم اعتماد نهج غير شامل في التحليل الكيميائي. تمت معالجة النتائج التي تم الحصول عليها من خلال تحليل المكونات الرئيسية ، وتم الحصول على نتائج بيئية مثيرة للاهتمام للغاية.

الكلمات المفتاحية : الطحلب البني ، CG/SM ، نشاط مضاد للمكروبات ، ACP ، التوتر السطحي.

ABSTRACT

Chemical study and evaluation of the antimicrobial activity of volatile fractions extracted from brown algae - metabolomic approach

The present study consist of three experimental parts. The first concerne chemical study and the determination of antimicrobial activity of essential oils (EO) and volatiles fractions (VF) of two species of brown algae, namely *Dictyopteris polypodioides* and *Dictyota dichotoma*.

EO and VF were prepared from the seaweed (dry and fresh) and the crude extract. The obtained oils were subjected to chemical analysis by GC / MS to identify the chemical composition and by GC/FID to determine the content of the constituents in the two oils. The results obtained showed the presence in the chemical composition of *D. polypodioides* of C11 hydrocarbons, sesquiterpenes and in particular sulfur compound. However, the chemical composition of *D. dichotoma* is particularly dominated by sesquiterpenes. The presence of diterpenes was also noted.

Six strains were tested for antimicrobial activity, half of them were gram positive and half were gram negative. The antimicrobial power was evaluated by determining the minimum inhibitory concentration for each strain. The oils of *D. Polypodioides* were particularly very active against *Staphylococcus aureus* and *Agrobacterium tumefaciens* with MIC of 1519µg/ml, nevertheless those of *D. dichotoma* showed strong activity against *Agrobacterium tumefaciens* and *Micrococcus luteus* with an MIC of 6075µg/ml.

The second part treated the study of the influence on the yield and the chemical composition of the addition of a surfactant with different concentration (0% to 20%) to hydrodistillation water. Thus, triton X-100 was added at increasing levels for different hydrodistillation of *D. polypodioides*. The results obtained show clearly the increase in yield as a function of the content of Triton followed by a reduction at constant yield and finally a drop in yield.

The third part is reserved for the study of the influence of the monthly variation on the chemical composition of the EO of *D. polypodioides*. An untargeted metabolomics approach has been adopted in chemical analysis. The results obtained were processed by principal component analysis, very interesting ecological conclusions were obtained.

Keywords : Brown alga, GC/MS, Antimicrobial activity, ACP, Surfactants.

RESUME

La présente étude comprend trois parties expérimentales, la première partie concerne l'étude chimique et la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (HEs) et des fractions volatiles (FVs) de deux espèces d'algues brunes à savoir *Dictyopteris polypodioides* et *Dictyota dichotoma*. Des HEs et des FVs ont été, respectivement, préparées à partir des algues (sèches et fraîches) et l'extrait brut. Les huiles obtenues ont été soumises à une analyse chimique par CG/SM pour identifier la composition chimique et par CG/DIF pour déterminer la teneur des constituants dans les deux huiles. Les résultats obtenus ont montré la présence dans la composition chimique de *D. polypodioides* des hydrocarbures en C11, des sesquiterpènes et notamment des composés soufrés. Cependant, la composition chimique de *D. dichotoma* est notamment dominée par les sesquiterpènes. Il a été noté la présence également de diterpènes.

La détermination de l'activité antimicrobienne a été testée vis-à-vis de six souches dont la moitié sont à gram positif et l'autre à gram négatif. Le pouvoir antimicrobien a été évalué à travers la détermination de concentration minimale inhibitrice pour chaque souche. Les huiles de *D. Polypodioides* ont été notamment très actives vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Agrobacterium tumefaciens* avec une CMI de l'ordre de 1519 µg/ml, néanmoins celles de *D. dichotoma* ont montré une forte activité vis-à-vis *Agrobacterium tumefaciens* et *Micrococcus luteus* avec une CMI de 6075 µg/ml.

La seconde partie a trait l'étude de l'influence sur le rendement et la composition chimique de l'addition d'un tensio-actif à l'eau d'hydrodistillation. Ainsi, le triton X-100 a été ajouté à des teneurs croissantes de [0% à 20%] pour différentes hydrodistillation de *D. polypodioides*. Les résultats obtenus montrent clairement l'augmentation du rendement en fonction de la teneur du Triton suivi d'un pallier à rendement constant et enfin une chute du rendement. La troisième partie est réservée à l'étude de l'influence de la variation mensuelle sur la composition chimique d'HE de *D. polypodioides*. Une approche métabolomique non ciblée a été adoptée dans le l'analyse chimique. Les résultats obtenus ont été traités par analyse en composante principale, des conclusions très intéressantes sur le plan écologique ont été obtenues.

Mots clés : Algue brune, CG/SM, Ativité antimicrobienne, ACP, surfactants.

REMERCIEMENTS

Avant tout, Je me dois de remercier Allah, le tout puissant, pour m'avoir donné la volonté, le courage, la patience et la force pour achever ce travail.

Je profite de l'occasion qui m'est ainsi offerte pour exprimer mes sincères remerciements et toute ma gratitude à Monsieur le Professeur M. El Hattab, directeur de cette thèse pour m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé et conseillé, m'avoir insufflé le désir et la passion de la recherche, Je lui suis également reconnaissant pour le temps conséquent qu'il m'a accordé, ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise et sa sympathie. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse ma gratitude pour tout cela, qu'il trouve dans ces mots l'expression de mes vifs remerciements.

Je tiens à remercier Dr M.R Zahi, maître de conférence, en tant que Co-directeur de thèse pour les conseils qu'il m'a prodigué et pour sa grande disponibilité. Son aide a été d'un apport considérable pour la finalisation de la thèse.

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à Monsieur le président ainsi qu'à Messieurs les membres de Jury :

Monsieur H. BOUTOUMI, Professeur à l'Université SAAD DAHLAB de Blida 1

Monsieur A. ROUIBI, Professeur à l'Université SAAD DAHLAB de Blida 1

Monsieur S. AKKAL, Professeur à l'Université Constantine 1

Monsieur K. ARAB, Professeur à l'Université Boumerdes

Qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

Qu'il me soit permis également, de remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont aidé de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.

Je ne pourrais jamais remercier autant Pr Y. Daghbouche et Dr N. Bouzidi, pour leurs qualités humaines et scientifiques. Leurs prises de positions en ce qui me concerne restent gravées dans ma mémoire à vie. Je ne pourrais jamais oublier leur assistance scientifique et

administrative, à travers le CFD, leur soutien moral qui a été un atout majeur dans la finalisation de cette thèse. A travers ce message, je leur exprime mes sincères et chaleureux remerciements, ma haute considération, ma gratitude et mes sentiments les plus dévoués.

Je tiens à adresser mes plus profonds remerciements à Monsieur le doyen de la Faculté de science, Pr Khelifi, et à travers lui tous les services de la faculté en particulier le département de chimie, pour son aide précieuse et ses positions honnêtes et courageuses.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au professeur L. Mondello pour avoir accepté de me recevoir au niveau de son laboratoire à l'Université de Messine en Italie. Je remercie Dr E. Trovato pour m'avoir encadré durant les séjours scientifiques effectués au niveau du laboratoire.

Je remercie également Dr F/Z Messabaih pour sa contribution dans la réalisation de l'activité antimicrobienne au niveau du CNRDPA.

Mes remerciements vont également à l'ensemble du personnel de recherche et technique du laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et de Biomolécules dans lesquels ce travail a été réalisé, pour leur sympathie et leur aide.

A mes chers parents, qui m'ont tout donné sans rien en retour, qui ont toujours cru en moi, Je vous aime énormément.

A mes frères et mes sœurs.

TABLE DES MATIERES

RUSUME	
REMERCIEMENTS	
TABLES DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATION, GRAPHIQUES ET TABLEAU	
INTRODUCTION	1
1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	5
1.1. Généralité sur les algues	5
1.2. Contexte historique de la chimie des produits naturels	8
1.3. Composés organique volatiles des algues brunes (Phéophycées)	17
1.4. Etude systématique et chimique de <i>Dictyota Dichotoma</i>	31
2. ETUDE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES ET FRACTIONS VOLATILE DE <i>DICTYOPTERIS POLYPODIOIDES</i> ET DE <i>DICTYOTA DICHOTOMA</i>	45
2.1. Méthodologie expérimentale	47
2.2. Résultats et discussion	58
3. ETUDE DE LA VARIATION MENSUELLE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES ET DES FRACTIONS VOLATILES DE <i>DICTYOPTERIS POLYPODIOIDES</i> : APPROCHE METABOLOMIQUE	86
3.1. Extraction des huiles essentielles et des fractions volatiles	87
3.2. Analyse des huiles essentielles et fractions volatiles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)	87
3.3. Résultat et discussion	87
4. ETUDE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE <i>DICTYOPTERIS POLYPODIOIDES</i> PAR HYDRODISTILLATION ASSISTEE AUX SURFACTANT	97
4.1. Extraction et analyse des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation classique et par hydrodistillation assistée au tensioactif	98
4.2. Résultats et discussion	99
CONCLUION	104
APPENDICES	109
Appendice A	109
Appendice B	119
REFERENCES	123

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUE ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Monoterpènes acyclique commun des algues	13
Figure 1.2	Monoterpènes monocyclique et bicycliques des algues	13
Figure 1.3	Sesquiterpènes communs décrits dans les huiles essentielles d'algues marines	15
Figure 1.4	Sesquiterpènes halogénés des algues rouges du genre <i>Laurencia</i>	16
Figure 1.5	Biosynthèse des hydrocarbures en C11 dans <i>Senecio isatideus</i>	20
Figure 1.6	Polyènes odorants en C-11 des espèces Hawaïennes du genre <i>Dictyopteris</i>	22
Figure 1.7	Dihydrotropones des espèces hawaïennes (<i>D. plagiogramma</i> et <i>D. australis</i>)	23
Figure 1.8	Produit soufrés identifiés dans le genre <i>Dictyopteris</i>	24
Figure 1.9	Sesquiterpènes et mérosesquiterpènes de <i>D. divaricata</i> et <i>D. undulata</i>	26
Figure 1.10	<i>Dictyopteris polypodioides</i> (<i>D.p</i>) (A.P. De Candolle) J.V.Lamouroux	28
Figure 1.11	<i>Dictyota dichotoma</i> (<i>D.d</i>) (Hudson) Lamouroux	32
Figure 1.12	Groupes de diterpènes du genre <i>Dictyota</i>	34
Figure 1.13	Exemples de diterpènes du groupe 1	35
Figure 1.14	Exemples de diterpènes appartenant au groupe II	36
Figure 1.15	Exemples de diterpènes du groupe 3	37
Figure 1.16	Sesquiterpènes cycliques de <i>D. dichotoma</i>	38
Figure 1.17	Approches et techniques analytiques employées en métabolomique	40
Figure 2.1	Photos personnelles des deux espèces d'algues A : <i>Dictyopteris polypodioides</i> B : <i>Dictyota dichotoma</i>	47
Figure 2.2	Montage d'extraction de l'huile essentielle par Hydrodistillation	49
Figure 2.3	Préparation de la fraction volatile à l'aide du montage Dean Starck modifié	50
Figure 2.4	Montage de Dean-Stark modifié	50

Figure 2.5	Préparation de l'inoculum	54
Figure 2.6	Représentation graphique de la méthode de microdilution en milieu liquide	55
Figure 2.7	Représentation de la méthode de diffusion sur disque	56
Figure 2.8	Teneur des différentes classes chimiques dans la fraction volatile et l'huile essentielle	64
Figure 2.9	Voie de biosynthèse des différentes classes chimiques dans le genre <i>Dictyopteris</i> comme rapporté dans la littérature et des autres voies proposées (PP)	66
Figure 2.10	Voie de dégradation des disulfures marins en composés soufrés et en hydrocarbures en C 11 oxygénés	67
Figure 2.11	Voie de dégradation proposée des composés disulfures en méthane sulfinothioate de méthyle	67
Figure 2.12	Protocole opératoire des différentes étapes du travail	71
Figure 2.13	Biosynthèse des squelettes de sesquiterpènes présents dans la composition chimique	78
Figure 2.14	Mécanisme de fragmentation de sesquiterpène oxygéné	79
Figure 3.1	Variation de la teneur des différentes classes chimiques en fonction de la période de récolte de l'huile essentielle	90
Figure 3.2	Matrice de corrélation des constituants des différentes familles chimiques de l'huile essentielle	91
Figure 3.3	Plan 2D des constituants des différentes familles chimiques de l'huile	92
Figure 3.4	Variation de la teneur des différentes classes chimiques en fonction de la période de récolte de la fraction volatile	93
Figure 3.5	Matrice de corrélation des constituants des différentes familles chimiques de la fraction volatile	94
Figure 3.6	Plan 2D des constituants des différentes familles chimiques de la fraction	95
Figure 4.1	Structure de triton X-100	98
Figure 4.2	Rendement de l'huile essentielle obtenue en fonction de la teneur du Triton X-100	100
Figure 4.3	Influence du triton X-100 sur l'extraction des familles chimiques présentes dans HE	103

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	les sesquiterpènes les plus courants des macroalgues	14
Tableau 1.2	Phéromones en C8 et C11 isolés à partir des algues brunes	18
Tableau 2.1	Souches bactériennes utilisées	56
Tableau 2.2	Propriétés organoleptiques de l'extrait de <i>D. polypodioides</i>	59
Tableau 2.3	Propriétés organoleptiques de la FV et de l'HE de <i>D. polypodioides</i>	60
Tableau 2.4	Composition chimique de la fraction volatile et l'huile essentielle de <i>D. polypodioides</i>	60
Tableau 2.5	Répartition des composés par classe chimique	63
Tableau 2.6	Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'HE et FV de <i>D. polypodioides</i>	69
Tableau 2.7	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de <i>D. dichotoma</i> fraîche et sèche	72
Tableau 2.8	Composition chimique de l'huile essentielle de l'algue sèche	73
Tableau 2.9	Composition chimique de l'huile essentielle de l'algue fraîche identifiée par CG/SM	74
Tableau 2.10	Composition chimique de l'algue par MEPS couplé aux CG/SM	81
Tableau 2.11	Diamètres des zones d'inhibition obtenu pour les différents microorganismes testés	83
Tableau 2.12	Les concentrations minimales inhibitrices d'huile essentielle de <i>Dictyota dichotoma</i>	84
Tableau 3.1	Rendements en huiles essentielles et fractions volatiles en fonction de la période de récolte	87
Tableau 3.2	Composition des différentes familles chimiques	88
Tableau 4.1	Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>D. polypodioides</i>	99
Tableau 4.2	Rendement de l'huile essentielle obtenu à partir de différentes concentrations de Triton X-100	99
Tableau 4.3	Variation de la composition chimique en fonction des concentrations du tensioactif	103

LISTE DES ABBREVIATIONS

HE :	Huile essentielle
FV :	Fraction volatile
HEs :	Huiles essentielles
FVs :	Fractions volatiles
COV :	Composés Organiques Volatiles
CG/SM :	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
APCI :	Ionisation Chimique à Pression Atmosphérique
MALDI :	Désorption /Ionisation Laser Assisté par Matrice
<i>D. membranacea:</i>	<i>Dictyopteris membranacea</i>
<i>D. polypodioides:</i>	<i>Dictyopteris polypodioides</i>
TOF :	Temps de vol (Time Of Flight)
QTOF :	Quadripôle-temps de vol
LC/ESI/QQQ :	Chromatographie Liquide- Ionisation électrospray triple Quadripôle
LC/ESI/QTOF :	Chromatographie Liquide- Ionisation électrospray- Quadripôle-temps de vol
UPLC :	Chromatographie Liquide Ultrapperformante
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
FET	Fraction espace de tête

INTRODUCTION

Les huiles essentielles (HEs) des plantes terrestres sont connues depuis la plus haute antiquité avec la conception des premiers alambics il y a de cela plus de 3500 ans. Elles ont été appliquées dans différents domaines, notamment en aromathérapie, elles constituent une source importante de matières premières pour les industries pharmaceutique, alimentaire, cosmétique et de la parfumerie [1]. Les HEs jouent un rôle important dans les interactions allélopathiques des plantes. Elles sont impliquées dans les processus de défense et de signalisation [2] et dans l'attraction des insectes pollinisateurs [3]. La composition chimique des HEs est principalement composée de terpènes dérivés des voies du mévalonate et du méthylérythritol [4]. Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont généralement les principaux groupes de composés identifiés dans plusieurs HEs [5]. De plus, certaines huiles contiennent d'autres classes chimiques, telles que les phénols (dérivés de la voie de l'acide shikimique), les acides gras saturés et insaturés, agissant comme précurseurs biosynthétiques, les alcanes plus rarement et les dérivés azotés et soufrés.

La chimie des produits naturels marins est beaucoup plus récente, le monde marin couvre près de 72% de la surface de la planète et représente plus de 90% du volume habitable pour le monde vivant. On assiste depuis les années cinquante du dernier siècle à un développement fulgurant avec l'isolement et la caractérisation de plusieurs métabolites secondaires.

A ce jour environ 283000 métabolites ont été isolés et leurs structures élucidées dont 29000 sont issus du milieu marin [6]. L'intérêt grandissant accordé au milieu marin est lié à la grande biodiversité et à la chimiodiversité de l'environnement marin par rapport au terrestre. Les substances naturelles isolées des algues se caractérisent souvent par la présence de squelettes chimiques et/ou de nouvelles structures, rarement observées, voire inconnues au milieu terrestre, dont beaucoup d'entre elles sont dotées d'une activité biologique intéressante [7].

Parmi les organismes marins, une attention toute particulière est portée sur les algues qui occupent une place très importante dans le milieu marin avec plus de 160000 espèces en 2021 apparentes à tous les niveaux évolutifs [8,9]. Cependant, les algues brunes, renfermant 285 genres et approximativement 1800 espèces connues par leur distribution mondiale [10-11]. Ces algues se sont révélées être une source extrêmement riche en

métabolites secondaires, ayant exhibés une myriade d'activités biologiques (activité antioxydant, antimicrobienne, antifouling, et cytotoxique...etc) [12]. Néanmoins, l'activité antimicrobienne demeure celle ayant fait l'objet d'un nombre impressionnant de travaux de recherche chez ces algues mais également chez les autres espèces d'algues. L'étude chimique des HEs des algues marines est très récente. Les premiers travaux sur les produits volatils d'algues étaient l'œuvre de Katayama et remontent aux années 1960 [13-15]. Vers la fin des années 1970, Moore [16,17] et d'autres chercheurs se sont à nouveau penchés sur la question des produits volatils d'origine marine. Depuis les années 1980, les notes parfumées d'origine marine suscite un intérêt de plus en plus grandissant chez les parfumeurs, des espèces du genre *Dictyopteris* et *Dictyota* constituent l'exemple édifiant dans ce cadre.

La composition chimique des HEs et des FVs des macroalgues renferme des composés habituellement rencontrés dans les HEs terrestres. Il s'agit notamment des hydrocarbures simples et oxygénés, des terpènes et des acides gras. Cependant, elles contiennent des composés spécifiques tels que des produits halogénés, des hydrocarbures en C₁₁, des composés soufrés et des terpènes halogénés. Les composés spécifiques jouent un rôle très important dans l'écologie chimique ; ils sont impliqués directement dans les mécanismes de défense et/ou de communication chimique. Il faut bien le souligner, contrairement aux espèces terrestres, les algues marines odorantes sont rares. Les espèces marines du genre *Dictyopteris* et *Dictyota* font partie de cette catégorie exceptionnelle et rare des algues odorantes [18], elles sont bien connues par leur odeur marine caractéristique que l'on retrouve souvent dans l'air autour du littoral [17,19]. L'odeur caractéristique de l'océan est due, en particulier, à une fraction d'hydrocarbures acycliques et cycliques non isoprénoïdes en C₁₁ agissant comme des phéromones jouant un rôle important dans la communication chimique [20], ce sont les composés les plus abondant dans les algues brunes du genre *Dictyopteris* [21]. L'ambiance marine est également caractérisée par l'odeur « sulfurée » qui ne provient pas seulement du sulfure de diméthyle isolé en quantité relativement importante à partir de certaines espèces, mais aussi de lipides soufrés, de composés halogénés. La note marine c'est aussi l'apport des sesquiterpènes halogénés et non halogénés dotés d'une odeur caractéristique avec un seuil de perception appréciable. L'espèce *Dictyopteris polypodioides*, connue sous le nom de *D. membranacea*, a été signalée dans divers sites du monde [22]. Bien que cette espèce soit largement répartie, les principales études chimiques et biologiques ont été réalisées avec celles récoltées au large de la mer Méditerranée (France, Algérie, Grèce, Égypte) [23].

Les algues brunes du genre *Dictyota* sont très répandues dans le monde entier et sont communes le long des côtes de la mer Méditerranée. Elles ont fait l'objet de plusieurs études chimiques, ce sont des espèces caractérisées par leur capacité à garder leur surface relativement exempte d'encrassement biologique, liés certainement à leur production d'un large éventail de composés bioactifs, notamment les diterpènes. Ces derniers offrent un large spectre d'activités biologiques, notamment le pouvoir anti inflammatoire, anti microbien, anticancéreux, anti viral et antifongique [12]. Il y a lieu de noter l'apport considérable de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) dans la séparation et la caractérisation de la composition des HEs. La conception d'une grande variété de colonnes capillaires très performantes a contribué grandement dans la séparation des mélanges complexes rencontrés dans les HEs. D'autre part, le développement d'une panoplie d'analyseurs au niveau du détecteur de masse (quadripolaire, piège d'ions, temps de vol,..) associé à la mise en place de l'analyse en tandem (MS/MS) avec la combinaison de plusieurs analyseurs a permis de fournir à l'opérateur des données structurales extrêmement riches en informations. Le développement de banques de données de plus en plus riche (contenant des centaines de milliers de spectre de masse) intégrées au logiciel de pilotage de l'analyse CG/SM a été un atout considérable dans l'identification de la composition chimique. Enfin, il est judicieux de préciser l'apport de l'approche métabolomique dans l'analyse de la composition chimique. Notre travail s'intègre à cette large thématique et porte sur l'étude chimique et la détermination de l'activité antimicrobienne des FVs et HEs obtenues à partir de deux algues brunes méditerranéennes, *Dictyopteris polypodioides* (*D. polypodioides*) et *Dictyota Dichotoma* (*D. Dichotoma*).

Le présent manuscrit regroupe quatre parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique portant notamment sur les métabolites secondaires des algues brunes *D. polypodioides* et *D. dichotoma*.
- La seconde partie est réservée à l'étude chimique et la détermination de l'activité antimicrobienne des deux espèces d'algue *D. polypodioides* et *D. dichotoma*.
- La troisième partie porte sur le développement de procédés d'extraction assisté aux tensioactifs et appliqués à l'espèce *D. polypodioides*.

- La quatrième partie concerne une analyse métabolomique de la composition chimique de l'espèce *D. polypodioides* récoltée à différentes périodes.

Nous terminons par une conclusion générale et des perspectives au présent travail.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralité sur les algues

Les algues constituent un groupe de végétaux photosynthétiques très variés et dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé «thalle». Ce dernier renferme une structure à sa base (rhizoïdes, crampons, disques...) permettant l'ancrage de l'algue sur un support, qui pourrait être : une roche (algues épilithes), une plante (algues épiphytes), un animal (algues épibiontes) ou parfois même le sable. Le thalle exhibe une grande variété de formes pouvant être de lames simples ou des structures plus complexes ayant un relief rappelant des tubes, des tiges et des feuilles ou encore des boules remplies d'eau. La texture est également très diversifiée : certaines espèces d'algues sont gélifiées, voire de texture cartilagineuse ou spongieuse. Les caractéristiques morphologiques liées au nombre et le type de ramification (insertion, disposition par rapport à l'axe principal) jouent un rôle très important dans l'identification des algues [24]. Enfin, certaines algues possèdent un thalle très rigide, liés à l'agglomération du carbonate de calcium ou aragonite, dans les parois de leurs cellules. Certaines algues rouges présentent une texture entièrement calcifiée formant ainsi des croûtes aussi rigides que les rochers qui leur sert de support [25].

En termes de structure, les cellules des algues (plantes inférieures) ressemblent à celles des plantes supérieures. Elles renferment une paroi cellulaire en partie cellulosique, des petits noyaux et des plastes pigmentés ou chromatophores renfermant de la chlorophylle fréquemment dissimulée par des pigments surnuméraires qui donnent aux thalles des couleurs [25]. Les algues ont des formes et des dimensions très variables, certaines de taille microscopiques, appelées microalgues, d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, appelées macroalgues. Toutefois, les deux classes d'algues ont des caractères communs. Les algues sont principalement aquatiques, elles se retrouvent le plus souvent dans les eaux marines mais également dans les eaux douces, certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes.

D'autres espèces ont la capacité de survivre dans les eaux des sources thermales à des températures élevées (algues thermophiles). Elles regroupent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal [26].

1.1 Systématique et taxonomie des algues

La systématique des algues est l'œuvre du botaniste français Pitton de Tournefort (1656-1708) [27] qui a regroupé les espèces en genres, s'ensuit les travaux du naturaliste suédois Carl Von Linné (1707-1778), considéré comme étant le fondateur de la systématique (et/ou taxonomie), qui a classé les organismes en groupes de plus en plus larges : espèces, genres, familles, ordres, classes, embranchements (ou phylums) et règnes. Selon Feldmann et Chadeaud [28, 29], les algues sont classées en six embranchements différenciés par des critères biochimiques (la nature des pigments, la nature et la situation des réserves glucidiques) et cytologiques (organisation cellulaire, présence et /ou absence, le nombre et la disposition des flagelles).

En termes de composition pigmentaire, trois grands ensembles peuvent être distingués et sont à dominance : phycoérythrine, Xanthophylles et Chlorophylles. Les matières de réserves appartiennent principalement au groupe des glucides, il s'agit notamment de l'amidon, le rhodamylon ou amidon floridéen, le paramylon et le mannitol. Concernant le caractère cytologique, le nombre et la forme des chloroplastes sont assez différents et peuvent servir de critères permettant de caractériser certains groupes. Nous allons présenter dans ce qui suit les six embranchements avec les principales caractéristiques pour chacune d'elles :

- *Pyrrophytophyta* : Algues unicellulaires marines ou d'eau douce. Les principaux pigments sont la chlorophylle a et c à côté des caroténoïdes. L'amidon représente la principale réserve glucidique. Elles renferment deux à trois flagelles latéraux inégaux.
- *Euglenophycophyta* : Algues unicellulaires des eaux douces riches en matières organiques, renfermant de la chlorophylle a, b et les caroténoïdes en tant que pigments et le paramylon en tant que matière de réserve. En termes de flagelles, elles disposent de 1 à 3 apicaux inégaux.
- *Chrysophycophyta* : La majorité sont unicellulaires. Algues d'eau douce et/ou marines caractérisées par la présence de la chlorophylle a, c et les caroténoïdes notamment la fucoxanthine.

- *Chlorophycophyta* : Algues vertes. Elles peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires. Elles sont marines, eaux douces et/ou milieux terrestres. On note la présence de la chlorophylle a, b et les caroténoïdes à côté de l'amidon en tant que matière de réserve.
- *Phaeophycophyta* : Algues brunes. Toujours pluricellulaires et dans la quasi-totalité marines. Elles sont marquées par la présence de la chlorophylle a, c et les caroténoïdes particulièrement la fucoxanthine. L'amidon représente la majeure matière de réserve. Elles comportent 2 flagelles latéraux inégaux.
- *Rhodophycophyta* : Algues rouges. Elles sont essentiellement pluricellulaires et en grande majorité marines notamment dans les eaux chaudes. Les principaux pigments sont la chlorophylle a, les phycobilines et les caroténoïdes. Elles se distinguent par l'absence de cellules flagellées.

Il y a lieu de souligner l'importance écologique de la pigmentation. En effet, les algues vivent dans la zone « euphotique » caractérisée par une gamme de profondeurs relativement faible (100 – 200m) permettant ainsi la réalisation de la photosynthèse. Etant donné que l'absorbance de l'eau est liée à la longueur d'onde, par conséquent, on peut admettre que les plus grandes longueurs d'ondes (lumière rouge de faible énergie) sont fortement absorbées. Il se produit un spectre de la lumière qui a tendance à un enrichissement en rayonnement de courte longueur d'onde (bleu/vert) aux grandes profondeurs. Par voie de conséquence, l'adaptation d'une algue aux grandes profondeurs est liée à son aptitude d'utiliser les longueurs d'onde courte. C'est ainsi que les algues vertes dont les pigments absorbent facilement la lumière rouge se développent dans des zones proches de la surface. A l'extrême opposé, les algues rouges, caractérisées par des pigments qui absorbent aux longueurs d'onde courtes, sont cantonnées dans les profondeurs de la mer en cohérence par rapport à leur adaptation écologique qui constitue la composante majeure de l'évolution des espèces et par conséquent de la biodiversité.

1.1 Répartition des algues

Comme indiqué dans le précédent paragraphe, la répartition des algues est avant tout une adaptation écologique. Également, la vie des algues est liée à l'eau et peuvent par conséquent s'implanter dans tous les types d'habitat convenablement humides et bien éclairés. Elles sont rencontrées dans les eaux douces, la mer, sur le sol humide et même sur

la neige. Les algues étant photosynthétiques par conséquent, elles sont dépendantes de la présence de la lumière. De plus, Les algues sont contraintes d'être fixées à un substrat, ainsi, la contexture, le niveau de cohésion et les propriétés chimiques du substrat exercent une grande importance sur la répartition spatiale des espèces [30].

2. Contexte historique de la chimie des produits naturels

Les parfums des plantes terrestres ont suscité l'intérêt de l'homme depuis l'antiquité, ils étaient liés aux aspects spirituels et civilisationnels. Les premiers travaux de recherche sur les produits volatils odorants ont été réalisés sur les plantes aromatiques qui font partie d'un milieu familier à la civilisation humaine. Sur le plan scientifique, les phytochimistes ont rapidement associé les odeurs émanant des arbres et des arbustes aux terpènes, notamment les monoterpènes (terpène est un mot inventé par Kekulé et utilisé pour décrire la composition chimique de l'essence de térébenthine), l'odeur d'épices aux phénols et dérivés, l'odeur fruitée et des fleurs aux aldéhydes, esters et cétones. L'odeur associée à la flore marine est beaucoup moins familière, une situation liée à diverses considérations notamment techniques dont notamment la difficulté d'accès au milieu marin. Également, il faut bien le souligner, contrairement au grand nombre de plantes odoriférantes terrestres, peu d'algues marines, arrachées par les vagues déchainées et rejetées sur la plage ou le bord de mer, ont une odeur attrayante. En outre, la chimie des produits naturels des organismes terrestres (plantes, animaux, ...) est connue avant le XIXe siècle, la chimie des produits naturels marins est plus récente, elle n'a émergée que depuis 75 ans. Cet état de fait est lié, comme précisé ci-dessus à diverses raisons, entre autres les faibles connaissances, mise à disposition de l'homme, du milieu marin et de son environnement. Les avancées techniques avec la conception des premiers scaphandriers, ont permis une avancée spectaculaire de la recherche sur les produits naturels d'origine marine. D'ailleurs, ce n'est guère une surprise, mais plutôt naturellement, que la chimie des produits naturels marins était devenue une sous discipline importante de la chimie des produits naturels. Un engouement particulier à cette spécialité a conduit à l'isolement et la caractérisation de milliers de métabolites secondaires appartenant à des squelettes chimiques originaux sans équivalent dans l'environnement terrestre.

2.1 Généralités sur les produits volatils d'algues marines

Historiquement, les HEs volatiles des plantes terrestres ont été utilisées dans les civilisations chinoises [31] et égyptiennes [32- 34], alors que les premiers travaux sur

l'isolement des produits volatils des algues marines ont été réalisés, au début des années 1930, sur l'algue brune *V. Fucus* [35] et les algues rouges *P. fastigiata* et *P. nigrescens* [36]. Cette étude est suivie plus tard par les recherches de Katayama en 1951-1962 [13] et Moore avant 1966 [17]. Les composés organiques volatils présents dans les algues marines, relâchés dans l'eau de mer par diffusion moléculaire, participent au processus de communication chimique ; ces composés jouent un rôle important en tant que composés allélochimiques (phéromones..) impliqués dans le processus écologique de l'espèce (communication et interaction avec le milieu environnant) [37,38]. Les espèces d'algues brunes produisent des composés organiques volatils en relation étroite avec leurs physiologies ; les algues doivent s'adapter aux contraintes abiotiques de leur écosystème [39]. Les composants volatils des algues marines contiennent un mélange de classes chimiques telles que les terpènes, les hydrocarbures, les acides gras, esters, alcools, aldéhydes, cétones [40-44], hydrocarbures en C11 [17, 45], polyphénols et dérivés [46, 47], composés halogénés [48] et composés sulfurés [49, 50]. L'odeur océanique distinctive est due à la présence de terpènes, en particulier, à une fraction d'hydrocarbures en C11 non isopréniques (absence de couplage d'isoprènes) acycliques et cycliques agissant comme phéromones et jouant un rôle important dans la communication chimique [20], ils semblent être le groupe de composés le plus abondant dans les algues brunes du genre *Dictyopteris* [17]. Les monoterpènes identifiés dans les algues, rencontrés également dans les plantes terrestres, comme le linalool, le citral, le géraniol, le terpinolène, le 1,8-cinéole, le α -pinène, l'eugénol et l'isoeugénol sont valorisés en parfumerie à cause de leur belle senteur. Cependant, les odeurs désagréables sont liées aux amines, aux composés halogénés, sulfurés et autres composés spécifiques [51], le sulfure de diméthyle principalement distribué chez les algues vertes (*Chlorophyta*) et chez certaines espèces de la famille *Rhodophyta* [52] est un composé caractérisé par une odeur très désagréable. Il résulte du clivage enzymatique de l'hydroxyde de diméthyle-2-carboxyéthylsulfonium, provenant des espèces d'algues vertes [53].

2.2 Fractions volatiles des algues marines

Les composés organiques volatils (COV) sont des molécules, relativement, de petites tailles ayant un caractère hydrophile faible à modéré [54] et une pression de vapeur élevée, d'où leur grande volatilité. Ils peuvent traverser les membranes cellulaires pour être libérés dans l'atmosphère [55]. Les COV agissent comme un langage utilisé par les plantes pour la communication et l'interaction avec le milieu ambiant (composés sémiochimiques)

notamment dans la reproduction (phéromones sexuelles) [55], la défense chimique [55,56] contre les herbivores et comme inhibiteurs de bactéries et de champignons [57]. Dans les écosystèmes aquatiques, les algues peuvent libérer un large spectre de COV comprenant notamment des terpénoïdes, des furannes, des composés soufrés, des alcanes, des alcènes, des alcools, des aldéhydes, des cétones et des esters [58]. Cette libération est influencée par des facteurs environnementaux tels que la lumière, la température, les conditions nutritionnelles et les stress abiotiques [59]. Certains composés volatils présents dans les algues brunes comme l'ammoniac, la méthylamine, et la triméthylamine sont générées par des microorganismes ou par des réactions chimiques. D'autres composés volatils peuvent agir comme protecteurs des algues marines, c'est le cas du holohedral diterpène, qui défend les algues contre les poissons herbivores et de certains invertébrés [60].

Dans ce qui suit, nous allons discuter, brièvement, les différentes classes de composés chimiques des COV d'algues marines.

2.2.1 Hydrocarbures et hydrocarbures oxygénés

Les alcanes et alcènes sont des composés courants dans la majorité des fractions volatiles et des HEs de macroalgues marines. La composition chimique révèle la présence des hydrocarbures saturés linéaires et ramifiés de C₇ à C₃₆ [40, 61-63], les hydrocarbures insaturés de C₈ à C₁₉ avec la présence de 1 [40, 61-63] à 4 degrés d'insaturations [41] dans la FV obtenue par différentes techniques d'extraction.

Nous avons également noté la présence de mono- et di-alcool de C₄-C₁₈ [40, 61-63, 64, 65]. Il faut souligner aussi l'existence des aldéhydes aliphatiques à chaîne courte (C₆, C₉) et à chaîne moyenne (C₁₀) qui se forment dans les algues à partir d'acides gras (C₂₀), alors qu'elles sont formées à partir de C₁₈ dans les plantes supérieures [66–68]. Il a également été signalé que les aldéhydes à longue chaîne (C₁₄, C₁₇) de l'algue verte *U. pertusa* [69, 70] sont formés par la décomposition des acides gras par le 2-hydroperoxyacide ; ce dernier est présent dans une variété d'algues marines [71, 72]. En plus des aldéhydes, les composés cétoniques ont été couramment signalés dans la composition aromatique des algues [73] ; le β-ionone et le 6-méthyl-5-hepten-2-one sont formés par le clivage oxydatif de caroténoïdes tels que le lycopène et le phytène [74]. Le β-ionone, présent dans plusieurs HEs des plantes terrestres est un odorant puissant pour l'industrie du parfum. Le 6-méthyl-5-heptène-2-one, en plus de sa note parfumée agréable, est souvent utilisé comme intermédiaire dans la synthèse de plusieurs monoterpènes valorisés en parfumerie. En outre, d'autres composés cétoniques simples (C₆-C₁₉) tels que le maltol [62], l'octan-3-one

[64], nonacosan-2-one [75] et undeca-1,4-dien-3-one [45] sont identifiés dans des fractions d'algues. Les acides gras saturés en C₃ à C₁₈ et leurs dérivés esters ont également été identifiés dans la composition chimique des fractions volatiles d'algues [40]. Les acides gras insaturés et leurs esters correspondants, en particulier les esters méthyliques des acides 5,8,11,14-eicosatétraénoïque et le 5,8,11,14,17-pentaénoïque [45], sont couramment rencontrés ; cela est probablement lié à leurs implications dans les processus de biosynthèse d'autres métabolites.

2.2.2 Composés halogénés

Les composés halogénés volatils sont relativement assez rares chez les plantes terrestres, mais, sont habituellement rencontrés dans les algues marines, probablement, en raison de la présence des ions de chlorure et de bromure à une forte concentration dans l'eau de mer. Les algues rouges possèdent la plus grande abondance en composés organiques halogénés, que l'on trouve sous forme de terpénoïdes, de phénols, de composés carbonylés et de métabolites dérivés d'acides gras [48]. Ils ont été produits dans les algues marines et émis dans l'atmosphère ; les plus grandes quantités de composés bromés libérés ont été faites par *L. saccharina* [76]. Des études chimiques sur des algues marines ont montré la présence de 2-bromophénol, 2,4-dibromophénol, et 2,4,6-tribromophénol dans de nombreuses algues rouges, vertes et brunes. La biosynthèse des bromophénols dans *U. lactuca*, a été illustrée, par l'intermédiaire des bromoperoxydases en présence de précurseurs tels que le phénol, l'acide 4-hydroxybenzoïque et le 4-hydroxybenzylalcool [77]. Les bromoperoxydases sont impliquées dans la biosynthèse des alcanes, tels que CHBr₃, CH₂Br₂, CHClBr₂, et dans plusieurs autres organismes marins [78]. La biosynthèse des organohalogénés a suscité un intérêt considérable au regard du nombre de rapports publiés dans la littérature [79-81]. En comparaison aux composés bromés, les iodoperoxydases sont responsables de la production de composés iodés dans les algues marines [82-84]. L'étude chimique de 29 espèces de macro-algues révèle qu'elles libèrent des composés iodés volatils comme : iodoéthane, 1-iodopropane, 2-iodopropane, 1-iodo-2-méthylpropane, 1-iodobutane, 2-iodobutane, diodométhane et chloriodométhane [85] ; dont le diiodométhane était le principal composé iodé libéré par les macro-algues brunes [86].

2.2.3 Composés aminés

Les composés aminés ont été décrits à plusieurs reprises dans les algues marines [87-89], les petites molécules d'amines telles que la méthylamine, la diméthylamine, l'éthylamine et la propylamine ont été identifiés dans les algues [90]. Les amines volatiles dans les algues résultent de la décarboxylation des acides aminés [90]. Bien qu'ils soient présents dans les algues brunes et vertes, les composés aminés ont surtout été rencontrés dans les algues rouges.

2.2.4. Composés terpénoïdes

Les terpènes, ou terpénoïdes, sont une classe importante et diversifiée de métabolites secondaires des plantes, produits par de nombreuses variétés de plantes et d'algues à partir d'éléments constitutifs de l'isoprène ; ils jouent un rôle écologique majeur, notamment dans la défense contre les insectes et les herbivores qui se nourrissent de plantes [86]. Cependant, certains terpénoïdes sont impliqués dans le métabolisme primaire, comme la stabilité des membranes cellulaires et la photosynthèse. Les terpènes, caractérisés par une énorme diversité structurelle, sont les principaux constituants des HEs des plantes terrestres et des algues marines [91], ils se caractérisent par leur odeur forte et agréable. Les terpénoïdes sont biosynthétisés principalement par deux voies, la voie mévalonate et la voie phosphate de méthyl-2-érythritol (MEP) dite aussi non mévalonique. Le criblage chimique des FVs et/ou des HEs des algues révèle la présence d'une forte teneur en monoterpènes, sesquiterpènes et rarement en diterpènes [45]. Les monoterpènes acycliques les plus importants trouvés dans les algues sont : myrcène (1), ocimène (2), gèranial (3), néral (4), citronellol (5) et le gèraniol (6) (figure 1.1). De plus, les composés les plus odorants identifiés dans les algues sont inclus dans le groupe des monoterpènes acyclique [92]. Dans le même contexte, 1,8-cinéole (7) est le composé le plus courant des monoterpènes monocycliques des algues brunes [92], tandis que l' α -pinène (8) et le β -pinène (9) (figure 1.2) sont les monoterpènes bicycliques les plus abondamment trouvés [92, 93].

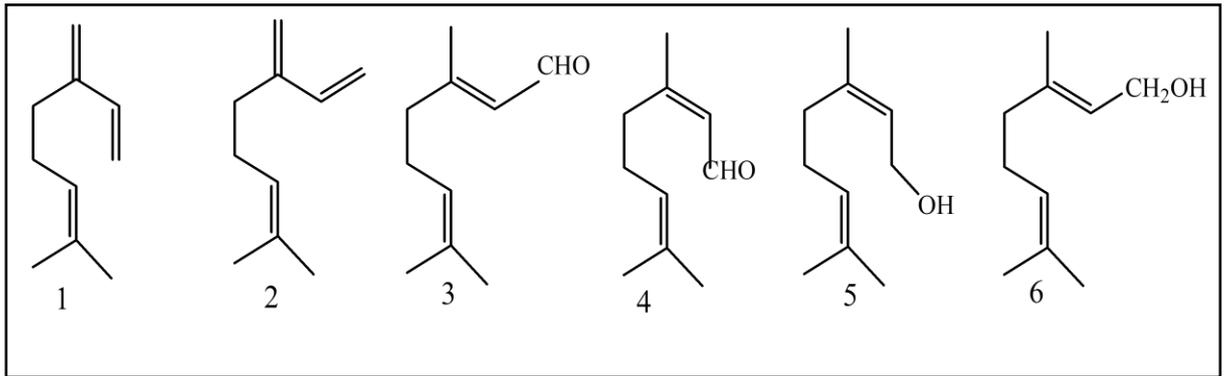


Figure 1.1 : Monoterpènes acyclique commun des algues

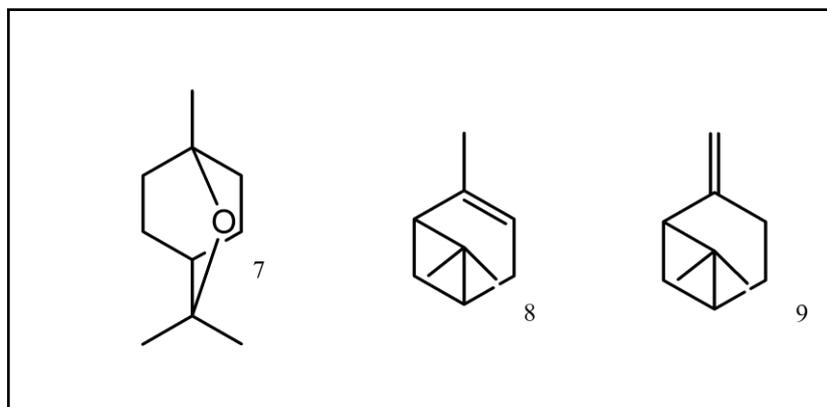


Figure 1.2 : Monoterpènes monocyclique et bicycliques des algues

Les sesquiterpènes des macroalgues marines constituent un groupe de métabolites secondaires nettement plus important en comparaison aux monoterpènes [94] ; certains d'entre eux sont halogénés [95]. A l'instar des autres métabolites secondaires, les sesquiterpènes agissent comme des composés semiochimiques, ils sont donc impliqués dans les mécanismes de défense chimique en plus des autres activités, probablement non élucidés, exercés en tant que phéromones. Ils peuvent être acycliques, cycliques ou bicycliques, et comprennent plusieurs structures originales. Parmi toutes les macroalgues marines, le genre *Laurencia* (algues rouges), *Dictyopteris* et *Dictyota* constituent la source la plus riche en sesquiterpènes, et sesquiterpènes halogénés. Les sesquiterpènes les plus courants signalés dans les algues marines sont regroupés dans le tableau 1.1 illustrés par la figure 1.3. Les seuls diterpènes et triterpènes décrits comme composés volatils sont, respectivement, le phytol et le squalène [96], bien qu'au regard de leurs structures, ils n'ont pas la volatilité suffisante. Le phytol est un produit de dégradation de la chlorophylle et le

précurseur de la vitamine E [96]. Le squalène, pour sa part, est le précurseur des stéroïdes via l'epoxysquelène [96].

Tableau 1.1 : Les sesquiterpènes les plus courants des macroalgues

N°	Composés	espèces
10	E- Farnesene	<i>Dictyopteris membranacea, Dictyota dichotoma</i>
11	Hexahydr-Farnecyl acetone	<i>Bangia fuscopurpurea, Cystoseira mediterranea, Callithamnion granulatum, Cystoseira elegance, Polysiphonia denudata, Laurencia papillosa.</i>
12	α Cubébène	<i>Dictyopteris membranacea, Dictyota dichotoma</i>
13	β Cubébène	<i>Dictyopteris membranacea, Dictyota dichotoma</i>
14	α Copaène	<i>Dictyopteris membranacea, Dictyota dichotoma</i>
15	(-)-Copaène	<i>Dictyota divaricata</i>
16	δ Cadinène	<i>Dictyopteris membranacea, Dictyota dichotoma, Zostera marina</i>
17	γ Cadinène	<i>Dictyota divaricata, Dictyota dichotoma</i>
18	α Cadinol	<i>Pyropia tenera, Ulva pertusa</i>
19	δ Cadinol	<i>Zostera marina, Dictyota divaricata</i>
20	1-10-epi-cubebol	<i>Dictyopteris membranacea</i>
21	Cubenol	<i>Dictyota divaricata, Dictyota prolifera, Pyropia tenera, Ulva pertusa</i>
22	Epi-cubenol	<i>Zostera marina</i>
23	Cadalène	<i>Dictyota divaricata</i>
24	α Calacorène	<i>Dictyopteris membranacea</i>
25	β Bourbounène	<i>Dictyopteris membranacea, Dictyota dichotoma</i>
26	Azulène	<i>Dictyopteris membranacea</i>
27	Axenol	<i>Dictyopteris membranacea</i>
28	Aromadendrène	<i>Dictyopteris membranacea, Dictyota dichotoma</i>
29	α Amorphène	<i>Dictyopteris membranacea, Dictyota dichotoma</i>
30	Albicanol	<i>Dictyopteris membranacea</i>
31	β Elemène	<i>Dictyota dichotoma</i>

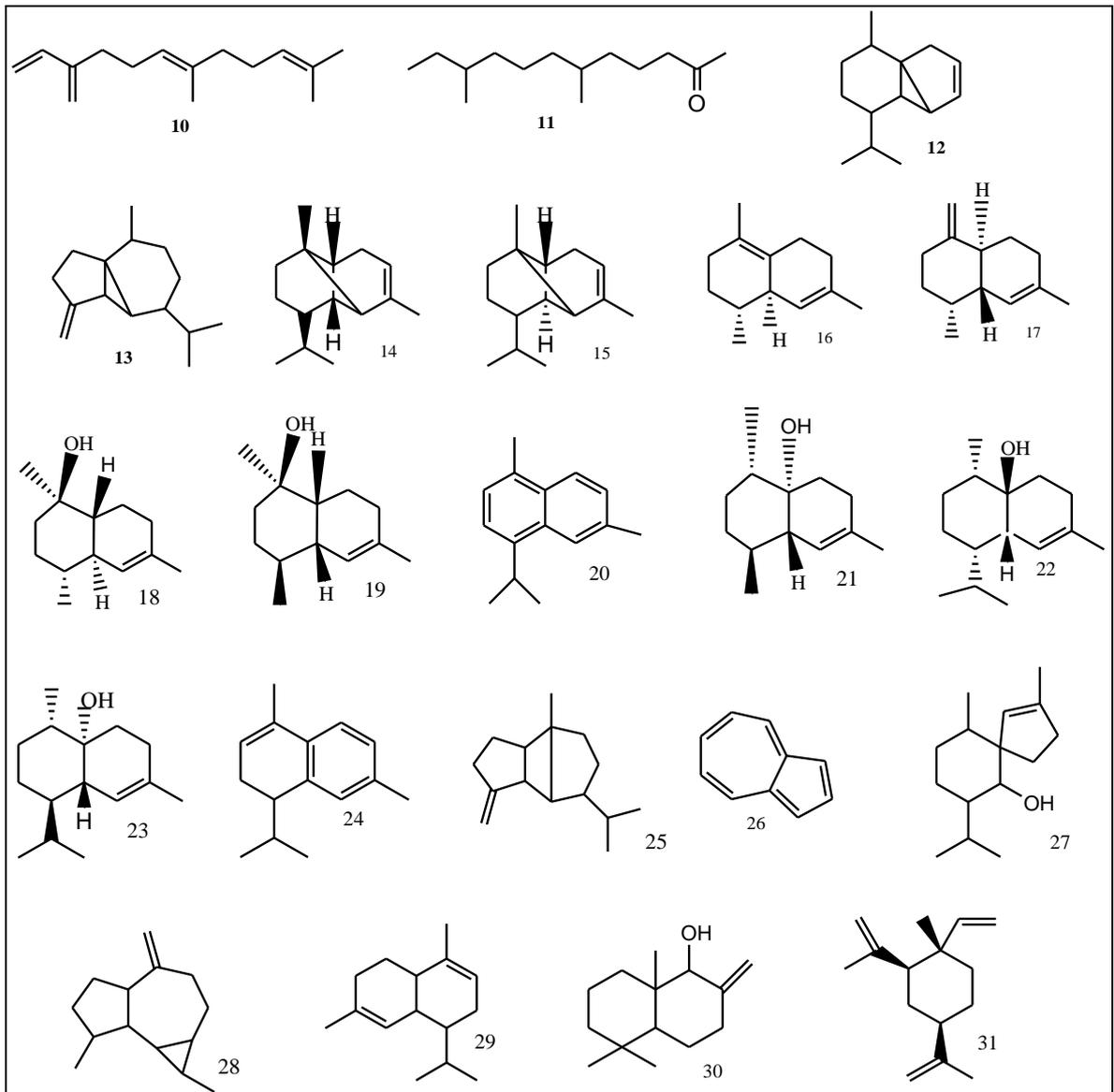


Figure 1.3 : Sesquiterpènes communs décrits dans les huiles essentielles d'algues marines

2.2.5 Terpènes halogénés

La classe des algues rouges développe une voie biosynthétique privilégiée des hydrocarbures halogénés dont un nombre très important a été isolé à partir des *Rhodophyta* [97, 98]. En comparaison avec la majorité des macroalgues, le genre *Laurencia* semble être le plus prolifique en sesquiterpènes halogénés qui appartiennent notamment aux squelettes : chamigrane, laurane, brasilane et d'autres dérivés réarrangés [99, 100].

Bien que la concentration du chlore soit nettement plus élevée dans les eaux marines par rapport au brome, curieusement, les produits naturels marins sont souvent bromés.

Le premier sesquiterpène bromé (figure 1.4) est la cétone spiro-laurenone (32) appartenant au squelette chamigrane décrit dans l'HE de *L. glandulifera* (Japon) en 1970 [101] suivi du 10-bromo-7-chamigren-2-one (33) dans la même espèce [102]. Il semble que le preintricatol (34) identifié dans *L. Gracilis* [103] est le précurseur de tous les sesquiterpènes halogénés appartenant au squelette chamigrane. D'autres métabolites tels que les puertitols A (35) et B (36) ont été décrits dans *L. obtusa* [104] tout comme les métabolites (37) et (38) à partir de *L. caespitosa* [105]. Un sesquiterpène halogéné, caractéristique de la famille des *Rhodomelaceae*, est l'Elatol (39) qui a été isolé de *L. elata* [106] et à partir d'autres espèces de *Laurencia* [107]. Concernant les monoterpènes halogénés, les métabolites isolés appartiennent à trois familles d'algues rouges : *Plocamiaceae*, *Rhizophyllidaceae* [108, 109] et *Ceramiaceae* [110]. Les monoterpènes halogénés sont caractérisés par la présence : de plusieurs halogènes (chlore et brome) sur la même structure et des cycles carbonés peu communs. Tous les monoterpènes halogénés dérivent de l'halogénéation du myrcène et de l'ocimène [110].

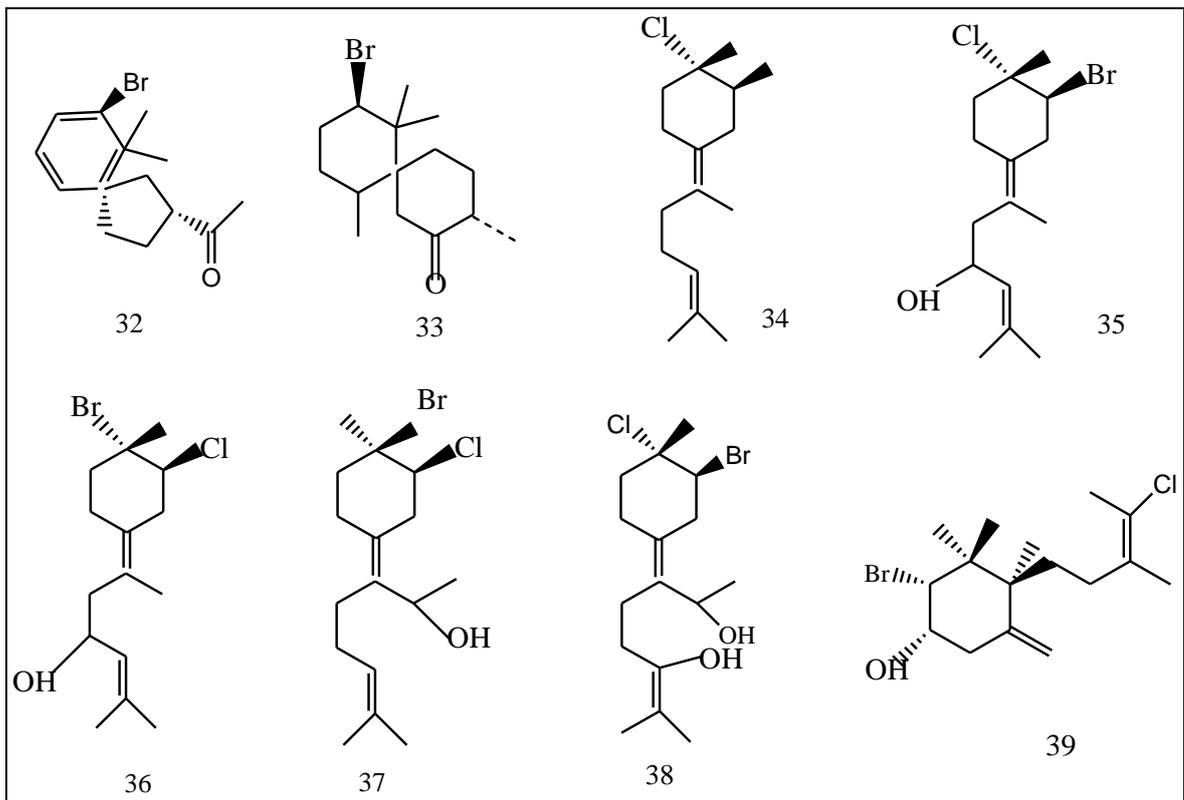


Figure 1.4 : Sesquiterpènes halogénés des algues rouges du genre *Laurencia*

3. Composés organique volatiles des algues brunes (Phéophycées)

Cette partie est consacrée à l'étude chimique des composés volatils aux algues brunes d'une manière générale et particulièrement les deux genres *Dictyopteris* et *Dictyota*. Ce choix est justifié du fait que les algues brunes, et spécifiquement ces 2 genres, occupent une place privilégiée en termes de diversité chimique [22, 111-113, 114]. L'intérêt particulier accordé au *Dictyopteris* et *Dictyota* est lié au fait que les deux espèces qui font l'objet de notre étude expérimentale à savoir, *D. polypodioides* et *D. dichotoma* appartiennent, respectivement, a ces deux genres.

3.1 Hydrocarbures en C11 non-isopréniques des algues brunes

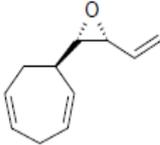
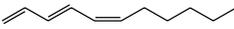
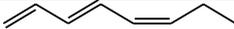
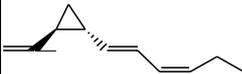
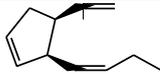
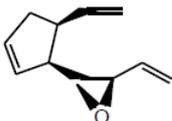
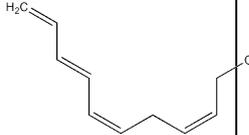
Les algues brunes produisent une variété de composés volatils, assez spécifiques, dont la nature chimique et la fonction biologique sont différentes de celles des algues rouges. Ce sont des hydrocarbures à 11 atomes de carbone sans halogènes qui peuvent être classés en quatre groupes selon leur structure chimique [115] : (a) dérivés du cyclopropane, (b) dérivés du cyclopentène, (c) dérivés du cycloheptadiène, et (d) oléfines acycliques. Le seul hydrocarbure volatil à huit atomes de carbone identifié dans les algues brunes est le fucoserratène. Ces métabolites, qui sont connus chez toutes les espèces de la classe des phéophycées, ne sont pas spécifiques à un ordre ou à une famille. Ils ont été isolés dans divers groupes d'algues brunes, tel que : *Zonaria*, *Desmarestia*, *Dictyota*, *Ectocarpus*, *Laminaria* et *Fucus*, il semble être très abondant dans les algues brunes du genre *Dictyopteris* [17]. Ils sont impliqués dans le processus de reproduction de l'algue ; ce sont des phéromones sexuelles. À ce jour, il a été révélé que ces phéromones d'algues sont impliquées dans au moins trois interactions écologiques bien définies [116] : (i) la synchronisation des accouplements des cellules mâles et femelles déclenché par la libération de spermatozoïdes mâles, (ii) l'amélioration de l'efficacité de l'accouplement par l'attraction, et (iii) la défense chimique de la plante expliqué par la présence de grandes quantités de phéromones à l'intérieur de l'espèce et qui sont libéré du thalle vers son environnement. En outre, la relation entre les structures des phéromones et les classifications taxonomiques des algues n'est pas toujours établie. Jusqu'à présent, une série de 12 hydrocarbures et époxydes ont été caractérisés, et plus de 50 stéréo-isomères sont connus dans les bouquets de phéromones de plus de 100 espèces différentes d'algues brunes [20, 54, 116-117]. De plus, la présence d'hydrocarbures en C11 n'est pas seulement limitée aux

algues brunes marines. Les mêmes composés ont été signalés dans des cultures de diatomées [118], lors de la floraison des microalgues dans les lacs d'eau douce [119] et dans certaines plantes supérieures [120, 121]. En comparaison avec le nombre d'espèces d'algues brunes, la chimiodiversité des phéromones est relativement limitée, de sorte que l'activité sémiochimique d'une même molécule est observée chez plusieurs espèces. Dans les algues brunes, les gamètes femelles sécrètent un mélange de produits et non pas une seule phéromone. Toutefois, il a été vérifié que l'activité biologique est associée à un seul constituant qui peut ne pas être le produit majeur. Ces sous-produits jouent quelquefois un rôle de modulateur de réponse des gamètes et en général, ils n'ont pas une fonction biologique déterminée [115].

Ils appartiennent à la même classe chimique que le produit biologiquement actif avec des instaurations variables. L'utilisation des différents stéréoisomères des phéromones augmente la diversité des signaux moléculaires. Le tableau 1.2 regroupe les phéromones en C8 et C11 isolées à partir des espèces d'algues brunes ainsi que leurs activités d'attraction (**A**) ou d'émission (**E**).

Tableau 1.2 : Phéromones en C8 et C11 isolés à partir des algues brunes

N	Nom de la phéromone	Structure chimique	Attraction/ Emission n A/E	Espèces d'algues
40	Ectocarpene		A	<i>Scytosiphon</i> sp., <i>Ectocarpus fasciculatus</i> , <i>Adenocystis tricularis</i> , <i>Sphacelaria rigidula</i>
41	Desmarestene		A/E A	<i>Desmarestia acculeata</i> (6R), <i>D. viridis</i> , <i>Cladostephus spongiosus</i> (6R), <i>D. firma</i> (6R)
42	Dictyotene		A A	<i>Dictyota dichotoma</i> , <i>Dictyota diemensis</i> , <i>Dictyota prolifera</i> .

43	Lamoxirene		A/E	<i>Laminaria angustata</i> , <i>L.sinclari</i> <i>L.japonica</i> , <i>L.digitata</i> , <i>L.hyperborea</i> <i>L.sacharina</i> , <i>Pleurophydus</i> , <i>Alaria classiforia</i> , <i>A.esculenta</i> , <i>A.marginata</i> , <i>Ecklonia radiata</i> , <i>Eiseniaarborea</i> , <i>Pterygophora</i> <i>california</i> , <i>undaria pinnatifida</i> , <i>Dictyoneuropsis reticulata</i> , <i>Lessoniavariegata</i> , <i>Lessoniopsis littoralis</i> , <i>Macrocystis integrifolia</i> , <i>Macrocystis pyrifera</i> , <i>Nereocystis luetkeana</i> , <i>Pelagophycus porra</i> , <i>Agarum</i> <i>cribrosum</i> , <i>Cymmathere</i> <i>triplicata</i> , <i>Hedophyllum sessile</i> , <i>Kjellmaniella gyrata</i> ,
44	Cystophorene		A	<i>Cystophora siliquosa</i> .
45	Fucco-serratene		A	<i>Fucus serratus</i> , <i>F.spiralis</i> , <i>F.vesiculosus</i> .
46	Pre-ectocarpene			<i>Ectocarpus siliculosus</i> .
47	Hormosirene		A	<i>Hormosira banksii</i> , <i>Xiphophora chondrophylla</i> , <i>X.gladiata</i> , <i>Durvillaea</i> <i>antarctica</i> , <i>D.potatorum</i> , <i>D.willana</i> , <i>Colpomenia</i> <i>peregrina</i> , <i>C.bullosa</i> , <i>Ascoseira mirabilis</i> , <i>Myelophycus simplex</i> , <i>Scytosiphon lomentaria</i> .
48	Multifidene		A/E	<i>Cutleria multifida</i> , <i>Zonaria angustata</i> , <i>Chorda tomentosa</i> .
49	Viridene		A/E	<i>Syringoderma</i> <i>phinneyi</i> , <i>Syringoderma</i> . sp
50	Caudoxirene		E	<i>Perithalia caudata</i> , <i>Dictyosiphon</i> <i>foeniculaceus</i> .
51	Finavarrene		R	<i>Ascophyllum nodosum</i>

3.1.1 Biosynthèse des hydrocarbures en C11

L'étude de la biosynthèse des hydrocarbures en C11 intervenant dans le processus de reproduction des algues est ardue du fait des faibles quantités de phéromones libérées, c'est la raison qui a poussé les chercheurs à trouver d'autres sources de ces phéromones. Des travaux effectués sur les produits volatils des plantes terrestres ont montré que certaines HEs contiennent les hydrocarbures en C11, c'est le cas de l'ectocarpène et du preectocarpène qui ont été identifiés dans l'HE d'ananas [122]. Dans ce cadre, la plante terrestre *Senecio isatideus*, appartenant à la classe des *Asteraceae* et dont le métabolite majeur est l'ectocarpène [123], a été la première espèce à être utilisée dans l'étude de la biosynthèse des phéromones d'algues (figure 1.5).

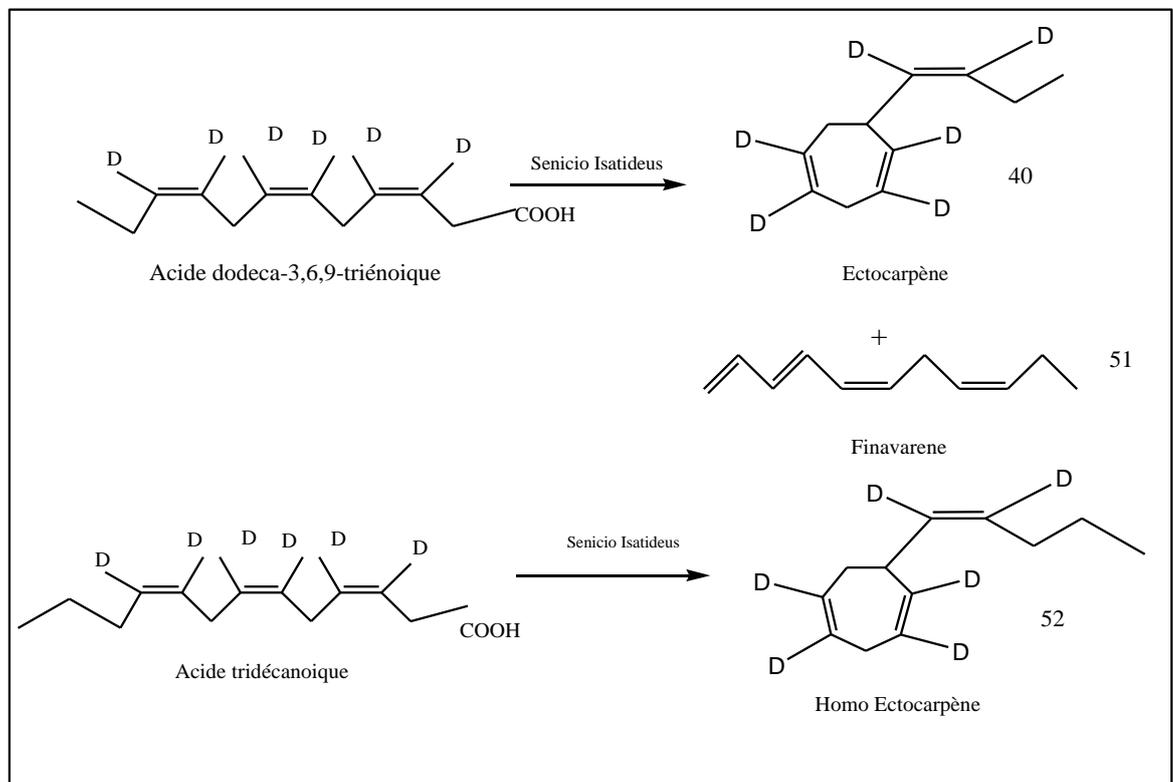


Figure 1.5 : Biosynthèse des hydrocarbures en C11 dans *Senecio isatideus*

La biosynthèse a été réalisée en utilisant l'acide [3,4,6,7,9,10 $^2\text{H}_6$] dodeca-3,6,9-triénoïque qui a permis une transformation rapide en ectocarpène (40) et en finavarrène (51). Ainsi donc, les atomes de deutérium vont se retrouver dans le squelette chimique de l'ectocarpène [124] (figure 1.5). Notons que l'acide dodéca-triénoïque dérive de l'acide linoléïque via trois β -oxydations, mais ce type de transformation connu chez les plantes terrestres reste non identifié chez les algues [124, 125]. Ce qui est étonnant et inattendu, la

même expérience de biogénèse appliquée à l'algue *Ectocarpus siliculosus* a échoué [126, 127]. Par conséquent, il devient indispensable de trouver une autre voie de biosynthèse permettant de justifier la formation de l'ectocarpène dans *E. siliculosus*.

Des travaux postérieurs ont révélé que les véritables précurseurs sont les acides eicosatétraénoïque (arachidonique) et eicosapentaénoïque. En effet, des études de biosynthèse effectuées sur les espèces *E. siliculosus* et *Sphacelaria rigidula* ont permis de montrer la transformation rapide de l'acide arachidonique deutérié en dictyotène (42) et en undéca (1,3E,5Z)-triène (appelé aussi cystophorene) (44) et la formation de l'ectocarpène à partir de l'acide eicosapentaénoïque [116, 126].

3.2 Composition chimique des espèces du genre *Dictyopteris*

Comme nous l'avons précisé dans les paragraphes précédents, les premiers travaux sur les produits volatils d'algues, isolés par entraînement à la vapeur, ont été l'œuvre du japonais Katayama (1962) [13]. Les rendements obtenus par distillation à la vapeur ont été trop faibles, ce qui a poussé au développement des techniques d'extraction par solvant organiques. Vers la fin des années 70, Moore et d'autres chercheurs se sont à nouveau intéressés à l'étude des produits volatils d'origine marine.

Selon Moore (1977) [17], le sulfure de diméthyle est la seule substance volatile découverte avant 1966. Les fractions volatiles obtenues par distillation à la vapeur à partir des algues du genre *Dictyopteris*, il s'agit spécifiquement des espèces *D. plagiogramma* et *D. australis* d'Hawaii, ont permis à Moore [127, 128] d'isoler les composés non-isoprénoides à 11 atomes de carbone (figure 1.6). Il s'agit notamment des dictyoptérènes A, B (53, 61) (connu sous le nom de Hormosirène) qui sont fréquemment présents en grande quantité [23, 129], du dictyoptérène C' (62) (appelé aussi dictyotène) a été rencontré en faible quantité dans les parties végétatives de *Dictyopteris* [18], mais aussi dans les œufs fraîches libérées par l'algue brune *D. dichotoma* pour attirer les spermatozoïdes lors du processus de reproduction [130], du dictyoptérène D' (ectocarpène) (56) ainsi qu'en plus faible quantité de l'undéca-1,3,5-triène et de l'undéca-1,3,5,8-tétraène. Au sein des deux espèces de *Dictyopteris* d'Hawaii, il a été reporté l'isolement de deux cétones odorantes (dihydrotropones) [131] dérivant du dictyoptérène C' (figure 1.7). Les bouquets de métabolites en C 11 produits par les espèces du genre *Dictyopteris* jouent un rôle très important en tant que phéromones sexuelles qui stimulent la libération de gamètes ou attirent le sperme vers les œufs après libération [116]. Outre leur rôle de phéromones, les

hydrocarbures en C 11 sont responsables de « l'odeur océanique » de l'HE des espèces du genre *Dictyopteris*. Bien qu'ils soient présents dans une vaste gamme d'organismes, ils semblent être les plus abondants dans les algues brunes du genre *Dictyopteris* [17] et sont présents dans la majorité des espèces. Ces composés biologiquement actifs comprennent plusieurs hydrocarbures insaturés linéaires ou alicycliques et leurs stéréo-isomères. Leurs similitudes structurelles suggèrent une origine biosynthétique à base d'une dérivée aliphatique des acides gras polyinsaturés C₂₀ par clivage oxydatif [116, 132], alors que chez les plantes terrestres, ces composés sont générés par des précurseurs en C₁₂ non saturés [133].

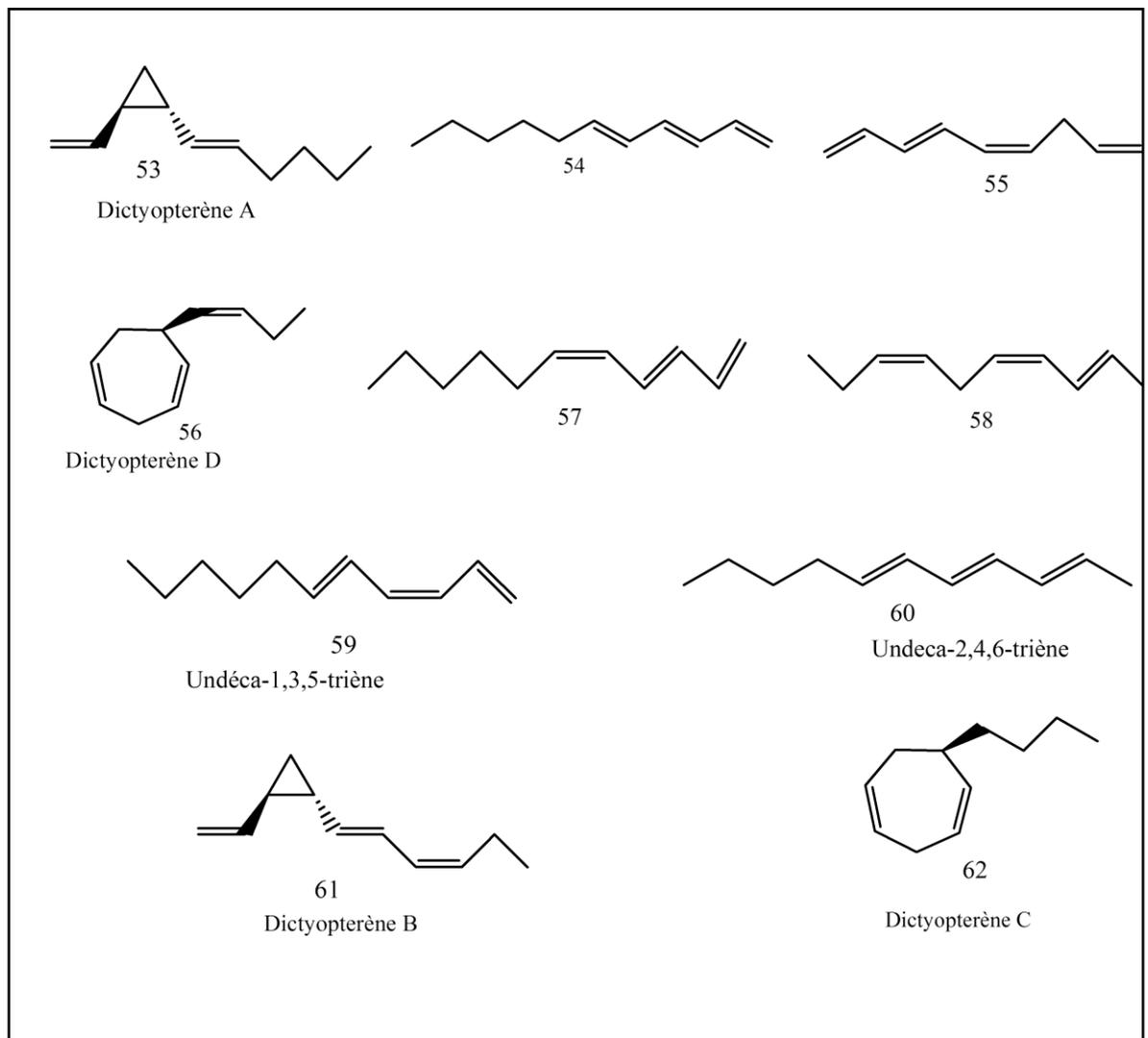


Figure 1.6 : Polyènes odorants en C-11 des espèces Hawaïennes du genre *Dictyopteris*

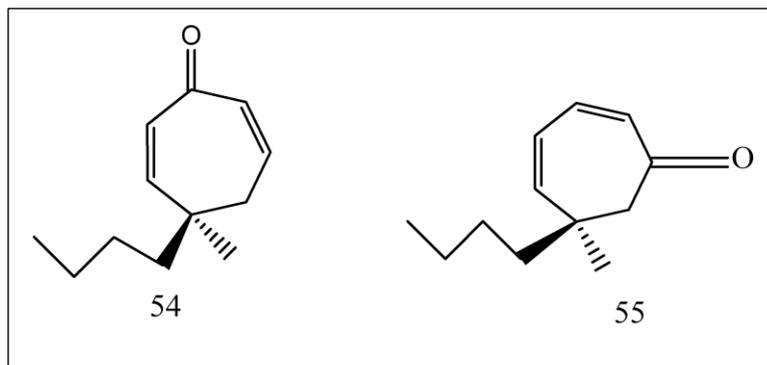


Figure 1.7 : Dihydrotropones des espèces hawaïennes (*D. plagiogramma* et *D. australis*)

A partir des mêmes espèces Hawaiienne (*D. plagiogramma* et *D. australis*), Moore [127,128] a isolé une série de composés soufrés dont le 3-oxoundecyl-thioacétate (**66**) et ses dérivés polysoufrés. Dans ce cadre, il y a lieu de préciser que les espèces du genre *Dictyopteris* représentent une source très riche en hydrocarbures soufrés en C-11 (figure 1.8) [49, 134], l'espèce *D. polypodioides* récoltée en Méditerranée renferme une teneur pouvant atteindre 10% dont le produit majoritaire est le 3-hexyl-4,5-dithia-cycloheptanone [45].

La plupart des métabolites soufrés semblent être biosynthétiquement liée aux phéromones C11 et peuvent être issus de la dégradation oxydative d'eicosanoïdes hautement insaturés comme l'acide arachidonique. Ces composés sont produits dans les thalles et agissent comme défenses chimiques contre l'herbivore, qui est un facteur clé pour contrôler la biomasse et la structure communautaire des macroalgues [135]. Il faut souligner que les composés soufrés se caractérisent par leurs activités biologiques [136] et se trouvent souvent dans le milieu marin [137], probablement en raison de la concentration relativement élevée de sulfates dans la mer. Il est rapporté dans quelques taxons et agit comme défenses chimiques contre les herbivores [135].

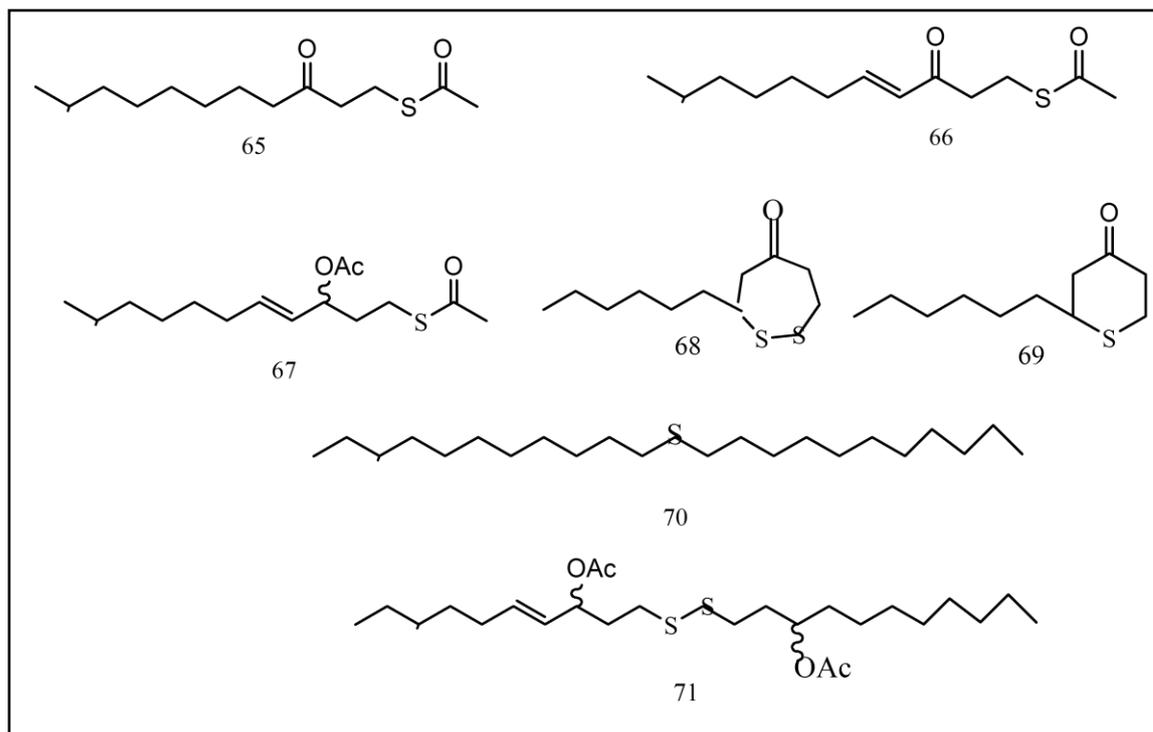


Figure 1.8 : Produit soufrés identifiés dans le genre *Dictyopteris*

Des travaux sur d'autres espèces du genre *Dictyopteris* ont révélé que les polyènes en C-11 non isopréniques sont à l'état de produits mineurs, voire de traces, par contre, les produits majoritaires sont plutôt des composés terpéniques, c'est ainsi que des sesquiterpènes très intéressants ont été isolés dans *D. divaricata* [138,139] et de *D. undulata* [140-142] (anciennement nommée *D. zonaroides*). Certains sesquiterpènes isolés des deux espèces sont courants parmi les espèces terrestres, il s'agit notamment de (-) γ -cadinène, (-)-copaène, (-)- δ -cadinol (figure 1.9). Les autres sont assez spécifiques. Il s'agit notamment, pour *D. divaricata*, de la dictyoptérone et les deux alcools dérivant respectivement de l' α - et du β -sélinène. Pour *D. undulata*, on a noté l'isolement du zonarène (79) (sesquiterpène à squelette cadinane), du zonarol (80) (mérosesquiterpène) et de ses dérivés (81-86) (figure 1.9).

L'étude de la FV de trois algues récoltées sur les côtes japonaises à savoir *D. prolifera*, *D. undulata* et *D. divaricata* [143] a rapporté l'isolement de polyènes en C-11 de la première, d'un mélange de polyènes et de sesquiterpènes de la deuxième et uniquement des sesquiterpènes de la troisième. Ce résultat justifie pleinement le lien étroit entre la composition chimique, la variation saisonnière et localisation géographique [20].

Jusqu'à présent, sans tenir compte des méroditerpènes, 71 composés terpéniques ont été signalés pour le genre *Dictyopteris*, la plupart sont produits par *D. divaricata*. Au total, huit monoterpènes dans *D. divaricata*, *D. laticula* et *D. plagiogramma*, 59 sesquiterpènes, majoritairement de *D. divaricata*, *D. undulata*, *D. membranacea*, *D. latiuscula*, *D. delicatula* et *D. prolifera* et quatre diterpènes (*D. delicatula* et *D. polypodioides*) ont été signalés. Les sesquiterpènes décrits sont issus d'une cyclisation 1 - 10 du farnesol, menant à un intermédiaire de type germacrane qui fournit (par une séquence connue d'étapes de transcyclisation, ou par un réarrangement de Cope) les squelettes de cadinane, copane, cubebane, selinane et elemene [144]. Les divers criblages chimiques effectués sur ces espèces ont décrit 83 métabolites mettant en évidence les hydrocarbures C11 non isoprénoïdes et leurs dérivés, les composés soufrés, les terpènes, les acides gras et les lipides [15, 20, 23, 45, 145].

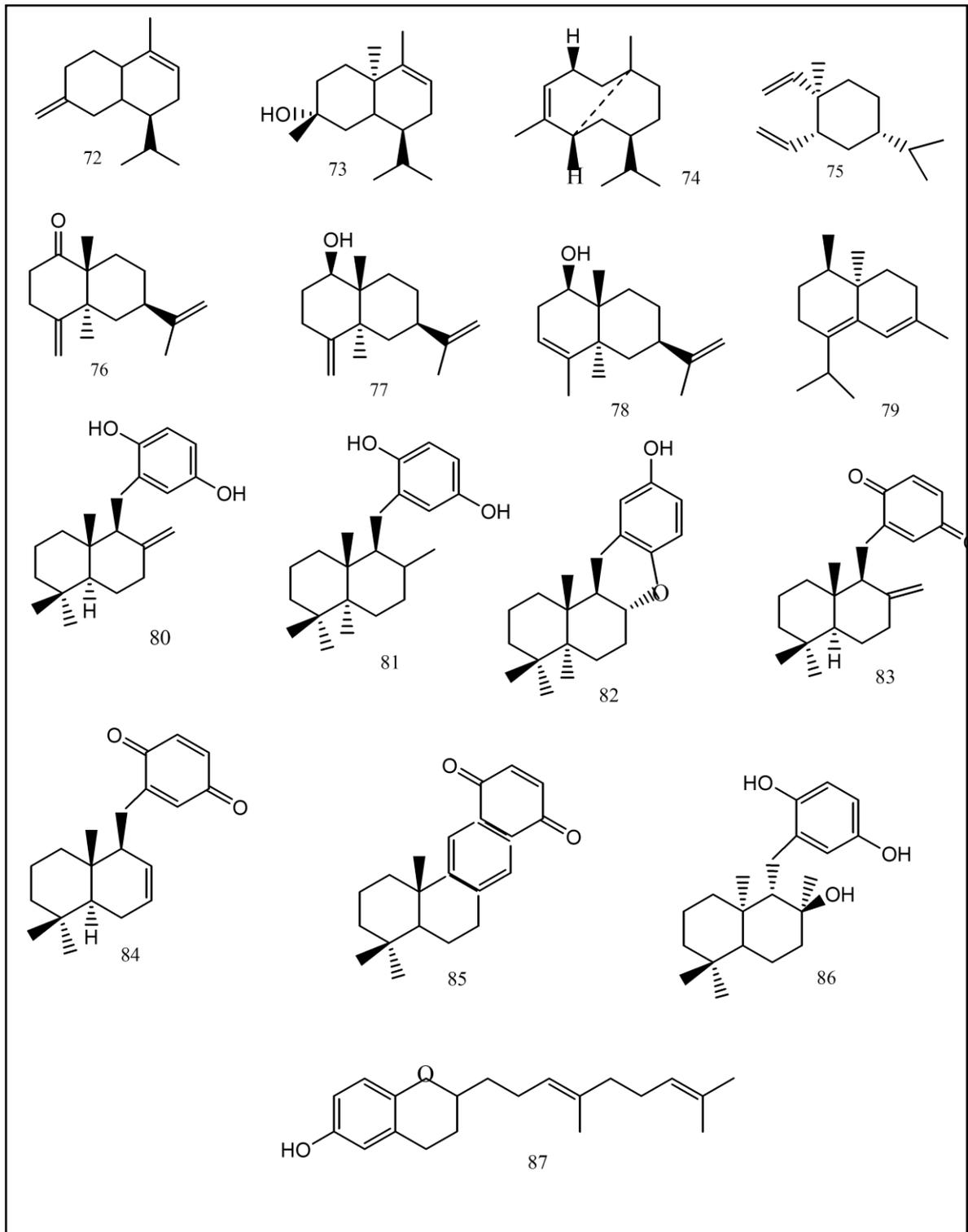


Figure 1.9 : Sesquiterpènes et mérosesquiterpènes de *D. divaricata* et *D. undulata*

3.3 Activités biologiques des huiles essentielles et fractions volatiles des algues brunes

Le milieu marin est caractérisé par une grande biodiversité, ce qui se traduit par voie de conséquence par une chimiodiversité exceptionnelle à même de fournir des molécules

très originales sans équivalent dans le milieu terrestre [146,147]. Ces composés sont synthétisés par des voies métaboliques différentes de celles observées au sein des espèces terrestres. Les algues, des organismes marins très importants pour l'équilibre de l'écosystème, se trouvent contraint de développer, des mécanismes de défense chimique, à travers l'élaboration de métabolites secondaires spécifiques, pour empêcher leur colonisation par d'autres épiphytes, y compris des microorganismes [148,149]. En effet, de nombreuses études [136] ont mis en évidence l'activité des métabolites extraits à partir de macroalgues. Par conséquent, la valorisation des algues marines à des fins thérapeutiques remonte loin dans le temps, leur utilisation ancestrale est rapportée par de nombreux travaux [150]. Bien que les principes actifs d'origine algale et exploiter dans l'industrie pharmaceutique sont peu nombreux, les travaux de recherche effectués dans ce cadre sont très importants [151]. Les métabolites isolés à partir d'algues brunes ont montré un large éventail d'activités biologiques : antimicrobienne [152,153] anti-malariale [154], antioxydant [155-156], anti- inflammatoire [157], cytotoxique [158], antivirale [159] ainsi que d'autres activités.

4. Etude systématique et chimique de *Dictyopteris polypodioides*

4.1 Systématique de *Dictyopteris polypodioides*

La position systématique de l'espèce peut être décrite comme suit [160].

Empire ou domaine : *Eukaryota*

Règne : *Chromista*

Phylum : *Ochrophyta*

Embranchement ou division : *Phaeophycophyta (Chromophytes)*,

Classe : *Phaeophyceae*

Ordre : *Dictyotales*

Famille : *Dictyotaceae* J. V. Lamour

Genre : *Dictyopteris*

Espèce : *polypodioides* | (A.P.De Candolle) J.V. Lamouroux, 1809

Cette algue est souvent répertoriée dans les guides sous le nom de *Dictyopteris membranacea* (Stackhouse) Batters 1902 [161,162]. Mais L'espèce type (holotype) du genre *Dictyopteris* est *D. polypodioides* (A. P. De Candolle) J. V. Lamouroux qui est le nom retenu maintenant pour cette espèce [163].

D'autres synonymes homotypiques et hétérotypiques ont été cités dans la bibliographie, nous citons à titre non exhaustif les noms suivants [164-166].

Synonymes homotypiques

Ulva polypodioides A.P.de Candolle 1805

Haliseris polypodioides (Desfontaines) Agardh [167].

Synonymes hétérotypiques

Fucus membranaceus (Stackhouse) [168,169],

Dictyopteris membranacea (Stackhouse) Batters, 1902 (synonyme)

Polypodoidea membranacea Stackhouse 1809

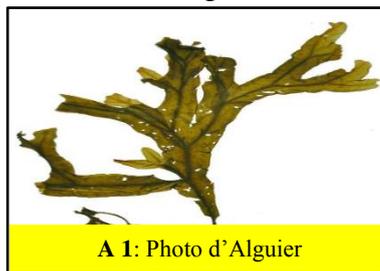
Dictyopteris membranacea Batters 1902

Description

L'algue, nommée fougère de mer, peut atteindre 30 cm de longueur, le thalle aplati de couleur brun jaunâtre plus ou moins opalescent à ramifications pseudo-dichotomiques [162, 170], il se ramifie en lanières de 2 à 10 cm de large, constitué d'une nervure centrale bien visible de la base aux extrémités [171]. L'algue est fixée au substrat par un disque basal épais formé de petits filaments allongés appelés rhizoïdes [171]. A partir de l'été, l'algue change d'allure avec l'apparition de frondes qui s'amincissent autour de leur nervure centrale. La consistance est membraneuse et fragile [172].



A : Gros plan sur la nervure



A 1: Photo d'Alguier



A2 : Organes reproducteurs



B : *D.p* Roscoff – Fr - 20/08/ 2020



B : *D.p* Madeira - Espagne

Figure 1.10: *Dictyopteris polypodioides* (*D.p*) (A.P. De Candolle) J.V.Lamouroux

A : Photos prise de la fiche de Buron D. et Coll. In : Doris, 04/12/2020 <https://doris.ffesmm.fr/ref/specie/614>

B : Photos prises de Algaebase : https://www.algaebase.org/search/species/detail/species_id=60

Biotope : Grâce à sa partie basale, l'algue résiste à la mauvaise saison, elle est vivace solide [162,170]. Durant la période de reproduction en été, les rubans sont au plus large ensuite, ils s'amenuisent en automne. Le cycle biologique de l'espèce est digénétique isomorphe qui implique l'alternance de deux générations : diploïde (sporophyte) et haploïde (gamétophyte) [173] En effet, l'espèce est au repos durant la période hivernale

(décembre - avril) ensuite elle enclenche une période de reproduction ou de développement pendant le printemps (avril - juin).

Écologie : La fougère de mer est pérennante et cosmopolite, qui peut être rencontrée sur les rochers peu éclairés, c'est une espèce sciaphile (besoin d'ombre) de l'étage infralittoral et de l'étage circalittoral [162,170]. En atlantique l'espèce est rencontrée sous les frondes des laminaires. En Méditerranée, l'espèce préfère les biotopes photophiles, un milieu fortement illuminé.

4.2 Etat des connaissances sur la composition chimique de la fraction volatile et/ou de l'huile essentielle de l'espèce *Dictyopteris polypodioides*

Les différentes études chimiques sur l'espèce *D. polypodioides* synonyme de *membranacea* [20, 23, 43, 45, 145, 174] ont montré qu'à l'instar des autres espèces du genre *Dictyopteris*, les FVs et HEs renferment une série d'hydrocarbures en C 11 qui jouent le rôle de phéromones sexuelles [126] et/ou d'autres rôles probablement non élucidés, mais aussi une quantité importante de produits soufrés notamment 3-hexyl-4,5-dithia-cycloheptanone et des acides gras saturés et insaturés [23, 45, 49,134]. Une étude récente [175] a permis l'isolement d'une série de métabolites soufrés, dont quelques-uns ont été déjà isolés dans d'autres espèces du genre *Dictyopteris* mais pas dans l'espèce *D. polypodioides*. La présence des acides gras justifie leur intervention dans le processus de biosynthèse des polyènes et des produits soufrés. Il a été révélé également la variation de la composition chimique en fonction du procédé d'extraction, c'est ainsi que la FV obtenue par hydrodistillation assistée aux microondes focalisés contient une teneur importante en sesquiterpènes complètement inexistant dans les fractions volatiles obtenues par hydrodistillation classique et par extraction dioxyde de carbone supercritique [45]. Il y a lieu de noter que les revues bibliographiques des études chimiques réalisées sur *D. polypodioides* ont clairement montré le lien étroit entre la composition chimique et l'origine de l'espèce [23, 45, 145], mais aussi sur le processus d'extraction [23]. Il est bien établi que les paramètres du milieu marin (pH, salinité, composition nutritive et contaminants) ont une incidence directe sur la diversité des algues marines [176-178], les changements dans les communautés microbiennes marines [179], la biosynthèse et la bioactivité des métabolites primaires et secondaires [180].

4. 3 Activités antimicrobienne des extraits et huiles de *Dictyopteris polypodioides*

L'étude de l'activité antimicrobienne de la FV et extraits de *D. polypodioides* a fait l'objet d'un nombre remarquable de travaux reportés dans la littérature. Ainsi, l'HE de *D. membranacea* récoltée en Turquie évaluée sur un certain nombre de souches à une concentration de 0.015 µg/disk n'a pas montré d'activité vis-à-vis aux souches étudiées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui a montré une faible sensibilité [43]. Toute fois et selon la même étude, les extraits obtenus par l'hexane et à un degré moindre par le chloroforme ont montré des activités relativement intéressantes vis-à-vis des 9 souches étudiées [43]. La littérature a rapporté également [181] les activités antifongiques de *Dictyopteris membranacea* ainsi que d'autres algues marines (*Cystoseira barbata*, *Cystoseira compressa*) contre les levures et les champignons.

Les extraits obtenus par l'éthanol, l'éther de pétrole, le chloroforme et l'acétate d'éthyle à partir de *D. membranacea* récoltée en Egypte ont montré une activité intéressante vis-à-vis des souches étudiées [145]. La même étude a révélé une forte activité anti-inflammatoire de l'extrait chloroformique suivi de l'extrait éthanolique [145]. Il y a lieu de noter que l'espèce *D. polypodioides* est assez riche en acides gras, en lipides et en polysaccharides sulfatés [182, 183] connus pour leur activité antioxydante, anticoagulante, antitumorale, anticoagulante, antivirale, gastroprotectrice et hypolipidémique [183-185].

L'espèce *D. polypodioides* récoltée en Tunisie a fait l'objet de diverses études d'activités biologiques [174]. Ainsi, les fractions d'extraits obtenues par l'acétone et l'éthanol à partir de l'extrait brut (CH₂Cl₂/MeOH : 1/1) ont montré des activités antibactérienne, antifongique et antituberculeuse considérable. La même source révèle l'absence de génotoxicité de l'extrait brut et des fractions d'extraits. La même espèce récoltée en Tunisie a été utilisée pour préparer des extraits organiques avec l'acétate d'éthyle et le chloroforme et des extraits aqueux lyophilisés [186]. Les extraits organiques et aqueux préparés ont exhibé une forte activité anti-inflammatoire [186]. Les extraits organiques ont montré une grande activité antioxydant et une activité antimicrobienne modérée vis-à-vis des souches et champignons étudiés [186]. Cependant, l'extrait aqueux a affiché une forte activité antibactérienne [186]. L'espèce *D. membranacea* issue de ce même pays a fait l'objet de travaux portant sur la détermination de la génotoxicité et la cytotoxicité de fractions semi-purifiées à partir de l'extrait brut par extraction en phase solide (EPS) [187]. Les fractions semi-purifiées n'ont montré aucune génotoxicité et de cytotoxicité remarquables.

Une étude chimique sur l'espèce *D. membranacea* récoltée en Grèce a permis d'isoler le bis (3-oxo-undecyl) disulfide et ses dérivés [175], il s'agit de métabolites soufrés assez répandus dans le genre *Dictyopteris* (& 3.2 et 4.2). L'un des métabolites soufrés isolé dans cette étude a montré une activité anti-inflammatoire. Des extraits organiques de *D. polypodioides* des îles Canaries, du Maroc, de la Libye et de la Turquie ont montré des activités antibactériennes et antifongiques contre certains micro-organismes pathogènes humains [188-191]. La variation du pouvoir antimicrobien peut être influencée par plusieurs facteurs tel que l'espèce algale, la souche bactérienne, le conditionnement de l'algue, la saison de récolte [192]. En outre, il serait intéressant de mener d'une part un criblage antibactérien mensuel afin de déterminer la période de l'année propice de la récolte de l'algue et d'autre part réaliser le fractionnement, la purification et la caractérisation des composés actifs dans l'objectif d'une valorisation de ces composés naturels.

5. Etude systématique et chimique de *Dictyota Dichotoma*

5.1 Systématique de *Dictyota dichotoma*

L'espèce *Dictyota dichotoma* est appelé aussi l'algue fourchue comme un nom communs français. Elle admet un autre nom scientifique *Ulva dichotoma* Hudson 176 [193].

La position systématique de l'espèce est la suivante [160, 194] :

Domaine	<i>Eukaryota</i>
Règne	<i>Chromista</i>
Embranchement	<i>Ochrophyta</i>
Classe	<i>Phaeophyceae</i>
Ordre	<i>Dictyotales</i>
Famille	<i>Dictyotaceae</i>
Genre	<i>Dictyota</i>
Espèce	<i>Dichotoma</i>

L'espèce admet les synonymes homotopiques et hétérotopiques suivants [195, 196]:

Synonymes homotopiques (5 noms)

Ulva dichotoma Hudson 1762

Zonaria dichotoma (Hudson) C.Agardh 1817

Fucus dichotomus (Hudson) Bertoloni 1819

Haliseris dichotoma (Hudson) Sprengel 1827

Dichophyllum dichotomum (Hudson) Kützing 1843

Synonymes hétérotopiques (27 noms), dont

Dictyota attenuata Kützing 1859

Dictyota dichotoma var. *elongata* (Kützing) Grunow 1874

Dictyota dichotoma var. *stenoloba* Hohenacker 1883

Dictyota dichotoma f. *latifrons* Holmes & Batters 1890

Dictyota dichotoma f. *attenuata* (Kützing) Vinassa 1892

Dictyota dichotoma f. *latifolia* (Kützing) Vinassa 1892

Description [197, 172, 160] : L'espèce *D. dichotoma* est caractérisée par un thalle aplati en lanières avec une ramification dichotome et des rameaux ayant la même longueur (vraie dichotomie) avec une extrémité arrondie de largeur variant de 5 à 10 mm (figure 1.11). L'algue se fixe au substrat par des rhizoïdes qui se terminent par des disques adhésifs. L'algue mesure de 10 à 25 cm et peut atteindre 50 cm (max.) en été, elle se présente avec une couleur du brun au vert et se caractérise par une iridescence bleue durant sa phase de croissance végétative, visible uniquement sous l'eau. L'espèce épiphyte d'autres organismes qui peuvent être des algues ou des gorgones [198].

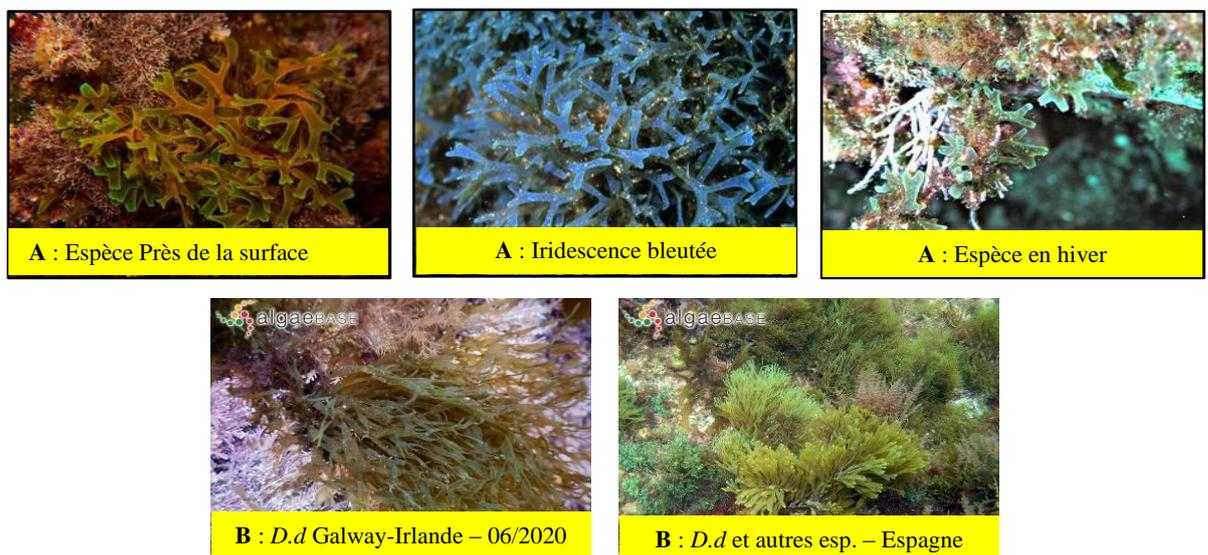


Figure 1.11 : *Dictyota dichotoma* (*D.d*) (Hudson) Lamouroux

A : Photos prise de la fiche de Buron D. et Coll. In : Doris, 04/12/2020 <https://doris.ffesmm.fr/ref/specie/614>

B : Photos prises de Algaebase : https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=60

Biotope [172,197, 199]

L'espèce, grâce à un disque formé de rhizoïdes, s'accroche à un substrat de roche. Elle se retrouve dans les fonds rocheux de la surface jusqu'à 30 m de profondeur et exceptionnellement jusqu'à 80 m. Elle est assez fréquente sur des rochers bien éclairés peu battus de l'étage infralittoral. Cette espèce d'algue peut être épiphyte sur d'autres algues.

Écologie [172, 199, 200]

D. dichotoma est une espèce annuelle, elle est distribuée en Atlantique, Méditerranée, mer Noire, mer Rouge et l'océan Indien. Elle est notamment abondante en été, les thalles peuvent disparaître en hiver. C'est une espèce qui peut également supporter un certain taux de pollution organique.

5.2 Composition chimique des espèces du genre *Dictyota***5.2.1 Diterpènes du genre *Dictyota***

Le genre *Dictyota* est sans aucun doute la source la plus prolifique en métabolites secondaires dotés de propriétés bioactives très intéressantes [201]. Des centaines de métabolites secondaires comprenant des terpènes, des phénols [202], des stérols [203], des acides gras [204] et des polysaccharides [205] ont été isolés à partir du genre *Dictyota*. Parmi ces métabolites figurent les diterpènes qui constituent une large classe couramment rencontrée dans les organismes marins parmi lesquels les espèces du genre *Dictyota* dont beaucoup d'entre eux sont dotés d'activités pharmacologiques [206-208]. De plus, les diterpènes du genre *Dictyota*, à travers leurs squelettes chimiques spécifiques, constituent un outil très précieux en chimiotaxonomie pour ce genre [209]. La littérature rapporte jusqu'à la fin de l'année 2017, l'isolement de près 233 diterpènes [115] dont la majorité sont issus de l'algue *D. dichotoma*. Les diterpènes isolés du genre *Dictyota* peuvent être répartis en trois groupes, cette classification est directement liée à la voie biosynthétique menant à l'obtention des squelettes types (figure 1.12), soit les réactions de cyclisation effectuées sur le précurseur des diterpènes, en l'occurrence le géranylgeraniol [210].

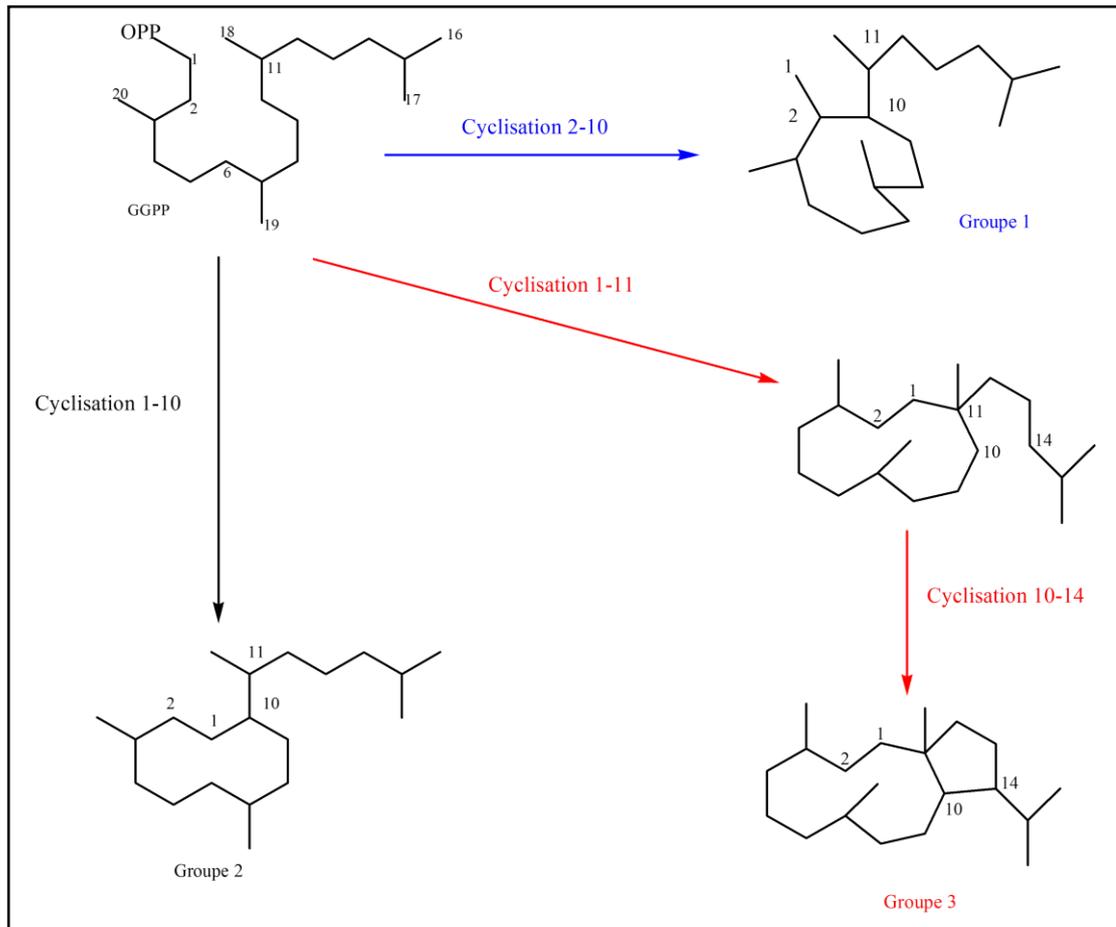


Figure 1.12 : Groupes de diterpènes du genre *Dictyota*

5.2.1.1 Diterpènes de groupe I

Le groupe 1 regroupe le squelette de diterpène obtenu par cyclisation du géranylgéraniol entre C1 et C10 [209]. Les diterpènes affiliés à ce groupe sont majoritairement les diterpènes type guaiane prénylés (rallongé d'une unité isoprénique). La littérature fait état de l'isolement de diterpènes type germacrène prénylés [211], des diterpènes type epi-élémane [212] et deux diterpènes type cadinane prénylés [213]. Jusqu'à la fin de l'année 2017, la littérature rapporte l'isolement et la caractérisation de 58 diterpènes du groupe 1 dont 47 diterpènes type guaiane prénylés [114]. La figure 1.13, regroupe quelques diterpènes du groupe I appartenant aux différents types de squelettes.

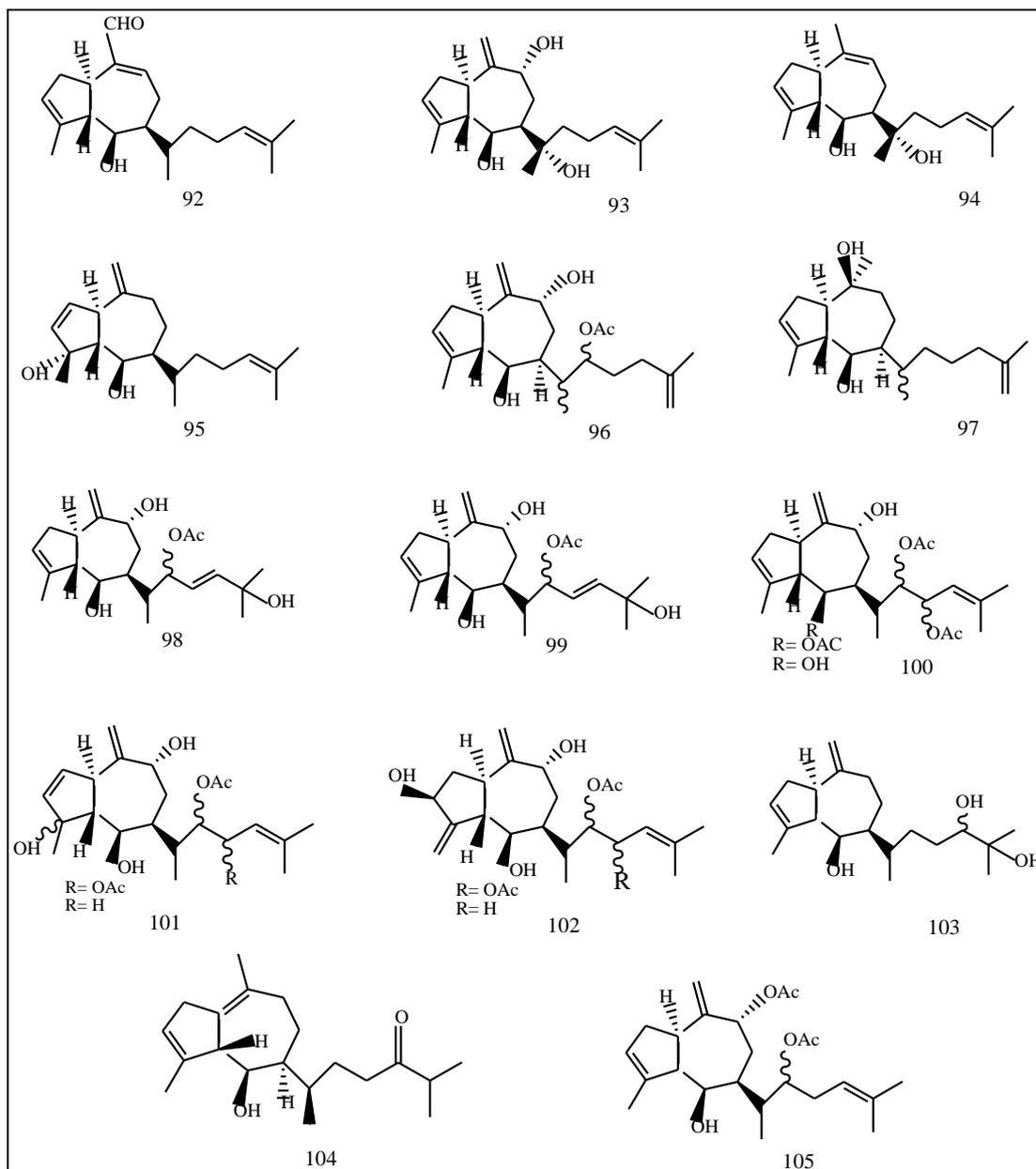


Figure 1.13 : Exemples de diterpènes du groupe 1

5.2.1.2 Diterpènes de groupe II

Le groupe II regroupe le plus grand nombre de diterpènes. Les diterpènes appartenant à ce groupe sont les dérivés d'un squelette obtenu par cyclisation du géranylgeraniol entre C1 et C11 [209]. Le squelette diterpénique obtenu permet d'obtenir les diterpènes de type dolabellane, dolastane, secodolastane, etc... Au totale, ils sont environ 120 diterpènes isolés des espèces du genre *Dictyota* [213] à la fin de l'année 2017. La figure 1.14 regroupe quelques diterpènes appartenant à ce groupe.

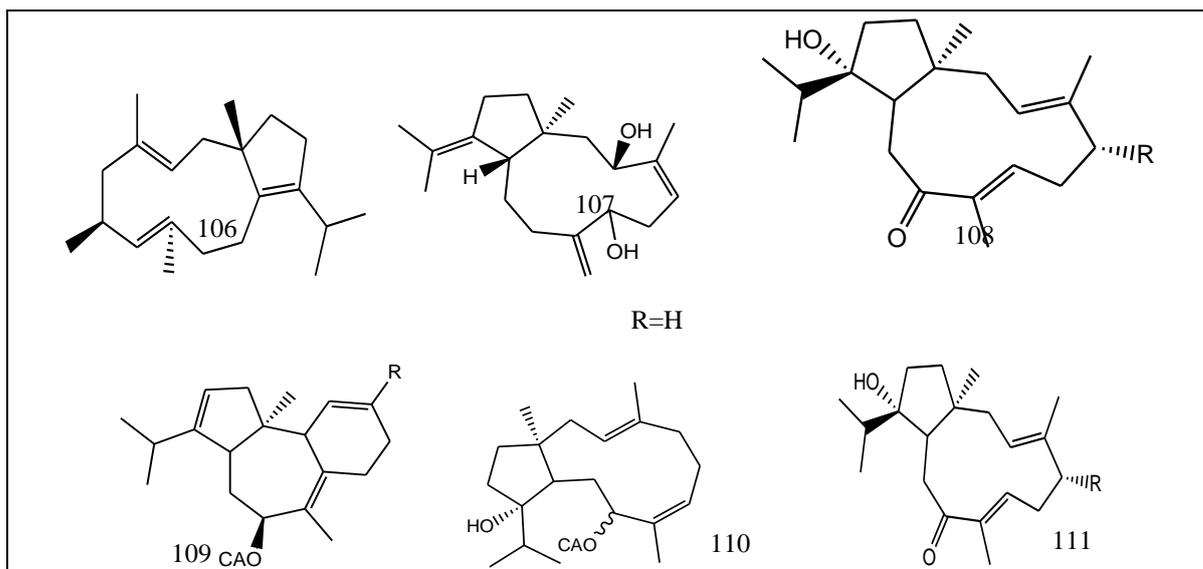


Figure 1.14 : Exemples de diterpènes appartenant au groupe II

5.2.1.3 Diterpènes du groupe III

Les diterpènes dérivent de la cyclisation du précurseur géranylgéranol entre C2 et C10 ou par contraction du cycle de germacrene prénylé [213]. Les principaux diterpènes de ce groupe sont de type Xénicane. Ils subissent des réactions d'oxydation, d'époxydation, de condensation et autres pour donner lieu à des structures monocycliques, bicycliques et tricycliques. 40 diterpènes de xénicane ont été isolés à partir des espèces du genre *Dictyota*, environ 58 diterpènes ont été isolés jusqu'à l'heure actuelle [213]. La figure 1.15 regroupe quelques diterpènes appartenant au groupe III.

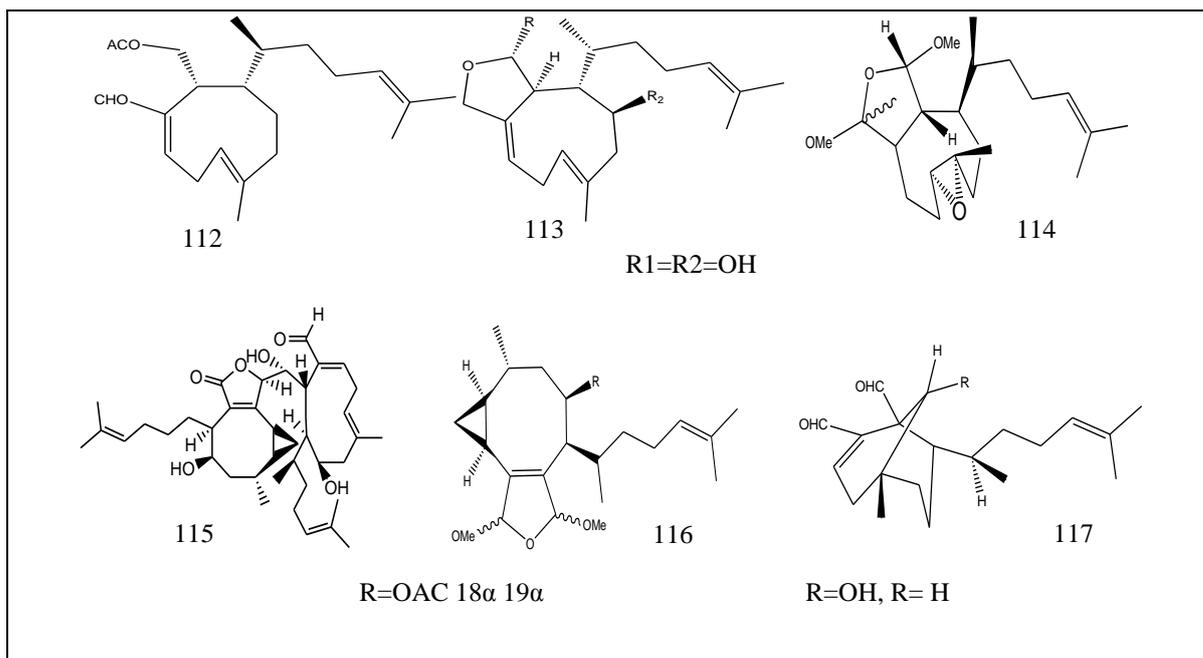


Figure 1.15 : Exemples de diterpènes du groupe 3

5.2.1.4 Activités biologiques des diterpènes du genre *Dictyota*

Des squelettes chimiques très intéressantes des diterpènes appartenant aux trois groupes et qui au regard de leurs spécificités structurales sont un atout formidable en chimiotaxonomie, il est important de le noter qu'ils sont dotés d'un large spectre d'activités biologiques comprenant : l'activité antivirale [214], l'activité antitumorale [215], l'activité antifouling [216], l'activité cytotoxique [217], l'activité anti-oxydante [215], l'activité antibiotique [218], l'activité antiinflammatoire [219], l'activité antibactérienne [220] et l'activité antifongique [221].

5.2.2 Sesquiterpènes et monoterpènes du genre *Dictyota*

Il faut noter que le groupe I de diterpènes est formé directement à partir d'un squelette sesquiterpénique qui est le guaiane par prénylation (appelés communément extended sesquiterpenes). Autrement dit, les 47 diterpènes de guaiane prénylés affiliés au groupe II ont un caractère de sesquiterpénique avant qu'il soit des diterpènes. En plus des diterpènes cycliques, des sesquiterpènes cycliques ont été isolés de l'espèce *D. dichotoma* [222,223].

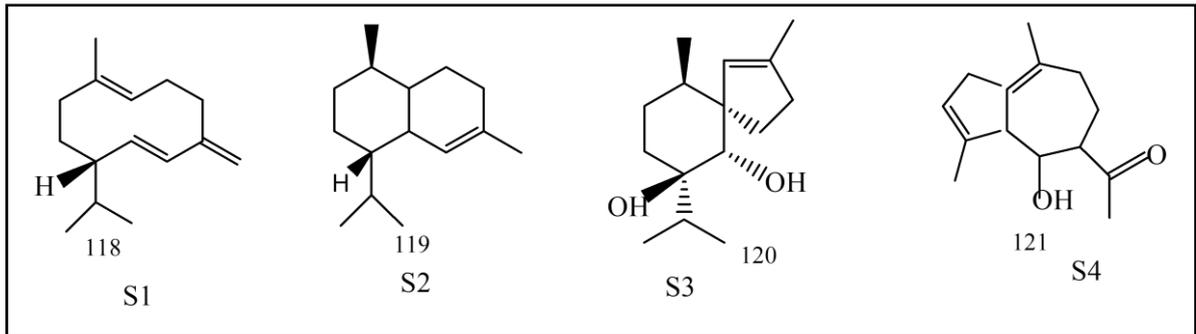


Figure 1.16 : Sesquiterpènes cycliques de *D. dichotoma*

Le composé S1 est pourvu d'une structure cyclique correspondant au squelette dilophane non prénylé. Le composé S2 possède une structure bicyclique qui dérive directement de S1 via une cyclisation. Le composé S3 est caractérisé par la présence d'un carbone spiranique unique dans les algues du genre *Dictyota*.

Les trois composés ont été isolés auparavant dans l'algue brune *Taonia atomaria* appartenant à la famille des *Dictyotaceae* [224]. Le composé S4, marqué par son squelette azulénique, est norsesquiterpène retrouvé chez les dictyanes du groupe I. Les composés décrits sont volatils et possèdent en général de fortes odeurs contribuant dans « l'odeur de la plage ». La bibliographie ne fait pas état de l'isolement de monoterpènes caractéristiques dans les espèces du genre *Dictyota*. Par ailleurs, il est important de noter la présence de molécules assez communes aux algues brunes et qui ont été rencontrés dans les espèces de *Dictyota*, on peut citer :

- Des stérols comme le fucostérol (stérol majoritaire chez les algues brunes) et le saringostérol [225].
- Les pigments β -carotène et la fucoxanthine qui sont en fait les deux principaux pigments chez les phéophycées.
- Les fucoïdanes des polysaccharides sulfatés couramment rencontrés dans les algues brunes et qui sont dotés de fortes activités antioxydantes [226].
- Des hydrocarbures intervenant comme phéromones au niveau de la reproduction et qui peuvent être impliqués dans la défense chimique [130].

6. Composition chimique des fractions volatiles et ou huiles essentielles de l'espèce *Dictyota dichotoma*

La littérature ne rapporte pas une étude rigoureuse sur l'étude chimique de l'HE de *D. dichotoma*. Les rares études antérieures [227] font état notamment de la présence dans la composition chimique de l'HE d'hydrocarbures, de sesquiterpènes (β -Cubebene, β -

Eudesmol, β -Ionone, Dactylo, Pachydictol A), des aldéhydes (Myristaldéhyde, hexadécanal, (Z) -13-octadécenal). L'espace de tête de *D. dichotoma* a fait l'objet de travaux et a révélé que les sesquiterpènes sont les principaux constituants. Il s'est avéré que le germacrène est le produit majoritaire avec 28% dans l'espace de tête de *D. dichotoma* [228]. D'autres sesquiterpènes ont été également identifiés comme le bicyclogermacène, bicyclo sesquiphellandrene, δ -cadinène, γ -cadinène, β -cadinène et le trans-cadina-1,4-diène. L'étude a montré la présence de l'épizonarène qui pourrait être formé directement à partir du germacrène D ou d'autres cadinènes intermédiaires. Il a été suggéré que la cyclisation du germacrène D ou de son isomère endocyclique à double liaison pourrait conduire à la formation de sesquiterpènes type bourbounène et de copaène.

8. Etudes métabolomiques

8.1 Généralités sur la métabolomique

Le métabolome constitue le produit terminal après le génome et comporte toutes les molécules, appelées métabolites, à bas poids moléculaire (< 1000 Da) d'une cellule, d'un tissu ou d'un organisme intervenant dans la croissance, le maintien ou le fonctionnement normal dans un état physiologique spécifique [229]. La métabolomique se focalise sur l'analyse de l'ensemble des métabolites (métabolome) dans les échantillons biologiques dans un état bien défini [229-231]. Outre l'analyse, la métabolomique se concentre sur l'identification et quantification des métabolites du système étudié dans ses conditions spécifiques [230]. Le métabolome comporte tous les composés engagés dans le métabolisme sous forme d'un substrat, produits ou effecteurs. Par conséquent, il est dynamique et englobe toutes les substances organiques naturellement produites par le métabolisme du système étudié. Il comporte également les xénométabolites. Il s'agit de métabolites issus d'autres systèmes biologiques que ceux de l'organisme hôte [232], il s'agit notamment des xénobiotiques (médicaments, pesticides, produits chimiques du milieu environnant...) et de leurs produits de dégradation. Par voie de conséquence, un métabolite est tout composé organique non directement issu de l'expression des gènes [233], il englobe les acides aminés, les sucres, les acides organiques, les acides gras, les nucléotides, les vitamines, les stéroïdes, [234]. Le profilage métabolomique est une signature métabolique, il constitue un outil scientifique puissant et précieux dans l'analyse d'un groupe de petites molécules. Le profilage a pour objectif l'identification de

biomarqueurs potentiels pour l'étude d'un état physique, d'un stress ou d'une maladie [235]. Grâce à ses performances analytiques, le profilage a acquis une notoriété dans la classification des aliments [236,237], grâce à son approche non ciblée avec l'objectif de rassembler le maximum d'informations moléculaires métaboliques des aliments. La métabolomique peut élucider des relations inattendues et des réactions métaboliques qui peuvent par voie de conséquence mener à des hypothèses. C'est ainsi que la métabolomique est entrain de conquérir un nombre croissant de domaine et d'applications, notamment dans les sciences de l'environnement pour objectif de la compréhension des réactions liées aux facteurs de stress abiotiques (facteurs naturels tels la température et les facteurs anthropiques comme la pollution). La métabolomique environnementale s'attèle à caractériser les interactions des organismes avec leur environnement.

8.2 Etat des lieux des approches métabolomiques

La complexité du métabolome a mené à la mise en place de plusieurs stratégies d'analyses. L'approche préconisée découle essentiellement des objectifs de l'étude. Les stratégies métabolomique ont été divisées en deux approches distinctes, non ciblées et ciblées, ayant chacune ses avantages et ses inconvénients [238] (figure 1.17).

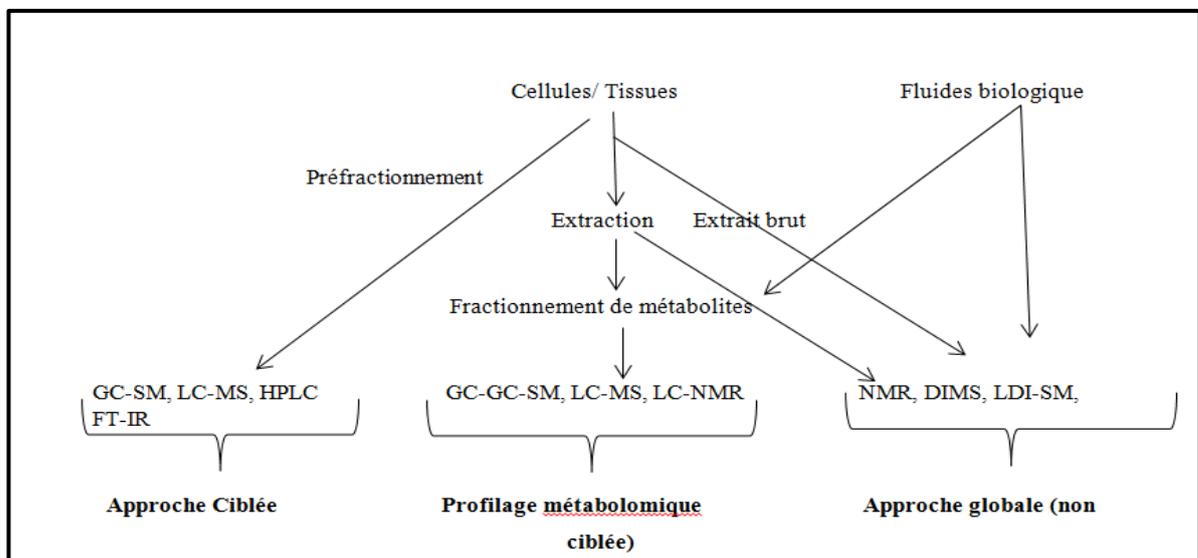


Figure 1.17 : Approches et techniques analytiques employées en métabolomique

a) La métabolomique non ciblée (*approche globale*) est l'analyse complète de tous les métabolites mesurables dans l'échantillon, y compris les composés chimiquement non élucidés. En raison de la complexité du mélange et de sa nature globale, les métabolomes non ciblés doivent être couplés à des techniques chimiométriques avancées comme

l'analyse multivariée pour réduire les ensembles de données. Les échantillons analysés dans les études non ciblées consistent globalement en des extraits obtenus par un solvant approprié à partir d'un échantillon biologique. Les techniques analytiques utilisées pourraient être par exemple, spectrométrie de masse, la chromatographie liquide haute performance et l'objectif reste une quantification relative. Il s'agit d'une empreinte permettant de déceler tous les métabolites présents et rechercher par la suite les métabolites discriminants et témoins de perturbations métaboliques.

Enfin, Il est important de souligner que le profilage métabolomique est une variante de l'approche globale qui consiste à étudier quantitativement un groupe de métabolites appartenant à la même famille ou issu de la même voie de biosynthèse [238, 239].

b) La métabolomique ciblée étudie des métabolites (ou familles de composés) préalablement sélectionnés (résultats de recherches antérieurs) et impliqués dans des voies métaboliques bien particulières [239, 240]. Les études ciblées analysent un nombre relativement limité et spécifique de métabolites, qui pourraient aller jusqu'à 20 métabolites. Les métabolites ciblés sont chimiquement caractérisés en amont et d'une importance biologique pour le système. Les méthodes ciblées sont caractérisées par leur sélectivité et leur sensibilité. Les analyses sont réalisées selon une méthodologie normée. La quantification est effectuée selon des procédures de dosage bien adaptées tel que l'étalonnage interne. La préparation des échantillons avant l'analyse est menée de manière à conserver les métabolites d'intérêts et éliminer d'autres artéfacts.

En termes pratiques, les approches métabolomiques ont été largement utilisées pour comprendre et interpréter les réponses aux stimuli (signaux) environnementaux chez les levures et bactéries [241,242] et ont également été appliquées chez les plantes et les systèmes eucaryotiques supérieurs [243]. Les études métabolomiques sur les bactéries, les levures et les plantes ont été d'une grande utilité pratique en biotechnologie [244, 245].

8.3 Approches techniques pour l'analyse du métabolome

La variété des classes chimiques et des propriétés physiques qui constituent les métabolites justifie la nécessité d'utiliser une vaste gamme de techniques analytiques dans l'analyse métabolomique. Les approches analytiques utilisées pour identifier les changements dans les concentrations et les flux de métabolites endogènes comprennent notamment [246,247] :

- Les techniques séparatives comme la chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur d'ionisation de flamme (CG-DIF), la chromatographie liquide haute performance avec un détecteur à barrette de diode
- Les techniques de caractérisation structurale comme la résonance magnétique nucléaire RMN ^1H et ^{13}C mono et bidimensionnelle, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) et la chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS).

8.3.1 Utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à spectrométrie de masse en métabolomique (CG/SM)

La CG/SM est la technique la plus utilisée actuellement dans l'analyse métabolomique à cause de ses performances dans l'identification et la quantification de certains métabolites dans les échantillons. Le temps d'analyse relativement court de l'analyse associés à des coûts de fonctionnement assez faibles sont des avantages importants de la CG/SM. Les métabolites polaires sont soumis à des techniques de dérivation pour améliorer leur volatilité avant d'être injecté dans la colonne chromatographique. Concernant la détection, le détecteur à temps de vol (TOF-MS : time of flight mass spectrometry) est devenu le meilleur choix en raison de ses nombreux avantages, notamment le temps de balayage rapide, qui permet une amélioration de la déconvolution et qui par conséquent réduit le temps de traitement des mélanges complexes, et une précision sur la masse relativement élevée [248]. L'avantage crucial de cette technologie réside dans le fait qu'elle a longtemps été utilisée pour le profilage des métabolites ; des protocoles stables ont été développés pour l'installation et l'entretien des machines ainsi que pour l'évaluation et l'interprétation du chromatogramme [249]. La robustesse du protocole signifie que les bibliothèques des données sur le temps de rétention et les spectres de masse pour les composés standards peuvent être partagées [250]. Toutefois, l'utilisation de la CG/SM se limite à des composés volatils thermiquement stables, ce qui rend difficile l'analyse des composés de poids moléculaire élevé (>1 kDa).

8.3.2. Utilisation de la chromatographie en phase liquide couplée à spectrométrie de masse en métabolomique (LC/SM)

Le domaine d'analyse de la chromatographie liquide est nettement plus large. La disponibilité d'une large gamme de colonnes comprenant la phase inverse, l'échange d'ions, les colonnes d'interaction hydrophobe permet la séparation de diverses classes de

métabolites en fonction de leurs propriétés chimiques. La mise en place de la chromatographie liquide ultraperformante (UPLC) a rendu cette technique plus puissante et a augmenté les performances de séparation et d'analyse [251]. Le couplage de la chromatographie liquide (HP et/ou UP) avec la spectrométrie de masse a permis l'analyse de matrices complexes obtenues à partir de divers organismes [252]. C'est devenu un outil analytique de choix dans l'analyse métabolomique qui se trouve quelques fois confronté à des systèmes chimiques très complexes [253].

La souplesse de la méthode permet aux chercheurs d'identifier des métabolites avec des structures très complexes, néanmoins, le développement de base de données (bibliothèques) spectrales large est assez difficile par rapport à la CG/SM et d'autres techniques pour diverses raisons. Toutefois, il existe des data bases spécifiques pour des classes chimiques [254] et qui appartient au chercheur de les développer par rapport à sa thématique de recherche. Il y a lieu de noter que la chromatographie liquide (HP et/ou UP) a été pendant longtemps couplé à un spectromètre de masse avec un système d'ionisation à électrospray (ESI), on assiste actuellement à la mise en place d'autres systèmes d'ionisation (APCI, MALDI,..) et d'analyse (Q, TOF, QTOF, ...) ainsi que les systèmes tandem (MS/MS) comme la LC/ESI/QQQ ou la LC/ESI/QTOF.

8.4. Application de l'approche métabolomique

Nous avons expliqué que la métabolomique pourrait analyser de manière exhaustive une large gamme de systèmes chimiques dans un état donné, ou en fonction du temps (mesure dynamique). A cet effet, elle a été appliquée à l'environnement pour examiner les interactions de l'organisme avec son milieu environnant [255] avec la détermination de biomarqueurs utilisés dans l'évaluation des risques d'exposition aux substances toxiques et la réaction métabolique aux facteurs de stress environnementaux ainsi que la surveillance des maladies. D'autres applications ayant ciblés les organismes aquatiques [256] et la métabolomique environnementale [257] ont été reportés dans la bibliographie. Mais probablement, c'est le secteur biomédical qui est entrain de bénéficier le plus du développement scientifique et technologique de la métabolomique. La littérature a recensé un nombre incalculable de travaux portant sur l'application de la métabolomique. Nous citons à titre d'illustration, l'utilisation de la métabolomique dans l'élucidation des causes de l'asthme infantile [258], dans la néphropathie diabétique [259] et la transplantation rénale [260].

8.5. Approches métabolomiques appliquées aux algues marines

Au cours des dernières années, le profilage des métabolites des algues était surtout axé sur l'identification des lipides et leurs dérivés [261-262] et certains métabolites secondaires impliqués dans des réactions de défense comme les acides aminés de type mycosporine, les isoflavones et les composés halogénés [263-264]. Toutefois, il manque des études comparatives à grande échelle sur la métabolomique des macroalgues marines. Le profilage chimique des extraits d'algues marines se limitait à l'identification et à la quantification ciblée de certaines classes de composés pertinents dans le contexte des utilisations économiques et/ou de l'écophysiologie de ces organismes. Les extraits aqueux ont été particulièrement étudiés pour mesurer des composés dérivés du métabolisme du carbone tels que les nucléotides du sucre, les polyols, les polysaccharides de stockage et de paroi cellulaire, à l'aide de détecteurs d'ionisation de flamme CG (DIF), CG-SM, HPLC ou RMN [265]. Le profilage des pigments a également été très utilisé pour décrire les différents taxons d'algues, avec des différences qualitatives majeures observées entre les lignées principales d'algues (algues rouges, algues vertes, Rhizaria, Dinoflagellates, Stramenopiles) [266]. Il a été rapporté l'influence de différentes techniques d'extraction (SFE, microonde, hydrodistillation) de la FV de *Dityopteris membranacea* sur la composition de métabolites, déterminée par CG/SM, impliqués dans la défense chimique de l'espèce [45]. Dans le même cadre, nous citons l'étude de la variation de la teneur des acides gras et de leurs dérivés oxygénés dans l'algue géante *Laminaria digitata* dans des conditions de stress par LC/SM [267, 268]. Pour fermer cette section sur les macroalgues, il est intéressant de noter qu'il existe un certain nombre d'analyses qui ont été effectuées pour évaluer les différentes capacités métaboliques des algues, en particulier la production d'acides gras [269-271]. D'autres part, Il n'y a qu'un nombre limité d'analyses métabolomiques récentes de microalgues qui ont été menées en utilisant des approches basées sur la SM, et la plupart d'entre elles concernent des diatomées [272]. D'après notre propre revue bibliographique, il n'y a pas de travaux portant sur l'application de la métabolomique sur les HEs des macroalgues et de même sur les microalgues.

CHAPITRE 2

ETUDE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES ET FRACTIONS VOLATILES DE *DICTYOPTERIS POLYPODIOIDES* ET DE *DICTYOTA DICHOTOMA*

Introduction

L'espèce *D. polypodioides* a été objet de beaucoup de travaux de recherche comme rapporté dans la synthèse bibliographique (§3.2). Ces travaux ont porté sur l'aspect chimique mais également sur les activités biologiques. La sélection d'une telle espèce pour la présente étude est un choix qui semble être risqué au regard de ce qu'a été réalisé dans les travaux antérieurs. Néanmoins, des études poussées confirment la variation de la population algale liée à des considérations écologique, environnementale mais notamment de pollution sous ses différentes formes liquides, solide et anthropique [273, 274]. En effet, les impacts environnementaux et nutritionnels constituent une réelle menace sur la distribution des algues au niveau du littoral et par conséquent de l'écosystème marin. A cet effet, plusieurs espèces disposent des propriétés de biomoniteurs potentiels de pollution [44, 275, 276] peuvent témoigner des dégâts occasionnés au milieu marin. Cette situation a un impact direct sur la composition chimique et le comportement de l'espèce au niveau de la biosynthèse. Cette situation écologique a des effets directs sur la variation de la composition qui pourrait être reliée également à plusieurs autres facteurs comme la période et le site de récolte [277], et notamment le procédé d'extraction [45].

Tout ce que nous avons énuméré ci-dessus justifie pleinement notre choix de l'espèce *D. polypodioides*. Nous avons réalisé un travail expérimental portant sur une étude chimique comparative de la FV obtenue par hydrodistillation à partir d'un extrait brut et une HE obtenue par hydrodistillation à partir de l'algue sèche. En se référant à la bibliographie, cette étude n'a jamais fait l'objet de travaux antérieurs. L'étude chimique est complétée par la détermination des activités antimicrobiennes de la FV et de HE.

L'espèce *D. dichotoma* du genre *Dictyota* est incontestablement l'une des espèces d'algues les plus riches en métabolites secondaires, des travaux énormes ont été consacrés à cette espèce [205, 227-228, 278-279] et ayant conduit à l'isolement et la caractérisation d'un nombre considérable de métabolites secondaires notamment des diterpènes [114].

Le choix de mener des travaux de recherche sur cette espèce nous a semblé tout à fait justifié par rapport à sa richesse en métabolites secondaires, mais aussi par rapport aux critères liés au lieu et à la saison de récolte qui peuvent influencer considérablement la composition chimique de l'espèce. Nous allons effectuer sur cette espèce une étude chimique des HEs et de la fraction de l'espace de tête.

Pour chacune des deux espèces, nous avons effectué deux parties distinctes.

La première partie est consacrée à la préparation des HEs par hydrodistillation et des fractions volatiles à partir des extraits bruts suivis par une analyse par CG/SM pour l'identification de la composition chimique et une analyse par CG/DIF pour la détermination du pourcentage des différents constituants. Il est important de noter que nous avons eu l'opportunité de préparer et de réaliser l'analyse chimique de la fraction de l'espace de tête de l'espèce *D. dichotoma* obtenue par microextraction en phase solide grâce à une seringue bien adaptée comprenant la fibre sur laquelle est greffée, suivi de son injection en CG/DIF et CG/SM.

La seconde partie est réservée à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des HEs et FVs, nous avons fait appel à la méthode des antibiogrammes et des microdilutions. Elle est suivie par la détermination de concentration minimale inhibitrice pour les huiles étudiées.

Les deux parties sont complétées par une discussion approfondie sur la variation de la composition chimique par rapport à la technique d'extraction utilisée ainsi qu'à la répartition des différentes classes chimiques au sein de la composition chimique globale.

Ce chapitre comprend :

1. Méthodologie expérimentale : Elle regroupe les méthodes expérimentales développées et appliquées durant cette étude. Nous allons donner les conditions de récolte du matériel algal, de la préparation des fractions volatiles, de l'analyse chimique par CG/SM et par CG/DIF et enfin la détermination de l'activité antimicrobienne.
2. Résultats et discussion : Elle rassemble les résultats obtenus suivi des interprétations et discussions apportées. Afin de ne pas trop encombrer ce chapitre, certaines figures et tableaux sont renvoyés au niveau de la partie des appendices.

1. Méthodologie expérimentale

1.1 Récolte et traitement du matériel algal

Les espèces d'algues étudiées à savoir, *D. polypodioides* et *D. dichotoma*, ont été récoltées sur les côtes méditerranéennes algériennes, au niveau du complexe la Corne d'Or (36° 37' 32, 91 N, 2° 24' 20.61 E) situé à l'entrée Est de la ville de Tipaza, le choix du site est lié à des considérations de disponibilité des espèces recherchées mais aussi à des commodités techniques. Les deux espèces ont été identifiées par Prof. H. Seridi au niveau du Laboratoire d'Océanographie Biologique et Environnement Marin (LOBEM) - USTHB - Algérie, un spécimen de Voucher pour les deux espèces est déposé au niveau de l'herbier du même laboratoire. La première espèce a été identifiée par rapport un spécimen de voucher ((HS N° 176) comme étant *D. polypodioides* (A.P. De Candolle) J.V. Lamouroux (basionyme : *Ulva polypodioides* A.P. De Candolle) [164]. *D. polypodioides* est connue sous plusieurs appellations, le nom *D. membranacea* est considéré comme le synonyme de *D. polypodioides* qui est le nom actuellement approuvé [163]. L'espèce a été récoltée durant toute la période s'étalant de mai 2017 à mai 2018, une partie des échantillons a été utilisée pour une étude cinétique. La seconde espèce a été également identifiée en comparaison à un spécimen de voucher (HS N° 233) comme étant *Dictyota dichotoma* (Hudson) Lamouroux. L'espèce a été récoltée durant la période avril - juin 2018. Après la récolte, les algues ont été séchées à l'ombre, à l'air libre, dans un lieu sec, pendant 4 semaines jusqu'à déshumidification quasi-totale. Ensuite, elles ont été triées manuellement afin d'éliminer tous types d'épiphytes (algues, coquilles, ...) qui peuvent être une source de contamination. Pour l'espèce *D. dichotoma*, le travail expérimental a été effectué sur deux échantillons d'algue : l'algue fraîche et l'algue sèche. Des photos personnelles ont été prises pour les deux espèces, elles sont données par la figure 2.1.

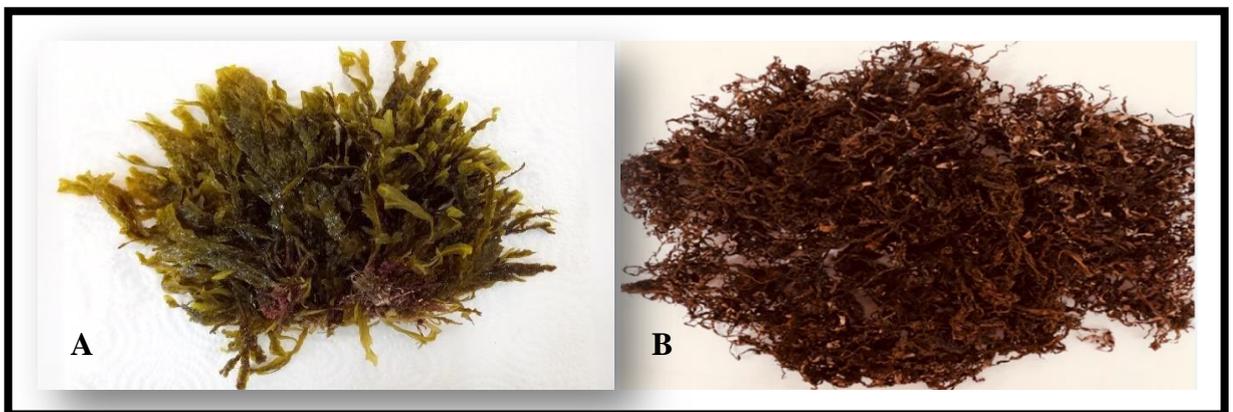


Figure 2.1 : Photos personnelles des deux espèces d'algues
A : *Dityopteris polypodioides* B : *Dictyota dichotoma*

1.1.1 Détermination du taux d'humidité

Nous avons utilisé la méthode classique à savoir un séchage dans un endroit sec et aéré jusqu'à ce que la masse de l'algue reste constante.

L'humidité relative (H) est calculée selon la relation suivante :

$$H (\%) = \frac{M_F - M_S}{M_F} * 100$$

M_F : masse d'algue fraîche

M_S : masse d'algue sèche

1.2 Extraction des huiles essentielles et fractions volatiles de *D. polypodioides* et *D. dichotoma*

1.2.1 Extraction des huiles essentielles

Les HEs des deux espèces ont été extraites à partir de 300 g d'algue sèche par hydrodistillation pendant 3 h. Cette méthode consiste à immerger la matière végétale dans l'eau, l'ensemble est ensuite porté à ébullition. La chaleur provoque l'éclatement des cellules sécrétrices et une libération des molécules odorantes qui trouvent à l'intérieur. Ces molécules forment avec la vapeur d'eau, un mélange hétéroazéotropique, la vapeur dégagée (chargée d'huile et eau) est condensée au niveau du réfrigérant. L'hydrolat (HE + eau) est récupéré au niveau d'un erlenmeyer déposé à la sortie du réfrigérant (figure 2.2). L'hydrolat est soumis à une extraction liquide-liquide avec l'éther diéthylique, le mélange se sépare en deux phases, une phase organique supérieure contenant l'HE dissoute dans l'éther, et une phase aqueuse inférieure contenant l'eau et une infime partie des produits hydrosolubles. La phase aqueuse est extraite de nouveau avec l'éther afin de récupérer au maximum l'HE. Par la suite, les phases organiques récupérées sont mélangées, séchées sur du sulfate de sodium ou de magnésium, afin d'éliminer toutes les traces d'eau et enfin distillées à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les HEs obtenues sont pesées, afin de calculer le rendement d'extraction, ensuite stockées dans des flacons ambrés à une température de l'ordre de 4°C pour des analyses ultérieures. Concernant l'espèce *D. dichotoma*, nous avons effectué des manipulations sur l'algue sèche et ensuite sur l'algue fraîche.



Figure 2.2: Montage d'extraction de l'huile essentielle par Hydrodistillation

1.2.2 Préparation de l'extrait brut de *D. polypodioides*

L'extrait brut a été préparé par macération dans l'éther diéthylique dans un système statique à la température ambiante. A cet effet, une masse de 300 g d'algue sèche ont été placées dans un flacon en verre, puis laissée macérée dans 2 L d'éther diéthylique pendant 7 jours. L'algue est extraite deux fois afin de l'épuiser au maximum, les miscellas (solvant + extrait) sont regroupés et ensuite filtrés. Le solvant est éliminé par évaporation rotatif à 40°C pour enfin obtenir un extrait brut ou concrète.

1.2.3 Extraction de la fraction volatile de *D. polypodioides*

La FV a été préparée à partir de l'extrait brut en utilisant un appareil de Dean-Stark modifié (figure 2.3). L'extraction consiste à faire subir à une masse d'extrait un entrainement à la vapeur d'eau dans un montage de Dean-Starck modifié. Le principe de la méthode consiste à placer le système de Dean Starck (figure 2.4) dans un ballon bicol (ou tricol) rempli au 2/3 d'eau et chauffé à ébullition. La vapeur formée pénètre à travers la tubulure du système de Dean-Starck modifié (contenant l'extrait brut) et provoque l'entrainement des composés volatils sous forme d'hétéroazéotrope, le mélange est condensé au niveau du réfrigérant. En effet, une masse de 300 mg d'extrait a été distillée à la vapeur d'eau pendant 1 heure, l'hydrolat récupéré subit le même traitement que celui effectué dans la préparation de l'HE. La FV obtenue est pesée, afin de calculer le rendement d'extraction, ensuite stockée dans un flacon ambré à une température de 4°C.



Figure 2.3 : Préparation de la fraction volatile à l'aide du montage Dean-Starck modifié

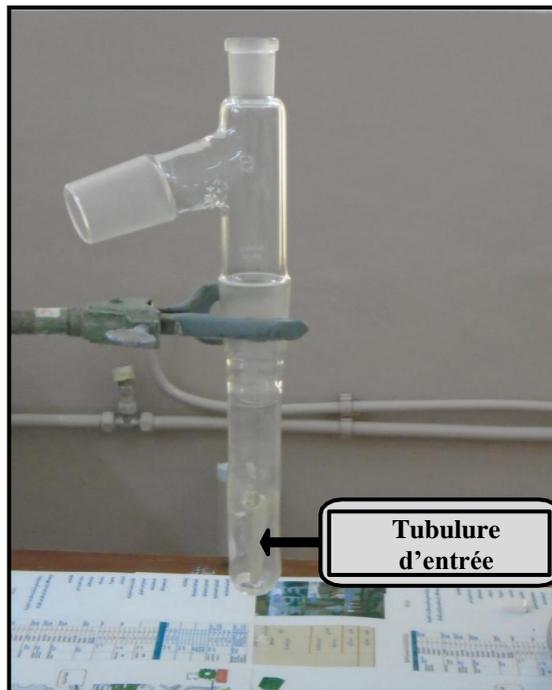


Figure 2.4 : Montage de Dean-Stark modifié

1.2.4 Préparation de la fraction d'espace de tête de *Dictyota dichotoma* par microextraction en phase solide

La micro-extraction en phase solide (MEPS) associée à la CG-SM a été effectuée pour l'extraction des composés volatils émis par l'algue *D. dichotoma*. Le système MEPS comprend une fibre de polydiméthylsiloxane / divinylbenzène (PDMS / DVB) de marque Shimadzu. La fibre a été conditionnée avant l'extraction selon le protocole décrit par le

fournisseur. Ce type de fibre est constitué de deux phases, la première phase liquide en Polydiméthylsiloxane (PDMS) qui sert à l'extraction des composés moins polaires, la deuxième phase solide le Divinylbenzène (DVB) pour extraire les composés les plus polaires, conduisant ainsi à l'extraction de composés volatils sur une large gamme de polarité. Pour étudier les composés organiques volatils extraits de l'algue *D. dichotoma*, une optimisation des paramètres d'extraction a été réalisée. La préparation de l'échantillon consiste à couper une masse de 2 g d'algue en petits morceaux. Ces derniers sont placés dans un flacon en verre de 5 ml et scellés hermétiquement avec des septums en PTFE / silicone. Les flacons sont maintenus dans un bain-marie à 50 ° C sous agitation pendant un temps d'équilibre de (15 min). Après échantillonnage, la fibre MEPS a été aspirée dans l'aiguille, retirée du flacon et insérée dans l'injecteur (250 ° C) du CG-FID et du CG-MS pendant 6 min où les substances volatiles extraites ont été désorbées thermiquement dans la Colonne GC. Pour valider la répétabilité de la méthode, l'analyse d'échantillon d'algue a été répliquée trois fois dans les mêmes conditions.

1.2.5 Calcul du rendement

Le rendement d'extraction d'HE η_{HE} est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile extraite M_{HE} et la masse d'algue (M_A) sèche. $\eta_{HE} (\%) = M_{HE}/M_A * 100$

Le rendement en extrait η_E s'exprime par le rapport entre la masse d'extrait (M_E) obtenu et la masse d'algue (M_A) sèche par la relation suivante : $\eta_E (\%) = M_E/M_A * 100$

Le rendement de la FV $\eta_{FV} (\%)$ est décrit comme étant le rapport de la masse de la FV M_{FV} rapporté à celle de la masse d'extrait M_E : $\eta_{FV} (\%) = M_{FV}/M_E * 100$

1.3 Analyse chimique des huiles essentielles, fractions volatiles et fraction de l'espace de tête par CG/SM et CG/DIF

Les HEs et les FVs ont été analysées par CG/SM pour un objectif de caractérisation et d'identification de la composition chimique. Elles ont été également analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG/DIF) pour déterminer les teneurs massiques des différents constituants. Les analyses par CG/DIF ont été effectuées sur un système GC2010 (Shimadzu, Kyoto, Japon). La séparation a été effectuée sur une colonne capillaire de silice fondue SLB-5ms (30 mx 0,25 mm de diamètre interne x 0,25 um df) (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne). L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur, à une vitesse linéaire constante de 30,0 cm/s ce qui

correspond à une pression d'entrée de 97,4 kPa. La température de l'injecteur a été fixée à 280 ° C. Les échantillons ont été dissous dans de l'acétate d'éthyle (10% p/p) puis 0,5 µL ont été injectés en mode division (split) avec un rapport de division (split ratio) de 1:20. Le programme de température était le suivant: 50 °C - 3 °C/min - 350 °C ensuite maintenu pendant 5 min pour les deux espèces. La température du DIF a été réglée à 280 ° C (fréquence de données ou sampling rate 200 ms), les débits d'hydrogène et d'air ont été fixé à 40 ml / min et 400 mL / min, respectivement. Les données ont été collectées par le logiciel LabSolution ver. 5,92 (Shimadzu, Kyoto, Japon). La quantification de la composition chimique a été déterminée comme étant le pourcentage de surface des pics sans aucune correction.

Les analyses CG-SM ont été réalisées sur un système GC-QP2010 (Shimadzu, Kyoto, Japon).

Les conditions d'analyses à savoir, la colonne, le programme de température du four, les paramètres d'injection et le gaz vecteur étaient similaires à celles de l'analyse par CG/DIF. Les températures d'interface et de source d'ions étaient fixées à 250 °C et 200 °C, respectivement. L'acquisition a été faite en mode scan complet dans l'intervalle de masse de 40 - 500 m/z, avec un intervalle de fréquence de balayage de 0,2 s. La gestion des données a été prise en charge par Logiciel LabSolution GCMS ver. 4.30 (Shimadzu, Kyoto, Japon). Pour la caractérisation, les bases de données suivantes ont été utilisées : W11N17 (**DB1**) (Wiley11-Nist17, Wiley, Hoboken, USA) ; Mass Finder 3 (**DB2**) (D.H. Hochmuth, www.massfinder.com) et FFNSC 3.0 (**DB3**) (Shimadzu, Kyoto, Japon). Les indices de rétention pour les différents constituants ont été calculés par la co-injection de la série homologue des n-alcanes saturés (C₇-C₄₀, 1000µg/mL pour chaque alcane dans l'hexane, 49452-U) acquis auprès de Merck KGaA (Darmstadt, Germany). L'identification des composés est réalisée à deux niveaux, la première basée sur les banques de données spectrales (DB1, DB2, DB3) en respectant un indice de similarité qui dépasse 85% et la seconde basée sur la comparaison des indices de rétention calculés à partir de l'équation de Van Den Dool [280] avec ceux fournis par littérature [281-282] avec un filtre d'une fenêtre de ±10 unités de l'IRL (indice de rétention linéaire). Une identification plus poussée a été effectuée, notamment, l'élucidation structurale des produits soufrés en se basant sur des spectres de masse rapportés par la littérature spécialisée [45, 281-282].

Les analyses CG/DIF et CG/SM ont été réalisées au laboratoire de Chromaleont - Département des sciences chimiques, biologiques, pharmaceutiques et environnementales, Université de Messine – Italie

1.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des fractions volatiles

1.4.1 Microdilutions

L'activité antibactérienne des échantillons d'HE et FV a été effectuée par la méthode des microdilutions en milieu liquide, l'objectif étant de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui représente la plus petite concentration de l'agent bactérien, ayant l'habilité d'inhiber la croissance des bactéries testées. Six souches bactériennes ont été utilisées pour évaluer les propriétés antibactériennes de la FV et de HE de *D. polypodioides*. Il s'agit de trois bactéries à Gram-positives : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC14975), *Micrococcus luteus* (ATCCCLB 14110) et trois bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC43300), *Salmonella typhimurium* (ATCC19430) et *Agrobacterium tumefaciens* (ATCC2300). Quant à l'espèce *D. dichotoma*, huit souches bactériennes différentes ont été utilisées *Staphylococcus aureus* (ATCC 44300) *Escherichia coli* (ATCC 25925), *Enterococcus Faecium* (ATCC 51559), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Micrococcus luteus* (LB 14110), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047), *Agrobacterium tumefaciens* (ATCC 23308), *Candida albicans* (ATCC10231). Les souches citées précédemment ont été fournies par l'Institut Pasteur d'Alger.

1.4.2. Repiquage des souches

Les souches microbiennes utilisées ont été ensemencés à l'aide d'une anse en platine stérile sur des boîtes de Pétri de 90 mm contenant respectivement le milieu Mueller-Hinton solide. Ce dernier est adéquat pour la croissance de nombreux microorganismes et ne contient pas d'inhibiteurs des antibiotiques. Ces boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24h.

1.4.3 Préparation et composition des milieux de culture

Les conditions de la croissance des bactéries varient selon leurs natures. Il n'existe pas des conditions de culture standard qui permettent la croissance de toutes les bactéries. La méthode de dilution sur gélose, recommandée par le comité national pour les normes de laboratoire cliniques (NCCLS) [283], a été utilisée pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Le milieu de culture utilisé est le Lauria Bertani (LB) liquide pour l'HE de l'espèce *D. polypodioides*, sa composition chimique est

constituée de 10 g de peptone, 5 g d'extrait de levures, 10 g de NaCl. Le mélange est solubilisé dans 1L d'eau distillée. Concernant l'HE de l'espèce *D. dichotoma*, le milieu de culture utilisé est l'International Streptomyces Project (ISP2) liquide (4 g de glucose, 10 g d'extrait de malt, et 4 g de l'extrait de levure). Le pH des milieux est ajusté avant la stérilisation à 7.2 par une solution de NaOH 1M. La stérilisation du milieu a été réalisée avec l'autoclave pendant 20 min à 120 °C.

1.4.4 Préparation de l'inoculum

Des colonies bien isolées et identiques de chaque souches bactériennes sont raclées à l'aide d'une pipette pasteur et déchargées dans 100 ml de milieu de culture stérile, puis agitées quelques minutes et incubées dans un bain marie pendant 24 h à 37 °C.



Figure 2.5 : Préparation de l'inoculum

1.4.5. Préparation des différentes concentrations des huiles essentielles et de la fraction volatile

La méthode de microdilution (figure 2.6) a été utilisée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des HEs et des fractions volatiles. La suspension bactérienne fraîche est préparée à partir d'une culture jeune et pure de 18 à 24 h, elle est ensuite ajustée à une turbidité de 0.5 McFarland. Le test a été réalisé dans des tubes à essai, chaque tube a été rempli par le bouillon nutritif, dont le premier tube contient 4ml de bouillon qui est mélangé avec 60 µl de l'HE (la gamme de concentration est de 15 à 0.06 µl/ml). Les dilutions binaires ont été réalisées dans des tubes contenant 2ml de bouillon nutritif et mélangées avec des suspensions bactériennes (50 µl). Le dernier tube a été utilisé en tant que control négatif (4 ml bouillon nutritif +50 µl inoculum). Par la suite, les tubes ont été incubés à 37°C pendant 24 h.

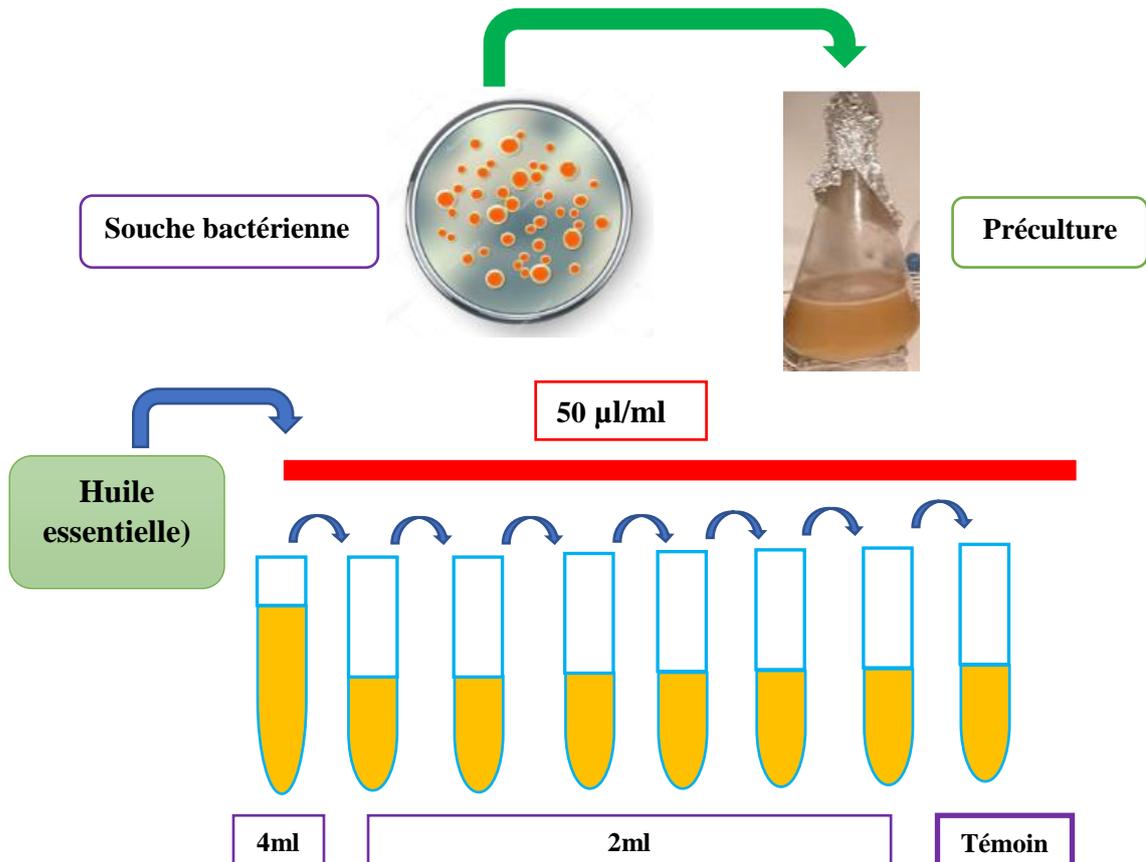


Figure 2.6 : Représentation graphique de la méthode de microdilution en milieu liquide.

1.4.6. Lecture des résultats

La concentration minimale inhibitrice a été déduite à partir des tubes pour lesquels il n'y avait pas de croissance visible après 24 h d'incubation.

1.4.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Dictyota dichotma*

1.4.7.1 L'antibiogramme

Cette méthode a été appliquée pour les HEs de l'espèce *D. dichotoma*.

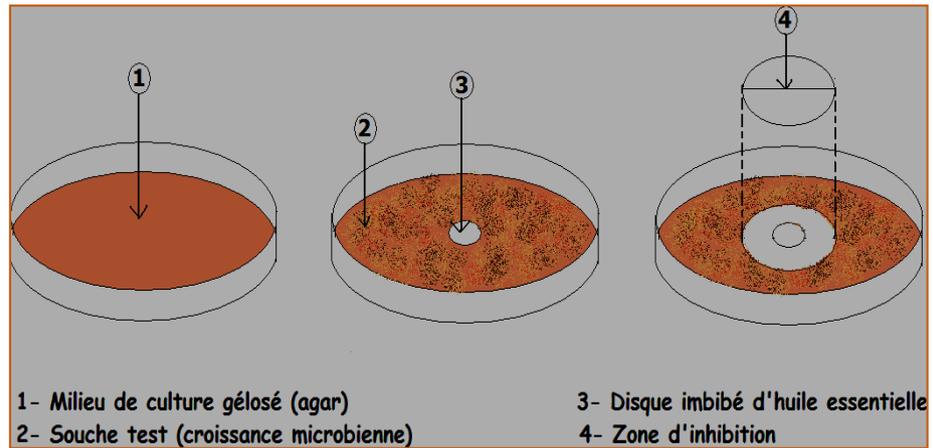


Figure 2.7 : Représentation de la méthode de diffusion sur disque [284].

1.4.7.2 Souches utilisées

Les souches utilisées sont conservées par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance. Elles sont regroupées dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Souches bactériennes utilisées

Souches	Gram	Références (ATCC)
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 44300
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC 25925
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	-	ATCC 23308
<i>Enterococcus Faecium</i>	+	ATCC 51559
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC 9027
<i>Micrococcus luteus</i>	+	LB 14110
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	ATCC 13047
<i>Candida albicans</i>	/	ATCC10231

1.4.7.3 Préparation du milieu de culture

La méthode de l'antibiogramme (figure 2.7) a été utilisée pour déterminer la sensibilité des bactéries. A cet effet, les milieux gélosés (Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures) ont été fondus dans un bain marie réglé à 95°C, ensuite coulé dans des boîtes de Pétri de 90mm de diamètre. A la fin de l'opération, ils sont laissés refroidir et solidifier.

1.4.7.4 Préparation de l'inoculum

Des colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes obtenues d'une culture jeune et pure de 18 à 24 h sont raclées et déchargées dans 100 ml de milieu de culture stérile, puis agiter quelques minutes et incuber pendant 24 h à 37 °C pour les bactéries et à 30°C pendant 48h pour les levures.

1.4.7.5 Ensemencement

Après solidification des milieux de cultures, un écouvillon stérile est introduit dans une suspension bactérienne et essorer sur la paroi de la bouteille afin de rejeter l'excès de bouillon. Ensuite, la gélose est ensemencée par frottement de l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée Mueller-Hinton 2 à 3 fois en tournant la boîte afin d'assurer une bonne répartition de l'inoculum. Enfin, les boîtes de Pétri sont incubés pendant quelques minutes à température ambiante.

1.4.7.6 Déposition des disques et incubation

Des disques absorbants stériles sont imprégnés dans l'HE pure de *D. dichotoma*, ils sont légèrement séchés et déposés dans le centre de la boîte inoculé avec la souche en appuyant légèrement pour qu'il adhère bien à la gélose. Par la suite, les boîtes sont incubées dans l'étuve pendant 24 h à 37°C pour les bactéries et à 30°C pendant 48 h pour les levures.

1.4.7.7 Lecture des résultats

La détermination de la résistance ou la sensibilité des bactéries vis-à-vis de l'HE se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse en mm sur le fond de la boîte fermée.

La lecture des résultats est faite en respectant les diamètres de la zone d'inhibition exprimés en mm autour de chaque disque [285]

- Très fortement inhibitrice : diamètre de la zone ≥ 30 mm
- Fortement inhibitrice : $21\text{mm} < \text{diamètre de la zone} < 30\text{mm}$
- Modérément inhibitrice : $16\text{mm} < \text{diamètre de la zone} < 21\text{mm}$
- Légèrement inhibitrice : $11\text{mm} < \text{diamètre de la zone} < 16\text{mm}$
- Non inhibitrice : diamètre de la zone < 11 mm

2. Résultats et discussion

2.1 Etude chimique et détermination de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et la fraction volatile de *D. Polypodioides*

2.1.1 Taux d'humidité du matériel algal

Concernant l'espèce *D. polypodioides*, l'humidité relative a été estimée en utilisant une masse de 240 g d'algue fraîche. La masse d'algue sèche obtenue est de 66.6 g.

L'humidité relative H (%) = 72.25 %.

A propos de l'algue *D. dichotoma*, l'humidité relative a été calculée en utilisant une masse d'algue fraîche de 32.6 g, la masse d'algue sèche obtenue est de 10 g.

L'humidité relative H (%) = 69.3 %.

2.1.2 Rendement en extrait brut

Le rendement moyen (série d'extractions) en extrait brut étheré de l'espèce *D. polypodioides* obtenu dans la présente étude est de 1%, cette valeur est du même ordre de grandeur que celle obtenue dans d'autres travaux sur la même espèce [286]. Il faut préciser que le rendement obtenu pour cette espèce est relativement faible par rapport à d'autres espèces de la même famille des algues brunes où les rendements fluctuent entre 4 à 8 % [287]. Les rendements d'extraits obtenus à partir de plantes terrestres sont dans le même intervalle de valeurs [288]. De plus la variation du rendement est intimement liée à la méthode d'extraction, la saison et le lieu de récolte, la nature de l'espèce ainsi qu'à la procédure de traitement de l'échantillon.

2.1.3 Caractéristiques organoleptiques de l'extrait étheré

Les caractéristiques organoleptiques des extraits et huiles englobent, en particulier, l'aspect, la couleur et l'odeur. Les qualités organoleptiques sont notamment valorisées dans l'industrie des arômes alimentaires et de la parfumerie [289], elles sont à l'apparence

des propriétés simples, mais elles peuvent fournir des informations très précieuses sur la qualité des produits et extraits étudiés. Les caractéristiques organoleptiques de l'extrait de *D. polypodioides* sont données sur le tableau 2.2.

Tableau 2.2 : Propriétés organoleptiques de l'extrait de *D. polypodioides*

Caractères organoleptiques	
Aspect	Pâteux
Couleur	Verdâtre
Odeur	Forte odeur caractéristique

Ces propriétés sont généralement relevées dans la majorité des extraits d'algues brunes. La couleur verte est liée à la présence de la chlorophylle qui masque la couleur jaune orange de la fucoxanthine.

2.1.4 Rendement de la fraction volatile

Le rendement moyen de la FV d'un grand nombre de manipulations est de 6.6%. Ce rendement est nettement inférieur à celui obtenu sur la même espèce lors d'un travail antérieur [286]. Ceci démontre, encore une fois de plus, que des paramètres tels que : la période de récolte, la méthode d'extraction, temps d'extraction et le solvant d'extraction peuvent influencer le rendement.

2.1.5 Rendement de l'huile essentielle

Le rendement moyen de l'HE est de 0,08 %, cette valeur est semblable à celle obtenues à partir d'autres algues brunes [290], elle est nettement inférieur que celle de la FV. Cette différence de rendement peut être liée à la différence de composition chimique des deux huiles mais aussi au procédé d'entraînement lui-même. Le contact de la vapeur avec l'extrait d'algue pourrait entraîner plus de produit que celui du contact directe entre la vapeur et l'algue. Ces constats ne sont que des hypothèses qui nécessitent une étude laborieuse pour aboutir à des résultats concluants.

2.1.6. Caractéristiques organoleptiques de la fraction volatile et l'huile essentielle

Les propriétés organoleptiques de FV et d'HE estimées par nous-mêmes, sont regroupées dans le tableau 2.3.

Tableau 2.3 : Propriétés organoleptiques de la fraction volatile et l'huile essentielle de *D. polypodioides*

	Caractères organoleptiques		
	Aspect	Couleur	Odeur
Fraction volatile	Liquide visqueux	Jaunâtre	Forte odeur marine
Huile essentielle	Huileux	Jaune-orange	Forte odeur marine

La FV et HE de *D. polypodioides* sont caractérisées par une odeur marine assez forte et caractéristique du littoral marin, elles furent parmi les premières essences issues d'algues à intéresser l'industrie de la parfumerie [20].

2.1.7 Analyse de l'huile essentielle et de la fraction volatile par CG/SM

L'analyse par CG/SM et par CG/DIF a été réalisée dans les conditions décrites ci-dessus. Elle a permis l'identification de 70 et 72 composés représentant 80,6% et 86,4% de la composition globale de HE et de la FV, respectivement (tableau 2.4). Le tableau 2.4 regroupe la composition chimique de la FV et HE de *D. polypodioides*, les banques de données utilisées dans l'identification, les indices de rétention calculés et ceux fournis par la littérature ainsi que les pourcentages des différents composés déterminés par CG/DIF. Les profils chromatographiques de la FV et l'HE sont donnés en appendice (Appendice A).
Tableau 2.4 : Composition chimique de la fraction volatile et l'huile essentielle de *D. polypodioides*

N°	Composés	T _R	Database	LRI _{lit}	LRI _{cal}	FV%	HE%
1	Acide Butyrique	4,91	DB1, DB2, DB4	818	799	-	1,38
2	Hexanal	5,37	DB1, DB2, DB4	801	801	t	0,32
3	Furfural	6,31	DB1, DB4	822	829	-	0,48
4	Acide Isovalérique	6,39	DB1, DB4	842	831	0,19	-
5	2-Furanmethanol	6,97	DB1, DB4	849	849	-	0,12
6	Acide Pentanoïque	8,03	DB1, DB2, DB4	911	881	-	0,07
7	Heptanal	8,73	DB1, DB4	906	901	-	0,24
8	5-méthyl-Furfural	11,23	DB1, DB4	960	958	0,05	t
9	Méthanésulfonate de méthyle	11,94	DB1	983	975	-	0,29
10	Acide Hexanoïque	11,99	DB1, DB4	997	976	t	0,23
11	Vinylamylcarbinol	12,11	DB1, DB4	978	979	-	0,05
12	2-pentyl-Furane	12,57	DB1, DB4	991	989	0,08	-
13	Acide Pyromucique	13,07	DB1, DB4	1087	1001	-	0,32

14	Eucalyptol	14,52	DB1, DB4	1032	1031	0,05	-
15	Oct-3-èn-2-one	14,82	DB1, DB2, DB4	1036	1037	-	0,11
16	Phenylacetaldehyde	15,09	DB1, DB2, DB4	1045	1042	-	0,09
17	Oct-(2E)-enal	15,80	DB1, DB2, DB4	1059	1057	-	0,06
18	Acide Heptanoïque	16,58	DB1, DB2, DB4	1116	1073	0,16	0,40
19	3,5-Octadien-2-one	17,50	DB1, DB4	1091	1092	-	0,22
20	Dictyopterène A	18,61	DB1, DB3	1099	1115	14,08	9,29
21	Dictyopterène B' (Hormosirene)	20,29	DB1, DB3	1150	1150	1,08	0,39
22	(2E)-Nonenal	20,72	DB1, DB2, DB4	1163	1159	0,12	-
23	Dictyopterène D'	21,49	DB1, DB3	1147	1162	1,76	0,19
24	Dictyopterène C' (Dictyotène)	21,90	DB1, DB3	1155	1169	t	1,55
25	Safranal	22,61	DB1, DB2, DB4	1201	1198	-	0,12
26	Acide (2E)-Octenoïque	23,13	DB1, DB2, DB4	1211	1209	-	0,09
27	(E, E) -2,4 Nonadiénal	23,41	DB1, DB2, DB4	1218	1215	0,07	0,07
28	β Cyclocitral	23,57	DB1, DB4	1223	1219	-	0,06
29	Heptylidène acétone	24,47	DB1, DB4	1242	1238	-	0,08
30	β Cyclohomocitral	25,24	DB1, DB4	1256	1255	-	0,05
31	Acide Nonanoïque	25,83	DB1, DB4	1289	1268	0,21	-
32	1-Undecen-3-one	26,37	DB1, DB2	1279	1279	1,33	1,07
33	3-Undecanone	26,69	DB1, DB2	1283	1286	0,28	0,40
34	Tridécane	27,27	DB1, DB2, DB4	1300	1299	-	0,11
35	(E, E) 2,4-Decadiénal	28,12	DB1, DB2, DB4	1322	1318	0,05	0,16
36	1,1,6-triméthyl-1,2-Dihydronaphthalène	29,70	DB1, DB2	1354	1354	-	0,28
37	Acide Décanoïque	30,17	DB1, DB2	1398	1364	0,12	0,32
38	β Cubébène	31,21	DB1, DB4	1392	1388	t	1,11
39	Aromadendrène	33,39	DB1, DB4	1438	1439	0,27	0,14
40	Trans Geranylacetone	33,69	DB1, DB4	1450	1447	-	0,39
41	9-epi-(E)-Caryophyllène	34,27	DB1, DB4	1464	1461	0,71	-
42	β Ionone	35,05	DB1, DB4	1482	1479	-	0,61
43	Ionone epoxide	35,14	DB1, DB4	1483	1482	-	0,49
44	1-Pentadecène	35,55	DB1, DB2, DB4	1493	1491	-	0,58
45	Bicyclogermacrène	35,76	DB1, DB4	1497	1496	0,20	-
46	Pentadecane	35,86	DB1, DB2, DB4	1500	1499	0,25	-
47	Aromadendra-1(10),4(15)-diène	36,10	DB1, DB3	1506	1505	0,19	-
48	γ Cadinène	36,46	DB1, DB4	1512	1514	0,16	-
49	δ Cadinène	36,67	DB1, DB4	1518	1519	0,34	0,36
50	4,4,7a-triméthyl-5,6,7,7a-tetrahydro-2(4H)-Benzofuranone,	37,02	DB1, DB4	1538	1528	0,23	1,10
51	Acide Dodécanoïque	38,35	DB1, DB4	1581	1562	0,18	0,52
52	Spathulenol	39,00	DB1, DB4	1576	1578	0,53	0,26
53	Gleenol	39,37	DB1, DB4	1590	1587	0,64	0,55
54	Viridiflorol	39,70	DB1, DB4	1594	1596	1,01	0,88
55	Rosifoliol	40,15	DB1, DB4	1609	1608	0,23	0,23
56	(3-oxoundec-4-enyl) sulfure	40,52	[49, 50,175]	/	1615	1,31	10,64
57	Benzophénone	40,99	DB1, DB4	1627	1630	-	0,25
58	epi- α Muurolol	41,57	DB1, DB4	1645	1645	0,51	0,17
59	Hedione	41,71	DB1, DB4	1650	1649	-	0,12

60	Cadin-4-en-10-ol	42,03	DB1, DB4	1659	1658	0,76	1,31
61	Tétradécanol	42,74	DB1, DB2, DB4	1680	1677	0,31	-
62	1-Heptadecène	43,29	DB1, DB2, DB4	1693	1692	0,31	0,44
63	Heptadecane	43,57	DB1, DB2, DB4	1700	1699	1,91	0,51
64	Pentadecanal	44,10	DB1, DB2, DB4	1715	1714	0,24	-
65	7-methyl- Heptadecane	45,14	DB1, DB4	1739	1743	0,84	-
66	Acide Tétradécanoïque	46,09	DB1, DB2, DB4	1773	1770	4,57	2,25
67	Octadéc-1-ène	46,87	DB1, DB2, DB4	1793	1791	-	0,25
68	1-Tétradécanol-acétate	47,39	DB1, DB4	1810	1806	0,59	-
69	Farnesylacétate	48,26	DB1, DB4	1832	1832	0,14	0,09
70	Phytone	48,55	DB1, DB4	1841	1841	1,18	0,08
71	3-Hexyl-4,5-dithyacycloheptanone	50,20	[49-50,175]	/	1889	32,64	28,07
72	(3-oxoundec-4-enyl)thioacetate	50,57	[49-50,175]	/	1900	-	0,92
73	(3-oxo-undecyl)thioacetate	50,76	[49, 50,175]	/	1906	-	0,88
74	mtéhyl-Hexadécanoate	51,34	DB1, DB4	1925	1924	0,44	-
75	Hexadécanolact-16-one	51,85	DB1, DB4	1938	1943	2,02	1,90
76	Acide Hexadécanoïque	52,68	DB1, DB4	1977	1966	3,57	3,81
77	Eicosane	53,75	DB1, DB4	2000	1999	0,34	-
78	Eicosene	53,99	DB1, DB4	1994	2007	0,15	-
79	Octadécanal	54,43	DB1, DB4	2014	2020	-	0,27
80	Acide gras Insaturés C18 (NI)	54,83	/	/	2033	2,05	0,67
81	Acide gras Insaturés C18 (NI)	54,99	/	/	2038	1,45	0,62
82	Acide gras Insaturés C18 (NI)	55,55	/	/	2057	0,48	-
83	Heneicosane	56,82	DB1, DB4	2100	2098	0,09	-
84	Phytol	57,12	DB1, DB4	2111	2018	0,45	0,09
85	Acide Oleique	58,02	DB1, DB4	2142	2138	1,80	1,07
86	dibutyl-Decanedioate	58,86	DB1, DB2, DB4	2168	2167	0,40	-
87	Docosane	59,80	DB1, DB4	2200	2199	0,42	-
88	Acétyl tributyl citrate	61,19	DB1, DB4	2254	2247	0,25	-
89	Tricosane	62,63	DB1, DB4	2300	2298	0,50	-
90	Acide (5Z,8Z,11Z,14Z) eicosatétraénoïque	62,73	DB1, DB4	2305	2302	0,42	0,19
91	Acide (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z) eicosapentaénoïque	62,85	DB1, DB4	2315	2334	0,10	0,06
92	Tétracosane	65,35	DB1, DB4	2400	2398	0,21	-
93	Pentacosane	67,97	DB1, DB4	2500	2498	0,27	-
94	Hexacosane	70,50	DB1, DB4	2600	2598	0,29	0,04
95	Heptacosane	72,93	DB1, DB4	2700	2698	0,21	-
96	Octacosane	75,28	DB1, DB4	2800	2798	0,17	-
97	Squalène	75,56	DB1, DB4	2810	2811	t	0,05
98	Nonacosane	77,55	DB1, DB4	2900	2898	0,17	-
99	Triacotane	79,75	DB1, DB4	3000	2998	0,10	-
100	Hentriacotane	81,90	DB1, DB4	3100	3098	0,14	-
101	Dotriacotane	83,98	DB1, DB4	3200	3197	0,05	-

NI : Non identifié, t : trace $\leq 0.02\%$, Tr : Temps de Rétention, LRI_{lit} : Indice de Rétention Linéaire rapportés dans la littérature, LRI_{cal} : Indice de Rétention Linéaire calculés.

L'examen du tableau 2.4 révèle la présence dans la composition chimique de la FV et l'HE de cinq classes chimiques distinctes et un groupe formé d'un mélange de composés diversement fonctionnalisés. Nous allons regrouper dans le tableau 2.5 le nom de la classe chimique et les numéros par ordre d'apparition des composés correspondants dans le tableau 2.4.

Tableau 2.5 : Répartition des composés par classe chimique

Nom de la classe chimique (Abréviation)	Numéro d'apparition des composés dans le tableau 5	Teneur %	
		HE	FV
Hydrocarbures en C11 (HCC11)	20, 21, 23, 24, 32, 33	12,9	18,6
Terpènes (Terp.)	14, 25, 28, 38, 39, 40, 41, 45, 47, 48, 49, 52, 53, 54, 55, 58, 60, 69	5,4	5,5
Acides gras (A.G.)	66, 74-76, 80, 81, 82, 85, 90, 91	11,7	15,3
Composés soufrés (C.S.)	9, 56, 71, 72, 73	40,8	33,9
Alcanes, alcènes et composés oxygénés apparentés (alcools, carbonyles et esters) (ACA)	34, 46, 63, 65, 77, 83, 87, 89, 92 à 101, 44, 62, 67, 78, 2, 7, 17, 19, 15, 22, 27, 29, 35, 61, 64, 67, 68, 74, 75, 79, 86, 65	25,3	34,3
Composés diversement fonctionnalisés (CDF)	3, 5, 8, 11, 12, 13, 16, 30, 36, 42, 43, 50, 57, 59, 70, 88	4,1	1,6

Afin de donner un aperçu plus clair sur la présence des différentes classes chimiques dans la composition chimique des deux huiles, nous avons représenté les données du tableau 2.5 sous forme d'histogrammes (figure 2.8) en prenant en considération la teneur de chaque classe.

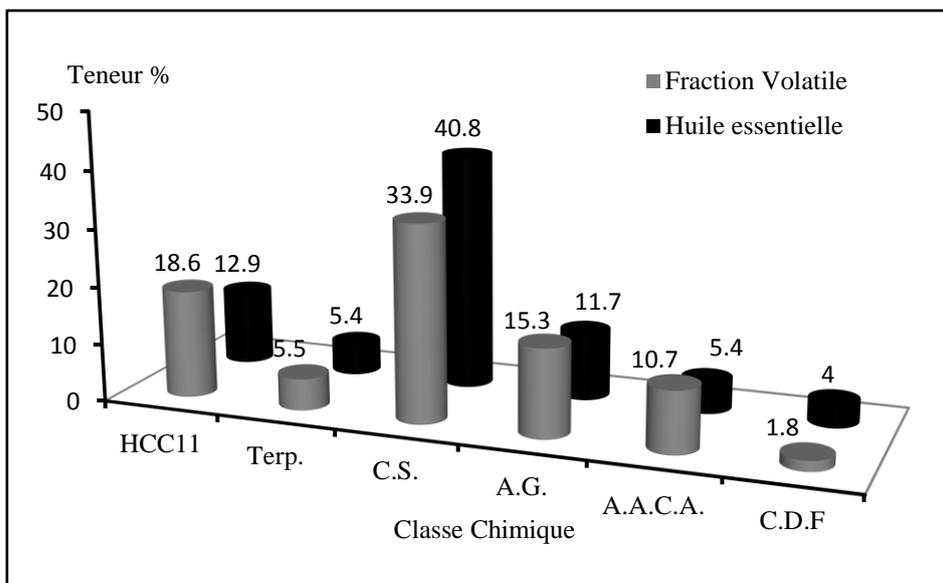


Figure 2.8 : Teneur des différentes classes chimiques dans la fraction volatile et l'huile essentielle

L'examen de la figure 2.8 montre clairement la prédominance de la classe des composés soufrés et des hydrocarbures en C11 au sein de la FV et l'HE. Elles sont suivies par la classe des acides gras et des alcanes, alcènes et les composés apparentés. La classe des terpènes et des composés diversement fonctionnalisés ont les teneurs les plus faibles. En termes de composés majeur, les tableaux 2.4 et 2.5 révèlent la prépondérance des métabolites, le 3-hexyl-4,5-dithiacycloheptanone et le dictyoptérène A, ils sont d'ailleurs les composés majoritaires de la FV et de l'HE. Ce résultat n'est guère surprenant, car ces composés sont particulièrement caractéristiques de l'espèce *D. polypodioides* notamment, celle originaire de la mer Méditerranée [17, 20,126]. Mais d'une manière générale, il est mentionné que la composition chimique est étroitement dépendante de l'origine de l'espèce [23, 45, 145].

La même figure 2.8 révèle que la classe des composés soufrés est plus importante dans l'HE (40.8%) en comparaison à celle de la FV (33.9%) et le phénomène inverse est constaté concernant la classe des hydrocarbures en C11 (FV : 18.6% ; HE : 12.9 %). Toutefois, la classe des acides gras (FV : 15.3 % ; HE : 11.7%) et des terpènes (FV : 5.5% ; HE : 5.4%) ont relativement des teneurs comparables dans les deux huiles. Cette différence en teneurs entre les classes des composés soufrés, des hydrocarbures en C11 et des acides gras dans les deux huiles pourrait être interprétée par la voie métabolique permettant la biosynthèse des trois classes de composés. Une revue exhaustive des voies biosynthétiques des trois classes (figure 2.9) basée sur la littérature [49-50,116,133,291-294] nous a permis de les regrouper et par la même occasion proposer d'autres voies plausibles (PP), en

concordance avec les voies déjà élucidées et confirmées, basées sur la présence de métabolites secondaires dans la composition chimique (tableau 2.4) intervenant comme précurseurs biosynthétiques notamment, les acides gras insaturés en C-18 (80-82). L'examen de la figure 2.9 révèle la présence d'une exceptionnelle et surprenante plaque tournante, semblable à un réseau de neurones, reliant les voies métaboliques des différentes classes chimiques.

Ainsi, comme reporté dans la partie synthèse bibliographique [4.2], l'espèce *D. polypodioides* (voir le genre *Dictyopteris*) est caractérisée par des voies biosynthétiques interactives pouvant mener aux différentes classes chimiques (figure 2.9). A cet effet, les acides gras insaturés en C18 (80-82) sont plus que probablement [50] impliqués, tout comme l'acide arachidonique et eicosapentaénoïque, dans la biosynthèse des précurseurs des hydrocarbures en C11 et des composés soufrés. La forte teneur des composés soufrés (C.S.) pourrait être fort plausiblement liée à un processus de dégradation/conversion des acides gras et des hydrocarbures en C11 conduisant au C.S. D'une manière plus explicite, la somme des teneurs des classes des C.S., A.G. et HCC11 dans la FV (67.8 %) est approximativement identique à celle dans l'HE (65.4%). En outre, la somme des teneurs des classes chimiques des C.S. et HCC11 dans la FV et l'HE sont de 52.5 % et 53.7 %, respectivement. Les résultats obtenus illustrent clairement l'interactivité entre les voies biosynthétiques conduisant au C.S. à partir des HCC11 et des A.G. et inversement via des processus de (dégradation/conversion) qui sont intimement liés, entre autres, aux techniques d'extraction. La FV tout comme l'HE est obtenu par un procédé basé sur l'utilisation de la vapeur d'eau, par conséquent, on peut déduire que l'hydrodistillation pourrait, éventuellement, provoquer plus de dégradation à travers des réactions d'oxydation et d'hydrolyse que l'extraction par le système de Dean Starck modifiée.

Dans le même contexte, les composés soufrés (tableau 2.4) sont identifiés en se basant sur des travaux antérieurs [49-50,175] et semblent être dérivés des composés disulfures (figure 2.10) isolés de la même espèce [175]. Dans ce cadre, le (3-oxoundec-4-ényl) sulfure (56) semble être un produit de dégradation du (3-oxoundec-4-ényl) disulfure et/ou du (3-oxoundec-4-ényl) thioacétate (72), ce dernier en compagnie du 3-hexyll-4,5-dithicycloheptanone (71) et le 3-oxo-undecylthioacétate (73) ont été isolés à partir des espèces de *Dictyopteris* [49] récoltée à Hawaïi (figure 2.10). Les dérivés thioacétates sont les précurseurs des hydrocarbures oxygénés en C11 tels que le 1-undécèn-3-one (32) et le 3-undécaneone (33) (Figure 2.10) identifiés dans les deux huiles (Tableau 2.4).

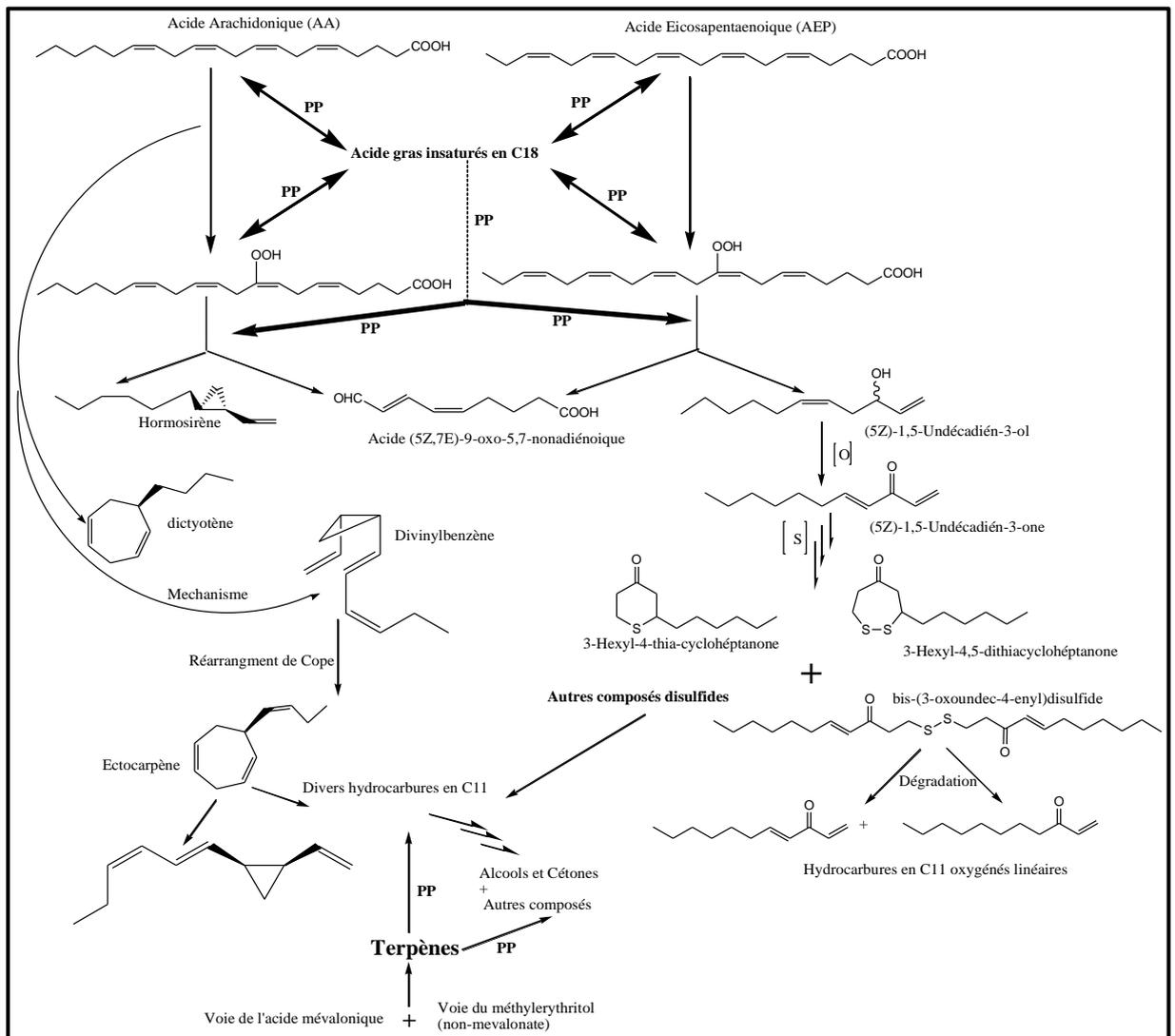


Figure 2.9 : Voie de biosynthèse des différentes classes chimiques dans le genre *Dictyopteris* comme rapporté dans la littérature [49-50,116, 133, 291-294] et d'autres voies proposées (PP)

Le méthanesulfinothioate de méthyle (9), qui n'avait jamais été identifié dans l'HE du genre *Dictyopteris* semble être un produit de dégradation des composés disulfures par β clivage de la liaison carbonyle suivi de l'oxydation du diméthylsulfure (figure 2.11). Ce dernier émis dans l'atmosphère constitue un indicateur de recherche de nourriture pour les oiseaux de mer [295]. Il a été trouvé dans des éponges marines du genre *Ircinia* [296]. La teneur de la classe des alcanes, alcènes et composés apparentés dans la FV (10 %) est quasiment le double par rapport à celle dans l'HE (5.4 %). La classe des alcanes est particulièrement présente dans le genre *Cystoseira* [43] et dans d'autres espèces d'algues [297]. Dans le milieu aquatique, les composés tricosane et heinicosane ont été trouvés dans

le phytoplancton marin [298] et les éponges [298], mais ils sont libérés par l'hémiptère aquatique *Notonecta maculata*, qui est un prédateur des œufs de moustiques.

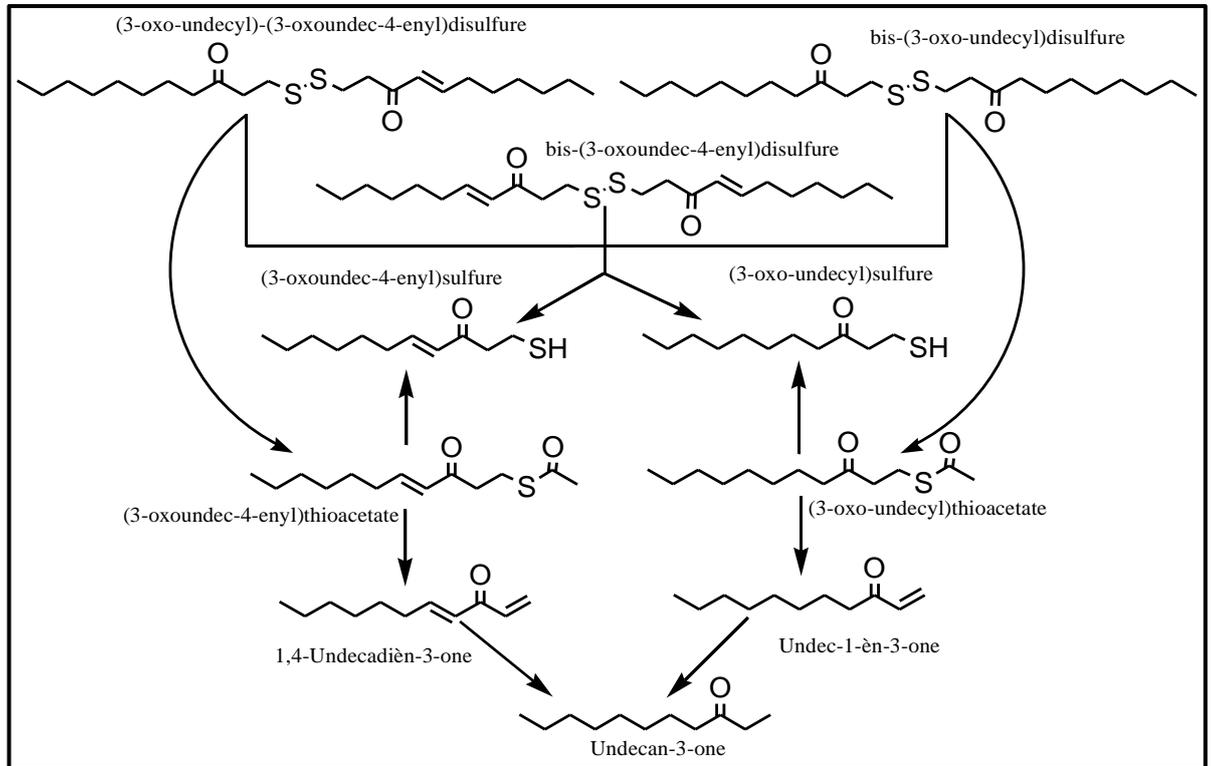


Figure 2.10 : Voie de dégradation des disulfures marins en composés soufrés et en hydrocarbures en C 11 oxygénés [49]

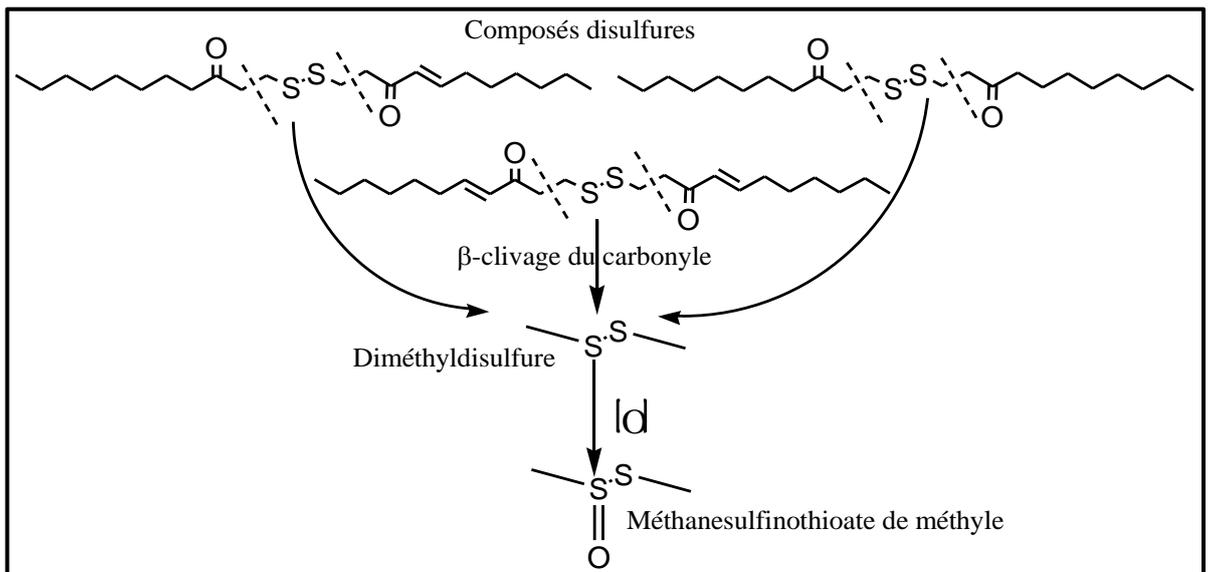


Figure 2.11 : Voie de dégradation proposée des composés disulfures en méthane sulfinothioate de méthyle [50]

Nous allons terminer cette discussion par faire une analyse globale de la variation et la présence intrigante de quelques composés particuliers. Il est clairement établi l'influence du procédé d'extraction sur la composition chimique, une relation étroite existe entre les deux aspects. Ainsi, le choix du procédé d'extraction est prépondérant dans la récupération exhaustive des métabolites présents dans l'échantillon d'algues ou autres organismes. Il convient de noter également que la composition chimique de la FV actuelle est différente de celle de la même espèce collectée sur le même site quelques années auparavant [45], ce résultat étant lié à la variation des paramètres de l'écosystème et plus particulièrement au niveau de pollution des mers de plus en plus élevé [176-178], ce qui provoque un état de stress plus important. Une étude chimique saisonnière détaillée de la même espèce a conduit certainement à l'élucidation des biomarqueurs qui peuvent être des outils très précieux dans le biosurveillance (biomonitoring) du littoral et par conséquent la protection du milieu marin [299]. Enfin, nous avons noté la présence curieuse du 3,5-Octadien-2-one (19) dans l'HE (0.22%) et sous forme de trace dans la FV, il faut rappeler que les isomères E,E, E,Z du 3,5-Octadien-2-one agissent comme des phéromones sexuelles chez les polychètes marins [300] et le criquet pèlerin grégaire. Également, le dictyoptèrene D' (23) appelé aussi ectocarpène est un composé volatil isolé de la plante *Senecio isatideus* [123], il agit comme une phéromone algale responsable de l'attraction des gamètes mâles des algues brunes du genre *Ectocarpus*.

2.1.8 Détermination de l'activité antibactérienne de la fraction volatile et l'huile essentielle

2.1.8.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Comme rapporté dans la synthèse bibliographique (& 4.3), les extraits et les métabolites du genre *Dictyopteris* sont dotés d'une large gamme d'activités biologiques, notamment l'activité antibactérienne. La FV et l'HE ont été testées de manière quantitative dans l'activité antibactérienne vis-à-vis de six bactéries à travers la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), il a été procédé ensuite à la comparaison des valeurs obtenues par rapports à des standards antibiotiques qui sont la kanamycine et le chloramphénicol. Les valeurs de la CMI obtenues sont données dans le tableau 2.6.

L'examen du tableau 2.6 révèle la forte activité antibactérienne de l'HE vis-à-vis du *Staphylococcus aureus* et *Agrobacterium tumefaciens* traduit par une CMI autour de 1519 µg/mL. De plus, les autres microorganismes se sont montrés nettement moins sensibles à l'encontre de l'HE où leurs CMI affichent des valeurs fluctuant autour de 3038 µg/mL.

Cependant, la FV a montré les plus faibles valeurs de CMI vis-à-vis *Micrococcus luteus* et *Agrobacterium tumefaciens* avec 6075 µg/mL et des valeurs de 12150 µg/mL vis-à-vis des autres souches. Les standards antibiotiques ont montré une très forte activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées en comparaison de l'HE et de la FV.

Tableau 2.6 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle et la fraction volatile de *D. polypodioides*.

Microorganismes	Gram	CMI (µg /ml)		Kanamycine	chloramphenicol
		HE	FV		
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	1519	12150	62,5	25
<i>Bacillus cereus</i>	+	3038	12150	31.5	25
<i>Micrococcus luteus</i>	+	3038	6075	62.5	25
<i>Escherichia coli</i>	-	3038	12150	200	25
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	3038	12150	62.5	12,5
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	-	1519	6075	125	12,5

Le tableau 2.6 révèle également l'effet inhibiteur nettement fort du chloramphénicol à l'encontre de toutes les souches et ce en comparaison à la kanamycine.

En général, il a été constaté que les bactéries à Gram-positives sont sensibles lorsqu'elles sont mélangées avec des HE [301], alors que les bactéries à Gram-négatives sont plus résistantes à l'HE. Cet état de fait est lié à la présence d'une restriction de membrane externe entourant les cellules des bactéries Gram-négatives, qui leur confère une résistance et par conséquent elle bloque la diffusion des composants bioactifs dans les bactéries [301]. Dans la présente étude, les bactéries les plus résistantes par rapport au FV et l'HE étaient les bactéries à Gram-négatives *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*. Nous avons relevé que l'activité antibactérienne de l'HE contre tous les micro-organismes testés était plus grande en comparaison à celle de la FV. Cette forte valeur peut être attribuée à la présence d'un pourcentage élevé de composés soufrés, ces composés sont biologiquement très actifs [136,302-303]. La présence d'une teneur notable de terpènes pourrait amplifier l'activité antibactérienne de l'HE. En outre, une synergie entre les différents composants mineurs pourrait provoquer une augmentation de l'activité antibactérienne de l'HE [304]. Enfin, il faut préciser que l'HE est caractérisée par la présence de β ionones appartenant à une classe chimique fortement bioactive [227]. Les résultats obtenus dans la présente étude

sont meilleurs que ceux décrits précédemment sur la même espèce [43], c'est un résultat très intéressant sur le plan pratique. Des travaux effectués sur l'HE de *D. membranacea* récoltée en Turquie (0,015 µg/disque) n'a montré aucun effet sur un grand nombre de souches testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montré moins résistante. Cette différence de comportement de l'HE est liée entre autres, à la région et la saison de récolte [23, 45, 145], le procédé d'extraction [176-178], aux facteurs environnementaux, qui jouent un rôle important dans la croissance de l'algue et par conséquent la production de métabolites bioactifs [177]. Sur la base de ce que nous avons rapporté ci-dessus, nous pouvons conclure que l'étude chimique et la détermination de l'activité biologique sont des parties intimement liées pour aboutir à des résultats concluants, pour être cohérent, il faut parler d'une étude métabolomique qui implique une étude exhaustive englobant tous les aspects.

2.2 Etude chimique et détermination de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle, des fractions volatiles et de la fraction de l'espace de tête de *Dictyota dichotoma*

La figure 2.12 résume le protocole opératoire du travail expérimental effectué.

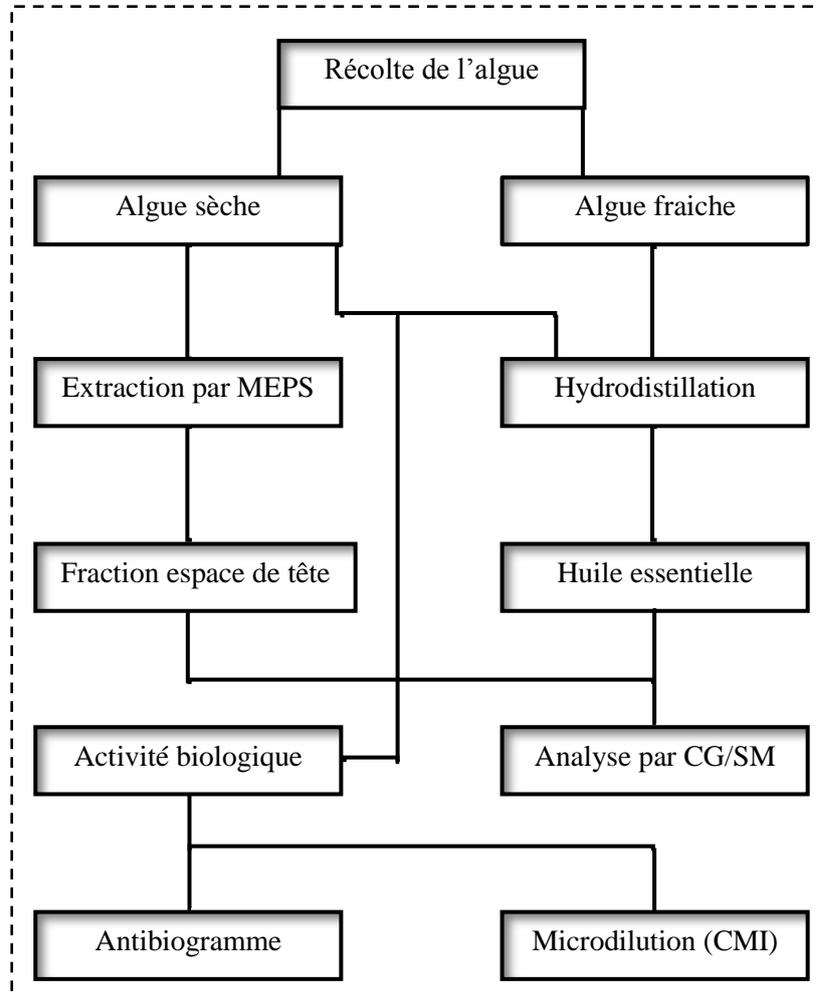


Figure 2.12 : Protocole opératoire des différentes étapes du travail

2.2.1 Rendement en HE d'algues sèches et fraîches

Le rendement en HE obtenue à partir d'algues sèches est de l'ordre de 1,57%, tandis que celui de l'algue fraîche a été évalué à 2,74%. Ces valeurs sont nettement supérieures en comparaison à celles obtenues à partir d'autres algues brunes [74, 290]. Bien que la technique d'extraction soit la même pour les deux échantillons, la valeur du rendement d'algue fraîche est nettement supérieure par rapport à l'algue sèche.

Ces résultats semblent être très cohérents au regard du phénomène d'entraînement à la vapeur. En effet, l'eau d'humidité, en quantité importante, contenu dans l'algue fraîche

provoque son gonflement et par voie de conséquence, elle facilite l'accès de la vapeur d'eau et l'entraînement de l'HE. Cependant, l'algue sèche dispose d'une texture rigide et nécessite un temps d'équilibre, parfois important, pour gonfler complètement.

Plusieurs études montrent l'obtention de rendements meilleurs avec du matériel végétal frais [304]. Une étude sur les différentes méthodes de séchage a révélé que le séchage à l'ombre dans un endroit sec et aéré était la meilleure voie de séchage [305].

Néanmoins, ces résultats sont tributaires de la nature du matériel végétal et de sa structure physique. Il se pourrait que le séchage n'ait pas d'influence directe sur le rendement de l'HE [306]. Dans ce sens, Plusieurs travaux relatifs au séchage des plantes montrent que l'augmentation du taux d'extraction des HEs avec le séchage suggère la continuité et l'accélération de la biosynthèse des HEs après la récolte du matériel végétal [304].

Compte tenu de la faible quantité d'algue fraîche, aucune évaluation biologique n'a pu être réalisée sur l'HE d'algue fraîche.

2.2.2 Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle

La qualité des HEs est en relation étroite avec leurs propriétés sensorielles. Dans ce cadre, les HEs de *D. dichotoma* sèche et fraîche extraites par hydrodistillation ont été évaluées par rapports aux propriétés organoleptiques : aspect, couleur et odeur. La caractérisation organoleptique des HEs est présentée dans le tableau 2.7.

Tableau 2.7 : Propriétés organoleptiques d'huile essentielle de *D. dichotoma* fraîche et sèche

Caractéristiques organoleptiques	H.E de <i>D. dichotoma</i> sèche	H.E de <i>D. dichotoma</i> fraîche
Aspect	Liquide	Liquide
Couleur	Jaune	Jaune
Odeur	Forte odeur verte et caractéristique	Forte odeur verte et caractéristique

2.2.3 Analyse chimique des huiles essentielles de *Dictyota dichotoma* fraîche et sèche par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

L'analyse chimique des HEs de l'algue sèche et fraîche a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les tableaux 2.8 et 2.9 regroupent

les composés identifiés, les banques de données utilisées, les indices de rétention et la teneur de la composition chimique sont obtenue par CG/DIF. Les profils chromatographiques sont donnés en appendice (Appendice A).

Tableau 2.8 : Composition chimique de l'huile essentielle de l'algue sèche

N°	T _R	Nom	Database	I _{Lit}	I _{Cal}	% FID
1	11,04	6- méthyl-5-Hepten-2-one	DB1, DB2, DB3	986	984	0,15
2	11,39	6- méthyl -5-Hepten-2-ol	DB1, DB2, DB3	995	993	t
3	18,24	2,6,6-Trimethylcyclohex-2-ene-1,4-dione	DB1, DB2, DB3	1148	1146	t
4	18,63	Nona-(2E,6Z)-diènal	DB1, DB2, DB3	1153	1154	t
5	25,13	Benzo-2,3-pyrrole	DB1, DB2, DB3	1297	1295	0,07
6	27,51	α Cubébène	DB1, DB3	1349	1349	0,4
7	28, 51	α Ylangène	DB1, DB3	1371	1372	0,1
8	28,79	α Copaène	DB1, DB3	1375	1378	0,1
9	29,15	β Bourbonène	DB1, DB3	1382	1387	0,64
10	29,32	β Cubébène	DB1, DB3	1392	1390	3,31
11	29,52	Sativène	DB1, DB3	1394	1395	0,15
12	30,64	β Ylangène	DB1, DB3	1422	1422	0,6
13	31,13	Calarène	DB1, DB3	1434	1433	0,5
14	31,3	β Copaène	DB1, DB3	1433	1437	0,02
15	31,84	Corvol ether A	[307]	/	1449	10,8
16	31,95	Cadina-3,5-diène	DB1, DB3	1452	1453	0,16
17	32,43	9-Epi-Caryophyllène	DB1, DB3	1464	1464	0,2
18	32,45	A amorphène	DB1, DB3	1484	1474	0,10
19	32,93	γ Gurjunène	DB1, DB3	1476	1476	0,71
20	33,20	cis-4,10-Epoxyamorphane	DB1, DB3	1480	1483	22,00
21	33,33	Germacrène D	DB1, DB3	1485	1486	6,63
22	33,61	1-Pentadecene	DB1, DB2, DB3	1493	1491	0,2
23	33,78	γ Amorphane	DB1, DB3	1490	1497	9,6
24	33,87	Epi-Cubebol	DB1, DB3	1498	1499	0,2
25	33,96	α Muurolène	DB1, DB3	1497	1502	0,11
26	34,4	Tridecanal	DB1, DB2, DB3	1516	1512	0,2
27	34,55	Pentadecence	DB1, DB2, DB3	1517	1516	0,12
28	34,68	Cubebol	DB1, DB3	1519	1519	2,9
29	34,8	δ Cadinène	DB1, DB3	1518	1522	0,45
30	35,01	Zonarène	DB1, DB3	1526	1528	8,26
31	35,20	4,4,7a-trimethyl- 5,6,7,7a-tetrahydro-2(4H)-Benzofuranone	DB1, DB3	1538	1529	0,4
32	35,44	α Calacorène	DB1, DB3	1544	1538	0,33
33	36,90	Palustrol	DB1, DB3	1568	1575	0,12
34	37,51	Gleenol	DB1, DB3	1590	1590	1,85
35	39,11	Epicubenol	DB1, DB3	1631	1633	0,2
36	39,70	Cedreanol	DB1, DB3	1645	1648	5
37	39,82	α Muurolol	DB1, DB3	1651	1651	1,08

38	40,83	Cadalène	DB1, DB3	1677	1678	0,01
39	41,26	Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	DB1, DB3	1683	1690	0,82
40	42,22	Pentadecanal	DB1, DB3	1714	1716	0,16
41	42,85	Muurool-5-en-4-one <cis-14-nor->	DB1, DB3	1689	1729	1,3
42	43,80	Acide Tétradécanoïque	DB1, DB2, DB3	1773	1770	0,12
43	44,16	Hexadecan-2-one	[308]	1772	1774	0,4
44	44,34	NI	/	/	1776	0,34
45	44,66	Epi-Cyclocolorenone	DB1, DB3	1775	1783	0,75
46	44,86	4,10(14)-Cadinadien-8- β -ol	DB1, DB3	1784	1790	0,12
47	45,48	NI	/	/	1812	0,22
48	46,35	Acétate de farnesyle	DB1, DB2, DB3	1832	1832	0,05
49	46,64	6,10,14-Trimethylpentadecan-2-one	DB1, DB2, DB3	1841	1842	0,1
50	48,14	3-Hexyl-4,5-dithiacycloheptanone	[49-50, 175]	/	1889	1,22
51	49,76	Cembrène	DB1, DB2, DB3	1939	1935	0,1
52	50,61	Acide Hexadécanoïque	DB1, DB2, DB3	1977	1967	0,32
53	51,63	Abieta-8,12-diene	[309]	1990	1991	0,9
54	52,96	Acide gras insaturé non identifié	/	/	2035	0,05
55	53,13	Acide gras insaturé non identifié	/	/	2040	0,3
56	53,50	Manool	DB1, DB2, DB3	2057	2051	0,3
57	53,76	Abietadiene	DB1, DB2, DB3	2055	2069	0,4
58	55,29	Phytol	DB1, DB2, DB3	2111	2110	0,15
59	55,87	Pachydictol A	[308]	2123	2129	2
60	56,32	sandaracopimarinal	[309]	2152	2144	0,25
61	57,44	4 α -Acetyldictyodial	[222]	/	2188	0,21
62	58,79	Cembra-4,7,11,15-tetraen-3-ol	[308]	2226	2228	0,8
63	60,33	Abietal	[309]	2281	2281	1,02
						90,07%

Tableau 2.9 : Composition chimique d'huile essentielle de l'algue fraîche identifiée par CG/SM

N°	TR	Nom	Database	I _{Lit}	I _{Cal}	% FID
1	28,52	α Ylangène	DB1, DB3	1371	1372	t
2	28,8	α Copaène	DB1, DB3	1375	1378	0,05
3	29,16	β Bourbonène	DB1, DB3	1382	1387	0,21
4	29,33	β Cubébène	DB1, DB3	1392	1390	2,64
5	29,53	Sativène	DB1, DB3	1394	1395	t
6	30,64	β Ylangène	DB1, DB3	1422	1422	t
7	31,14	Calarène	DB1, DB3	1434	1433	0,73
8	31,30	β Copaène	DB1, DB3	1433	1437	0,5
9	31,91	Corvol ether A	[307]	/	1449	19,31
10	32,01	trans -Cadina-3,5-diène	DB1, DB2, DB3	1452	1453	0,16
11	32,45	9-Epi-Caryophyllène	DB1, DB3	1464	1464	0,08
12	32,78	α Amorphène	DB1, DB3	1484	1474	0,08
13	32,97	γ Gurjunène	DB1, DB3	1476	1476	0,15
14	33,3	cis-4,10-Epoxyamorphane	DB1, DB2	1480	1483	38,16

15	33,42	Germacrène D	DB1, DB3	1485	1486	5,35
16	33,82	cis-Muurolo-4(14),5-diène	DB1, DB3	1490	1496	8,22
17	33,88	Epi-Cubebol	DB1, DB3	1498	1498	0,18
18	34,70	Cubebol	DB1, DB2, DB3	1494	1499	0,05
19	34,83	δ Cadinène	DB3	1518	1522	1,62
20	35,06	Zonarène	DB1, DB3	1526	1528	10,79
21	35,38	Cadina-1,4-diène	DB1, DB3	1536	1540	0,2
22	35,54	α Cadinène	DB1, DB3	1538	1541	t
23	36,92	Palustrol	DB1, DB3	1568	1575	t
24	37,52	Gleenol	DB1, DB3	1590	1590	0,71
25	39,13	Epicubenol	DB1, DB3	1631	1633	0,38
26	39,74	α Muurolol	DB1, DB3	1651	1651	5,56
27	40,17	Cadin-4-èn-10-ol	DB1, DB3	1646	1653	0,61
28	41,27	Germacra-4(15),5,10(14)-trièn-1-alpha-ol	DB1, DB2, DB3	1683	1690	0,23
29	43,85	Acide Tétradécanoïque	DB1, DB2, DB3	1773	1770	0,27
30	44,87	Pentadecan-1-ol	[308]	1782	1790	0,38
31	50,63	Acide Hexadécanoïque	DB1, DB2, DB3	1977	1967	0,13
						96,75%

TR : temps de rétention, ILR LIT : Indice linéaire de littérature, ILR CAL : Indice linéaire calculé.

L'examen de la composition chimique des HEs d'algue sèche et fraîche (Tab. 2.8 et 2.9) révèle l'identification de 63 et 31 composés correspondant, respectivement, à 90.07 % et 96.75 % de la composition globale. Le nombre de composés identifiés dans l'algue sèche est pratiquement le double que celui de l'algue fraîche. Cet état de fait est vraisemblablement lié à la texture plus dense (avec la présence de l'eau d'humidité) de l'algue qui à l'état fraîche provoque une résistance au transfert de matière beaucoup plus importante que celle de l'algue sèche qui est à notre sens est plus aérée. Les deux HEs sont caractérisées par la domination des sesquiterpènes qui représentent 96.1 % dans l'algue fraîche et 80.54 % pour l'algue sèche. La présence d'une teneur aussi importante des sesquiterpènes n'est pas surprenante, notamment, dans le genre *Dictyota* [227]. La fraction sesquiterpénique dans les deux HEs est représentée essentiellement par les squelettes amorphane, cubebane, germacrane, cadalane, muurolane. Il est important de souligner que le squelette amorphane est largement majoritaire dans les deux HEs. Nous relevons ainsi la présence dans l'HE de l'algue sèche des sesquiterpènes suivants : cis-4,10-epoxy Amorphane (22%), γ Amorphane (9.57%), Zonarène (8.26%), Germacrène D (6.63%), β Cubebene (3.31%), Cubebol (2.86%). Dans l'algue fraîche, nous constatons la présence majoritaire de cis-4,10-epoxyamorphane (38.16 %) du squelette Amorphane, suivi des composés du squelette Muurolane : Muurolo-4(14),5-diène (8,22%) et α Muurolol (5,56%) et du squelette

cadalane fortement représenté par le zonarène (10,79%). Les squelettes cubebane et cadinane sont représentés par le β cubebane (2,64%) et le germacrène D (5,35%). D'autres sesquiterpènes appartenant à divers autres squelettes, notamment le squelette cadinane, sont également présents à l'état minoritaire. Il est clairement apparent que l'espèce *D. dichotoma* sèche et fraîche privilège la biosynthèse du cis-4,10-epoxy Amorphane en majorité à côté d'autres squelettes sesquiterpéniques. Un examen approfondi des différents squelettes de sesquiterpènes présents dans la composition chimique révèle le lien étroit entre les différents squelettes. Il est clairement établi que le germacrène est le précurseur biosynthétique des principaux sesquiterpènes présents à savoir cis-4,10-epoxy Amorphane, γ Amorphane, Zonarène, β Cubebene, α Muurolol à travers diverses réactions notamment les réarrangements de type Wagner-Meerwein (figure 2.13). Ainsi, les sesquiterpènes décrits sont fort probablement dérivés de la protonation du germacène D résultant en cations muurolényle et amorphényle, tandis que le zonarene est plausiblement formé directement à partir de germacène D ou bien à partir des intermédiaires des cadinènes [228], sachant que la cyclisation du germacène D ou de son isomère endocyclique pourrait entraîner la formation de squelettes de type bourbonène et copaène [228], ces derniers sont présents dans les deux huiles en faibles quantités.

Il y a lieu de souligner que les sesquiterpènes décrits dans la composition chimique des deux HE sont couramment rencontrés dans les HEs des plantes terrestres [310-311] et d'autres algues brunes [312-313], de plus, ils sont dotés d'un large spectre d'activités biologiques intéressantes [314,315].

La composition chimique révèle également la présence des acides gras, tels que l'acide palmitique et l'acide myristique, en quantité identique dans les deux huiles. Ce dernier a été signalé dans l'huile de baleine [316] et dans des extraits bactériens [317].

D'autres composés sont également présents dans les deux huiles à des teneurs relativement faibles tels que les hydrocarbures et les acides. Nous avons noté la présence, en faible quantité de l'heptadécène uniquement dans l'HE de l'algue sèche (0.12 %), dans le milieu marin, ce composé est émis par l'algue verte *Bryopsis maxima* ce qui suggère qu'il pourrait intervenir dans la communication chimique [318-319].

Cependant, nous avons noté la présence surprenante du composé soufré, le 3-Hexyl-4,5-dithiacycloheptanone dans l'HE d'algue sèche, tandis qu'il est complètement absent dans l'HE d'algue fraîche. En comparaison aux travaux antérieurs [227] effectués sur la même espèce qui révèlent l'absence des composés soufrés dans l'HE obtenue par l'entraînement à la vapeur de l'espèce *D. dichotoma*, cette absence est probablement due à la variation des

paramètres de l'écosystème. Ces résultats confirment encore une fois de plus que la composition de l'HE varie selon l'origine géographique et la méthode d'extraction. La présence de composé soufré dans l'HE d'algue sèche est associée à la présence des acides gras insaturés qui sont connus pour être des précurseurs biosynthétiques des métabolites soufrés [320]. D'ailleurs, l'absence du métabolite soufré dans l'HE d'algue fraîche est associée également à l'absence surprenante des acides gras insaturés dans la même HE, ce qui conforte le lien biosynthétique entre les acides gras insaturés et les métabolites soufrés. Il y a lieu de noter que les métabolites soufrés sont fortement présents dans les HEs des espèces du genre *Dictyopteris* [22, 45].

Il est important de rappeler que l'identification des différents composés est réalisée sur la base des banques de données, associée aux indices de rétention calculés et de la littérature. Malheureusement, il y a un certain nombre de composés dont on n'a pas pu identifier sur la base de la méthodologie déjà expliqué, nous avons fait des tentatives de caractérisation structurale sur la base des données de la littérature. Le premier composé est celui élué à un temps de rétention à 31,84 mn et 31.91 mn respectivement, dans l'HE de l'algue sèche et fraîche. Il est présent avec des teneurs très élevées dans les deux huiles, avec 10,78 % et 19.31 % dans d'algue sèche et fraîche, respectivement. De plus, ce composé est élué dans une zone marquée par la présence notamment des sesquiterpènes, il est caractérisé par une masse molaire de 222 g/mol, qui selon toute vraisemblance correspondrait à un sesquiterpène oxygéné. Le spectre est caractérisé par un pic de base à m/z 179 et des pics à $m/z = 161$ (15 %), 121 (17 %), 105 (8 %) en plus du pic de masse à $m/z = 222$ avec une faible intensité (0.06 %). La présence du fragment caractéristique des sesquiterpènes à $m/z = 161$ conforte notre hypothèse de départ. Notre recherche bibliographique poussée, nous a conduits à conclure qu'il s'agit fort probablement du corvol ether A [321-322]. Le spectre de masse du corvol ether A est fortement similaire au produit discuté. La fragmentation du corvol ether A (figure 2.14) illustre clairement les différents fragments constatés sur notre spectre de masse.

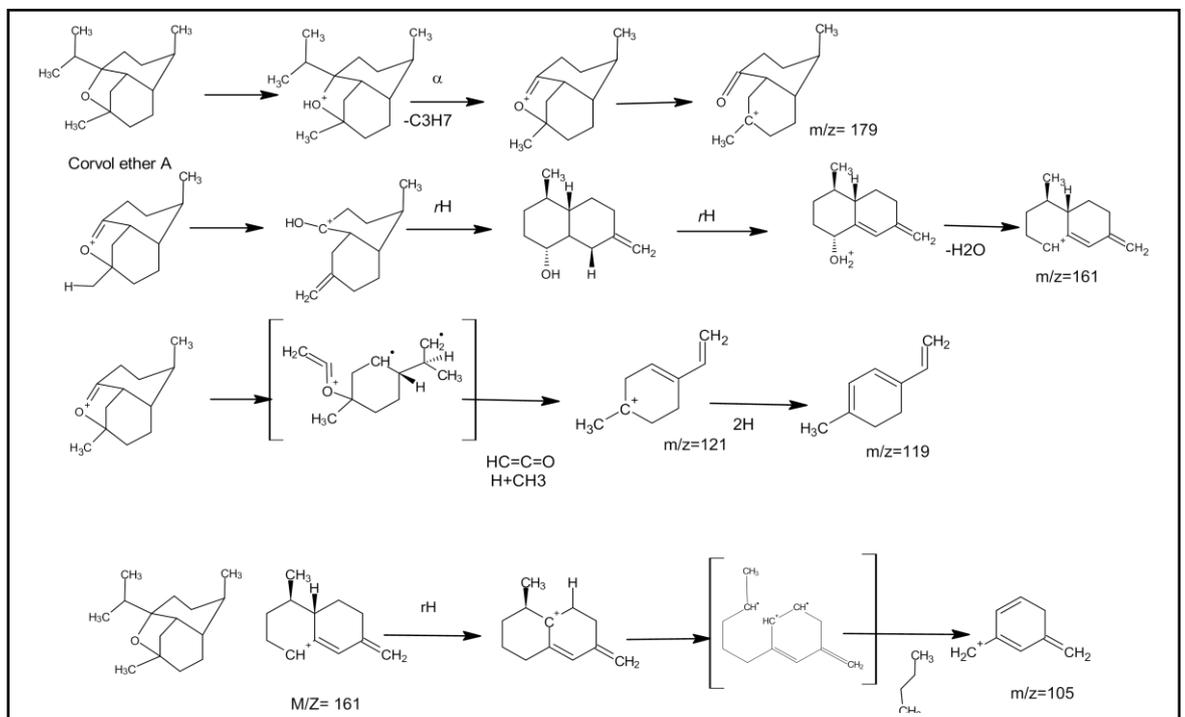


Figure 2.14 : Mécanisme de fragmentation de sesquiterpène oxygéné [321-322]

En effet, le pic de base à $m/z = 179$ révèle un mécanisme spécifique pour sa formation, il est formé à travers une perte d'une partie de la molécule ($C_{11} - C_{12} - C_{13}$), cette fragmentation s'explique par l'ionisation de corvol ether A avec une perte d'un électron de l'oxygène suivie d'un α clivage avec la perte du groupe isopropyle, ouverture du cycle et formation du pic de base à $m/z = 179$ (figure 2.14). L'étude de la fragmentation de la structure du corvol ether A montre que le fragment correspondant au pic de base à $m/z = 179$ est le précurseur direct du fragment très important à $m/z = 161$ via la perte d'une molécule d'eau. La perte d'un hydrogène et d'un groupe méthyle par α -clivages produit le fragment ($m / z = 121$). Un réarrangement de l'hydrogène suivi d'une ouverture de cycle avec α -clivage montre un pic à $m/z = 105$. La présence de ce composé dans les HEs des algues marines semble être exceptionnelle puis qu'il n'a pas été signalé. Il serait judicieux de consacrer une étude structurale complète, après isolement du produit, par spectroscopie moléculaire (IR, UV, SM, RMN mono et bidimensionnelle, afin de confirmer la structure de ce sesquiterpène.

Dans ce cadre, il est utile de rappeler que l'étude sur l'HE de la même espèce [227] a révélé la présence d'une classe de diterpène avec une teneur de 46.9 % et nettement majoritaire par rapport à la classe des sesquiterpènes limitée à la présence de trois sesquiterpènes : β cubebene (2.95%), β eudesmol (2.42%) et β ionone (1.95%). Cette différence conforte l'influence du lieu de récolte géographique sur la composition chimique de l'HE. La présence des diterpènes en lui-même n'est pas surprenant dans la mesure où l'espèce *D. dichotoma* est l'une des espèces les plus riches en métabolites secondaires notamment les diterpènes [114]. Les produits assimilés aux diterpènes sont présents de manière intrigante uniquement dans l'HE de l'algue sèche. Les deux hypothèses suivantes sont plausibles : (1) ou bien que l'état sec de l'algue faciliterait l'entraînement à la vapeur d'eau des diterpènes, (2) ou le processus de séchage favoriserait la biosynthèse des diterpènes en grande quantité. La première hypothèse paraît être plus cohérente et pleinement justifiée.

En ce qui concerne les diterpènes, la composition chimique de l'HE de l'algue sèche est caractérisée par la présence d'une fraction de diterpène (totalement absente pour HE d'algue fraîche), elle renferme du sanadaol, dictyol J, Pachydictol A et le cembrene. Ces diterpènes sont couramment rencontrés dans des espèces du genre *Dictyota* [114]. En se référant à la bibliographie, très peu de travaux, voir rares, ont été réalisés sur l'étude de la

composition chimique de l'HE de l'espèce *D. dichotoma*, des études chimiques sur cette espèce sont pleinement justifiés.

2.2.4 Analyse chimique de la fraction de l'espace de tête préparée par microextraction en phase solide

La microextraction en phase solide associé à la CG/SM a été réalisée pour la caractérisation des composés volatils émis par l'algue *D. dichotoma*. L'examen de la composition chimique (Tableau 2.10) de la fraction de l'espace de tête (FET) extraite par la microextraction en phase solide révèle une similitude relativement importante de la composition chimique par rapport à celles de l'HE de l'algue sèche et fraîche. La composition chimique de l'espace de tête est caractérisée par une grande domination des sesquiterpènes. Les squelettes de sesquiterpènes présentes dans les HE de l'algue sèche et fraîche sont également présents dans la fraction de l'espace de tête. Néanmoins, le *cis*-4,10-Epoxyamorphane, produit majoritaire dans les HE de l'algue sèche et fraîche avec des teneurs respectives de 22 % et 38.16 % est présent dans la FET avec une teneur de 6.45 % nettement inférieur en comparaison à celles des deux sesquiterpènes majoritaires en l'occurrence le γ Amorphe (13.6 %) et le zonarène (13.53 %) et à un degré moindre le germacrène D (8.5 %). Les autres sesquiterpènes sont présents à des teneurs relativement faibles. Il faut noter la présence du composé identifié comme étant le corvol ether A à une teneur de 11.8 % aussi importante de que celles retrouvées dans les HE de l'algue sèche et fraîche avec des teneurs de 10.78 et 19.31 %, respectivement. Il faut souligner l'absence dans la composition chimique de la FET des acides gras insaturés et des lipides d'une manière générale à l'exception des acides tétradécanoïque et hexadécanoïque avec des teneurs très faibles. Cet état de fait est tout à fait justifié car il s'agit de la FET, les produits émis par l'algue sont fortement dépendant de leurs volatilités. Les lipides et les acides gras sont caractérisés par une volatilité faible et un haut point d'ébullition ce qui rend leur volatilisation difficile.

Tableau 2.10 : Composition chimique de l'algue par MEPS couplé aux CG/SM

N°	TR	Nom	Database	I _{LIT}	I _{CAL}	% FID
1	4,39	Pentanal	DB1, DB2, DB3	696	703	t
2	6,86	Hexanal	DB1, DB2, DB3	801	803	t
3	13,87	Heptanol	DB1, DB2, DB3	970	973	t
4	13,97	Hept-(2E)-en-1-ol	DB1, DB2, DB3	964	975	t

5	14,48	6-methyl -5-Hepten-2-one	DB1, DB2, DB3	986	986	t
6	20,09	Undecane	DB1, DB2, DB3	1100	1100	0,08
7	20,37	Nonanal	DB1, DB2, DB3	1107	1106	0,07
8	31,85	α Cubébène	DB1, DB3	1349	1351	3,30
9	32,84	α Ylangène	DB1, DB3	1371	1373	2,44
10	33,14	α Copaène	DB1, DB3	1375	1380	5,00
11	33,30	Sativène	DB1, DB3	1394	1383	0,6
12	33,50	β Bourbonène	DB1, DB3	1382	1388	0,08
13	33,66	β Cubébène	DB1, DB3	1392	1391	0,6
14	33,86	Sativène	DB1, DB3	1394	1396	0,08
15	34,09	<Z >Caryophyllène	DB1, DB3	1408	1406	1
16	34,52	α Gurjunène	DB1, DB3	1406	1412	0,8
17	34,99	β Ylangène	DB1, DB3	1422	1422	1,05
18	35,2	α Maaliene	DB1, DB3	1438	1428	0,10
19	35,48	β Copaène	DB1, DB3	1433	1434	1,05
20	36,28	Corvol ether A	[307]	///	1449	11,80
21	36,38	Cadina-3,5-diène	DB1, DB3	1452	1456	3,15
22	36,58	9-Epi-Caryophyllène	DB1, DB3	1464	1463	t
23	36,76	Cadina-1(6),4-diène	DB1, DB3	1472	1465	1
24	37,13	α Amorphene	DB1, DB3	1479	1471	0,4
25	37,37	Cadina-1(6),4-diene	DB1, DB3	1477	1479	7,6
26	37,66	cis-4,10-Epoxy-Amorphane	DB1, DB3	1482	1480	6,45
27	37,74	Germacrène D	DB1, DB3	1480	1488	8,5
28	37,84	γ Amorphene	DB1, DB3	1490	1499	13,6
29	38,29	Epizonarène	DB1, DB3	1506	1502	1,17
30	38,56	δ Cadinène	DB1, DB3	1518	1508	1,46
31	38,99	γ Cadinène	DB1, DB3	1512	1519	3,2
32	39,56	Zonarène	DB1, DB3	1526	1534	13,53
33	39,81	trans-Cadina-1,4-diène	DB1, DB3	1536	1540	1,61
34	40,14	α Calacorene	DB1, DB3	1544	1548	0,59
35	40,92	palustrol	DB1, DB3	1568	1568	t
36	41,91	Gleenol	DB1, DB3	1590	1593	t
37	43,74	allo -Aromandendrene epoxide	DB1, DB3	1651	1650	0,1
38	44,08	α Muurolol	DB1, DB3	1659	1662	0,77
39	45,19	Cadalène	DB1, DB3	1677	1679	0,07
40	45,64	Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1-alpha-ol	DB1, DB3	1683	1692	t
41	45,85	Amorpha-4,9-dien-2-ol	DB1, DB3	1702	1697	t
42	49,02	Epi-Cyclocolorone	DB1, DB3	1771	1786	t
43	49,62	14-hydroxy-Cadinène	DB1, DB2, DB3	1804	1803	t
						91,35 %

2.2.5 Evaluation de l'activité antibactérienne

2.2.5.1 Antibiogramme

Comme indiqué, l'étude de l'activité antimicrobienne à celle de l'HE de l'algue sèche, la quantité d'HE obtenue à partir de l'algue fraîche est assez faible pour espérer faire les

manipulations nécessaires. Afin de mettre en évidence l'activité antimicrobienne d'HE de l'algue sèche, on a effectué le test d'antibiogramme vis-à-vis de sept souches bactériennes et une levure. Après 24h d'incubation à 37°C, nous avons observé l'apparition des zones d'inhibition autour des disques. L'examen des résultats a montré que l'HE de l'algue brune *D. dichotoma* produit des zones d'inhibition très intéressantes (tableau 2.11) vis-à-vis des trois souches : *Escherichia coli* (33mm), *Enterococcus Faecium* (47mm) et *Micrococcus luteus* (32mm) ce qui dénote une forte activité antibactérienne. Néanmoins, les souches *Agrobacterium tumefaciens*, *Enterobacter cloacae* et *Staphylococcus aureus* sont les moins sensibles avec des zones d'inhibition de (16 mm, 19 mm, 17 mm), respectivement. Toutefois, nous avons noté une légère zone d'inhibition pour la levure *candida albicans* avec un diamètre de 12 mm. Au regard des résultats obtenus, on peut conclure que notre HE exerce une activité antimicrobienne significative vis-à-vis de la majorité des souches bactériennes testées.

Tableau 2.11 : Diamètres des zones d'inhibition obtenu pour les différents microorganismes testés.

Souches	Gram	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>Escherichia coli</i>	(-)	33
<i>Enterococcus Faecium</i>	(+)	47
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	24
<i>Micrococcus luteus</i>	(+)	32
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	17
<i>Candida albicans</i>	Levure	12
<i>Enterobacter cloacae</i>	(-)	19
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	(-)	16

2.2.5.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice d'huile essentielle de *Dictyota dichotoma*

La détermination de la concentration minimale inhibitrice par la méthode de la microdilution a permis d'évaluer de manière quantitative le potentiel antimicrobien de l'HE vis-à-vis des souches testées. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 2.12.

Tableau 2.12 : Les concentrations minimales inhibitrices d'huile essentielle de *D. dichotoma*.

Souches	Gram	Concentration minimale inhibitrice (µl/ml)
<i>Escherichia coli</i>	(-)	0.93
<i>Enterococcus Faecium</i>	(+)	0.93
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	3.75
<i>Micrococcus luteus</i>	(+)	0.93
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	0.45
<i>Candida albicans</i>	Levure	60
<i>Enterobacter cloacae</i>	(-)	1.87
<i>Agrobacterium tumefacien</i>	(-)	7.5

L'examen du tableau 2.12 montre que l'HE a été clairement efficace à l'égard des souches *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus Faecium* et *Micrococcus luteus* avec une CMI de l'ordre de 0.45, 0.93, 0.93, 0.93 µl/ml, respectivement. Cependant, les deux bactéries à gram négatives *Pseudomonas aeruginosa* et *Agrobacterium tumefacie* sont les moins sensibles, elles ont enregistré des valeurs de CMI relativement supérieures, soit 3.75 et 7.5 µl/ml. La levure *Candida albicans* a montré une résistance élevée vis-à-vis de l'HE, ce qui s'est traduit par une CMI de l'ordre de 60 µl/ml. Les valeurs de la CMI (tab 2.12) montrent que l'HE exerce un effet inhibiteur puissant en milieu liquide vis-à-vis de la majorité des micro-organismes étudiées, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par

la méthode de l'aromatogramme. A la lumière de ces résultats, on déduit que l'HE montre une forte activité contre les bactéries à gram +, cette activité est liée à la sensibilité de ces micro-organismes, en particulier, à la nature de la paroi cellulaire, elles sont dépourvues d'une membrane externe ce qui les rend hypersensibles. Contrairement à la structure membranaire complexe et rigide des bactéries à gram – qui se caractérisent par une double membrane cellulaire qui empêche les molécules de franchir la barrière externe, ce qui leur confère une résistance assez importante. L'action des HEs sur la cellule bactérienne n'est pas clairement élucidée [316]. Compte-tenu de la diversité moléculaire chimique trouvée dans les HEs, l'activité antibactérienne est fortement reliée à une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant plusieurs sites au niveau cellulaire [317]. Par conséquent, on peut conclure que le mode d'action d'une HE dépend en particulier du type et des caractéristiques des composants actifs sachant que ces derniers sont caractérisés par des propriétés hydrophobes leur facilitant la pénétration à travers la couche phospholipidique de la membrane cellulaire des bactéries.

Il y a lieu de noter que l'activité biologique d'une HE est reliée à sa composition chimique, à cet effet, l'activité antimicrobienne de notre HE est fortement corrélée à la présence d'une variété de métabolites bioactifs dans sa composition chimique notamment les composés terpéniques, réputés par leur forte activité antimicrobienne [323,324]. La présence en abondance des sesquiterpènes confère à l'algue des propriétés biologiques très intéressantes. Il est à noter que l'HE étudiée est riche en sesquiterpènes potentiellement actifs parmi eux on trouve le copaène qui a montré un effet inhibiteur significatif contre *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureginosa* et *Streptococcus pyogenes* [319]. En outre, la présence d'une fraction de diterpènes, caractérisés par diverses activités biologiques, entre autres les activités cytotoxiques [215], antitumorales [325], antivirales [326], antifouling [216] et antioxydantes [327] renforce l'activité biologique de l'HE. En effet, aucune donnée bibliographique n'est disponible à ce jour concernant l'activité antimicrobienne de HE de *D. dichotoma* ce qui rend difficile de faire une étude comparative des résultats obtenus.

CHAPITRE 3

ETUDE DE LA VARIATION MENSUELLE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES ET DES FRACTIONS VOLATILES DE *DICTYOPTERIS POLYPODIOIDES* : APPROCHE METABOLOMIQUE

Introduction

La composition chimique des HEs dépend d'un certain nombre de paramètres, on peut citer la méthode d'extraction, le lieu de récolte et notamment la saison de récolte [328-330]. Par conséquent, quand un des paramètres change, on relève une variation de la composition chimique et qui de plus, couramment associée à celle de l'activité biologique [331,332]. La variation de la composition chimique est une réponse à un état écologique de l'espèce par rapport à son environnement pour atteindre l'équilibre de l'écosystème notamment en termes de biodiversité [333-336]. L'objectif de cette partie est d'évaluer l'étude chimique des HEs et des FVs d'échantillon d'algues récoltées mensuellement. Malheureusement, notre objectif n'a pas été atteint complètement, cet état de fait est lié au cycle de vie de l'algue. En effet, au cours des différentes campagnes de récolte de l'algue au niveau du site choisi, nous avons constaté la fragilité de l'espèce vis-à-vis des courants marins. Par conséquent, l'espèce commence à se développer à partir du mois de février, durant les mois d'avril -mai, l'espèce atteint un niveau de croissance maximal qui persiste durant les mois de juin, juillet. Durant la période Aout – octobre, l'espèce subit un déclin, elle disparaît presque complètement en fin octobre. En somme, nos récoltes ont été effectuées notamment durant la période Avril – Octobre. En plus de cette situation liée au cycle de vie de l'espèce, il est important de noter que les récoltes sont dépendantes de l'état de la mer. Dans ces conditions, nous nous sommes contentés de faire une étude de la variation mensuelle s'étalant de juillet à octobre. Concernant l'exploitation des données de l'étude chimique, nous avons adopté une approche métabolomique non ciblée, c'est-à-dire que nous avons pris en considération la majorité des métabolites influents de la composition chimique. Ainsi nous avons appliqué, entre autres, l'analyse en composantes principales (ACP) pour évaluer l'impact des saisons sur la composition chimique des HEs et des FVs d'algue *D. polypodioides*.

Le présent chapitre, est consacré à l'étude de la variation mensuelle de la composition chimique d'algue, il comprend les parties suivantes :

- 1- Extraction des HE et FV
- 2- Analyses des HE et FV par CG/SM
- 3- Résultats et discussion

1. Extraction des huiles essentielles et des fractions volatiles

L'extraction des HEs par hydrodistillation, la préparation de l'extrait brut et l'obtention de la FV à partir de l'extrait brut, ont été réalisés en suivant la méthodologie et les conditions décrites dans le chapitre 2 (&1.2).

2. Analyse des huiles essentielles et fractions volatiles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Les HEs et FVs obtenus en fonction de la période de récolte sont analysées par CG/SM dans les mêmes conditions que celles décrites dans le chapitre 2 (&1.3).

3. Résultat et discussion

3.1 Rendement en huiles essentielles et fractions volatiles

Les valeurs du rendement des HEs et des FVs d'algue récoltées au cours des différentes périodes sont regroupées dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Rendements en huiles essentielles et fractions volatiles en fonction de la période de récolte.

Rendement (%)	juillet	Aout	Sept-Oct
HE	0,07	0,07	0,08
FV	6	5,5	6

Les rendements en HEs et FVs sont comparables, nous constatons qu'il n'y a pas d'influence de la période (du moins pour les 4 mois consacrés à cette étude) sur le rendement. Il semble donc que la teneur en HE dans l'algue ne soit pas affectée par le vieillissement de l'espèce.

3.2 Etude de la variation mensuelle de la composition chimique d'huile essentielle et la fraction volatile de *D. polypodioides*

L'étude de la variation mensuelle a été effectuée sur des espèces récoltées entre juillet et octobre 2017. Nous avons choisi de suivre la variation de la teneur des principales familles chimiques au sein de la composition chimique de l'HE et la FV. Les 5 familles chimiques retenues sont : hydrocarbures en C11, sesquiterpènes, composés soufrés, acides gras saturés et acides gras insaturés (tableau 3.2). D'une manière générale, nous avons constaté

Tableau 3.2 : Composition des différentes familles chimiques

N°	Tr	Nom	Classe chimique
1	5,16	Hexanal	Hexanal
2	16,88	Dictyopterene A	C11
3	16,95	Dictyopterene B	
4	19,47	Dictyoptene D	
5	29,31	β Cubébène	Sesq
6	34,79	δ Cadinène	
7	37,17	Spathulenol	
8	37,53	Gleenol	
9	37,87	Viridiflorol	
10	38,34	Rosifoliol	
11	38,89	(3-oxoundec-4-enyl)sulfure	CS
12	44,1	AcideTetradecanoique	AG
13	46,39	Farnesyl acetate	Sesq
14	48,55	3-Hexyl-4,5-dithyacycloheptanone	CS
15	49,82	(3-oxoundec-4-enyl)thioacetate	
16	50,21	(3-oxoundecyl)thyoacetate	
17	50,79	Acide Hexadecanoique	AG
18	52,98	Acide gras Insaturés C18 (NI)	AGI
19	53,16	Acide gras Insaturés C18 (NI)	

Une variation de la teneur des constituants de l'HE et de la FV. Il faut bien rappeler que l'environnement où se développent les végétaux détermine leur contenu chimique. Par conséquent, Il est clairement établi que les facteurs environnementaux (climat, météo, milieu, nutrition) interviennent directement dans la régulation de la biosynthèse des HES [337]. Outre les facteurs exogènes que nous avons cités, il faut rajouter les facteurs endogènes liés à l'espèce elle-même comme l'âge et les facteurs génétiques [338]. Dans le cas des algues, il faut rajouter des paramètres prépondérant et important comme la salinité du milieu marin, les courants marins et d'autres paramètres spécifiques à cet écosystème.

Un grand nombre de travaux ont été rapportés dans littérature et portant sur l'impact de la variation saisonnière sur la composition chimique non seulement des HEs mais sur d'autres classes chimiques comme les protéines, les hydrates de carbone, les lipides et d'autres métabolites secondaires et primaires [339-344]. Une analyse globale des résultats obtenus dans la présente étude révèle une variation significative de la teneur des composés soufrés et des hydrocarbures en C11. Cette variation n'est guère étonnante au regard du rôle écologique important joué par ces deux classes dans la défense chimique et dans la reproduction de l'espèce.

3.2.1 Impacts de la variation mensuelle sur la composition chimique de l'huile essentielle

Il est utile de rappeler que nous nous sommes intéressés à la variation de la composition chimique en termes de famille. Du point de vue métabolomique, c'est une approche ciblée puisque nous visons des classes précises, mais en réalité c'est une approche non ciblée puisque les classes choisies représentent la quasi-totalité des constituants du chromatogramme. Nous avons représenté la variation des teneurs des différentes classes chimiques de diverses manières. L'examen de la figure 3.1 révèle que les hydrocarbures en C11 montrent une teneur approximativement identique en juillet et septembre, néanmoins, leur teneur est maximale au mois d'août. La maximalisation de la teneur des hydrocarbures en C11 au mois d'août est certainement liée à un état de stress ou un besoin pour asseoir une réponse écologique de l'espèce. L'augmentation de la teneur des HC en C11 au sein de l'espèce renforce le processus de communication chimique qui pourrait être lié, dans ce cas, notamment à la reproduction sexuelle de l'espèce [116,345]. Les composés soufrés sont à leurs teneurs maximales durant les mois de juillet et septembre, en revanche, leur teneur chute au mois d'aout au moment où la teneur des hydrocarbures en C11 est maximale. Sur le plan écologique, c'est un compromis impressionnant, il s'agit en fait d'une réaction de l'espèce pour un besoin vital a son adaptation par rapport à son milieu. Sachant que les composés soufrés interviennent dans le processus de défense chimique, on peut comprendre que durant les deux mois de juillet et septembre, l'espèce se trouve dans un environnement agressif qui l'oblige à biosynthétiser des « armes chimiques » pour survivre. La réaction inverse est observée durant le mois d'aout ou la teneur des composés soufrés est en baisse pour laisser place à une augmentation à la teneur des hydrocarbures en C11 qui agissent notamment en tant que phéromones sexuelles mais aussi dans la communication chimique en général. L'effet balançoire de la teneur des HC C11/composés

soufrés est aussi lié à l'implication des HC en C11 dans la biosynthèse des composés soufrés [320].

Les acides gras saturés (AGS) et insaturés (AGI) gardent leurs teneurs stables durant les trois mois à l'exception des AGI qui voient leur teneur s'accroître durant le mois de septembre, sachant qu'ils sont impliqués dans le processus de biosynthèse, il est logique d'admettre que l'espèce enclenche un mécanisme de production d'autres métabolites.

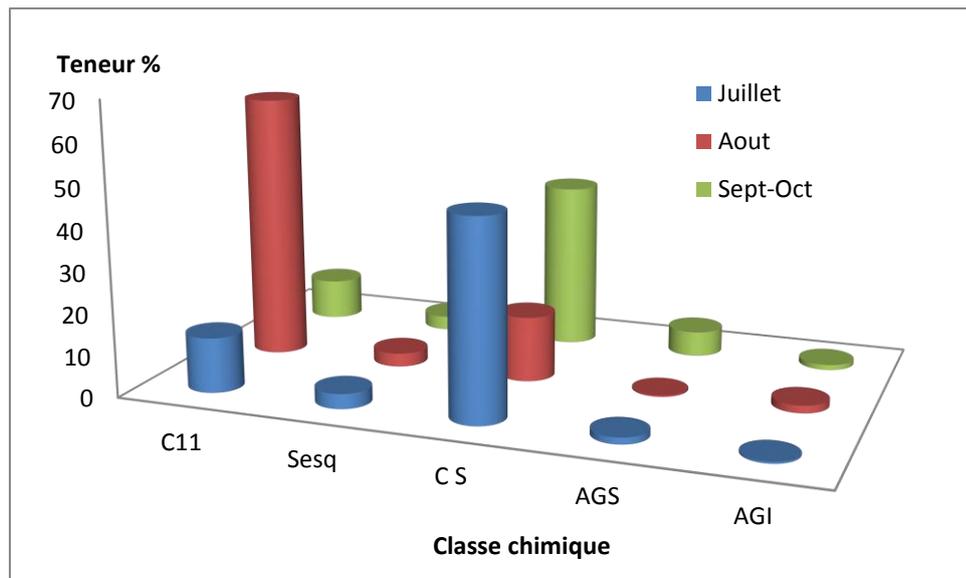


Figure 3.1 : Variation de la teneur des différentes classes chimiques en fonction de la période de récolte de l'huile essentielle

Les teneurs des familles chimiques ont été exploitées en utilisant une analyse en composante principale (ACP). Le traitement de données par ACP nous a permis de représenter les données des teneurs par une matrice de corrélation (figures 3.2) et un plan 2D (figure 3.1). L'examen de la figure 3.2 confirme les constatations faites au niveau de la figure 3.1 et dévoile d'autres informations plus précises. Tout d'abord, nous allons commencer par donner une petite nomenclature pour l'interprétation de la matrice de corrélation. Il faut savoir que la couleur rouge indique une corrélation positive, la couleur bleue une corrélation négative. A fur et à mesure que la couleur s'éclaircit, la corrélation devient de plus en plus faible. La case blanche indique une absence de corrélation. La matrice de corrélation indique que les composés 2, 3 et 4 représentant la famille des HC en C11 corrélaient négativement avec les composés 11, 14, 15 et 16 constituants de la famille des composés soufrés. Il est clairement illustré sur la figure 3.2 la corrélation négative forte entre le Dictyoptere A et le (3-oxoundec-4-enyl) sulfure, les composés

Dictyopterene B, Dictyoptene D et le (3-oxoundec-4-enyl) thioacetate, le Dictyopterene A et le (3-oxoundecyl) thioacetate. Une étude plus poussée permettrait à coup sûr d'élucider des informations précieuses sur l'interaction des métabolites en fonction de l'empreinte écologique. Sur la même figure 2, on remarque des corrélations positives fortes entre les composés 18 et 19 qui sont des acides gras insaturés et la famille des HC en C11 (2, 3, 4) notamment avec le dictyoptérène A, ce qui conforte l'hypothèse de l'intervention des AGI en tant que précurseurs biosynthétiques de HC en C11 (&2.2.1). D'autres corrélations positives et négatives sont illustrées par la figure 3.2, une exploitation plus poussée permettrait d'aboutir à des conclusions remarquables.

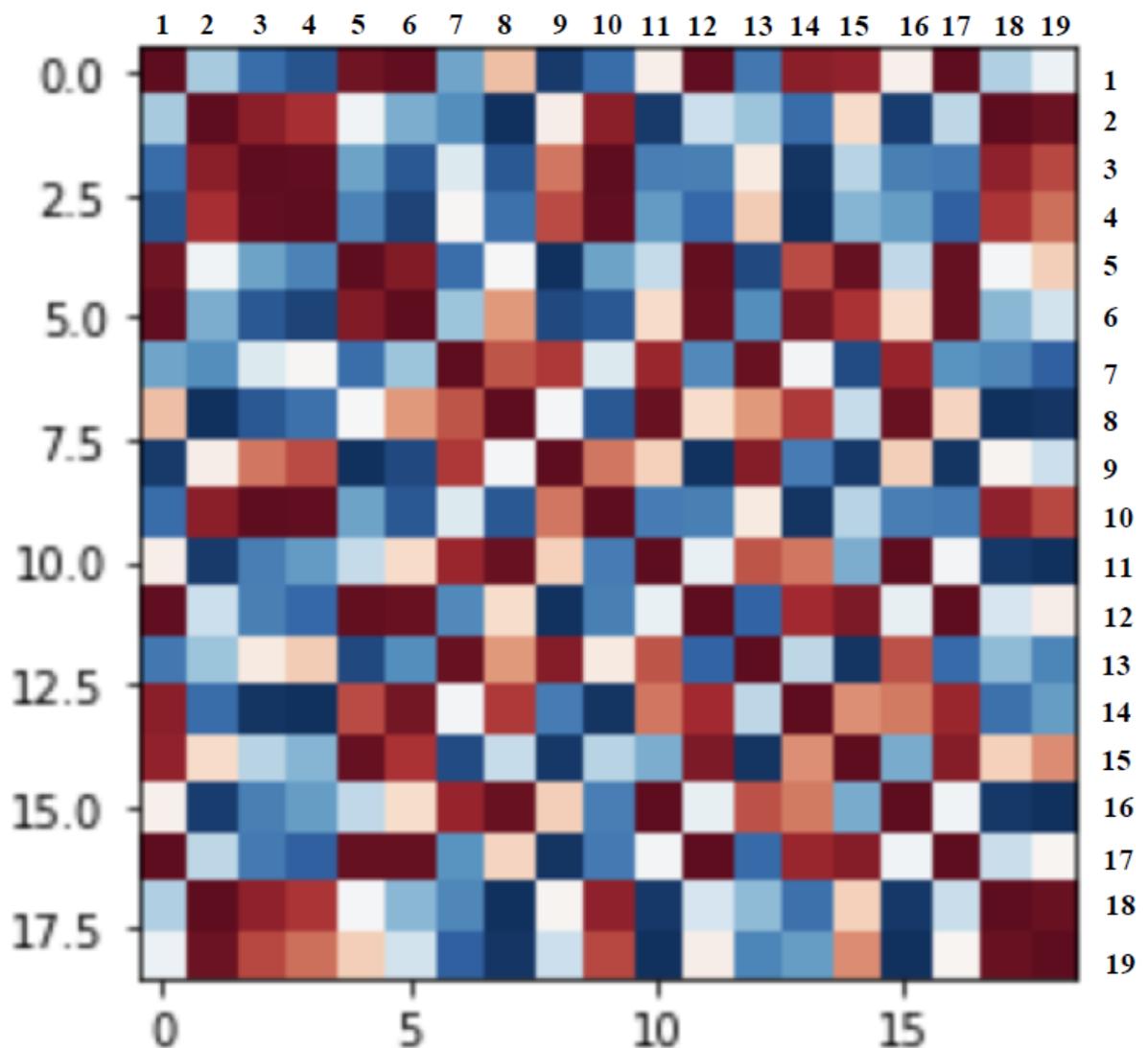


Figure 3.2 : Matrice de corrélation des constituants des différentes familles chimiques de l'huile essentielle

La figure 3.2 qui représente un plan 2D de l'ACP montre explicitement la corrélation négative entre les HC en C11 et quasiment la majorité des familles chimiques, notamment la famille des composés soufrés. En revanche, une corrélation positive franche est observée entre les familles des sesquiterpènes, des acides gras saturés et insaturés et certains composés soufrés. Cette interaction sesquiterpènes et les AGS et AGI pourrait être l'indicateur de l'interaction biosynthétique entre les classes chimiques citées, sachant que les AGI interviennent dans la voie poly acétate qui certes ne s'engage pas directement dans la biosynthèse des terpènes, mais il se pourrait qu'il y ait existence d'une voie intermédiaire plausible.

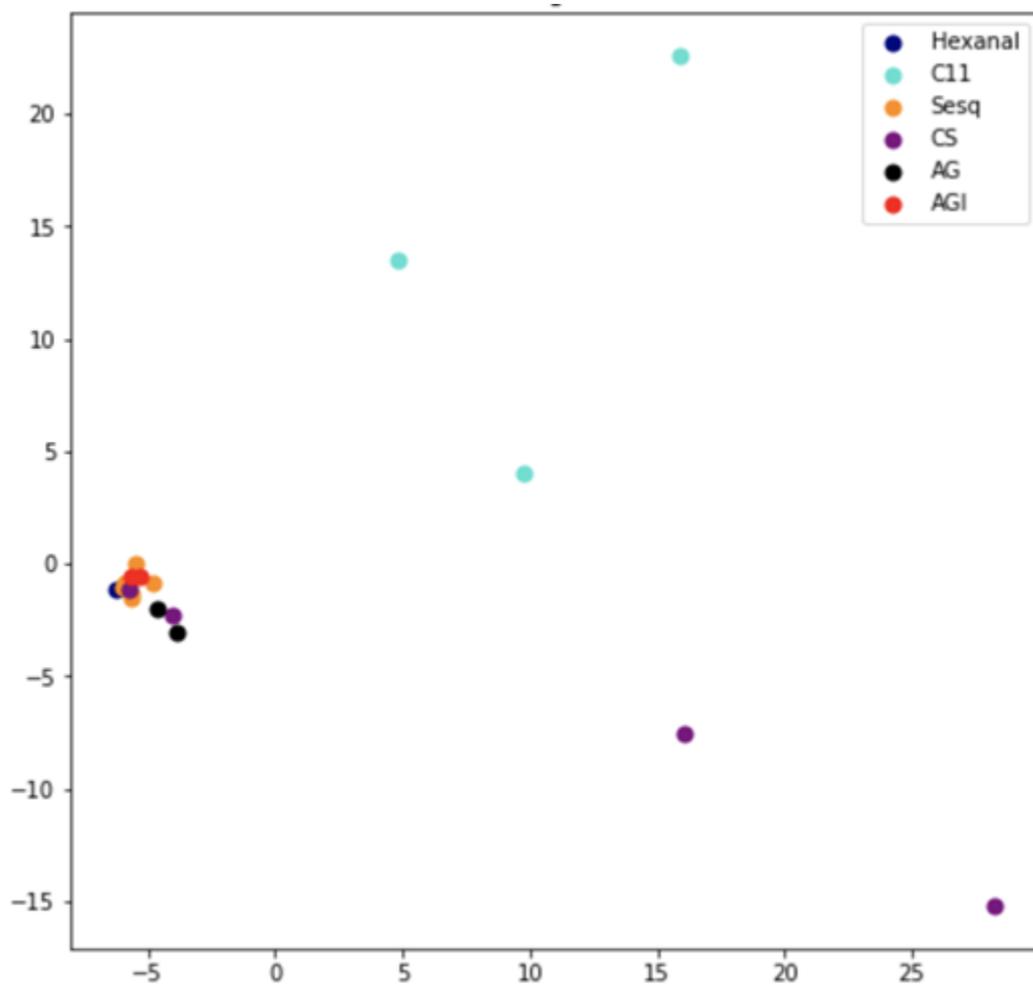


Figure 3.3 : Plan 2D des constituants des différentes familles chimiques de l'huile essentielle

3.2.1 Impacts de la variation mensuelle sur la composition chimique de la fraction volatile

Les teneurs des familles chimiques sont représentées sur la figure 4. Les résultats obtenus sont assez surprenants dans la mesure où la teneur des hydrocarbures en C11 est nulle durant les mois de juillet et août, elle passe ensuite à 17 % au mois de septembre-octobre. Il est fort probable que les HC C11 se sont dégradés au cours de l'hydrodistillation de l'extrait par suite de chocs thermiques. Il est aussi possible que, un temps de macération dans le solvant élevé aurait provoqué la conversion des HC C11.

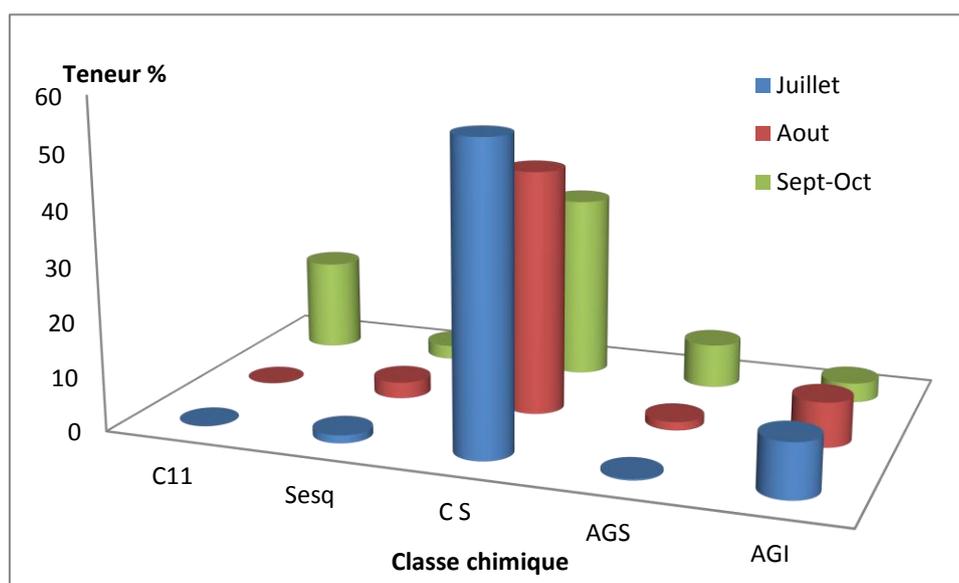


Figure 3.4 : Variation de la teneur des différentes classes chimiques en fonction de la période de récolte de la fraction volatile

Nous constatons que la teneur de composés soufrés est maximale au mois de juillet, et elle diminue graduellement jusqu'au mois de septembre-octobre en ayant respectivement les teneurs suivantes : 55.8%, 44.8% et 33.9%. En même temps, qu'on a la diminution de la teneur des composés soufrés, on assiste à un accroissement de la teneur des HC en C11 en passant de 0% à 17%. L'examen rigoureux des teneurs permet de déduire que la conversion/dégradation des HC en C11 conduit vraisemblablement aux composés soufrés puisque l'addition des teneurs des composés soufrés et des HC en C11 est relativement très proche, on enregistre les valeurs suivantes : juillet (55.8 %), août (44.8 %) et septembre-octobre (50.9%). La teneur des AGI est relativement constante en juillet et août, elle se situe autour de 9%, ensuite elle chute à 3.6 % en septembre-octobre. Les AGS montrent une teneur faible durant les deux premiers mois (autour de 1%), ensuite elle s'accroît jusqu'à 8.2 % en septembre-octobre. La teneur des sesquiterpènes demeure corrélativement

constante aux alentours de 2 %. Les fluctuations des teneurs des différentes classes pour la FV sont reliées soit à un processus de conversion/dégradation due au procédé d'extraction et/ou plus probablement à des interactions biosynthétiques conduisant à un métabolome correspondant à la réalité écologique de l'espèce.

Les résultats de l'ACP ont permis de représenter la variation des teneurs en fonction de la variation mensuelle sous forme d'une matrice de corrélation (figure 3.5) et d'un plan 2D (figure 3.6).

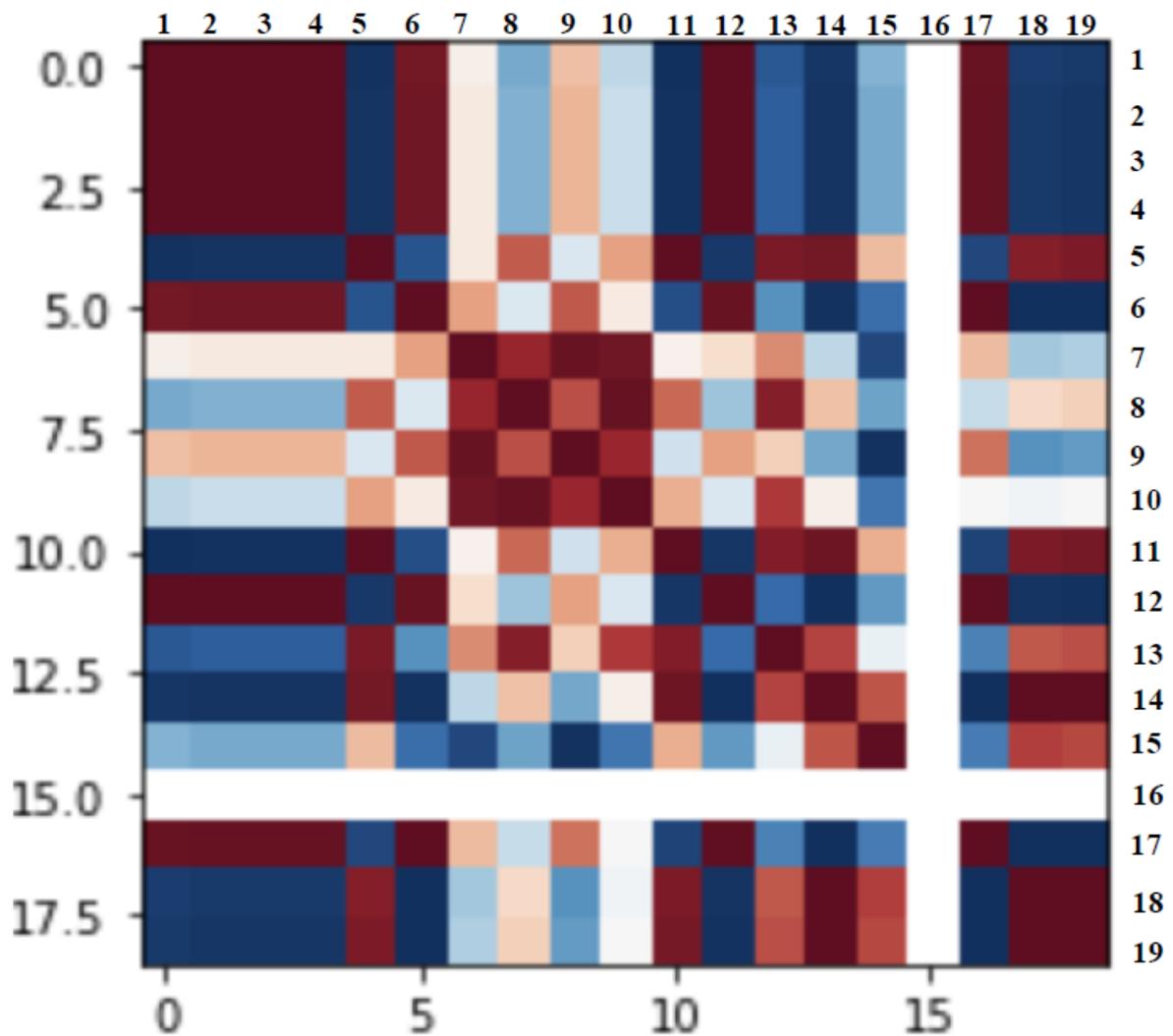


Figure 3.5 : Matrice de corrélation des constituants des différentes familles chimiques de la fraction volatile

Des corrélations positives sont clairement apparentes entre les HC en C11 et un sesquiterpène (δ Cadinène) et les deux acides gras saturés (12, 17). Des corrélations positives nettes sont enregistrées entre un les AGI (18, 19) et les produits soufrés (11, 14,

15), elles dénotent le lien biosynthétique entre les deux familles chimiques. D'autres corrélations négatives et positives peuvent reflètent explicitement les interactions entre les métabolites des différentes classes chimiques. Le plan ACP 2D (figure 3.6) montre des corrélations positives entre les sesquiterpènes et un des produits soufrés et les hydrocarbures en C11. La figure 3.6 confirme la corrélation négative entre les HC en C11 et les composés soufrés. Les AGI confirment leur rôle de précurseurs biosynthétiques puisque ils se trouvent dans une région intermédiaire entre les métabolites des différentes familles chimiques.

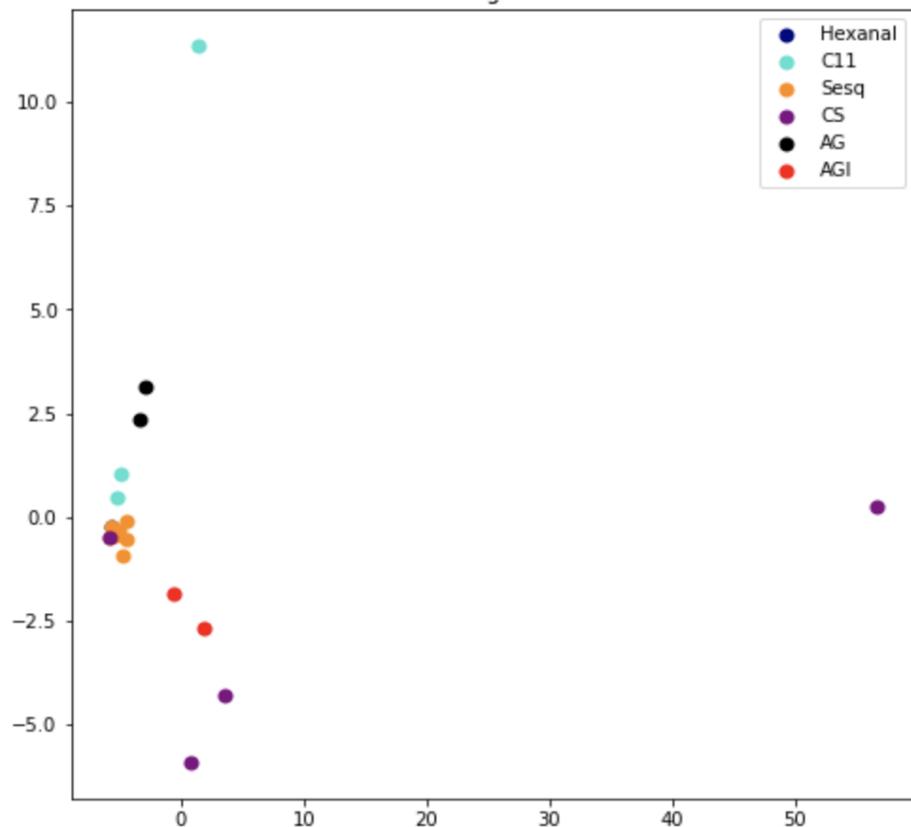


Figure 3.6 : Plan 2D des constituants des différentes familles chimiques de la fraction volatile

L'analyse en composante principale a été un outil très précieux dans l'approche métabolomique globale. Néanmoins, il s'avère qu'elle nécessite beaucoup de données, ce n'est pas le cas pour notre étude, d'autres points (d'autres mois de récolte) paraît plus que nécessaire pour conduire à des résultats plus concluants.

Les différentes représentations des teneurs des différentes familles chimiques ont été cohérentes et complémentaires. Elles nous ont permis d'expliquer lisiblement les interactions entre les différents métabolites. D'autres études portant notamment sur la bioconversion/ biodégradation des différents métabolites contribueraient sûrement à

l'élucidation du métabolome de l'espèce. Une variation saisonnière portant sur toute l'année (un travail pas évident à partir du milieu marin) en cultivant l'algue pourrait constituer un moyen pour comprendre le comportement de l'espèce.

CHAPITRE 4

ETUDE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE *DICTYOPTERIS* *POLYPODIOIDES* PAR HTDRODISTILLATION ASSISTEE AUX SURFACTANTS

Introduction

Les tensioactifs non ioniques paraient être très prometteurs dans le domaine d'extraction des produits naturels, ils apportent une véritable originalité pour le développement d'une technologie propre de plus en plus respectueuse de l'environnement, ces tensioactifs se caractérisent par leurs bonnes propriétés toxicologiques, bon rapport coût/efficacité, de plus ils sont aisément biodégradables. A cet effet, l'extraction basée sur les tensioactifs a été décrite comme une bonne alternative aux systèmes conventionnels d'extraction liquide-liquide [346].

Dans ce chapitre nous proposons d'étudier l'influence d'un tensioactif sur l'extraction d'HE par hydrodistillation de l'algue *D. polypodioides* en termes de rendement et de composition chimique. Nous avons utilisé dans la présente étude le Triton X-100.

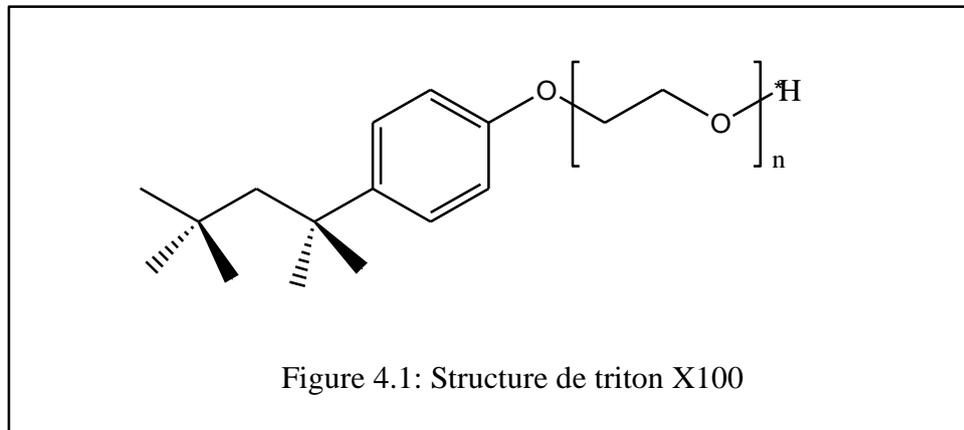
Ce chapitre comprend les trois parties suivantes :

- ❖ Préparation d'HE par hydrodistillation classique,
- ❖ Préparation d'HE par hydrodistillation assistée aux tensioactifs,
- ❖ Analyse des HEs par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse,

1. Description du tensioactif

La série des Triton X est obtenue par réaction de l'octylphénol avec de l'oxyde d'éthylène, où X représente le nombre moyen d'unité d'oxyde d'éthylène dans la chaîne latérale de l'éther. La distinction entre les différents types de Triton se fait en fonction du nombre X. Le Triton X-100 et le Triton X-114 sont les plus utilisés dans leur série [347], du fait de leurs propriétés physico-chimiques notamment la solubilisation mais aussi à cause de leur facile biodégradabilité.

Le triton X 100 est un agent tensioactif non-ionique biodégradable, Il possède la structure chimique représentée dans la figure 4.1.



2. Extraction et analyse des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation classique et par hydrodistillation assistée au tensioactif

L'HE obtenue par hydrodistillation classique a été effectuée sur une masse de 100g d'algue sèche. Concernant l'hydrodistillation assistée au surfactant, elle a été réalisée de manière identique en rajoutant à une masse d'algue sèche de 100 g une quantité de Triton X-100 dans l'eau. A cet effet, afin de d'étudier l'influence de la teneur en tensioactif sur le rendement de l'hydrodistillation, une cinétique d'hydrodistillation a été effectuée aux concentrations de tensioactifs suivantes : 0%, 4%, 8%,10%, 12%, 16%, 20%. La méthodologie d'extraction par hydrodistillation et le traitement des hydrolats obtenus dans chaque manipulation sont réalisés de manière exactement identique à celle développée précédemment (chapitre 2 & 1.2).

L'analyse des HES par CG/SM obtenues a été effectuée dans les mêmes conditions que celle décrites dans le chapitre (2 & 1.3).

3. Résultats et discussion

3.1 Propriétés organoleptiques

Les propriétés organoleptiques des HES obtenues par deux méthodes d'extraction sont consignées dans le tableau 4.1.

Tableau 4.1 : Propriétés organoleptiques des huilles essentielles de *D. polypodioides*

Propriétés organoleptiques	Couleur	Odeur	Aspect
HE (hydrodistillation classique)	Vert clair	Caractéristique	Liquide visqueux
HE (hydrodistillation assistée aux Triton X-100)	Vert foncée	Caractéristique	Liquide visqueux

3.2 Cinétique d'extraction de l'huile essentielle obtenue par les deux méthodes

Le rendement en HE η est exprimée par la même relation décrite précédemment (chapitre 2 & 1.2.5). Les valeurs des rendements d'extraction d'HE par hydrodistillation en fonction de la teneur du Triton X-100 sont regroupées dans le tableau 4.2 et illustrées par la figure 4.2. L'hydrodistillation à une teneur en Triton X-100 nulle représente l'hydrodistillation classique.

Tableau 4.2 : Rendement d'huile essentielle obtenu à partir de différentes concentrations de Triton X-100

Concentration Triton X-100	0%	4%	8%	10%	12%	16%	20%
Quantité de l'huile obtenue (mg)	37,2	40,3	65,2	65,5	66,3	39,7	30,5
Rendement (%)	0,12	0,13	0,22	0,22	0,22	0,13	0,1

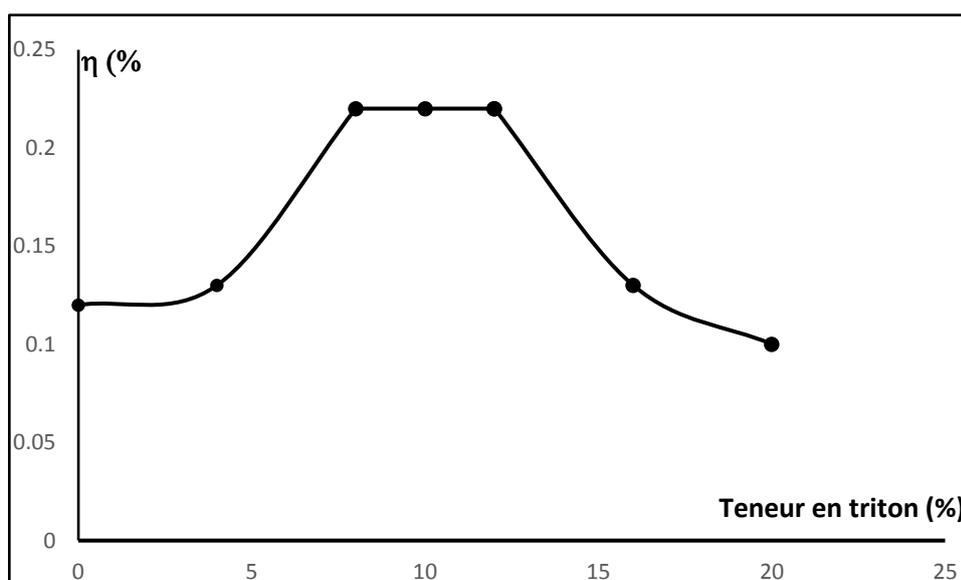


Figure 4.2 : Rendement de l'huile essentielle obtenue en fonction de la teneur du Triton X-100

La courbe cinétique d'hydrodistillation assistée au Triton X-100 représentée par la figure 4.2 peut être répartie en trois parties :

La première partie commence par une teneur en Triton X-100 nulle correspondant à une hydrodistillation classique avec un rendement de 0,12 %. Elle est caractérisée par une courbe grimpante, du rendement en fonction de la teneur du Triton X-100, jusqu'à atteindre un rendement maximal de 0,22 %. Il convient de noter que l'accroissement du rendement de l'hydrodistillation assistée aux tensioactifs, a été déjà rapporté dans des études ultérieures [348, 349]. En effet, l'introduction d'un tensioactif exerce probablement un effet de synergie à travers l'amélioration de la pression de vapeur des différents produits de l'huile ce qui induit une augmentation du rendement.

La seconde partie est caractérisée par un pallier avec un rendement constant à 0,22% malgré l'augmentation de la teneur du tensioactif de 8 à 12%. Ce phénomène est probablement dû au fait que le phénomène de synergie ayant contribué à l'augmentation du rendement a atteint son niveau maximal à partir d'une teneur de tensioactif estimée à 8 %.

La troisième partie se manifeste par une chute du rendement (de 0,22 à 0,1 %) malgré l'augmentation de la teneur du tensioactif (12 à 20%), ce résultat confirme l'existence d'un phénomène à compromis consensuel autour d'un rendement de 0,22 %. Il semble donc clair que le même phénomène, qui provoque une synergie positive provoquant l'augmentation du rendement en fonction de la teneur du tensioactif, crée une synergie

négative, en affectant la volatilisation des produits, et entraîne par conséquent une baisse du rendement. Il a été constaté durant notre travail expérimental qu'au-delà de 12% de tensioactif, une quantité de mousse importante apparaît dans le ballon d'entraînement, elle pourrait constituer un effet d'écran qui bloque le phénomène d'entraînement à la vapeur de l'HE.

3.3 Analyse des huiles essentielles par CG/SM

Les HEs obtenues au cours de la cinétique d'hydrodistillation assistée au Triton X-100 ont été analysées par CG/SM. Les résultats obtenus montrent clairement l'influence de la teneur en tensioactif sur la composition chimique. Nous nous sommes intéressés, pour des raisons de commodité, à la variation de la teneur des trois principales familles présentes dans la composition chimique d'HE à savoir, les hydrocarbures en C11, les produits soufrés et les sesquiterpènes. Le pourcentage des différentes familles chimiques est donné par le tableau 4.3 et représenté par la figure 4.3. L'examen de cette dernière montre que dans l'HE obtenue par hydrodistillation classique, soit en absence de tensioactif, les sesquiterpènes sont nettement dominant par rapport aux deux autres familles qui sont présentes à des teneurs similaires. L'HE obtenue par hydrodistillation assistée avec 4% de tensioactif montre une composition chimique exactement similaire à celle de l'hydrodistillation classique. A partir d'une teneur en triton X-100 égale à 8%, la famille des sesquiterpènes disparaît complètement et en même temps on constate que la teneur des composés soufrés et des C11 reste approximativement constante. La teneur des sesquiterpènes reste très faible (0% à 6.05%) au niveau du pallier de rendement (0.22 %) soit avec une teneur en triton X-100 variant de 8 à 12 %. Néanmoins, la teneur des hydrocarbures en C11 augmente pour se stabiliser autour de 30% et celle des composés soufrés chute pour atteindre 5.63 % pour une teneur de triton égal à 20%. A cette concentration de triton, la teneur des HC en C11 s'abaisse de moitié pour être autour de 16%.

L'examen de la figure 4.3 permet de constater que la teneur des hydrocarbures en C11 évolue dans le même sens que celle du tensioactif, c'est-à-dire que l'accroissement de la teneur du tensioactif provoque une augmentation du rendement. En effet, les hydrocarbures sont marqués par leur caractère hydrophobe, l'ajout du tensioactif permet d'augmenter leur miscibilité à travers la formation de micelles et par conséquent l'homogénéité de la solution ce qui entraîne une diffusion de chaleur plus grande et ainsi un entraînement à la vapeur d'eau plus efficace.

Cependant, la teneur des composés soufrés et notamment les sesquiterpènes varie en sens inverse avec celle du triton X-100. Ainsi, les composés soufrés, et notamment les sesquiterpènes, sont caractérisés par une polarité plus importante en comparaison aux hydrocarbures en C11. Par conséquent, l'ajout du tensioactif augmente nettement la solubilité globale du système (eau – HE – tensioactif), le phénomène d'entraînement à la vapeur ralentit à cause de la mise en place simultanée de la distillation (composés miscibles). Ce que nous avons avancé, restent des interprétations probables qui nécessitent une confirmation à travers des expériences réalisées avec des systèmes reconstitués. Au regard des résultats obtenus, nous avons noté que l'extraction aux tensioactifs pourrait, dans des conditions optimisées, être une extraction sélective, c'est le cas de l'hydrodistillation à une teneur de triton de 8 % où on note la disparition totale de la classe des sesquiterpènes, c'est-à-dire l'isolement de la famille des hydrocarbures en C11 et des composés soufrés. Sur le plan activité biologique, ce résultat pourrait être très intéressant en fonction de l'activité biologique des familles chimiques. Par voie de conséquence, l'HE isolée par hydrodistillation avec 8% de triton pourrait avoir des propriétés bioactives très intéressantes eu égard à la présence de la classe des composés soufrés connue pour être dotée d'un large spectre d'activité biologique [136-137]. Les résultats obtenus pourraient être exploités dans l'isolement des familles chimiques. Il est quasiment certain que des conditions bien adaptées en termes de teneur de tensioactif permettraient d'obtenir des HEs possédant des propriétés chimiques et d'activités biologiques valorisables.

A ce jour, les travaux menés sur l'extraction des HEs en présence de tensioactif non ionique reste limités, bien que l'introduction des tensioactifs dans l'hydrodistillation augmente généralement le rendement en HE, il a été noté qu'il n'ont pas une influence significative sur la composition des huiles étudiés [350-352] un résultat qui mérite d'être confirmé à la lumière de ce que nous avons obtenu, cette différence de comportement de tensioactif sur l'HE est liée à plusieurs facteurs tels que le type de tensioactif utilisé, la nature de la matière végétale et la méthodologie d'extraction. Nous avons noté également, l'apparition de nouveaux produits (mineurs) dans le chromatogramme. Il s'avère, qu'il pourrait être lié à des dégradations du triton X-100, d'où le choix du tensioactif en termes de stabilité chimique est primordial pour obtenir des résultats concluants.

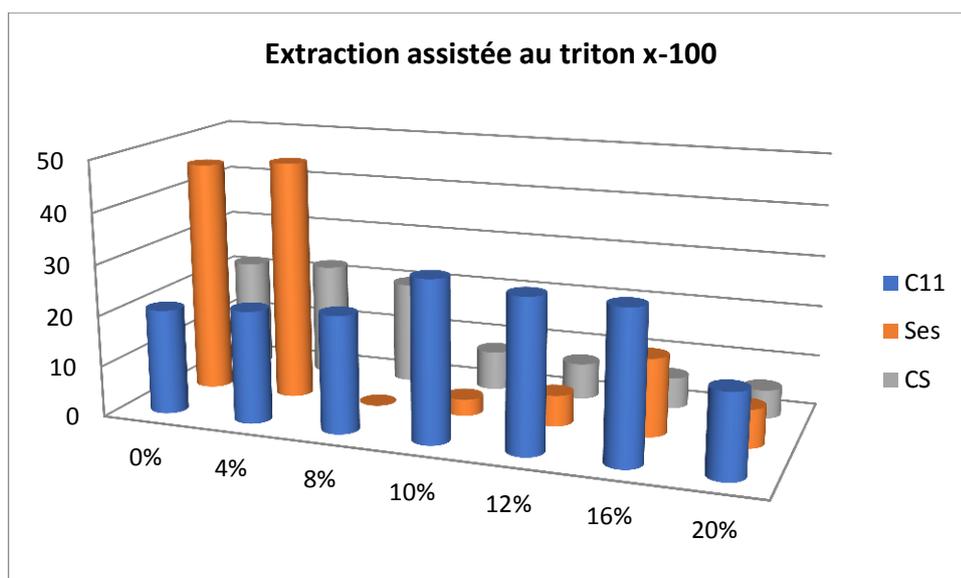


Figure 4.3: Influence du triton X-100 sur l'extraction des familles chimiques présentes dans l'huile essentielle

Tableau 4.3: Variation de la composition chimique en fonction des concentrations du tensioactif

Familles chimiques	0%	4%	8%	10%	12%	16%	20%
C11	20,6	22,05	22,9	31,43	29,8	29,51	16,36
Ses	45,8	46,15	0	3,26	6,05	15,26	7,6
CS	21,7	22,44	20,24	7,73	7,09	6,09	5,63

CONCLUSION

La présente thèse portant sur l'étude chimique et valorisation de l'activité antimicrobienne des fractions volatiles extraites d'algues marines - approche métabolomique a été organisée en 4 chapitres.

Le premier chapitre a été consacré à une synthèse bibliographique dans laquelle nous avons donné un aperçu concis et clair sur la chimie des produits volatils issus des algues marines. Nous avons enchainé avec un état des connaissances sur la chimie des espèces du genre *Dictyopteris*. Ce genre est caractérisé par des molécules assez rares que ce soit dans le milieu marin ou terrestre. Il s'agit des hydrocarbures en C11, qui agissent en tant que phéromones sexuelles mais aussi caractérisés une odeur rappelant la note marine. Ensuite, nous avons discuté brièvement les activités biologiques des HEs et des FVs des algues brunes. Etant donné que notre étude chimique porte sur les espèces *D. polypodioides* et *D. dichotoma*, nous avons consacré une partie non négligeable sur une étude systématique et chimique des deux espèces. Il s'agit probablement des espèces les plus odorantes du monde marin, elles sont caractérisées par une fragrance typiquement marine. Nous avons abordé dans cette étude des aspects de systématique et de taxonomie suivie d'une description succincte, des notions très utiles sur le biotope et l'écologie des deux algues. La systématique a été ensuite enrichie et complétée par une étude portant sur la chimie des deux espèces. L'espèce *D. polypodioides* est probablement l'espèce la plus distinguée du genre *Dictyopteris*, elle est caractérisée par la présence, en plus des hydrocarbures en C11, des composés soufrés dotés d'une activité biologique extrêmement importante et impliqués dans le processus de défense chimique des espèces. Le nom de *D. dichotoma* est associé aux diterpènes. En effet, il s'agit de l'espèce la plus riche en métabolites dans la classe des algues brunes, des centaines de métabolites notamment des diterpènes et des sesquiterpènes ont été isolés à partir de cette espèce. La synthèse bibliographique a été achevée par une partie sur la métabolomique et les principales approches utilisées. Nous avons passé en revue l'utilisation des approches métabolomiques dans, notamment, l'étude chimique des HEs.

Le chapitre 2 constitue le cœur de la thèse. Il porte sur l'étude chimique des HEs et FVs et la détermination de l'activité antimicrobienne de *D. polypodioides* et de *D. dichotoma*. La première partie a été réservée à une étude chimique comparative d'HE et la FV de *D. polypodioides*. L'HE a été obtenue par hydrodistillation à partir de l'algue sèche avec un

rendement de 0,08 %. La FV a été préparée par hydrodistillation, en utilisant le montage de Dean Strack modifié, à partir de l'extrait brut de l'algue avec un rendement de 6.6 %. L'extrait brut a été produit par macération dans l'éther avec un rendement de 1 %. Nous avons préparé une fraction de l'espace de tête par microextraction en phase solide pour l'espèce *D. dichotoma* en utilisant une microseringue comprenant une fibre de polydiméthylsiloxane / divinylbenzène (PDMS / DVB). HE et la fraction espace de tête ont été soumises à une analyse par CG/SM et par CG/DIF pour, respectivement, identifier et déterminer la teneur les différents constituants.

L'analyse chimique de *D. polypodioides* a permis l'identification de 70 et 72 composés représentant 80,6% et 86,4% de la composition globale de l'HE et de la FV, respectivement. La composition chimique de l'HE et la FV renferme 5 classes chimiques et un groupe de composés diversement fonctionnalisés. Les classes chimiques présentes sont les hydrocarbures en C11, les terpènes, les acides gras saturés et insaturés, les composés soufrés et les lipides. L'examen rigoureux de la composition chimique de l'HE a permis de développer une discussion très fructueuse concernant les voies métaboliques intervenant dans le processus de biosynthèse au sein de l'espèce. Il a été noté la présence d'une exceptionnelle et surprenante plaque tournante, semblable à un réseau de neurones, reliant les voies métaboliques des différentes classes chimiques. Sur la base de cette discussion, nous avons établi un bilan des voies métaboliques impliqués dans laquelle on a proposé des voies de biosynthèse plausibles concordantes avec celles déjà élucidées et confirmées. Nous avons complété l'étude chimique par la détermination de l'activité antibactérienne vis-à-vis de six souches, comparées par rapport à deux antibiotiques (chloramphénicol, kanamycine), la moitié des souches sont à gram positif et l'autre moitié sont à gram négatif. Les résultats obtenus ont révélé que les bactéries les plus résistantes par rapport au FV et l'HE étaient les bactéries à Gram-négatives *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*.

Concernant l'espèce *D. dichotoma*, l'analyse chimique a porté sur l'HE de l'espèce d'algue sèche et fraîche et celle l'espace de tête. L'examen de la composition chimique des HEs d'algue sèche et fraîche a dévoilé l'identification de 63 et 31 composés correspondant, respectivement, à 90.07 % et 96.75 % de la composition globale. Le nombre de composés identifiés dans l'algue sèche et pratiquement le double que celui de l'algue fraîche. Cet état de fait est probablement lié à la texture plus dense (avec la présence de l'eau d'humidité) de l'algue qui à l'état fraîche provoque une résistance au transfert de matière beaucoup plus importante que celle de l'algue sèche qui à notre sens est plus aérée. Les deux HEs

sont caractérisées par la domination des sesquiterpènes qui représentent 96.1 % dans l'algue fraîche et 80.54 % pour l'algue sèche. La présence d'une teneur aussi importante des sesquiterpènes n'est guère surprenante au regard de ce qui a été rapporté dans la littérature. La fraction sesquiterpénique dans les deux HEs est représentée essentiellement par les squelettes amorphe, cubebane, germacrane, cadalane, muurolane. Nous avons noté la présence dans l'HE de l'algue sèche de 9 diterpènes dont 6 ont été identifiés sur la base de références bibliographiques. La présence de diterpènes n'est guère surprenante au regard la richesse de l'espèce en ce type de composés. Parmi les diterpènes identifiés figure le phytol qui est connu pour être un constituant de la chlorophylle. La composition chimique d'HE de *D. dichotoma* a été caractérisée par la présence de certains composés non identifiés et d'autres pour lesquels nous avons fait une proposition structurale, c'est le cas du corvol éther A. Nous avons apporté tous les arguments chimiques en se basant sur la fragmentation de la structure fournie par la littérature. A l'image de l'HE et de la FV, la fraction de l'espace de tête a été caractérisée par la prépondérance de la classe des sesquiterpènes au sein de la composition chimique. Le γ amorphe (13.6 %) et le zonarène (13.53 %) sont les principaux sesquiterpènes au sein de la composition chimique. En termes d'activité antimicrobienne, l'HE de l'algue sèche a été clairement efficace à l'égard des souches *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus Faecium* et *Micrococcus luteus* avec une CMI de l'ordre de 0.45, 0.93, 0.93, 0.93 $\mu\text{l/ml}$, respectivement. Cependant, les deux bactéries à gram négatives *Pseudomonas aeruginosa* et *Agrobacterium tumefacie* sont les moins sensibles, elles ont enregistré des valeurs de CMI relativement supérieures, soit 3.75 et 7.5 $\mu\text{l/ml}$. La levure *Candida albicans* a montré une résistance élevée vis-à-vis de l'HE, ce qui s'est traduit par une CMI de l'ordre de 60 $\mu\text{l/ml}$. Globalement, l'HE a montré une forte activité contre les bactéries à gram +, cette activité est liée à la sensibilité de ces micro-organismes, en particulier à la nature de la paroi cellulaire, elles sont dépourvues d'une membrane externe ce qui les rend hypersensibles.

Le chapitre 3 porte sur l'étude de la variation mensuelle de la composition chimique des HEs et des FVs de *D. polypodioides* en se basant sur une approche métabolomique. La variation mensuelle a porté seulement sur trois mois pour des raisons liées au cycle de vie de l'espèce mais aussi pour des considérations techniques. Nous avons appliqué l'analyse en composantes principales pour le traitement des données de l'analyse chimique, ces derniers ont été notamment représentés par une matrice de corrélation et un plan 2D. Une approche métabolomique non ciblée a été adoptée et a prouvé de manière nette les

interactions biosynthétiques mise en jeu dans la confection du métabolome de l'espèce qui reste lié à un état bien défini. Les variations de la composition des hydrocarbures en C11 et les composés soufrés notamment ont confirmé clairement les hypothèses et conclusions faites. L'analyse en composante principale a été un outil très précieux dans l'approche métabolomique globale. Néanmoins, il s'avère qu'elle nécessite de beaucoup de données, ce n'est pas le cas pour notre étude, d'autres points (d'autres mois de récolte) paraît plus que nécessaire pour conduire à des résultats plus concluants.

Le chapitre 4 a traité à l'étude chimique des HEs de *D. polypodioides* par Hydrodistillation assistée aux surfactants. L'objectif était de montrer l'influence d'un tensioactif, le triton X-100 dans notre cas, sur l'extraction d'HE par hydrodistillation de l'algue en termes de rendement et de composition chimique. La cinétique d'hydrodistillation a mis en exergue l'effet synergique positif du triton sur le rendement. En effet, on a constaté une augmentation du rendement en fonction de la teneur du triton suivi par un pallier avec un rendement constant et enfin une diminution du rendement. Le résultat obtenu confirme l'existence d'un phénomène à compromis consensuel autour d'un rendement de 0.22 %. Il semble donc clair que le même phénomène, qui provoque une synergie positive provoquant l'augmentation du rendement en fonction de la teneur du tensioactif, crée une synergie négative, en affectant la volatilisation des produits, et entraîne par conséquent une baisse du rendement.

PERSPECTIVES

- Isolement des métabolites de surfaces pour les deux espèces d'algues

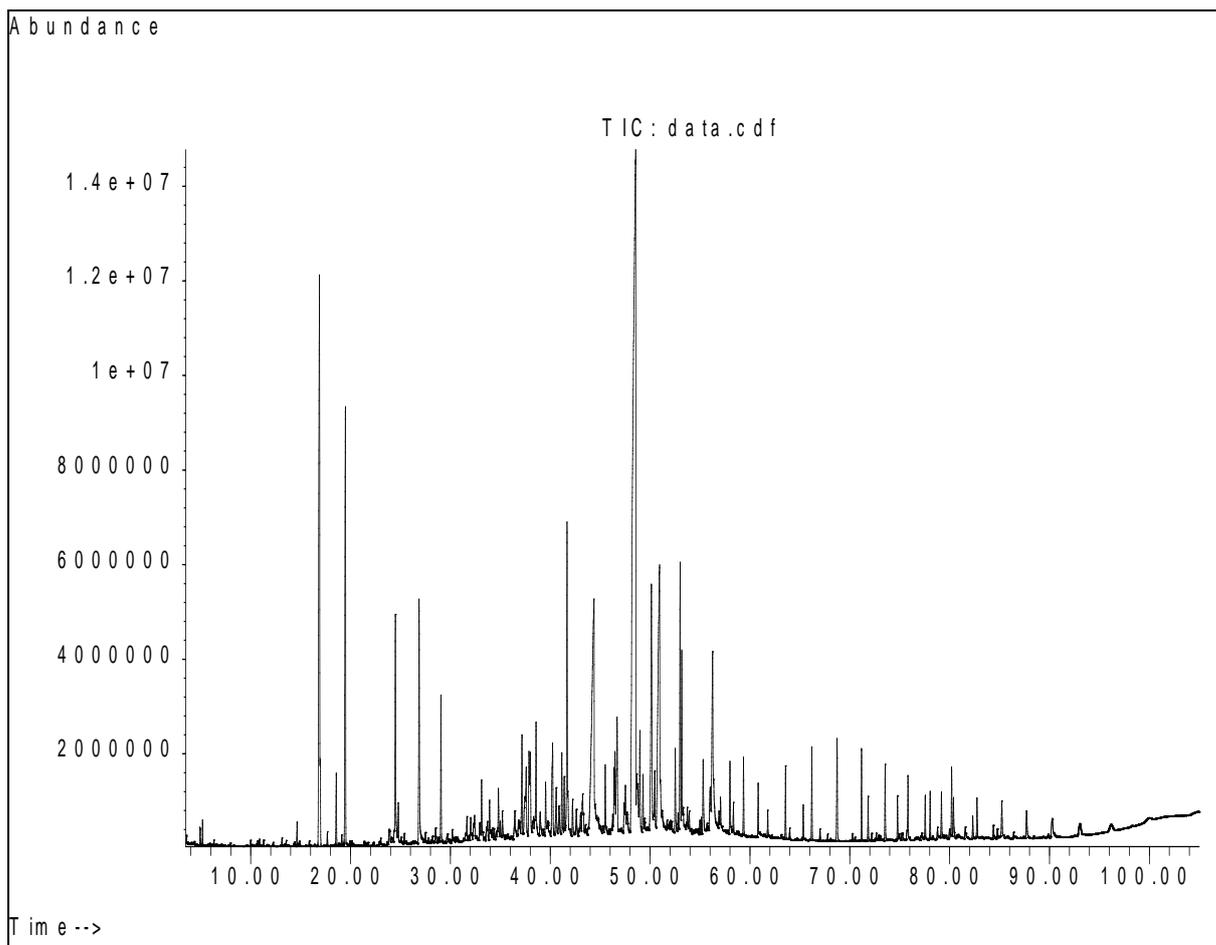
- Etude des interactions espèces - milieux et inversement pour les deux espèces

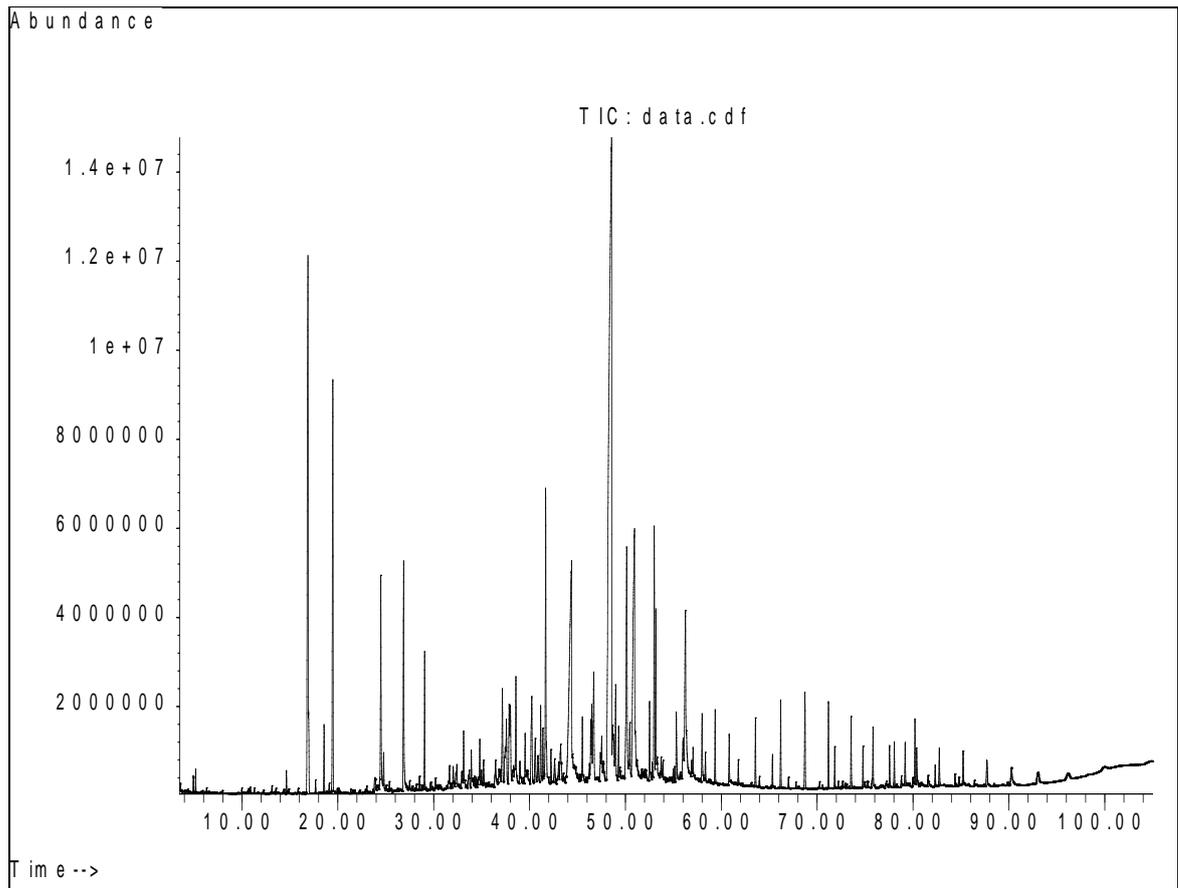
- Identification des métabolites intervenants dans l'écologie chimique des deux espèces

- Isolement et caractérisation structurale des composés non identifiés

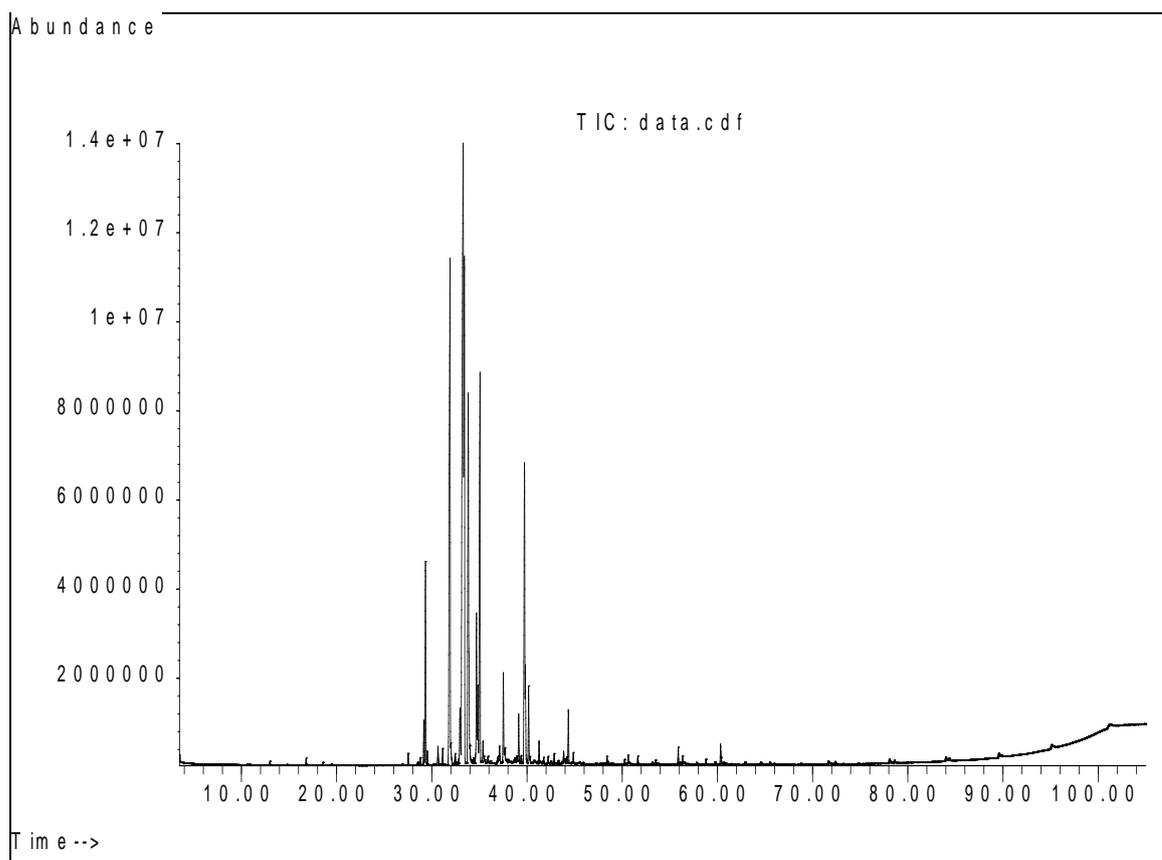
APPENDICE A

DIFFERENTS PROFILS CHROMATOGRAPHIQUE DES HE et FV

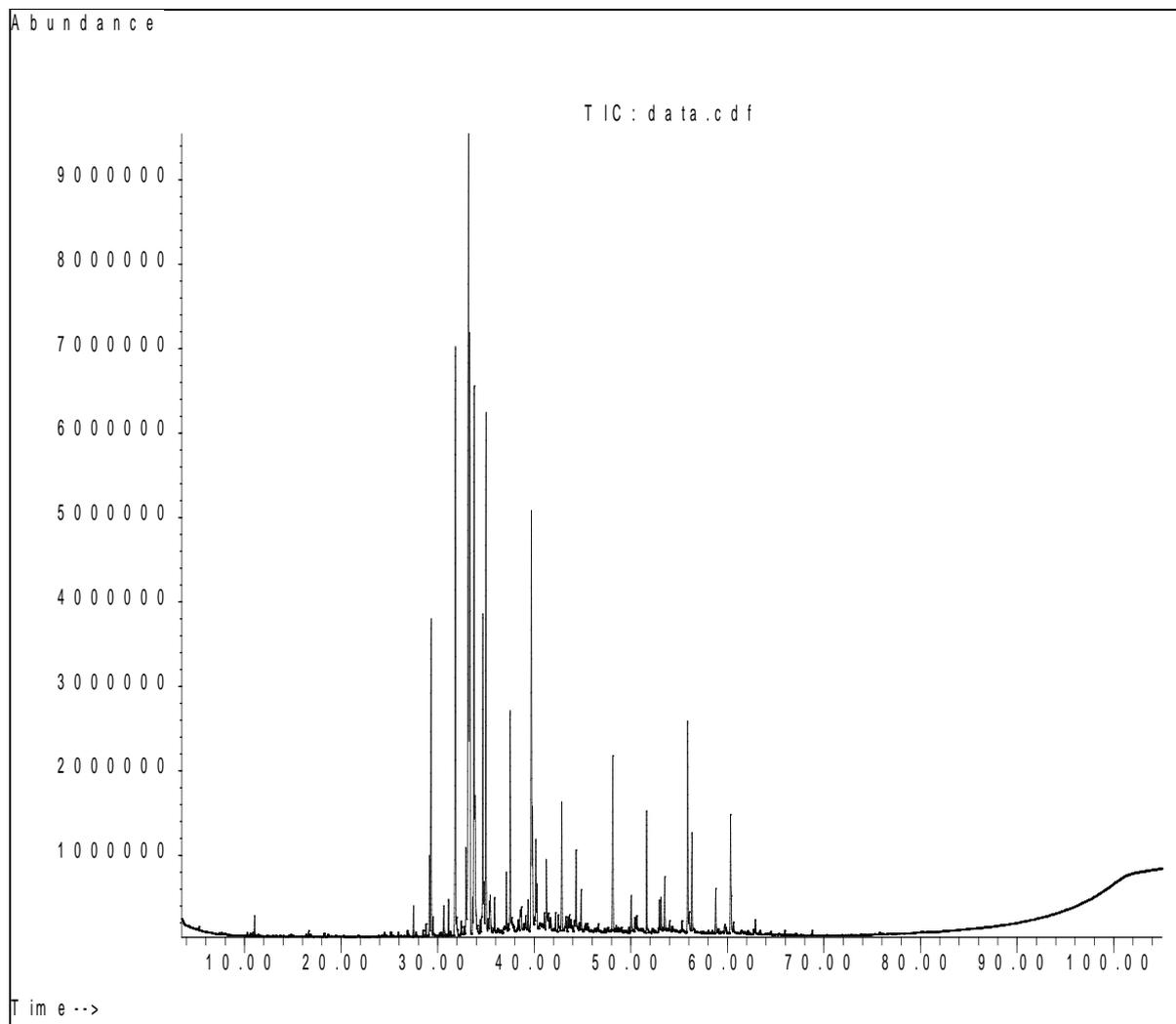
Appendice A 1 : profil chromatographique de la FV de *D. polypodioides*



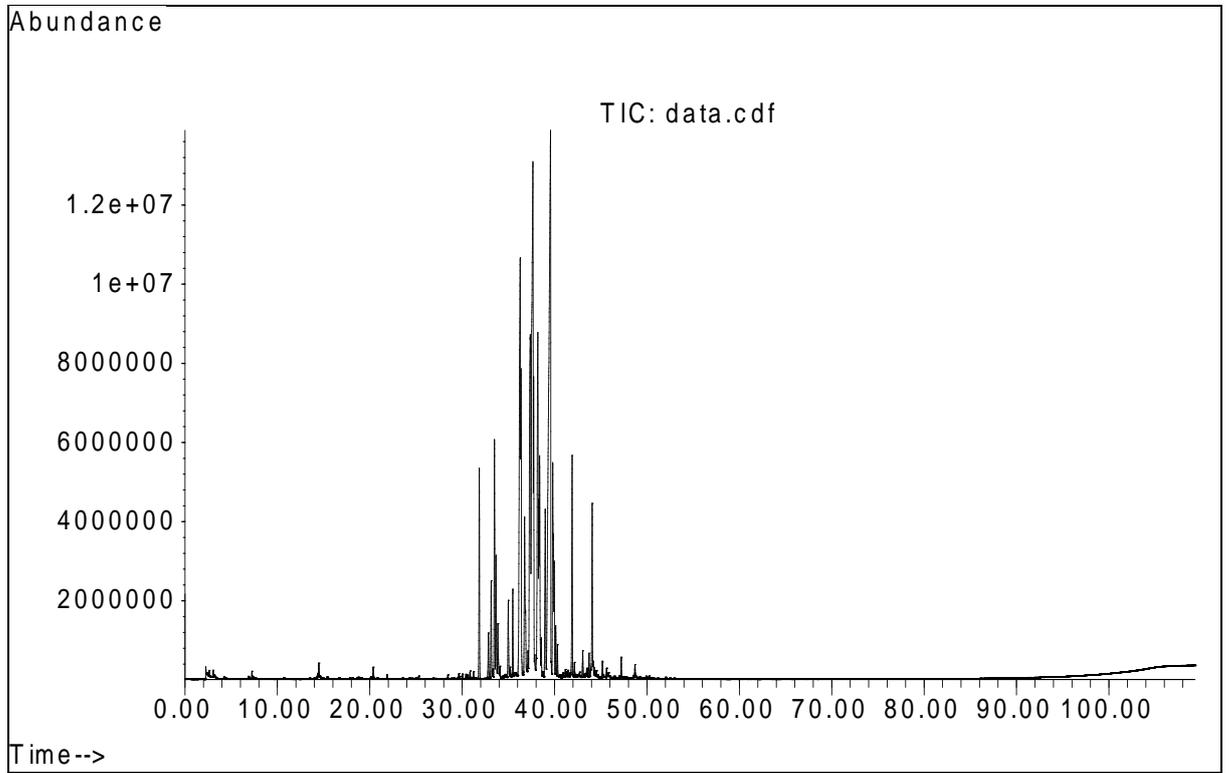
Appendice A2 : profil chromatographique d'HE de *D. polypodioides*



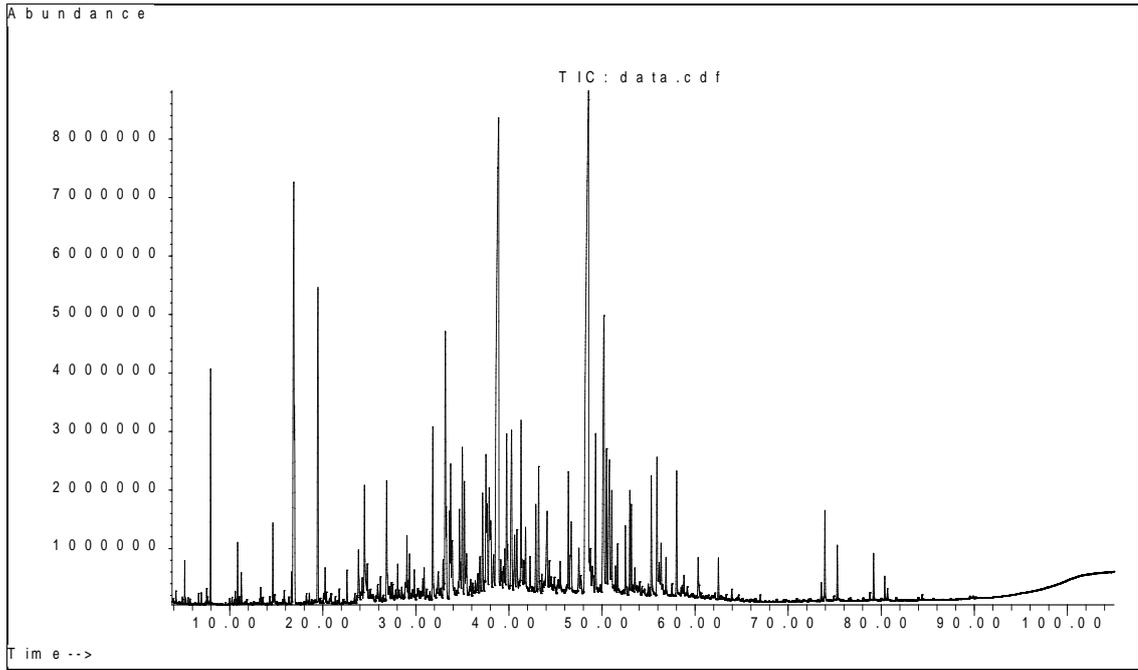
Appendice A3 : Profil chromatographique de l'HE de l'algue *D. dichotoma* fraiche



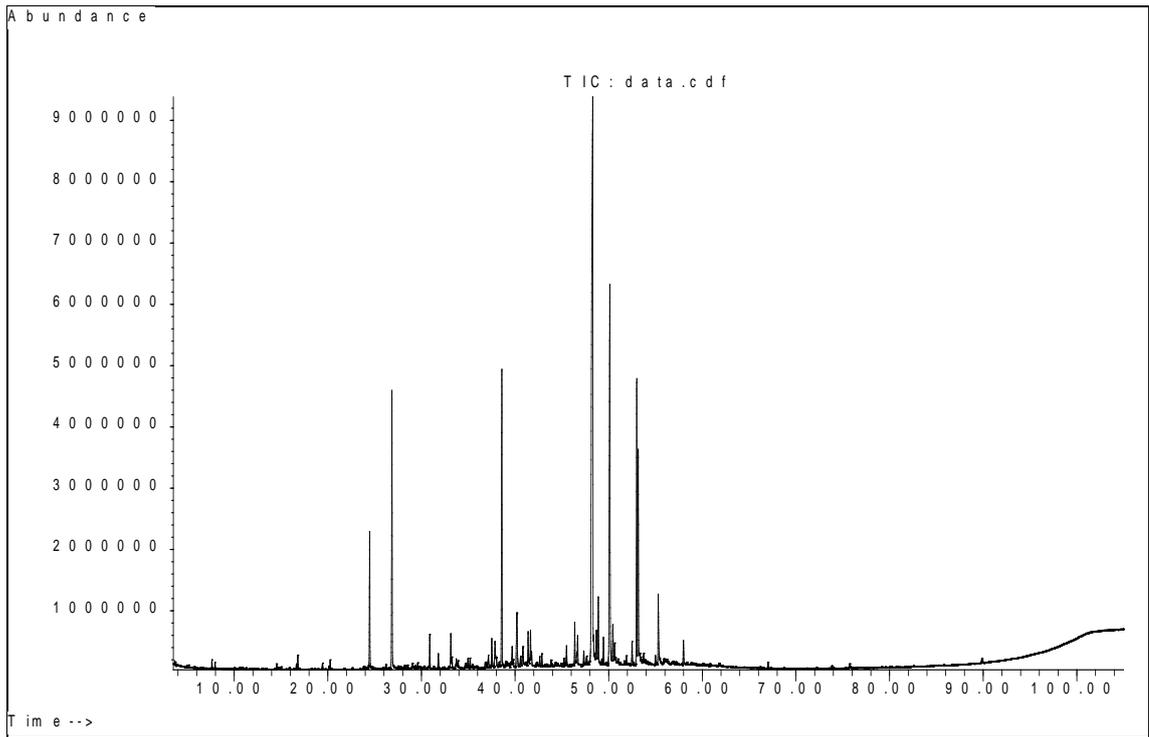
Appendice A4 : Profil chromatographique de l'HE de l'algue *D. dichotoma* sèche



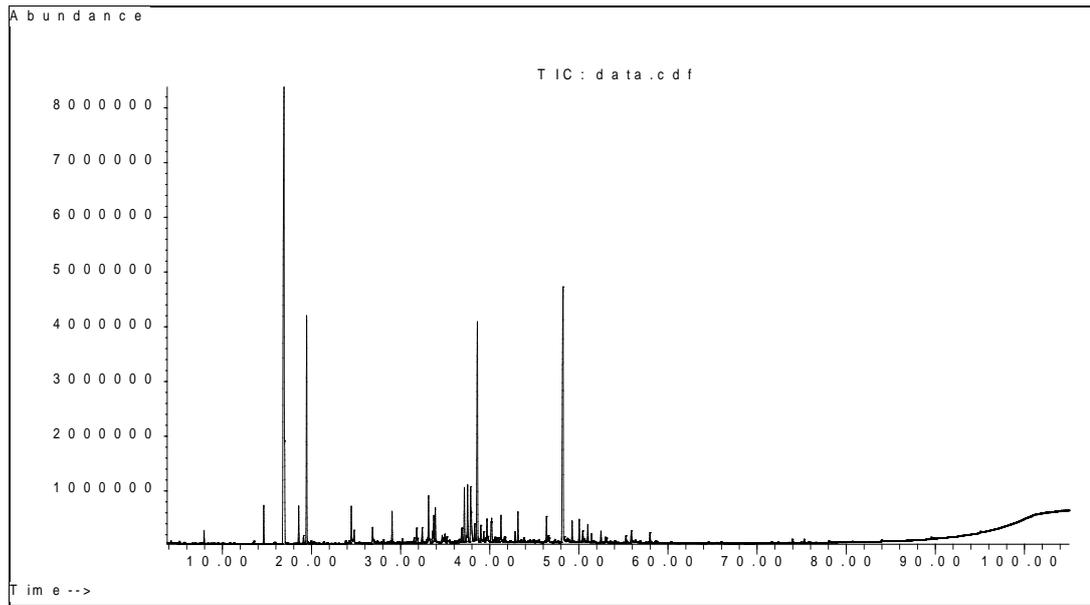
Appendice A 5 : Profil chromatographique d'analyse d'algue *D. dichotoma* par MEPS



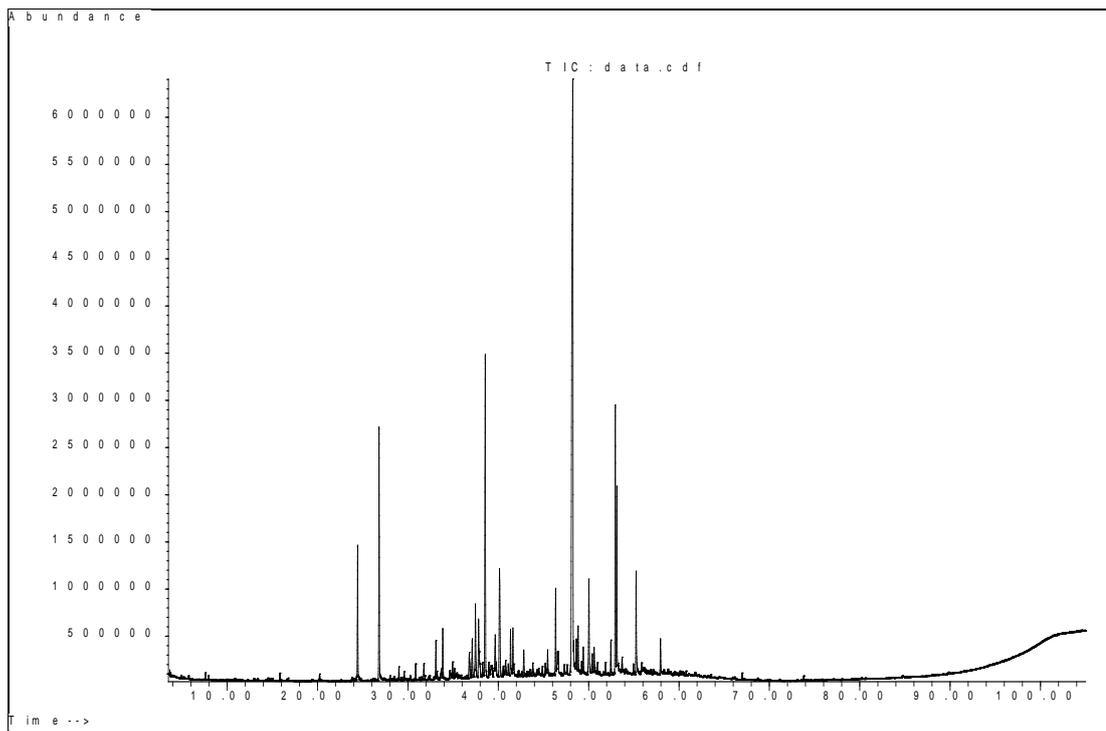
Appendice A 6 : Profil chromatographique de l'HE de *D. Polypodioides* de mois du juillet



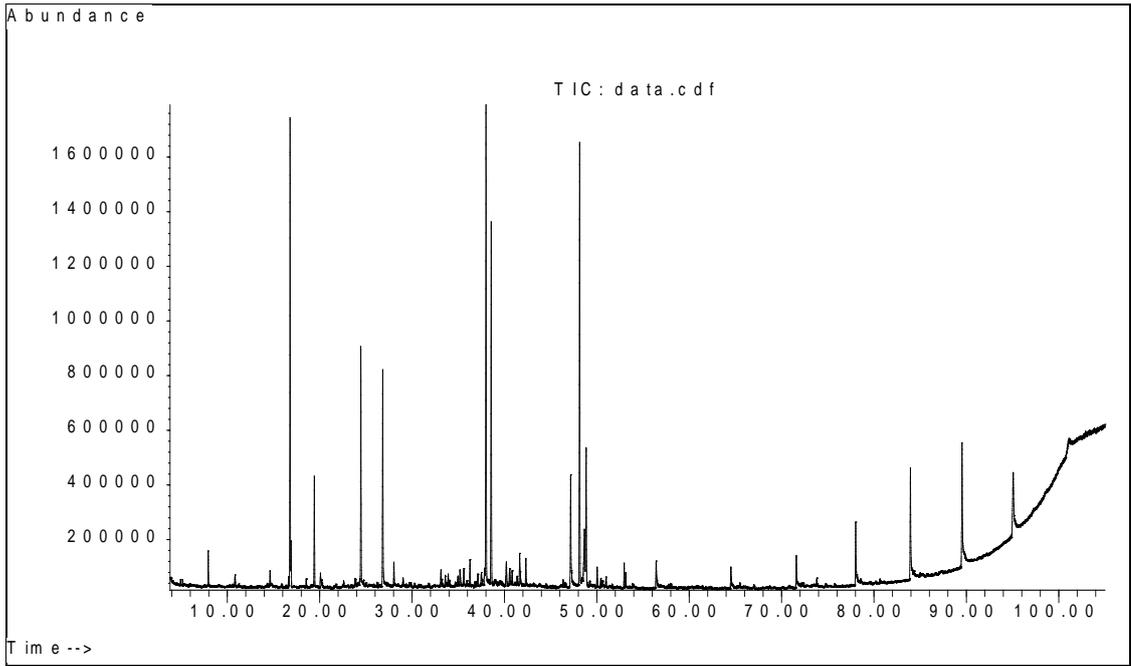
Appendice A 7 : Profil chromatographique de la FV de *D. Polypodioides* de mois du juillet



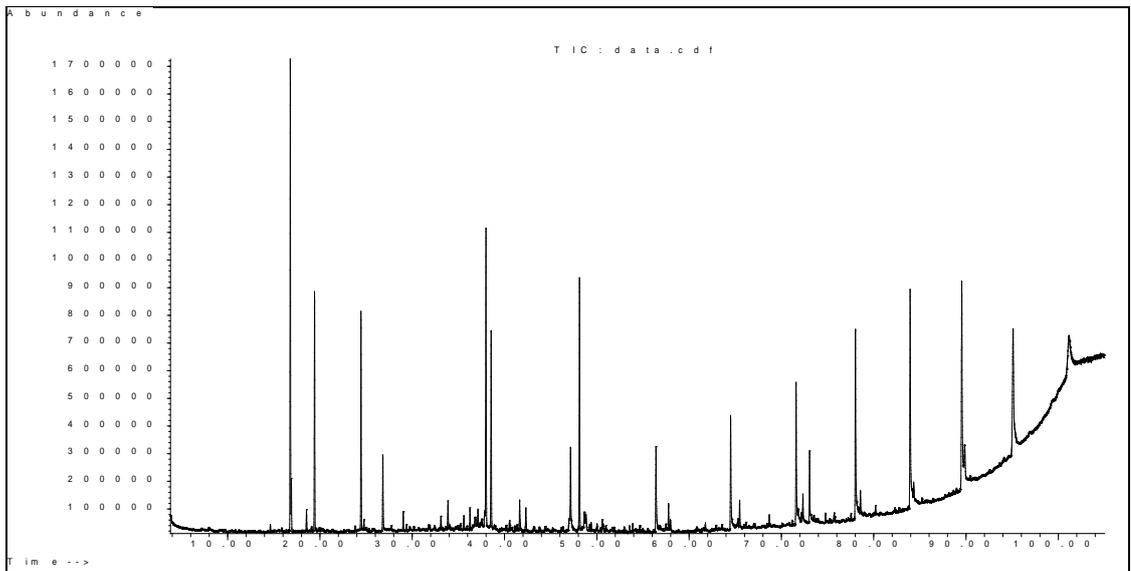
Appendice A 8 : Profil chromatographique d'HE de *D. Polypodioides* de mois d'Aout



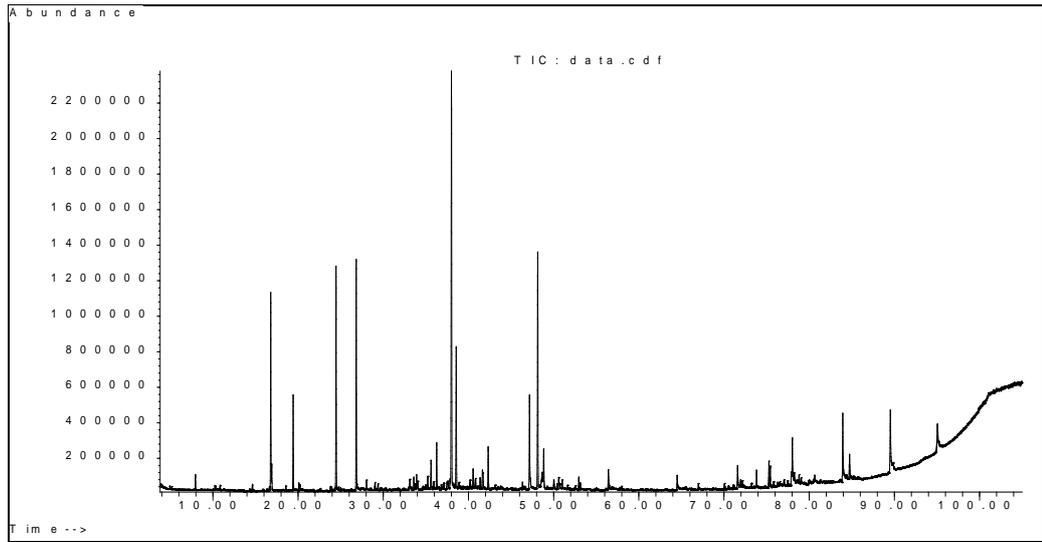
Appendice A 9 : Profil chromatographique de FV de *D. Polypodioides* de mois d'Aout



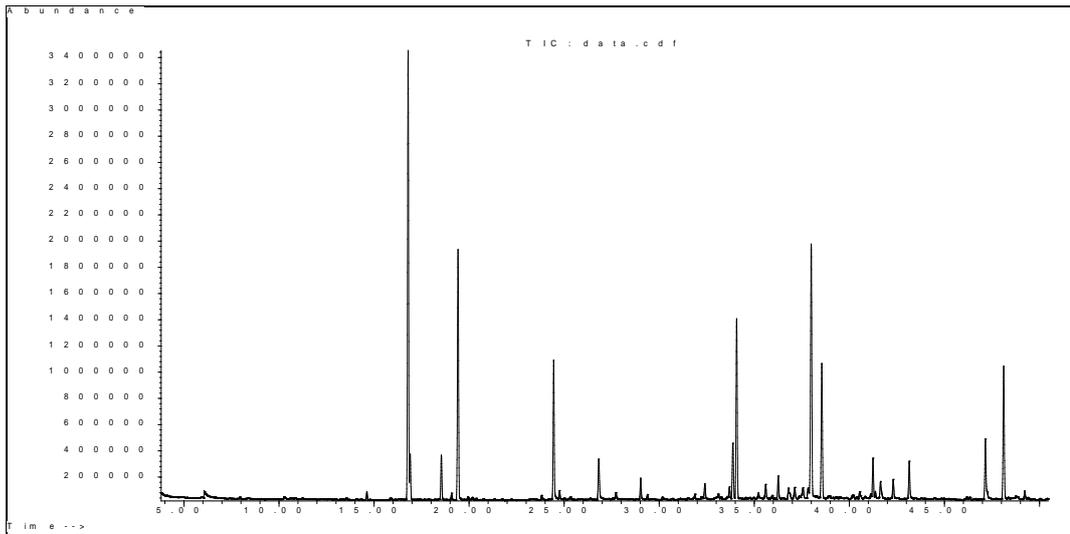
Appendice A 10 : Profil chromatographique d'HE de *D. Polypodioides* avec 8% triton



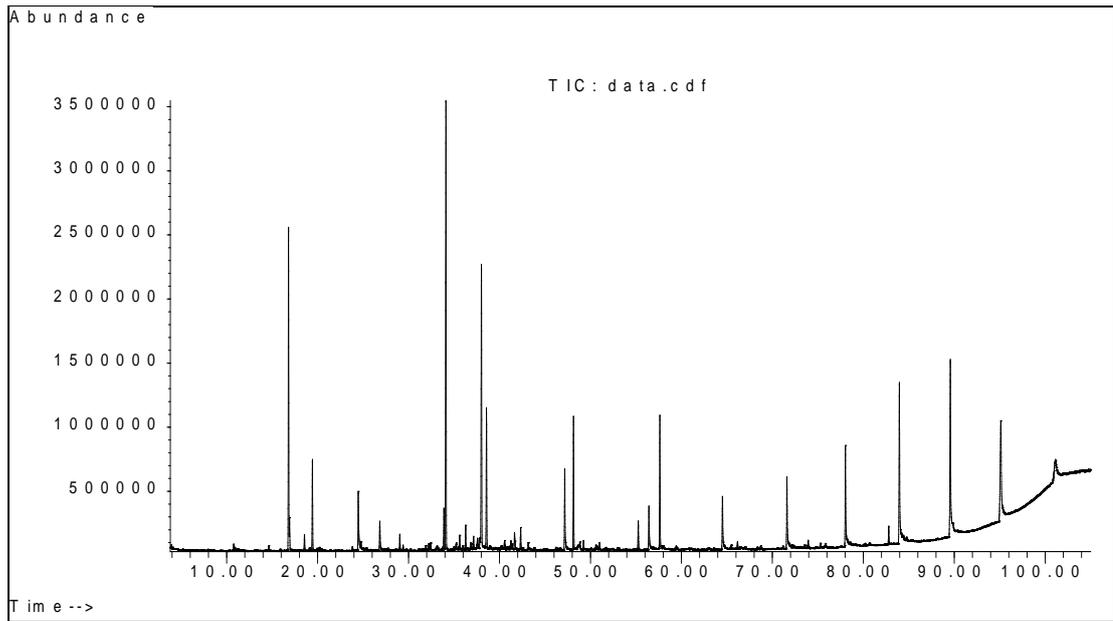
Appendice A 11 : Profil chromatographique d'HE de *D. Polypodioides* avec 10% triton



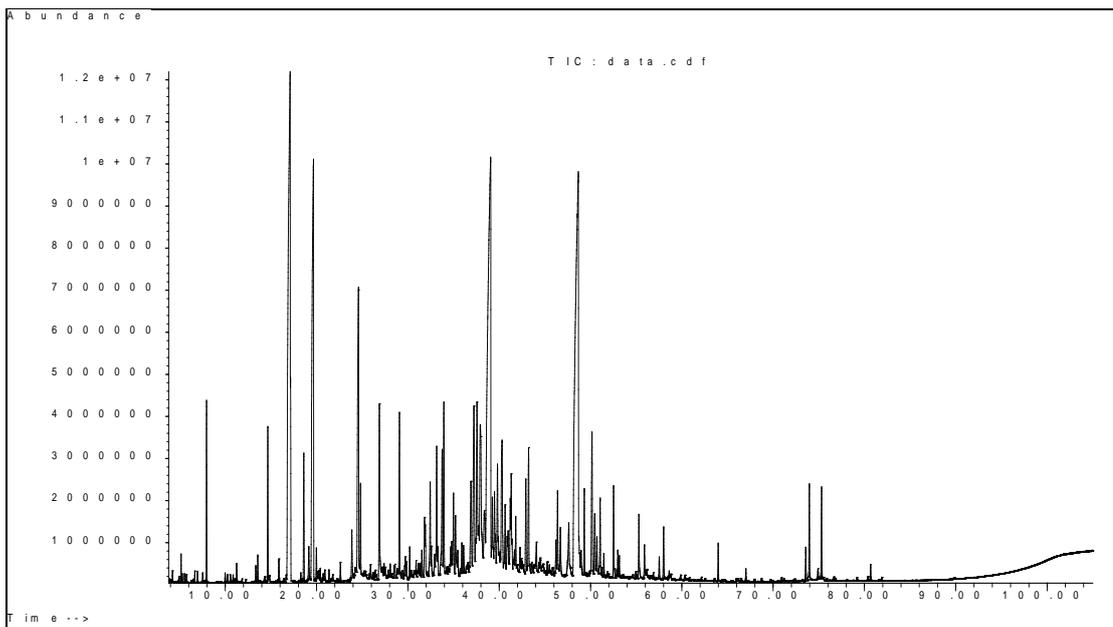
Appendice A 12 : Profil chromatographique d'HE de *D. Polypodioides* avec 12% triton



Appendice A 13 : Profil chromatographique d'HE de *D. Polypodioides* avec 16% triton



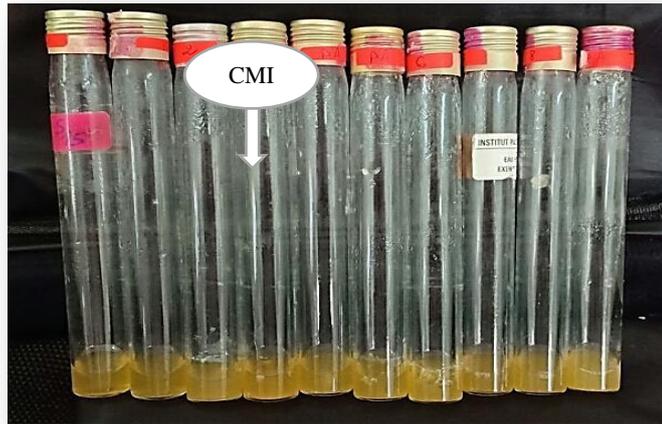
Appendice A 14 : Profil chromatographique d'HE de *D. Polypodioides* avec 20% triton



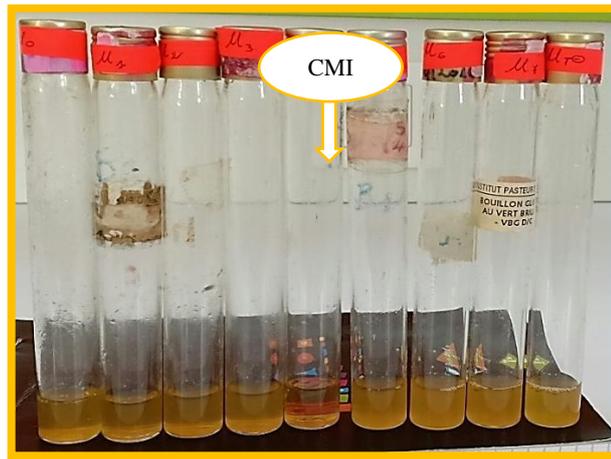
Appendice A 15 : Profil chromatographique d'HE de *D. Polypodioides* avec 0% triton

APPENDICE B

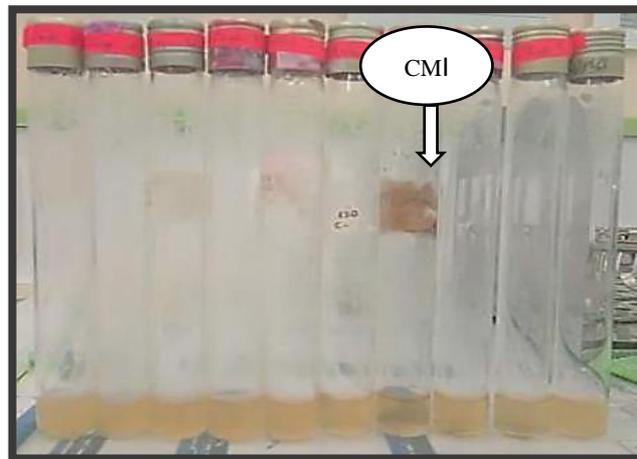
ACTIVITE BIOLOGIQUE D'HE de *D.DICHOTOMA*Appendice B 1 : Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre *Escherichia coli*Appendice B 2 : Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre *Enterococcus Feacium*.



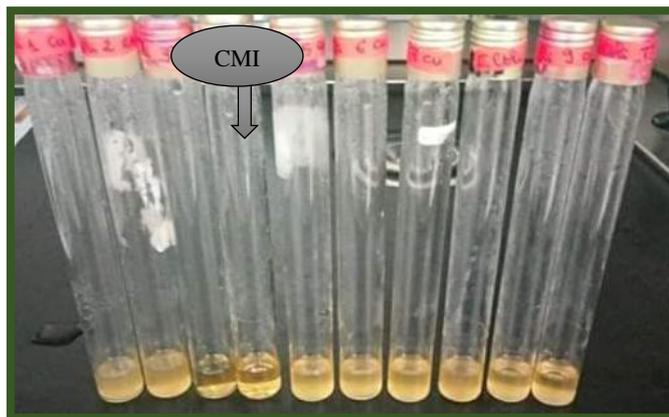
Appendice B 3 : Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre *Pseudomonas aeruginosa*.



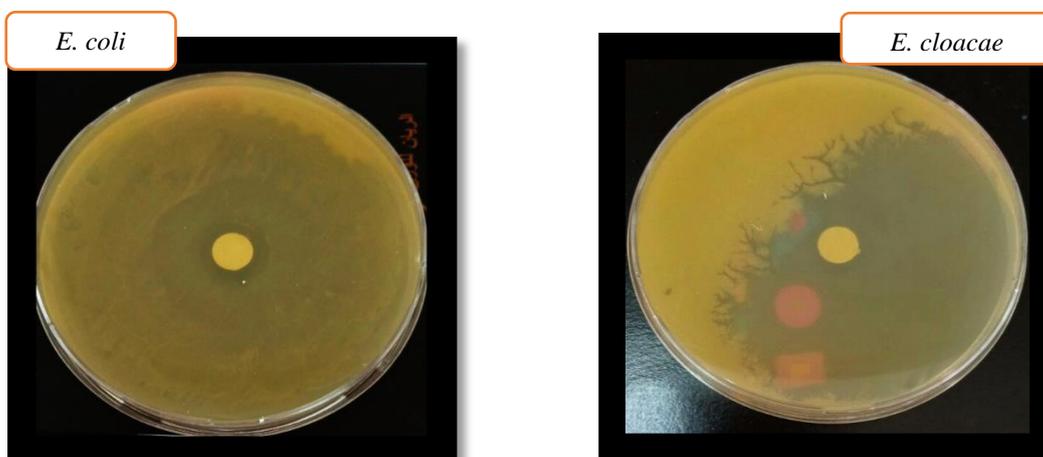
Appendice B 4: Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre *Micrococcus luteus*.



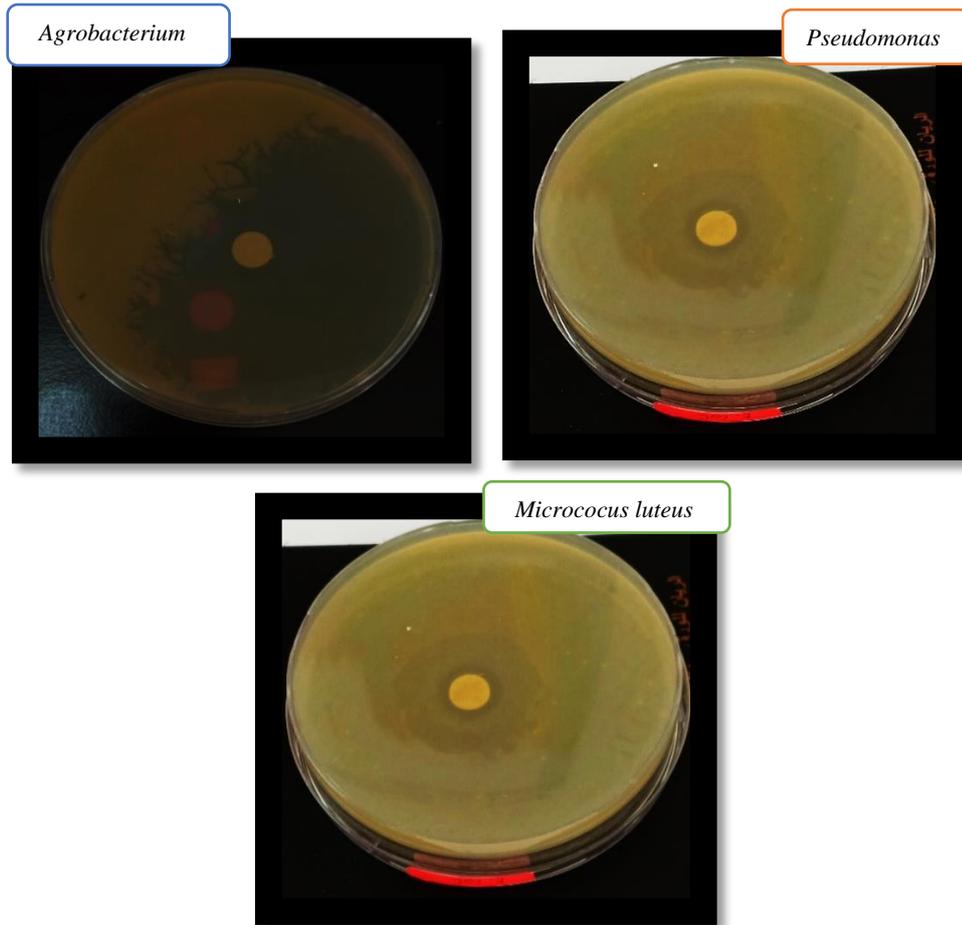
Appendice B 5: Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre *Staphylococcus aureus*.



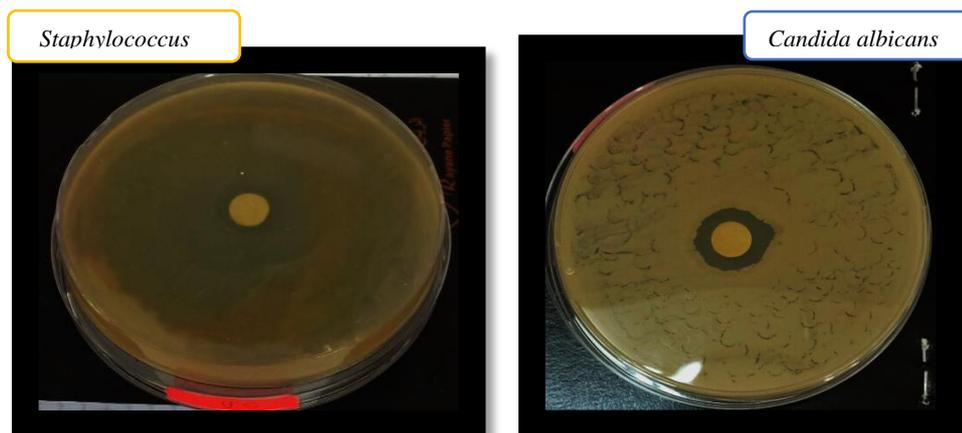
Appendice B 6 : Le résultat après 24h d'incubation de l'HE contre *Enterobacter cloacae*.



Appendice B7 : Activité antimicrobienne de l'HE de *D. Dichotoma*



Appendice B8 : Activité antimicrobienne de l'HE de *D. Dichotoma* vis-à-vis *Pseudomonas*, *Micrococcus* et *Agrobacterium*.



Appendice B9 : Activité antimicrobienne de l'HE de *D. Dichotoma* vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*

REFERENCES

- [1] Sarkic, A., Stappen, I., “Essential oils and their single compound in cosmetics-Acritical review”, *Cosmetics*, V. 5, n°11, (2018), 1 - 21.
- [2] Vallet, M., Strittmatter, M., Murúa, P., Lacoste, S., Dupont, J., Hubas C., “Chemically-mediated interactions between macroalgae, their fungal endophytes, and protistan pathogens.”, *Frontiers in Microbiology*, V. 9, n° 3161, (2018).
- [3] Cseke, L.J., Kaufman, P.B., Kirakosyan, A., “The biology of essential oils in the pollination of flowers”, *Natural Product Communications*, V. 2, n° 12, (2007), 1317-1336.
- [4] Hirsch, A.H., Diederich, F., “ The non- Mevalonate pathway to isoprenoid biosynthesis: A potential source of new drug targets”, *Chimia*, V. 62, n°4, (2008), 226 - 230.
- [5] Hüsnü Can Baser, K., Buchbauer, G., “Handbook of Essential Oils: Science Technology and Applications”, 2nd ed. Boca Raton London: Taylor and Francis, (2016).
- [6] Pereira, F., Aires-de-Sousa, J., “ Computational Methodologies in the Exploration of Marine Natural Product Leads ”, *Marine Drugs*, V. 16, n° 7, (2018), 236.
- [7] Rajeev, J.K., Xuzi, R., “ Biomedical compounds from marine organismes”, *Marine Drugs*, V. 2, n° 3, (2004), 123 - 146.
- [8]https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=idd4bd8d95ef53560&sk=0 &.
- [9] Blunt, J.W., Copp, R. B., Wan-ping Hu, Munro, M.H.G., Northcote P.T., M.R. Prinsep., “ Marine Natural Products ”, *Natural product report*, V 25, n°1, (2008), 35 - 94.
- [10] Dinabandhu, S., Seckbach, J., “The Algae World”, Springer Dordrecht Heidelberg New York London, (2015), 594.
- [11] Van Den Hoek, C., Mann, D.G., Jahns, H.M., “Algae An introduction to phycology”, *European Journal of Phycology*, V32, n°2, (1997), 203 - 205.
- [12] Kathleen, M.C., Robert, G.S., “Biology of the red algae”, Ed. Combridge university press, Bretagne, (2011), 528.
- [13] Katayama, T., “Volatile Constituents. In: Lewin RA, editor. *Physiology and Biochemistry of Algae*”, New York: American Press, (1962), 467 - 472.

- [14] Katayama, T., "Chemical studies on volatile constituents of seaweeds VI. On volatile constituents of *Sargassum* sp", Bulletin of the Japanese society for the science of fish, V. 21, n° D, (1955), 425 - 428.
- [15] Katayama, T., "Chemical studies on volatile constituents of seaweeds XIII. On volatile constituents of *Laminaria* sp", Bulletin of the Japanese society for the science of fish, V.24, n° C, (1958), 346-354.
- [16] Moore, R.E., "Chemotaxis and the odor of seaweed", Lloydia, V. 39, n°4, (1976), 181 - 191.
- [17] Moore, R.E., "Volatile compounds from marine algae", Accounts of Chemical Research, V.10, n° 2, (1977), 40 - 47.
- [18] Pettus, J.A., Moore, R.E., "the isolation and structure determination of dictyopterenes C' and D' from *Dictyopteris*. Stereospecificity in the copere arrangement of dictyopterenes A and B", Journal of American Chemistry Society, V. 93, (1971), 3087 - 3088.
- [19] Pettus, J.A., "Odoriferous constituent of *dictyopteris*", Thèse de Doctorat University of Hawaii, (1971).
- [20] Boland, W., Muller, D.G., "On the odor of the Mediterranean seaweed *Dictyopteris membranacea*: New C11 hydrocarbons from marine brown algae", Tetrahedron Letters, V 28, n°3, (1987), 307 - 310.
- [21] Guiry, M.D., Guiry, G.M., "Algae Base, World-wide Electronic Publication, National University of Ireland", <http://www.algaebase.org/>, (2016).
- [22] Zatelli, G.A., Phillipus, A.C., "An overview of odoriferous marine seaweeds of the *Dictyopteris* genus: insights into their chemical diversity, biological potential and ecological roles", Revista Brasileira de Farmacognosia, V 28, n° 2, (2018), 243 - 260.
- [23] El Hattab, M., Culioli, G., Ortalo-Magné, A., Piovetti, L., Chitour, S.E., "Isolation of the volatile compounds from the brown alga *Dictyopteris membranacea* by focused microwave- assisted hydrodistillation", Journal Essential Oil Research, V. 14, n° 6, (2002), 422 - 424.
- [24] Jean, C., Roland, H., Bouteau, E.L., Bouteau, F., "Organisation des plantes sans fleurs, algues et champignons", Atlas Biologie Végétale 1, 7e édition, © Dunod, Paris, (1999).
- [25] Ramade, A., "Eléments d'écologie appliquée", 4ème Ed. Dunod, France, (2009), 689.
- [26] Garon-Lardiere, S., "Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales)", Thèse de Doctorat, Université, De Bretagne Occidentale, (2004).
- [27] Pitton de Tournefort, J., "Éléments de botanique ou méthode pour connaître les plantes", (1694).

- [28] Feldmann, J., “Les algues, Précis de sciences biologiques : botanique”, Paris : Ed. Masson, (1963), 249.
- [29] Chadeffaud, M., Emberger, L., “Traité de Botanique”, Tome 1. Les végétaux non vasculaires – Paris : Ed. Masson, (1960), 103.
- [30] Gévaert, F., “ Importance des facteurs de l’environnement et du phénomène de photo inhibition sur la production des grandes algues marines ”, Thèse de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille, France, (2001).
- [31] Gnatta, J.R., Kurebayashi, L.F.S., Turrini, R.N.T., Silva, M.J.P., “Aromatherapy and nursing: Historical and theoretical conception”, Revista da Escola de Enfermagem da U.S.P, V. 50, n° 1, (2016), 127 - 133.
- [32] Aboelsoud, N.H., “Herbal medicine in ancient Egypt”, Journal of Medicinal Plant Research, V. 4, n° 2, (2010), 82 - 86.
- [33] Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., El-Baroty, G.S.A., “Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils”. Journal of Food Protection, V. 52, n° 9, (1989), 665 - 667.
- [34] Viuda-Martos, M., Mohamady, M., Fernández-López, J., El Razik, K.A., Omer, E., Pérez-Alvarez, J., “In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants”, Food Control, V. 22, n°11, (2011), 1715 -1722.
- [35] Heavisides, E., Rouger, C., Reichel, A.F., Ulrich, C., Wenzel-Storjohann, A., Sebens, S., “Seasonal variations in the Metabolome and bioactivity profile of *Fucus vesiculosus* extracted by an optimised, pressurised liquid extraction protocol”. Marine Drugs, V. 16, n°12, (2018), 503.
- [36] Battley, E.H., Marshall, K.C., “Advances in microbial ecology”, The Quarterly Review of Biology, V. 67, n° 2, (1992), 209.
- [37] Dudavera, N., Negre, F., Nagegowda, D.A., Orlova, I., “Plant volatiles: Recent advances and future perspectives”, Critical Reviews in Plant Sciences, V. 25, n°5, (2006), 417 - 440.
- [38] Wiesemeier, T., Hay, M., Pohnert, G., “The potential role of wound activated volatile release in the chemical defence of the brown alga *Dictyota dichotoma*, Blend recognition by marine herbivores”, Aquatic Sciences, V. 69, n° 3, (2007), 403 - 412.
- [39] Kajiwara, T., Akakabe, Y., Matsui, K., Kodama, K., Koga, H., Nagakura, T., “ (+)-(3S, 4S)-3-butyl-4 vinylcyclopentene in brown algae of the genus *Dictyopteris*”, Phytochemistry, V. 45, n° 3, (1997), 529 - 532.
- [40] Sugisawa, H., Nakamura, K., Tamura, H., “The aroma profile of the volatiles in marine green algae (*Ulvapertusa*) ”, Food Reviews International, V. 6, n°4, (1990), 573 - 589.

- [41] Kajiwara, T., Hatanaka, A., Tanaka, Y., Kawai, T., Ishihara, M., Tsuneya, T., "Specificity of the enzyme system producing long chain aldehydes in the green alga *Ulva pertusa*". *Phytochemistry*, V. 28, n° 2, (1989), 636 - 639.
- [42] Kawasaki, W., Matsui, K., Akakabe, Y., Itai, N., Kajiwara, T., "Volatiles from *Zostera marina*", *Phytochemistry*, V. 47, n° 1, (1998), 27-29.
- [43] Ozdemir, G., Horzum, Z., Sukatar, A., Karabay-Yavasoglu, N.U, "Antimicrobial activities of volatile components and various extracts of *Dictyopteris membranacea* and *Cystoseira barbata* from the coast of Izmir, Turkey", *Pharmaceutical Biology*, V. 44, n° 3, (2006), 183 -188.
- [44] Giogios, I., Grigorakis, K., Nengas, I., Papisolomontos, S., Papaioannoub, N., Alexis, M.N., "Fatty acid composition and volatile compounds of selected marine oils and meals", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, V. 89, n° 1, (2009), 88 - 100.
- [45] El Hattab, M., Culioli, G., Piovetti, L., Chitour, S.E., Valls, R., "Comparison of various extraction methods for identification and determination of volatile metabolites from the brown alga *Dictyopteris membranacea*", *Journal of Chromatography A*, V. 1143, n° (1-2), (2007), 1 - 7.
- [46] De Carvalho, L.R., Roque, N.F., "Fenóis halogenados e/ou sulfatados de macro alga smarinhas", *Quimica Nova*, V. 23, n° 6, (2000), 757 - 764.
- [47] Fleury, B.G., Kelecom, A., Pereira, R.C., Teixeira, V.L., "Polyphenols, terpenes and sterols in Brazilian *dictyotales* and *fucales* (*Phaeophyta*)", *Botanica Marina*, V. 37, n° 5, (1994), 457 - 462.
- [48] Kladi, M., Vagias, C., Roussis, V., "Volatile halogenated metabolites from marine red algae", *Phytochemistry Reviews*, V. 3, n° 3, (2004), 337 - 366
- [49] Roller, P., Kalfred, A., Moore, R.E., "Isolation of S-(3-oxoundecyl) thioacetate, bis-(3-oxoundecyl) Disulphide, (-)-3-hexyl-4,5- dithiacycloheptanone, and S-(trans- 3-oxoundec-4-enyl) thioacetate from *Dictyopteris*", *Chemical Communications*, V. 273, n° 10, (1971), 503 - 504.
- [50] Schnitzler, I., Boland, W., Hay, M.E., "Organic sulfur compounds from *Dictyopteris spp.* deter feeding by an herbivorous amphipod (*Ampithoelongimana*) but not by an herbivorous sea urchin (*Arbacia punctulata*)", *Journal of Chemical Ecology*, V. 24, n° 10, (1998), 1715 -1732.
- [51] Mouritsen, O.G., "Seaweeds Edible, Available and Sustainable", London: The University of Chicago Press, Ltd, (2013).
- [52] Haas, P., "The liberation of methylsulphide by seaweed", *The Biochemical Journal*, V. 29, n° 6, (1935), 1297 - 1299.
- [53] Challenger, F., Simpson, M.I., "Studies on biological methylation. Part XII. A precursor of the dimethyl sulphide evolved by *Polysiphonia fastigiata*. Dimethyl-2-

carboxyethylsulphonium hydroxide and its salts”, Journal of the Chemical Society, (1948), 1591 - 1597.

[54] Fink, P., “Ecological functions of volatile organic compounds in aquatic systems”, Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, V. 40, n° 3, (2007), 155 - 168.

[55] Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D.A., Orlova, I., “Plant volatiles : recent advances and future perspectives”, Critical review in plant sciences, (2006), V. 25, n° 5, (2006), 417-440.

[56] Weisemeier, T., Hay, M., Pohnert, G., “The potential role of wound-activated volatile release in the chemical defence of the brown alga *Dictyota dichotoma* : blend recognition by marine herbivores”, Aquatic Sciences, V. 69, n° 3, (2007), 403 - 412.

[57] Junker, R.R., Dorothea, T., “Volatile Organic Compound Mediated Interactions at the Plant-Microbe Interface”, Journal Chemical Ecology, V. 39, n° 7, (2013), 810 - 25.

[58] Xu, Q., Yang, L., Yang, W., Bay, Y., Hou, P., “Volatile organic compounds released from *Microcystis flos-aquae* under nitrogen sources and their toxic effects on *Chlorella vulgaris*”, Ecotoxicology and environmental safety, V.135, (2017), 191 - 200.

[59] Usov, A.I., “Polysaccharides of algae. 41. Characterization of water-soluble polysaccharides from several representatives of the genus *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta)”, Bioorganicheskaya Khimiya, V. 15, (1989), 1259 -1267.

[60] Santos, M.T., Neta, L., Narain, N., “Volatile Components in Seaweeds”, Examines in marine biology and oceanography, V. 2, n° 2, (2018), 195 - 201.

[61] Karabay-Yavasoglu, N.U., Sukatar, A., Ozdemir, G., Horzum, Z., “Antimicrobial activity of volatile components and various extracts of the red alga *Janiarubens*”, Phytotherapy Research, V. 21, n° 2, (2007), 153 - 156.

[62] Yamamoto, M., Baldermann, S., Yoshikawa, K., Fujita, A., Mase, N., Watanabe, N., “Determination of volatile Compounds in four commercial samples of Japanese green algae using solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry”, The Scientific World Journal, V. 2014, (2014), 1 - 8.

[63] Terezinha, M., Neta, S.L., Narain, N., “Volatile components in seaweeds”, Marine Biology and Oceanography, V. 2, n° 2, (2018), 195 - 201.

[64] Beauchêne, D., Grua-Priol, J., Lamer, T., Demaimay, M., Quémeneur, F., “Concentration by pervaporation of aroma compounds from *Fucus serratus*”, Chemical Technology and Biotechnology, V. 75, n° 6, (2000), 451 - 458.

[65] Le Pape, M.A., Grua-Priol, J., Prost, C., Demaimay, M., “Optimization of dynamic headspace extraction of the edible red algae *Palmaria palmata* and identification of the volatile components”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, V. 52, n° 3, (2004), 550 - 556.

- [66] Boonprab, K., Matsui, K., Akakabe, Y., Yotsukura, N., Kajiwar, T., "Hydroperoxyarachidonic acid mediated n-hexanal and (Z)-3- and (E)-2-nonenal formation in *Laminaria angustata*", *Phytochemistry*, V. 63, n° 6, (2003), 669 - 678.
- [67] Boonprab, K., Matsui, K., Akakabe, Y., Yoshida, M., Yotsukura, N., Chirapart, A., "Formation of aldehyde flavor (n-hexanal, 3Z-nonenal and 2E-nonenal) in the brown alga, *Laminaria angustata*", *Journal of Applied Phycology*, V. 18, n° (3-5), (2006), 409 - 412.
- [68] Akakabe, Y., Matsui, K., Kajiwar, T., "2,4-Decadienals are produced via (R)-11-HPITE from arachidonic acid in marine green alga *Ulva conglobata*", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, V. 11, n° 17, (2003), 3607 - 3609.
- [69] Akakabe, Y., Kajiwar, T., "Bioactive volatile compound from marine algae: Feeding attractants", *Journal of Applied Phycology*, V. 20, n° 5, (2008), 661 - 664.
- [70] Akabe, Y., Matsui, K., Kajiwar, T., "Enantioselective α -hydroperoxylation of long chain fatty acids which crude enzyme of marine green alga *Ulva pertusa*", *Tetrahedron Letters*, V. 40, n° 6, (1999), 1137 - 1140.
- [71] Akakabe, Y., Matsui, K., Kajiwar, T., " α -Oxidation of long-chain unsaturated fatty acids in the marine green alga *Ulvapertusa*", *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, V. 64, (2000), 2680 - 2681.
- [72] Akakabe, Y., Matsui, K., Kajiwar, T., "Enantioselective 2- hydroperoxylation of long-chain fatty acids in marine green algae", *Fisheries Science*, V. 67, n° 2, (2001), 328 - 332.
- [73] Vilar, E.G., O'Sullivan, M.G., Kerry, J.P., Kilcawley, K.N., "Volatile compounds of six species of edible seaweed: A review", *Algal Research*, V. 45, (2020), 101740.
- [74] Firouzi, J., Gohari, A., Rustaiyan, A., Larijani, K., Saeidnia, S., "Composition of the essential oil of *Nizamuddinanzardinii*, a Brown alga collected from Oman gulf", *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, V. 16, n° 5, (2013), 689 - 692.
- [75] Püttmann, W., "Thermodesorption-gas chromatography-mass spectrometric analysis of biological materials for potential molecular precursors of the constituents of the crude oils", *Journal of Chromatography*, V. 552, (1991), 325 - 336.
- [76] Flodin, C., Whitfield, F., "4-Hydroxybenzoic acid: A likely precursor of 2,4,6-tribromophenol in *Ulva lactuca*", *Phytochemistry*, V. 51, n° 2, (1999), 249 - 255.
- [77] Flodin, C., Whitfield, F., "Biosynthesis of bromophenols in marine algae", *Water Science and Technology*, V. 40, n° 6, (1999), 53 - 58.
- [78] Marshall, R.A., Hamilton, J.T.G., Dring, M.J., Harper, D.B., "Do vesicle cells of the red alga *Asparagopsis* (Falkenbergiastage) play a role in bromocarbon production" *Chemosphere*, V. 52, n° 2, (2003), 471.
- [79] Garson, M.J., "The biosynthesis of marine natural products", *Chemical Reviews*, V. 93, n° 5, (1993), 1699 - 1733.

- [80] Moore, B.S., "Biosynthesis of marine natural products: Microorganisms (part A)", *Natural Product Reports*, V. 22, n° 5, (2005), 580 - 593.
- [81] Moore, B.S., "Biosynthesis of marine natural products: Macroorganisms (part B)", *Natural Product Reports*, V. 23, n° 4, (2006), 615 - 629.
- [82] Leblanc, C., Colin, C., Cosse, A., Delage, L., La Barre, S., Morin, P., "Iodine transfers in the coastal marine environment: the key role of brown algae and of their vanadium-dependent haloperoxidases", *Biochimie*, V. 88, n° 11, (2006), 1773 - 1785.
- [83] Moore, R.M., "Methyl halide production and loss rates in sea water from field incubation experiments", *Marine Chemistry*, V. 101, (2006), 213 - 219.
- [84] Giese, B., Laturnus, F., Adams, F.C., Wiencke, C., "Release of volatile iodinated C1-C4 hydrocarbons by marine Macroalgae from various climate zones", *Environmental Science & Technology*, V. 33, n° 14, (1999), 2432 - 2439.
- [85] Carpenter, L.J., Malin, G., Liss, P.S., Kupper, F.C., "Novel biogenic iodine-containing trihalomethanes and other short-lived halocarbons in the coastal East Atlantic", *Global Biogeochemical Cycles*, V. 14, n° 4, (2000), 1191 - 1204.
- [86] Michelozzi, M., "Defensive roles of terpenoid mixtures in conifers", *Acta Botanica Gallica*, V. 146, n° 1, (1999), 73 - 84.
- [87] Steiner, M., Hartmann, T., "The occurrence and distribution of volatile amines in marine algae", *Planta*, V. 79, n° 2, (1968), 113 - 121.
- [88] Percot, A., Yalçın, A., Aysel, V., Erdugan, H., Dural, B., Guven, K.C., "β-Phenylethylamine content in marine algae around Turkish coasts", *Botanica Marina*, V. 52, (2009), 87 - 90.
- [89] Barwell, C.J., "Pharmacologically active amines in some marine algae and algal food products", *Journal of Home & Consumer Horticulture*, V. 1, n° 1, (2008), 77 - 82.
- [90] Takaoka, M., Ando, Y., "Essential oil of seaweeds. I. Composition of the oil of *Dictyopteris divaricata*", *Nippon Kagaku Kaishi*, V. 72, (1951), 999 - 1003.
- [91] Kumari, S., Pundhir, S., Priya, P., Jeena, G., Punetha, A., Chawla, K., "EssOilDB: A database of essential oils reflecting terpene composition and variability in the plant kingdom", *Database*, V. 2014, (2014), 1 - 14.
- [92] Naylor, S., Hanke, F.J., Manes, L.V., Crews, P., "Chemical and biological aspects of marine monoterpenes", *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe*, V. 44, (1983), 189 - 241.
- [93] Marmulla, R., Harder, J., "Microbial monoterpene transformations—a review", *Frontiers in Microbiology*, V. 5, (2014), 346 - 359.

- [94] Soares, A.R., "Extraction, isolation, and identification of Sesquiterpenes from *Laurencia* species. In: Natural Products from Marine Algae Methods and Protocols", New York: Humana Press, V. 1308, (2015), 225 - 240.
- [95] Ji, N.Y., Li, X.M., Li, K., Ding, L.P., Gloer, J.B., Wang, B.G., "Diterpenes, sesquiterpenes, and a C15-acetogenin From the marine red alga *Laurencia mariannensis*", Journal of Natural Products, V. 70, n° 12, (2007), 1901-1905.
- [96] El Hattab, M., "Algae Essential Oils: Chemistry, Ecology, and Biological Activities, Essential Oils - Bioactive Compounds New Perspectives and Applications", IntechOpen, 2020.
- [97] Blunt, J.W., Copp, B.R., Munro, M.H.G., Northcote, P.T., Prinsep, M.R., "Marine Natural Products", Natural Product Report, V. 20, (2003), 1 - 48.
- [98] Faulkner, D.J., "Marine Natural Products" Natural Product Report, V. 18, (2001), 1R - 49R.
- [99] Li, X.D., Ding, W., Miao, F.P., Ji, N.Y., "Halogenated chamigrane sesquiterpenes from *Laurencia okamurae*", Magnetic Resonance in Chemistry, V. 50, n° 2, (2012), 174 - 177.
- [100] Kim, S.K., "Handbook of Marine Macroalgae Biotechnology and Applied Phycology", 1ed. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell John Wiley & Sons, (2012), 592.
- [101] Suzuki, M., Kurosawa, E., Irie, T., "Spirolaurenone, a new sesquiterpenoid containing bromine from *Laurencia glandulifera* Kützinger", Tetrahedron Letters, V. 11, (1970), 4995 -4998.
- [102] Suzuki, M., Kurosawa, E., Irie, T., "Three new sesquiterpenoids containing bromine, minor constituents of *Laurencia glandulifera* Kützinger", Tetrahedron Letters, V. 15, (1974), 821 -824.
- [103] König, G.M., Wright, A.D., "New C15 Acetogenins and Sesquiterpenes from the Red Alga *Laurencia* sp, cf. *L. gracilis*", Journal of Natural Product, V. 57, n° 4, (1994), 477 - 485.
- [104] Vazquez, J.T., Chang, M., Nakanishi, K., Martin, J.D., Martin, V.S., Perez R., "Puertitols: novel sesquiterpenes from *Laurencia obtusa*. Structure elucidation and absolute configuration and conformation based on circular dichroism", Journal of Natural Product, V. 51, n° 6, (1988), 1257 - 1260.
- [105] Norte, M., Fernandez, J.J., Padilla, A., "Bisabolane halogenated sesquiterpenes from *Laurencia*", Phytochemistry, V. 31, n°1, (1992), 326 - 327.
- [106] Sims, J.J., Lin, G.H.Y., Wing, R.M., "Marine natural products X elatol, a halogenated sesquiterpene alcohol from the red alga *Laurencia elata*", Tetrahedron Letters, V. 15, n° 39, (1974), 3487 - 3490.

- [107] Lhullier, C., Donnangelo, A., Caro, M., Palermo, J.A., “Horta PA. Isolation of elatol from *Laurencia microcladia* and its palatability to the sea urchin *Echinometra lucunter*”, *Biochemical Systematics and Ecology*, V. 37, n° 4, (2009), 254 – 259.
- [108] Coll, J.C., Wright, A.D., “Tropical marine algae. I. New halogenated monoterpenes from *Chondrococcus hornemannii* (Rhodophyta, Gigartinales, Rhizophyllidaceae)”, *Australian Journal Chemistry*, V. 40, n° 11, (1987), 1893 - 1900.
- [109] Cikoš, A.M., Jurin, M., Rakovac, R.C., Jokic, S., Jerkovic, I., “Update on Monoterpenes from Red Macroalgae: Isolation, Analysis, and Bioactivity”, *Marine Drugs*, V. 17, n° 9, (2019), 537.
- [110] Crews, P., Ng, P., Kho-Wiseman, E., Pace, C., “Halogenated monoterpenes of the red alga *Microcladia*”, *Phytochemistry*, V. 15, (1976), 1707 – 711.
- [111] Charles, D., Amsler, Victoria, A., Fairhead, Defensive., Sensory., “Chemical Ecology of Brown Algae”, *Advances in Botanical Research*, V. 43, (2005), 1 - 91.
- [112] Sanjeeva, K.K.A., Jeon, Y.J., “Edible brown seaweeds a review”, *Journal of Food Bioactives*, V. 2, (2018), 37 – 50.
- [113] Hussain, E., Wang, L.J., Jiang, B., Riaz, S., Butt G.Y., Shi, D.Y., “A review of the components of brown seaweeds as potential candidates in cancer therapy”, *RSC Advances*, V. 6, n° 15, (2016), 12592 -12610.
- [114] Chen, J., Li, H., Zhao, Z., Xia, X., Li, B., Zhang, j., Yan, X., “Diterpenes from the Marine Algae of the Genus *Dictyota*”, *Marine Drugs*, V. 16, n° 5, (2018), 159.
- [115] Maier, I., Muller, D.G., “Sexual pheromones in algae”, *The Biological Bulletin*, V. 170, n° 2, (1986), 145 - 175.
- [116] Boland, W., “The chemistry of gamete attraction: Chemical structures, biosynthesis, and abiotic degradation”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, V. 92, (1995), 37 - 43.
- [117] Amsler, C.D., Fairhead, V.A., “Defensive and sensory chemical ecology of brown algae”. *Advances in Botanical Research*, V. 43, (2005), 1 - 91
- [118] Derenbach, J.B., Pesando, D., “Investigations into a small fraction of volatile hydrocarbons: III. Two diatom cultures produce ectocarpene, a pheromone of brown algae”, *Marine Chemistry*, V. 19, n° 4, (1986), 337 - 432.
- [119] Juttner, F., Wurster, K., “Evidence of ectocarpene and dictyopterenes a and C in the water of a freshwater lake”, *Limnology and Oceanography*, V. 29, n° 6, (1984), 1322 - 1324.
- [120] Boland, W., Jaenicke, L., Brauner, A., “Vinyl olefines and sesquiterpenes in the root oil of *Senecio isatideus*”, *Zeitschrift für Natur forschung*, V. 37, n° C, (1982), 5 - 9.

- [121] Wang, Y., Li, X., Jiang, Q., Sun, H., Jiang, J., Chen, S., Chen, F., "GC-MS analysis of the volatile constituents in the Leaves of 14 composite plants", *Molecules*, V. 23, n° 1, (2018), 166.
- [122] Berger, R.G., Drawert, F., Kollmannsberger, H., Nitz, S., Schraufstetter, B., "Novel volatiles in pineapple fruit and their sensory properties", *Agricultural Food Chemistry*, V. 33, (1985), 232 - 235.
- [123] Neumann, C., Boland, W., "Stereochemical on algal pheromone biosynthesis. A model study with the flowering plant *senecio isatideus* (Asteraceae)", *European Journal Biochemistry*, V. 191, n° 2, (1990), 453 - 459.
- [124] Moore, B.S., "Biosynthesis of marine natural products: microorganisms and macroalgae", *Natural Product report*, V.16, (1999), 653 - 674.
- [125] Pohnert, G., Boland, W., "Biosynthesis of the Algal Pheromone Hormosirene by the Freshwater Diatom *Gomphonema parvulum* (Bacillariophyceae)", *Tetrahedron*, V. 52, (1996), 10073 - 10082.
- [126] Pohnert, G., Boland, W., "The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms", *Natural Product Repprt*, V. 19, (2002), 108 - 122.
- [127] Moore, R.E., Pettus, J.A., "Dictyopterene A, an odoriferous constituent from algae of the genus *Dictyopteris*", *Tetrahedron letters*, n° 46, (1968), 4787 - 4790.
- [128] Pettus, J.A., Moore, R.E., "Isolation and structure determination of an undeca-1,3,5,8- tetraene and Dictyopterene B from algae of the genus *Dictyopteris*", *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, n° 17, (1970), 1093 - 1094.
- [129] Moore, R.E., Pettus Jr, J.A., Mistysyn, J., "Odoriferous C₁₁hydrocarbons from Hawaiian *Dictyopteris*", *Journal Organic Chemistry*, V. 39, n° 15, (1974), 2201 - 2207.
- [130] Müller, D.G., Gassmann, G., Boland, W., Marner, F., Jaenicke, L., "*Dictyota dichotoma* (Phaeophyceae): identification of the sperm attractant", *Science*, V. 212, n° 4498, (1981), 1040 - 1041.
- [131] Moore, R.E., "Dihydrotropones from *Dictyopteris*", *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (1973), n°24, 937 - 938.
- [132] Rui, F., Boland, W., "Algal pheromone biosynthesis: stereochemical analysis and mechanistic implications in gametes of *Ectocarpus siliculosus*", *Journal Organic Chemistry*, V. 75, n° 12, (2010), 3958 - 3964.
- [133] Stratmann, K., Boland, W., Müller, D.G., "Pheromones of marine brown algae: a new branch of the eicosanoid metabolism", *Angewandte Chemie International Edition in English*, V 31, n° 9, (1992), 1246 - 1248.
- [134] Moore, R.E., Mistysyn, J., Pettus, J.A., "(-)-Bis-(3-acetoxyundec-5-enyl) Disulphide and S-(-)-3-Acetoxyundec-5-enyl Thioacetate, Possible Precursors to Undeca-1,3,5-trienes

in *Dictyopteris*”, Journal of the Chemical Society, Chemical Communication, n° 6, (1972), 326 - 327.

[135] Hay, M.E., Duffy, J.E., Fenical, W., Gustáison, K., “Chemical defense in the seaweed *Dictyopteris delicatula*: Differential effects against reef fishes and amphipods”, Marine Ecology Progress Series, V. 48, (1988), 185 - 192.

[136] Wratten, S.J., Faulkner, D.J., “Cyclic polysulfides from the red alga *Chondria californica*”, Journal Organic Chemistry, V. 41, n° 14, (1976), 2465 - 2467.

[137] Faulkner, D.J., “Interesting aspects of marine natural products chemistry”, Tetrahedron, V. 33, n° 12, (1977), 1421 - 1443.

[138] Irie, T., Yamamoto, K., Masamunet, T., “Sesquiterpenes from *Dictyopteris divaricata*.I”, Bulletin of the Chemical Society of Japan, V. 37, (1964), 1053-1055.

[139] Kurosawa, E., Izawa, M., Yamamoto, K., Masamune, T., Irie, T., “Sesquiterpenes from *Dictyopteris divaricata*.II”, Bulletin of the Chemical Society of Japan, V. 39, n° 11, (1966), 2509-2512.

[140] Fenical, W., Sims, J., Wing, R., Radlick, P., “Zonarène, a sesquiterènes from the brown seaweed *Dictyopteris zonaroides*”, Phytochemistry, V. 11, n° 3, (1972), 1161 - 1163.

[141] Fenical, W., Sims, J.J., Squatrito, D., Wing, R.M., Radlick, P., «Zonarol and Isozonarol, fungitoxic hydroquinones from the brown seaweed *Dictyopteris zonaroides*», Journal Organic Chemistry, V. 38, n° 13, (1973), 2383 - 2386.

[142] Fenical, W., McConnell, O., “Chromazonarol and Isochromazonarol, new chromanols from the brown seaweed *Dictyopteris undulata* (zonaroides)”, Experientia, V. 31, n° 9, (1975), 1004 - 1005.

[143] Kajiwara, T., Kodama, K., Hatanaka, A., “Male attracting substance in marine brown algae from the genus *Dictyopteris*”, Bulletin of the Japnies Societyfor the Science of Fish, V. 46, n° 6, (1980), 771 - 775.

[144] Fleury, B.G., Teixeira, V.L., Kelecom, A., “Chemotaxonomy of *Dictyotales* (Phaeophyta). 3. The *Dictyopteris* and *Taonia* groups”, INSULA Revista de Botânica, V. 19, (1989), 271 - 287.

[145] AliAboutabl, E., AbouZeid, A.H., Sleem, A.A., Rafi, H.M., “Secondary metabolites and certain bioactivities of *Pterocladia capillacea* (S. Gmelin) Bornet and *Dictyopteris membranacea* (Stackhous) Batters”, Medecinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, V. 4, n° 1, (2010), 41 - 48.

[146] Glombitza, K.W., Stoffelen, H., Murawiski, U., Bielaczek, J., Egge, H., “Antibiotics from algae Bromophenols from Rhodomelaecea”, Planta Medica, V. 25, (1974), 105 - 114.

[147] Smit, A.J., “Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products”, Journal of Applied Phycology, V. 16, n° 4, (2004), 254 - 262.

- [148] Paul, V.J., Fenical, W., "Natural products chemistry and chemical defense in tropical marine algae of the phylum chlorophyta", *Bioorganism Marine Chemistry*, (1987), 1 - 29.
- [149] Steinberg, P.D., Schneider, R., Kjelleberg, S., "Chemical defences of seaweeds against microbial colonization", *Biodegradation*, V. 8, n° 3, (1997), 211–220.
- [150] Chbani, A., Mawlawi, H., Etahiri, S., "Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *Padina pavonica*, récoltée sur les côtes libanaises", *Afrique Science*, V. 7, n° 3, (2011), 91 – 96.
- [151] Deslandes, E., Pondaven, P., Auperin, T., Guézennec, J., Stiger, V., Payri, C., "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*, V. 12, n° 3, (2000), 257 – 262.
- [152] Etahiri, S., EL Kouri, A., Bultel-Ponce V., Guyot, M., Assobhei, O., "Antibacterial bromophenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*", *Natural Product communication 2*, (2007), 749 - 752.
- [153] Wright, A.D., König, G.M., Angerhofer, C.K., Greenidge, P., Linden, A., Desqueyroux-Faúndez, R., "Anti-malarial activity: the search for marine-derived natural products with selective anti-malarial activity", *Journal of Natural Product*, V. 59, n° 7, (1996), 710 - 716.
- [154] Etahiri, S., Bultel-Poncé, V., Caux, C., Guyot, M., "New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*", *Journal Natural Product*, V. 64, n° (1-2), (2001), 1024 - 1027.
- [155] De Souza, M.C.R., Marques, C.T., Dore, C.M.G, Da Silva, F.R.F., Rocha, H.A.O., Leite, E.L., "Antioxydant activity of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds", *Journal of Applied Phycology*, V. 19, n° 2, (2007), 153 - 160.
- [156] Zubia, M., Robledo, D., Freile-Pelegrin, Y., "Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico", *Journal of Applied Phycology* V. 19, n° 5, (2007), 449 - 458.
- [157] Etahiri, S., Bultel- Ponce, V., Assobhei, O, "Une nouvelle molécule à activité antibiotique à partir de l'algue rouge *Pterosiphonia complanata* ", *Brevet Marocain N° 27732*, 2004.
- [158] Ktari, L., Guyot, M., "A cytotoxic oxysterol from the marine algae *Padina pavonica*", *Journal of Applied Phycology*, V.11, n° 6, (1999), 511 - 513.
- [159] Cacamesse, S., Azzolina, R., Rurnari, G., Gormaci, M., Grasso, S., "Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae", *Botanica Marine*, V. 23, (1980), 285 - 288.

- [160] Guiry, M.D., Guiry, G.M., “AlgaeBase.World-wide electronic publication”, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; (07 December 2020).
- [161] Ribier, J., Godineau, J.C., “Les algues – Connaissance, utilisation, culture”, Paris : Ed. Flammarion, (1984), 281.
- [162] Gayral, P., Cosson, J., “Connaître et reconnaître les algues marines”, Ouest France : 1986, (1986), 222.
- [163] Tüney, I., Çadirci, B.H., Ünal, D., Sukatar, A., “Locational and organic solvent variation in antimicrobial activities of crude extracts of marine algae from the coast of Izmir”, Turkey Fresenius Environmental Bulletin, V. 16, (2007), 428 – 434.
- [164] Guiry, M.D., Costello, M.J., “Macroalgae of Rhodophycota, Phaeophycota, Chlorophycota, and two genera of Xanthophycota, in: 2001 (Ed.), European register of marine species: a check-list of the marine species in Europe and a bibliography of guides to their identification”. Collection Patrimoines Naturels, V. 50, (2001), 20 - 38.
- [165] Fredericq, S., Cho, T. O., Earle, S. A., Gurgel, C. F., Krayesky, D. M., Mateo-Cid, L. E., Suárez, A. M., “Seaweeds of the Gulf of Mexico”, Gulf of Mexico origin, waters and biota V. 1, (2009), 187-259.
- [166] Silva, P.C., Basson, P.W, Moe, R.L., “Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean”, University of California Press, V. 79, (1996).
- [167] Agardh, J.G., “Till algernes systematic femteafd, Nya bidrag.(Femte afdelningen.)”, Lunds Univ. Arsskr. Sverige, V. 23, n° 2, (1887), 174.
- [168] Montagne, J.F.C., “Cryptogames algériennes ou plantes recueillies par M. Roussel aux environs d’Alger”, Annales des Sciences Naturelles, Série 2, V. 10, (1838), 268 - 279.
- [169] Montagne, C., “Exploration scientifique de l’Algérie”, Bory de Saint-Vincent et Durieu de Maisonneuve, MC, Ed (1846 - 1849), 1 - 197.
- [170] Cabioc’h, J., Floc’h, J.Y., LeToquin, A., Boudouresque, C.F., Meinesz, A., Verlaque, M., “Guide des Algues des mers d’Europe, Manche/Atlantique”, Paris: Delachaux et Nestlé, (1992), 231.
- [171] Augier, H., “Guide des fonds marins de medeterranée, ecologie, flore, faune, plongées, Guides du naturaliste, Ed”, Delachaux et Niestlé, (2007), 456.
- [172] Mojetta, A., Ghisotti, A., “FLORE ET FAUNE DE LA MEDITERRANEE”, Guide Vert, Ed. Solar, France, (1995), 318.
- [173] LAMARE Véronique, WACQUANT Claude, VERLAQUE Marc in: DORIS 19/01/2021: *Dictyopteris polypodioides* (A.P. De Candolle) J.V”, Lamouroux. <https://doris.ffessm.fr/ref/specie/1281>.

- [174] Akremi, N., Cappoen, D., Anthonissen, R., Verschaeve, L., Bouraoui, A., “Phytochemical and in vitro antimicrobial and genotoxic activity in the brown algae *Dictyopteris membranacea*”, South African Journal of Botany, V. 108, (2017), 308 – 314.
- [175] Dimou, M., Ioannou, E., Daskalaki, M.G., Tziveleka, L.A., Kampranis, S.C., Roussis, V., “Disulfides with anti-inflammatory activity from the brown alga *Dictyopteris membranacea*”, Journal Natural Product, V. 79, n° 3, (2016), 584 - 589.
- [176] Keith, S.A., Kerswell, A.P., Connolly, S.R., “Global diversity of marine macroalgae: environmental conditions explain less variation in the tropics”, Global Ecology and Biogeography, V. 23, n° 5, (2014), 517 - 529.
- [177] Cárdenas, C.A., Davy, S.K., Bell, J.J., “Correlations between algal abundance, environmental variables and sponge distribution patterns on southern hemisphere temperate rocky reefs”, Aquatic Biology, V. 16, n° 3, (2012), 229 - 239.
- [178] Kerswel, A.P., “Global Biodiversity Patterns of Benthic Marine Algae”, Ecology, V. 87, (2006), 2479 - 2488.
- [179] Coutinho, F.H., Meirelles, P.M., Moreira, A.P.B., Paranhos, R.P., Dutilh, B.E., Thompson, F.L., “Niche distribution and influence of environmental parameters in marine microbial communities: a systematic review”, Peer. Journal, V. 3, (2015), 1008.
- [180] Stengel, D.B., Connan, S., Popper, Z.A., “Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application”, Biotechnology Advances, V. 29, n° 5, (2011), 483 – 501.
- [181] Taskin, E., Ozturk, M., Kurt, O., “Antibacterial activities of some Aeagen sea (Turkey)”, African Journal of biotechnology, V. 6, n° 24, (24), (2007), 2746 -2751.
- [182] Pohl, P., Wagner, H., Passig, M., von, T., “Über die unterschiedliche fettsäurezusammensetzung von salz- und süß wasser algen”, Phytochemistry, V. 7, (1968), 1565 – 1572.
- [183] Karaki, N., Sebaaly, C., Chahine, N., Faour, T., Zinchenko, A., Rachid, S., Kanaan, H., “The antioxidant and anticoagulant activities of polysaccharides isolated from the brown algae *Dictyopteris polypodioides* growing on the Lebanese coast”, Journal of Applied Pharmaceutical Science, V. 3, n° 2, (2013), 43 – 51.
- [184] Sokolova, R.V., Ermakova, S.P., Awada, S.M., Zvyagintseva, T.N., Kanaan, H.M., “Composition, structural characteristics, and antitumor properties of polysaccharides from the brown algae *Dictyopteris polypodioides* and *Sargassum* sp”, Chemistry Natural Compounds, V. 47, n° 3, (2011), 329 – 334.
- [185] Ammar, H.H., Lajili, S., Sakly, N., Cherif, D., Rihouey, C., Le Cerf, D., Bouraoui, A., Maj-doub, H., “Influence of the uronic acid composition on the gastroprotective activity of alginates from three different genus of Tunisian brown algae”, Food Chemistry, V. 239, (2018), 165 – 171.

- [186] Aoun, Z.B., Said, R.B, Farhat, F., “Anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial activities of aqueous and organic extracts from *Dictyopteris membranacea*”, *Botanica Marine*, V. 53, (2010), 259 – 264.
- [187] Akremi, N., Cappoen, D., Anthonissen, R., Bouraoui, A., Verschaeve, L., “Evaluation of the Genotoxicity and Cytotoxicity of Semipurified Fractions from the Mediterranean Brown Algae, *Dictyopteris membranacea*”, *Pharmacognosy Magazine*, V. 12, n° 47, (2016), S395.
- [188] Val, A., Platas, G., Basilio, A., Cabello, A., Gorrochategui, J., Suay, I., Vicente, F., Portillo, E., Jiménez del Río, M., Reina, G.G., Peláez, F., “Screening of antimicrobial activities in red, green, and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain)”, *International Microbiology*, V. 4, n° 1, (2001), 35 – 40.
- [189] Tüney, I., C, adirci, B.H., Ünal, D., Sukatar, A., “Antimicrobial activities of three extracts of marine algae from the coast of Urla (Üzmir, Turkey)”, *Turkish Journal of Biology*, V. 30, n° 3, (2006), 171 – 175.
- [190] Alghazeer, R., Whida, F., Abduelrhman, E., Gammoudi, F., Azwai, S., “A Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya”, *Natural Science*, V. 5, (2013), 7 – 14.
- [191] Khallil, A.M., Daghman, I.M., Fady, A.A., “Antifungal potential in crude extracts of five selected brown seaweeds collected from the Western Libya Coast”, *Journal of Microbiology and Modern Techniques*, V. 1, n° 1, (2015), 103.
- [192] Padmakumar, K., Ayyakkannu, K., “Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from Southern Coast of India”, *Botanica Marina*, V. 40, n° 6, (1997), 507 - 515.
- [193] Hwang, I. K., Kim, H.S., Lee, W.J., “Polymorphisme in the brown alga *Dictyota dichotoma* (*Dictyotales*, *Phaeophyceae*) from Korea”, *Marine biologie*, V. 147, n° 4, (2005), 999 - 1015.
- [194] Cabioc'h, J., Floch J.Y., Le Toquin, A., Boudouresque, C.F., Meinesz, A., Verlaque, M., “Guide des algues des mers d'Europe, manche, atlantique, méditerranée”, *Les guides du naturaliste*, 2^{ème} ed, Delachaux & Niestle, (2006), 272.
- [195] https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=idd4bd8d95ef53560&sk=0&.
- [196] John, D. M., Prud'homme van Reine, W. F., Lawson, G. W., Kostermans, T. B., Price, J. H., “A taxonomic and geographical catalogue of the seaweeds of the western coast of Africa and adjacent islands”, Cramer, 2004.
- [197] Cormaci, M., Furnari, G., Catra, M., Alongi, G., Giaccone, G., “Flora marina bentonica del Mediterraneo: Phaeophyceae”, *Bollettino dell'Accademia Gioenia di scienze naturali di Catania*, V. 45, n° 375, (2012), 1-508.

- [198] Mottier, D.M., “Nuclear and cell division in *dictyota dichotoma*”, *Annals of botany*, V. 14, n° 54, (1900), 163 - 192.
- [199] Campbell A.C., Nicholls J., “Guide de la faune et de la flore littorales des mers d’europe”, *Les guides du naturaliste*, ed. Delachaux & Niestlé, Paris (1986), 322.
- [200] Clerek, O.D., “The genus *Dictyota* in the Indian Ocean”, *Opera Botanica Belgica*, V. 13, (2003), 1 - 205,
- [201] Taylor, R.B., Lindquist, N., Kubanek, J., Hay, M.E., “Intraspecific variation in palatability and defensive chemistry of brown seaweeds: Effects on herbivore fitness”, *Oecologia*, V. 136, n° 3, (2003), 412 – 423.
- [202] Ragan, M.A., Jensen, A., “Quantitative studies on brown algal phenols, Estimation of absolute polyphenol content of *Ascophyllum nodosum* (L.) le jol and *Fucus vesiculosus* (L.)”. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*, V. 30, n° 2, (1977), 209 – 221.
- [203] Bouzidi, N., Daghbouche, Y., El Hattab, M., Aliche, Z., Culioli, G., Piovetti, L., Garrigues, S., de la Guardia, M., “Determination of total sterols in brown algae by fourier transform infrared spectroscopy”. *Analytica Chimica Acta*, V. 616, n° 2, (2008), 185 – 189.
- [204] Martins, A.P., Yokoya, N.S., Colepicolo, P., “Biochemical modulation by carbon and nitrogen addition in cultures of *Dictyota menstrualis* (*dictyotales, phaeophyceae*) to generate oil-based bioproducts”, *Marin Biotechnology*, V. 18, (2016), 314 –326.
- [205] Abdel-Fattah, A.F., Hussein, M.D., Fouad, S.T., “Carbohydrates of the brown seaweed *Dictyota dichotoma*”, *Phytochemistry*, V. 17, (1978), 741 – 743.
- [206] Duh, C.Y., Sheu, H.R., “Cytotoxic cembranoids from the soft corals *Sinularia gibberosa* and *Sarcophyton trocheliophorum*”, *Journal Natural Product*, V. 59, (1996), 595 – 598.
- [207] Reyes, F., Ardá, A., Martín, R., Fernández, R., Rueda, A., Montalvo, D., Gómez, C., Jiménez, C., Rodríguez, J., Ma, S.J., “New cytotoxic cembranes from the Sea Pen *Gyrophyllum sibogae*”, *Journal Natural Product*, V. 67, (2004), 1190 – 1192.
- [208] Iwashima, M., Matsumoto, Y., Takahashi, H., Iguchi, K., “New marine cembrane-type diterpenoids from the okinawan soft coral *Clavularia koellikeri*”, *Journal Natural Product*, V. 63, (2000), 1647 – 1652.
- [209] Teixeira, V.L., Kelecom, A.A., “Chemotaxonomic study of diterpenes from marine brown algae of the genus *Dictyota*”, *Sci. Total Environ*, V. 75, (1988), 271 – 283.
- [210] Bemfica, R.C., Cavalcanti, D.N., Teixeira, V.L., “Químio taxonomia de *Dictyotales* (*Phaeophyta*).8.Nova proposta biogénica para os diterpenos. An. IV Congr. Latinoamer., II Reun. Iberoamer., VII Reun”, *Bras. Ficol*, V. 2, (1998), 233 – 244.

- [211] König, G.M., Wright, A.D., Sticher, O., “Diterpenes from the brown alga *Dictyota divaricata*”, *Phytochemistry*, V. 30, (1991), 3679 – 3682.
- [212] Wright, A.D., König, G.M., Sticher, O., “New and highly oxidized hydroazulenoid diterpenes from the tropical marine brown alga *Dictyota volubilis*”. *Tetrahedron*, V. 49, n° 3, (1993), 571 – 580.
- [213] Kolesnikova, S.A., Kalinovsky, A.I.O., Fedorov, S.N., Shubina, L.K., Stonik, V.A., “Diterpenes from the far-eastern brown alga *Dictyota dichotoma*”, *Phytochemistry*, V. 67, (2006), 2115 – 2119.
- [214] Cheng, S., Zhao, M., Sun, Z., Yuan, W., Zhang, S., Xiang, Z., Cai, Y., Dong, J., Huang, K., Yan, P., “Diterpenes from a Chinese collection of the brown alga *Dictyota plectens*”, *Journal Natural Product*, V. 77, (2014), 2685 – 2693.
- [215] Ayyad, S.E., Makki, M.S., Al-Kayal, N.S., Basaif, S.A., El-Foty, K.O., Asiri, A.M., Alarif, W.M., Badria, F.A., “Cytotoxic and protective DNA damage of three new diterpenoids from the brown alga *Dictoyota dichotoma*”, *European Journal Medecin Chemistry*, V. 46, (2011), 175 – 182.
- [216] Siless, G.E., García, M., Pérez, M., Blustein, G., Palermo, J.A., “Large-scale purification of pachydictyol A from the brown alga *Dictyota dichotoma* obtained from algal wash and evaluation of its antifouling activity against the freshwater mollusk *Limnoperna fortunei*”, *Journal Applied Phycology*, 30, (2017), 629 – 636.
- [217] Caamal-Fuentes, E., Moo-Puc, R., Freile-Pelegrin, Y., Robledo, D., “Cytotoxic and antiproliferative constituents from *Dictyota ciliolata*, *Padina sanctae-crucis* and *Turbinaria tricostata*”, *Pharmacology Biology*, V. 52, (2014), 1244 – 1248.
- [218] Amico, V., Currenti, R., Oriente, G., Piattelli, M., Tringali, C., “18-hydroxy 3,7-dolabelladiene from the brown alga, *Dictyota dichotoma*”, *Phytochemistry*, V. 20, (1981), 848 – 849.
- [219] Zhao, M., Cheng, S., Yuan, W., Dong, J., Huang, K., Sun, Z., Yan, P., “Further new xenicanes from a Chinese collection of the brown alga *Dictyota plectens*”. *Chem. Pharm. Bull*, V. 63, (2015), 1081 – 1086.
- [220] Khan, A.M., “An update of terpenoids, steroids and biodiversity of seaweeds from the coasts of Pakistan”, *Journal Chemistry Society Pak*, V. 32, (2010), 379 – 395.
- [221] Finer, J., Clardy, J., Fenical, W., Minale, L., Riccio, R., Battaile, J., Kirkup, M., Moore, R.E., “Structures of dictyodial and dictyolactone, unusual marine diterpenoids”, *Journal Organic Chemistry*, V. 44, (1979), 2044 – 2047.
- [222] Siamopoulou, P., Bimplakis, A., Iliopoulou, D., Vagias, C., Cos, P., Berghe, D.V., Roussis, V., “Diterpenes from the brown algae *Dictyota dichotoma* and *Dictyota linearis*”, *phytochemistry*, V. 65, n° 14, (2004), 2025 - 2030.
- [223] Saleh., M.A., Abdel-Moein, N.M., Ibrahim, N.A., “Insect antifeeding azulene derivative from the brown alga *Dictyota dichotoma*”, V. 32, n° 6, (1984), 1432 - 1434.

- [224] De Rosa, S., De Giulio, A., Iodice, C., Zavodinka, N., “Sesquiterpenes from the brown alga *Taonia atomaria*”, *Phytochemistry*, V. 37, n° 5, (1994), 1327-1330.
- [225] Grantham, P.J., “The occurrence of unusual C27 and C29 sterane predominances in two types of Oman crude oil”, *Organic Geochemistry*, V. 9, n° 1, (1986), 1 - 10.
- [226] Perez-Bermudez, P., Garcia-Carrascosa, M., Cornejo, M.J., Segura, J., “Water-depth effects in photosynthetic pigment content of the benthic algae *Dictyota dichotoma* and *Udotea petiolata*”, *Aquatic Botany*, V. 11, (1981), 373 - 377
- [227] Demirel, Z., Yilmaz-koz, F.F., Karabay-Yavasoglu, N.U, Ozdemir, G., Sukatar, A., “Antimicrobial and antioxidant activity of brown algae from the Aegean Sea”, *Journal of the Serbian Chemical Society*, V. 74, n° 6, (2009), 619 – 628.
- [228] Jerković, I., Marijanović, Z., Roje, M., Kuš, P.M., Jokić, S., Čož-Rakovac., R., “Phytochemical study of the headspace volatile organic compounds of fresh algae and seagrass from the Adriatic Sea (single point collection)”, *PLoS ONE*, V. 13, n° 5, e0196462.
- [229] Lucarelli, G., Galleggiante, V., Rutigliano, M., Sanguedolce, F., Cagiano, S., Bufo, P., Lastilla, G., Maiorano, E., Ribatti, D., Giglio, A., Serino, G., Vavallo, A., Bettocchi, C., “Metabolomic profile of glycolysis and the pentose phosphate pathway identifies the central role of glucose-6-phosphate dehydrogenase in clear cell-renal cell carcinoma”, *Oncotarget*, V. 6, (2015), 13371 – 13386.
- [230] Kimhofer, T., Fye, H., Taylor-Robinson, S., Thursz, M., Holmes, E., “Proteomic and metabolomic biomarkers for hepatocellular carcinoma: a comprehensive review”, *British Journal of Cancer*, V. 112, n° 7, (2015), 1141 – 1156.
- [231] Ernst, M., Silva, D.B., Silva, R.R., Vencio, R.Z., Lopes, N.P., “Mass spectrometry in plant metabolomics strategies: from analytical platforms to data acquisition and processing”, *Natural Product Reports*, V. 31, n° 6, (2014), 784 – 806.
- [232] Holmes, E., Wilson, I.D., Nicholson, J.K., “Metabolic Phenotyping in Health and Disease”, *Cell*, V. 134, n° 5, (2008), 714 – 717.
- [233] Junot, C., Fenaille, F., Colsch, B., Bécher, F., “High resolution mass spectrometry-based techniques at the crossroads of metabolic pathways”, *Mass Spectrometry Reviews*, V. 33, n° 6, (2014), 471–500.
- [234] Wishart, D.S., Feunang, Y.D., Marcu, A., Guo, A.C., Liang, K., Vázquez-Fresno, R., Sajed, T., Johnson, D., Li, C., Karu, N., Sayeeda, Z., Lo, E., Assempour, N., Berjanskii, M., Singhal, S., Arndt, D., Liang, Y., Badran, H., Grant, J., Serra-Cayuela, A., Liu, Y., Mandal, R., Neveu, V., Pon, A., Knox, C., Wilson, M., Manach, C., Scalbert, A., “HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018”, *Nucleic Acids Research*, V. 46, n° D1, (2018), D608 – D617.
- [235] Liu, F., Gan, P.P., Wu, H., Woo, W.S., Ong, E.S., Li, S.F.Y, “A combination of metabolomics and metallomics studies of urine and serum from hypercholesterolaemic rats after berberine injection”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, V. 403, n° 3, (2014), 847 – 856.

- [236] Theodoridis, G., Gika, H., Franceschi, P., Caputi, L., Arapitsas, P., Scholz, M., Masuero, D., Wehrens, R., Vrhovsek, U., Mattivi, F., “LC-MS based global metabolite profiling of grapes: Solvent extraction protocol optimisation”, *Metabolomics*, V. 8, n° 2, (2011), 175 – 185.
- [237] Pongsuwan, W., Fukusaki, E., Bamba, T., Yonetani, T., Yamahara, T., Kobayashi, A., “Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 55, n° 2 (2007), 231 – 236.
- [238] Hollywood, K., Brison, D. R., Goodacre, R., “Metabolomics: Current technologies and future trends”, *Proteomics*, V. 6, n° 17, (2006), 4716 - 4723.
- [239] Chunxiu Hu, G.X., “Mass-spectrometry-based metabolomics analysis for foodomics”, *Trends in Analytical Chemistry*, V. 61, (2014), 207.
- [240] Roberts, L.D., Souza, A.L., Gerszten, R.E., Clary B., Clish, C.B., “Targeted Metabolomics”, V. 98, n° 1, (2012), 24 - 30.
- [241] Allen, J., Davey, H.M., Broadhurst, D., Heald, J.K., Rowland, J.J., Oliver, S.G., “High-throughput classification of yeast mutants for functional genomics using metabolic footprinting”, *Nature Biotechnology*, V. 21, n° 6, (2003), 692 – 696.
- [242] Bundy, J.G., Papp, B., Harmston, R., Browne, R.A., Clayson, E. M., Burton, N., “Evaluation of predicted network modules in yeast metabolism using NMR-based metabolite profiling”, *Genome Research*, V. 17, (2007), 510 – 519.
- [243] Sreekumar, A., Poisson, L.M., Rajendiran, T.M., Khan, A.P., Cao, Q., Yu, J., Chinnaiyan, A. M., “Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression”, *Nature*, V. 457, n° 7231, (2009), 910 – 914.
- [244] Ma, N., Ellet, J., Okediadi, C., Hermes, P., McCormick, E., Casnocha, S., “A single nutrient feed supports both chemically defined NS0 and CHO fed-batch processes: Improved productivity and lactate metabolism”, *Biotechnology Progress*, V. 25, n° 5, (2009), 1353–1363.
- [245] Sellick, C.A., Hansen, R., Maqsood, A.R., Dunn, W.B., Stephens, G.M., Goodacre, R., Dickson, A. J., “Effective quenching processes for physiologically valid metabolite profiling of suspension cultured Mammalian cells”, *Analytical Chemistry*, V. 81, n° 1, (2009), 174 – 183.
- [246] Segers, K., Declerck, S., Mangelings, D., Heyden, Y.V., A Eeckhaut, A.V., “Analytical techniques for metabolomic studies: a review”, *Bioanalysis*, V. 11, n° 24, (2019), 2297 – 2318.
- [247] Juan, M., Cevallos, C., José, I., Reyes-De-Corcuera, Etxeberria, E., Michelle, D., Danyluk, G., Rodrick, E., “Metabolomic analysis in food science: a review”, *Trends in Food Science & Technology*, V 20, n° 11–12, (2009), 557 - 566.

- [248] Obata, T., Fernie, A.R., “The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses”, *Cellular and Molecular Life Science*, V. 69, n°19, (2012), 3225 – 3243.
- [249] Fernie, A.R., Trethewey, R.N., Krotzky, A.J., Willmitzer, L., “Metabolite profiling: from diagnostics to systems biology”, *Nature Review Molecular Cell Biology*, V. 5, n° 9, (2004), 763 – 769.
- [250] Schauer, N., Steinhauser, D., Strelkov, S., Schomburg, D., Allison G., Moritz, T., “A GC-MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples”, *FEBS Letters*, V. 579, n° 6, (2005), 1332 – 1337.
- [251] Rogachev, I., Aharoni, A., “UPLC-MS-based metabolite analysis in tomato”, *Methods Mol. Biol*, V. 860, (2012), 129 – 144.
- [252] Nassar, A.F., Wu, T., Nassar, S.F., “Wisniewski, A.V., UPLC–MS for metabolomics: a giant step forward in support of pharmaceutical research”, *Drug Discovery Today*, V. 22, n° 2, (2017), 463 – 470.
- [253] Zhan, W., Xiaoyan, L., Xiang, L., Haidan, S., Zhengguang, G., Guoyang Z., Yushi Z., Wei, S., “UPLC-MS based urine untargeted metabolomic analyses to differentiate bladder cancer from renal cell carcinoma”, *BMC Cancer*, V. 19, (2019), 1195.
- [254] Vinaixa, M., Schymanski, E.L., Neumann, S., Navarro, Salek, R.M., Yanes, O., “Mass spectral databases for LC/MS- and GC/MS-based metabolomics: State of the field and future prospects”, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, V. 78, (2015), 23 - 35.
- [255] Lin, C.Y., Viant, M.R., Tjeerdema, R.S., “Metabolomics: methodologies and applications in the environmental sciences”, *Journal of Pesticide Science*, V. 31, n° 3, (2006), 245 – 251.
- [256] Viant, M.R., Pincetich, C.A., Tjeerdema, R.S.T. “Metabolic effects of dinoseb, diazinon and esfenvalerate in eyed eggs and alevins of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) determined by ¹H NMR metabolomics”. *Aquatic Toxicology*, V. 77, n° 4, (2006), 359 – 371.
- [257] Miller, M.G., “Environmental metabolomics: a SWOT analysis (strengths, weaknesses, opportunities, and threats)”, *Journal of Proteome Research*, V. 6, n° 2 (2007), 540 – 545.
- [258] Turi, K.N., Romick-Rosendale, L., Ryckman, K.K., Hartert, T.V., “A review of metabolomics approaches and their application in identifying causal pathways of childhood asthma”, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, V. 141, n° 4, (2018), 1191 – 1201.
- [259] Zhang, H., Saha, J., Byun, J., Schin, M., Lorenz, M., Kennedy, R. T., “Rosiglitazone reduces renal and plasma markers of oxidative injury and reverses urinary metabolite abnormalities in the amelioration of diabetic nephropathy”, *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, V. 295, n° 4, (2008), 1071 – 1081.
- [260] Barreto, F.C, Barreto, D.V., Liabeuf, S., Meert, N., Glorieux, G., Temmar, M., “Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney

disease patients”, *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, V. 4, n° 10, (2009), 1551 – 1558.

[261] Goulitquer, S., Potin, P., Tonon, T., “Mass spectrometry-based metabolomics to elucidate functions in marine organisms and ecosystems”, *Marine Drugs*, V. 10, (2012), 849 – 880.

[262] Nylund, G.M., Weinberger, F., Rempt, M., Pohnert, G., “Metabolomic assessment of induced and activated chemical defence in the invasive red alga *Gracilaria vermiculophylla*”, *PLoS One*, V. 6, n° 12, (2011). e29359.

[263] Klejdus, B., Lojková, L., Plaza, M., Šnóblová, M., Štěrbová, D., “Hyphenated technique for the extraction and determination of isoflavones in algae: ultrasound-assisted supercritical fluid extraction followed by fast chromatography with tandem mass spectrometry”, *Journal of Chromatography A*, V. 1217, n° 51, (2010), 7956 – 7965.

[264] Yuan, Y.V., Westcott, N.D., Hu, C., Kitts, D.D., “Mycosporine-like amino acid composition of the edible red alga, *Palmaria palmata* (dulse) harvested from the west and east coasts of Grand Manan Island”, *Food Chemistry*, V. 112, n° 2, (2009), 321 – 328.

[265] Shahlizah, S.H., Masataka, W., Kensuke I., Katsutoshi, S., Yujin A., Rie, K., Tomoyoshi S., Masaru T., “Metabolome profiling of various seaweed species discriminates between brown, red, and green algae”, *Planta*, V. 249, (2009), 1921 – 1947.

[266] Belghit, I., Rasinger, J. D., Heesch, S., Biancarosa, I., Liland, N., Torstensen, B., Waagbø, R., Lock, E.J., Bruckner, C.G., “In-depth metabolic profiling of marine macroalgae confirms strong biochemical differences between brown, red and green algae”, *Algal Research*, V. 26, (2017), 240 – 249.

[267] Ritter, A., Goulitquer, S., Salaün, J.P., Tonon, T., Correa, J.A., Potin, P., “Copper stress induces biosynthesis of octadecanoid and eicosanoid oxygenated derivatives in the brown algal kelp *Laminaria digitata*”, *New Phytologist*, V. 180, n° 4, (2008), 809 – 821.

[268] Goulitquer, S., Ritter, A., Thomas, F., Ferec, C., Salaün, J.P., Potin, P., “Release of volatile aldehydes by the brown algal kelp *Laminaria digitata* in response to both biotic and abiotic stress”, *ChembioChem*, V. 10, n° 6, (2009), 977 – 982.

[269] Van Ginneken, V.J., Helsper, J.P., De Visser, W., Van Keulen, H., Brandenburg, W.A., “Polyunsaturated fatty acids in various macroalgal species from north Atlantic and tropical seas”, *Lipids in Health and Disease*, V. 10, n° 8, (2011), 1 - 8.

[270] Kumari, P., Reddy, C.R.K., Jha, B., “Comparative evaluation and selection of a method for lipid and fatty acid extraction from macroalgae”, *Analytical Biochemistry*, V. 415, n° 2, (2011), 134–144.

[271] Kumar, M., Kumari, P., Trivedi, N., Shukla, M.K., Gupta, V., Reddy, C.R.K., Jha, B., “Minerals, PUFAs and antioxidant properties of some tropical seaweeds from Saurashtra coast of India”, *Journal of Applied Phycology*, V. 23, n° 5, (2011), 797 – 810.

- [272] Azizan, A., Maulidiani, M., Shaari, K., Ismail, I. S., Nagao, N., Abas, F., “Mass Spectrometry-Based Metabolomics Combined with Quantitative Analysis of the Microalgal Diatom (*Chaetoceroscalcitrans*)”, *Marine Drugs*, V.18, n° 8, (2020), 403.
- [273] Sjøtun, K., Husa, V., Asplin, L., Sandvik, A.D., “Climatic and environmental factors influencing occurrence and distribution of macroalgae afjord gradient revisited”, *Marine Ecology Progress Series*, V. 532, (2015), 73 – 88.
- [274] Mearns, A.J., Reish, D.J., Oshida, P.S., Ginn, T., Rempel-Hester, M.A., Arthur, C., Pryor, R., “Courtney Arthur and Nicolle Rutherford, Effects of Pollution on Marine Organisms”, *Water Environment Research*, V. 85, n° 10, (2013), 1828 - 1933.
- [275] Raut, K.S., Kachare, S.V., Pathan, T.S., Shinde, S.E., Dabhade, V.F., Sonawane, D.L., “Utilisation of algae as pollution indicators of water quality at Nagapur and Chandapur Dams near Parl. V. Town Dist. Beed Mararashtra, India”, *International Journal of Current Research*, V. 4, (2010), 52 – 54.
- [276] Parus, A., Karbowska, B., “Marine Algae as Natural Indicator of Environmental Cleanliness”, *Water Air Soil Pollut*, V. 231, (2020), 97.
- [277] Rioux, L.E., Turgeon, S.L., Beaulieu, M., “Effect of season on the composition of bioactive polysaccharides from the brown seaweed *Saccharina longicruris*”, *Phytochemistry*, V. 70, n° 8, (2009), 1069 – 1075.
- [278] Schmitt, T.M., Lindquist, N., Hay, M.E., “Seaweed secondary metabolites as antifoulants: effects of *Dictyota spp.* diterpenes on survivorship, settlement, and development of marine invertebrate larvae”, *Chemoecology*, V. 8, n° 3 (1998), 125-131.
- [279] Dagmar, B., Stengel, D.B., Connan, S., “Natural Products from Marine Algae – Methods and Protocols”, Humana Press, Springer New York, (2015), 440.
- [280] Van Den Dool, H., Kratz, P.D., *Journal of Chromatography*, 1963, 11, 463-471.
- [281] Adams, R.P., “Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography /Mass Spectroscopy”, Ed. 4.1., Allured Publ. Corp, Carol Stream, 2017.
- [282] Joulain, D., König, W.A., “The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons”, E. B. Verlag, Hamburg, 1998.
- [283] NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Proceedings of the Ninth International Supplement. M100-S9, NCCLS, Wayne, PA (1999).
- [284] Jacob, M., Pellecuer, J., Tomei, R., “Centre régional d’étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique”, *Rivista Italiana E.P.P.O.S.*, V. 11, (1979), 26-30.
- [285] Solís, C., Becerra, J., Flores, C., Robledo, J., Silva, M., “Antibacterial and antifungal terpenes from *Pilgerodendron uviferum* (D. Don) Florin”, *Journal of the Chilean Chemical Society*, V. 49, (2004), n° 2, 157-161.

- [286] El Hattab, M., Sultan Saif Al Easa, H., Tabaries, A., Piovetti, L., Kornprobst, J.-M., “Volatile Components of the Phaeophyceae *Hormophysac uneiformis* Growing Along Qatar Coasts”, *Journal Essential Oil Research*, V. 19, (2007), 37–39.
- [287] El Hattab, M., “contribution à l’étude des algues brunes méditerranéennes et de l’océan atlantique- Modélisation moléculaire”, thèse de doctorat d’état, (Blida 2005).
- [288] Boland, W., Ney, P., Jaenicke, L., “A "closed-loop-stripping" technique as a versatile tool for metabolic studies of volatils”, In *Analysis of volatiles*, (1984), 371- 380.
- [289] Besombes, C., “Contribution à l’étude des phénomènes d’extraction hydrothermomécanique d’herbes aromatiques. Applications généralisées”, Thèse de doctorat, La Rochelle, (2008).
- [290] Benfares, R., Kord, A., Boudjema, K., Bouarab, M., Benrabah, S., Boudjemaa, K., Švarc-Gajić, J., “Chemical characterization of essential oils and antioxidant activity of *Dictyota dichotoma* and *Dictyopteris membranacea*”, *Acta Periodica Technologica*, n° 50, (2019), 33 - 42.
- [291] Stratmann, K., Boland, W., Müller, D.G., “Biosynthesis of pheromones in female gametes of marine brown algae (Phaeophyceae)”, *Tetrahedron*, V. 49, (1993), 3755-3766.
- [292] Oldham, N.J., Boland, W., “Chemical ecology: multifunctional compounds and multitrophic interactions”, *The Science of Nature*, V. 6, n° 83, (1996), 248 - 254.
- [293] Hay, M.E., Piel, J., Boland, W., Schnitzler, I., “Seaweed sex pheromones and their degradation products frequently suppress amphipod grazing but rarely suppress sea urchin feeding”, *Chemoecology*, V. 8, n° 2, (1998), 91 - 98.
- [294] McClintock, J.B., Baker, B.J., “Marine chemical ecology”, CRC Press, New York, (2001).
- [295] Savoca, M.S., Nevitt, G.A., “Evidence that dimethyl sulfide facilitates a tritrophic mutualism between marine primary producers and top predators”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, V. 111, n° 11, (2014), 4157 – 4161.
- [296] Pawlik, J.R., McFall, G., Zea, S., “Does the odor from sponges of the genus *Ircinia* protect them from fish predators?” *Journal of chemical ecology*, *Journal of chemical ecology*, V. 28, n° 6, (2002), 1103 – 1115.
- [297] Tellez, M.R., Schrader, K.K., Kobaisy, M., “Volatile components of the cyanobacterium *Oscillatoria perornata* (Skuja)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 49, n° 12, (2001), 5989 - 5992.
- [298] Blumer, M., Guillard, R.R.L., Chase, T., “Hydrocarbons of marine phytoplankton”, *Marine Biology*, V. 8, n° 3, (1971), 183 – 189.
- [299] Dixit, D., Reddy, C.R.K., Trivedi, M.H., Gadhavi, D.K., “Non-targeted metabolomics approach to assess the brown marine macroalga *Dictyota dichotoma* as a functional food

using liquid chromatography with mass spectrometry”, *Separation Science Plus*, V. 3, n° 5, (2020), 140 - 149.

[300] Zeeck, E., Hardege, J., Bartels-Hardege, H., “Platynereis durnerilii”, *Marine Ecology Progress Series*, V. 67, n° 183, (1990), 8.

[301] Chouhan, S., Sharma, K., Guleria, S., “Antimicrobial Activity of Some Essential Oils- Present Status and Future Perspectives”, *Medicines*, V. 4, n° 3, (2017), 58.

[302] Liu, Z., Xia, G., Chen, S., Liu, Y., Li, H., She, Z., “Eurothiocin A and B, Sulfur-Containing Benzofurans from a Soft Coral-Derived Fungus *Eurotium rubrum* SH-823”, *Marine Drugs*, V. 12, (2014), 3669 - 3680.

[303] Christophersen, C., Anthoni, U., “Organic Sulfur Compounds from Marine Organisms”, *Sulfur Reports*, V. 4, n° 9, (1986), 365 - 442.

[304] Benjilali, B., “Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l’entraînement à la vapeur d’eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation”, (2004), 17-59.

[305] Gressler, V., Stein, É. M., Dörr, F., Fujii, M. T., Colepicolo, P., Pinto, E., “Sesquiterpenes from the essential oil of *Laurencia dendroidea* (Ceramiaceae, Rhodophyta): isolation, biological activities and distribution among seaweeds”, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, V. 21, n° 2, (2011), 248 - 254.

[306] De Cássia da Silveira e Sá, R., Andrade, L.N, De Sousa, D.P., “ Sesquiterpenes from Essential Oils and Anti-Inflammatory Activity”, *Natural Product Communications* V. 10, n° 10, (2015), 1767 – 1774.

[307] Rabe, P., Khomaizon, A., Pahirulzaman, K., Dickschat, J.S., “Structures and Biosynthesis of Corvul Ethers-Sesquiterpenes from the Actinomycete *Kitasatospora setae*”, *Angewandte Chemie International Edition*, V. 54, (2015), 1 - 6.

[308] Jerkovic, I., Kranjac, M, Marijanović, Z., Roje, M., Jokic, S., “Chemical Diversity of Headspace and Volatile Oil Composition of Two Brown Algae (*Taonia atomaria* and *Padina pavonica*) from the Adriatic Sea”, *Molecules*, V. 24, n° 3, (2019), 495.

[309] Velasco-Negueruela, A., Pérez-Alonso, M.J., Palá-Paúl, J., Íñigo, A., “The Volatile Oil Composition of the Berries of *Juniperus macrocarpa* Sibth and Sm Gathered in Spain”, *Journal of Essential Oil Research*, V. 17, n° 1, (2005), 61-63.

[310] Barrero, A.F., Del Moral, J.F.Q., Lara, A., Herrador, M.M., “Antimicrobial activity of sesquiterpenes from the essential oil of *Juniperus thurifera*”, *Planta Medica*, V. 71, n° 1, (2005), 67 - 71.

[311] Milligan, C.H., Knuth, C.A., Richardson, A.S., “The composition of whale oil”, *Journal of the American Chemical Society*, V. 46, n° 1, (1924), 157 – 166.

- [312] Song, F., Fan, X., Xu, X., Zhao, J., Yang, Y., Shi, J., “Cadinane Sesquiterpenes from the Brown Alga *Dictyopteris divaricata*”, *Journal Natural Product*, V. 67, n° 10, (2004), 1644 – 1649.
- [313] De Almeida, L. F. R., Portella, R. D. O., Bufalo, J., Marques, M. O. M., Facanali, R., & Frei, F., “Non-Oxygenated Sesquiterpenes in the Essential Oil of *Copaifera langsdorffii* Desf. Increase during the day in the dry Season”, *PLOS ONE*, V. 11, n° 2, (2016), 1 - 12.
- [314] Bansemir, A., Just, N., Michalik, M., Lindequist, U., Lalk, L., “Extracts and Sesquiterpene Derivatives from the Red Alga *Laurencia chondrioides* with Antibacterial Activity against Fish and Human Pathogenic Bacteria”, *Chemistry and biodiversity*, V. 1, n° 3, (2004), 463 - 467.
- [315] Xu, J., Guo, Y., Li, Y., Zhao, P., Liu, C, Ma, Y., Gao, J., Hou, W., Zhang, T., “Sesquiterpenoids from the resinous exudates of *Commiphora myrrha* and their neuroprotective effects”, *Planta Medica*, V. 77, n° 18, (2011), 2023.
- [316] Burt, S., “Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review”, *International Journal of Food Microbiology*, V. 94, n° 3, (2004), 223 - 253.
- [317] De Souza, E.L., Guerr, N.B. Stamford, T.L.M., de Oliveira Lima, E., “Spices alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation”, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, V. 87, n° 1, (2006), 22 – 25.
- [318] Akakabe, Y., Iwamoto, S., Miyamura, S., Kajiwara, T., “Induction of (Z)-8-heptadecene in marine green alga *Bryopsis maxima* by mechanical wounding”, *Fisheries Science*, V. 73, n° 5, (2007), 1057 – 1060.
- [319] Shimizu, N., Sakata, D., Miyazaki, H., Shimura, Y., Kuwahara, Y., “Identification and synthesis of (Z, Z)-8, 11-heptadecadienyl formate and (Z)-8-heptadecenyl formate: Unsaturated aliphatic formates found in the unidentified astigmatid mite, *Sancassania* sp. *Sasagawa* (Acari: Acaridae)”, *Molecules*, V. 21, n° 5, (2016), 619.
- [320] Riad, N., Zahi, M. R., Trovato, E., Bouzidi, N., Daghbouche, Y., Utczás, M., Mondello, L., El Hattab, M., “Chemical screening and antibacterial activity of essential oil and volatile fraction of *Dictyopteris polypodioides*”, *Microchemical Journal*, V. 152, (2020), 104415.
- [321] Rabe, P., Dickschat, J.S., “The EIMS fragmentation mechanisms of the sesquiterpenes corvol ethers A and B, epi-cubebol and isodauc-8-en-11-ol”, *Beilstein journal of organic chemistry*, V. 12, n° 1, (2016), 1380 – 1394.
- [322] Rabe, P., Janusko, A., Goldfuss, B., Dickschat, J.S., “Experimental and Theoretical Studies on Corvol Ether Biosynthesis”, *ChemBioChem*, V. 17, (2016), 146 – 149.
- [323] Guimarães, A.C., Meireles, L.M., Lemos, M.F., Guimarães, M.C.C, Endringer, D.C, Fronza, M., Scherer, R., “Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oil”, *Molecules*, V. 24, n° 13, 2019, 2471.

- [324] Mahizan, N.A., Yang, S.K., Moo, C.L., Song, A.A.L., Chong, C.M., Chong, C.W., Abushelaibi, A., Swee-Hua, E.L., Lai, K.S., “Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens”, *Molecules*, V. 24, n° 14, (2019), 2631.
- [325] Smyrniotopoulos, V., Vagias, C., Bruyère, C., Lamoral-Theys, D., Kiss, R., Roussis, V., “Structure and in vitro antitumor activity evaluation of brominated diterpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*”, *Bioorganic & medicinal chemistry*, V. 18, n° 3, (2010), 1321-1330.
- [326] Pereira, H., Leão-Ferreira, L. R., Moussatché, N., Teixeira, V. L., Cavalcanti, D. N., Costa, L. J., Frugulhetti, I. C. P. P. “Antiviral activity of diterpenes isolated from the Brazilian marine alga *Dictyota menstrualis* against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)”, *Antiviral research*, V. 64, n° 1,(2004), 69-76.
- [327] Vo, Q. V., Tam, N. M., Van Bay, M., Thong, N. M., Le Huyen, T., Hoa, N. T., Mechler, A., “The antioxidant activity of natural diterpenes: theoretical insights”, *Rsc Advances*, V. 10, n° 25, (2020), 14937 - 14943.
- [328] Fernandes, S. R., Ferreira, H. D., Stone, S. L., Borges, L., Tresvenzol, L.M.F., Ferri, P.H., Santos, P. A., Paula, J.R., Fiuza, T.S., “Chemical composition and seasonal variation of the volatile oils from *Trembleya phlogiformis* leaves”, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, V 27, n° 4, (2017), 419-425.
- [329] Alsohaili, S., “Seasonal Variation in the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil Extracted from *Achillea fragrantissima* Grown in Northern - Eastern Jordanian Desert”, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, V. 21, n° 1, (2018), 139-145.
- [330] Da Silva, E.P.B, Soares, M.G., Mariane, B., Vallim, M.A., Pascon, R.C., Sartorelli, P., Lago, J.H.G., “The Seasonal Variation of the Chemical Composition of Essential Oils from *Porcelia macrocarpa* R.E. Fries (Annonaceae) and Their Antimicrobial Activity”, *Molecules*, V. 18, n° 11, (2013),13574-13587.
- [331] Sripathi, R., Jayagopal, D., Ravi, S., “A study on the seasonal variation of the essential oil composition from *Plectranthus hadiensis* and its antibacterial activity”, *Natural Product Research*, V. 32, n° 7, (2018), 871 – 874.
- [332] Okoh, S.O, Okoh, O.O, Okoh, A.I, “Seasonal variation of volatile oil composition and antioxidant property of aerial parts of *Syzygium paniculatum* Gaertn grown in the Eastern Cape, South Africa”, *Natural Product Research*, V. 33, n° 15, (2019), 2276 – 2280.
- [333] Rickert, E., Wahl, M., Link, H., Richter, H., Pohnert, G., “Seasonal Variations in Surface Metabolite Composition of *Fucus vesiculosus* and *Fucus serratus* from the Baltic Sea”. *PLoS ONE*, V. 11, n° 12, (2016). e0168196.

- [334] Saha, M., Rempt, M., Grosser, K., Pohnert, G., Weinberger, F., “Surface-associated fucoxanthin mediates settlement of bacterial epiphytes on the rockweed *Fucus vesiculosus*”, *Biofouling*, V. 27, n° 4, (2011), 423–33.
- [335] Bengtsson, M.M., Sjøtun, K., Øvreås, L., “Seasonal dynamics of bacterial biofilms on the kelp *Laminaria hyperborea*”, *Aquatic Microbial Ecology*, V. 60, n° 1, (2010), 71–83.
- [336] Vandvik, V., Skarpaas, O., Klanderud, K., Richard, J., Telford, Aud H., Halbritter, Deborah, E., Goldberg, “Biotic rescaling reveals importance of species interactions for variation in biodiversity responses to climate change”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, V. 117, n° 37, (September 2020), 22858-22865.
- [337] Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J.M., Viano, J., “Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 51, n° 24, (2003), 7115–7121.
- [338] Barra, A., “Factors Affecting Chemical Variability of Essential Oils: a Review of Recent Developments”, *Natural Product Communications*, V 4, n° 8, (2009), 1147 – 1154.
- [339] Khairy, H.M., El-Shafay, S.M., “Seasonal variations in the biochemical composition of some common seaweed species from the coast of Abu Qir Bay, Alexandria, Egypt”, *Oceanologia*, V. 55, n° 2, 2013, 435-452.
- [340] Castro-Gonzalez, M.I., Carrillo-Dominguez, S., Perez, G.F., “Chemical composition of *Macrocystis pyrifera* (giant sargazo) collected in summer and winter and its possible use in animal feeding”, *Ciencias Marinas*, V. 20, n° 1, (1994), 33-40.
- [341] Honya, M., Kinoshita, T., Ishikawa, M., Mori, H., Nisizawa, K., “Seasonal variation in the lipid content of culture *Laminaria japonica*: fatty acids, sterols, β -carotene and tocopherol”, *Journal of Applied Phycology*, V. 6, n°1, (1994), 25-29.
- [342] Nelson, M.M., Phlegger, C.F., Nichols, P.D., “Seasonal lipid composition in macroalgae of the Northeastern Pacific Ocean”, *Botanica Marina*, V. 45, n° 1, (2002), 58-65.
- [343] Jayasankar, R., Kulandaivelu, G., “Seasonal variation in biochemical constituents of *Gracilaria* spp. with reference to growth Ind”, *Journal of Marine Science*, V. 28, (1999), 464 - 466.
- [344] Benjama, O., Masniyom, P., “Biochemical composition and physicochemical properties of two red seaweeds (*Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata*) from the Pattani Bay in Southern Thailand”, *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, V. 34, n°2, (2012), 223-230.

- [345] Müller, D.G., Kawai, H., Stache, B., Folster, E., Boland, W., “Sexual pheromones and gamete chemotaxis in *Analipus japonicus* (Phaeophyceae)”, *Experientia*, V. 46, (1990), 534–536.
- [346] Haddou, B., “Purification d’effluents par extraction à deux phases”, Thèse de doctorat. INP, Toulouse, (2003).
- [347] Paradies, H. H., “Shape and size of a nonionic surfactant micelle Triton X-100 in aqueous solution”, *Journal of physical*, V. 84, n°6, (1980), 599 – 607.
- [348] Liu, W., Zhao, W.J., Chen, J.B., Yang, M.M., “A cloud point extraction approach using Triton X-100 for the separation and preconcentration of Sudan dyes in chilli powder”, *analytica chimica acta*, V. 605, n° 1, (2007), 41 - 45.
- [349] Gantchev, G., Petkov, L., Koupenov, L., “The influence of Tween 80 on the essential oil yield of rose petals”, *Scientific works of the UFT, Polvdiv, Bulgaria, Polvdiv, Bulgaria*, V. 25, n°3, (1978), 193-196.
- [350] Baydar H., Baydar N.G., “The effect of harvest date, fermentation duration and Tween 20 treatment on essential oil content and composition of industrial oil rose (*Rosa damascena* Mill.)”, *Industrial Crops and Products*, V. 21, n° 2, (2005), 251-255.
- [351] Dobreva, A., Kovatcheva, N., “The influence of Tween 20 on the yield and composition of the essential oil of white rose (*Rosa alba* L.)”, *Scientific works of the UFT*, (2007), 303 -308.
- [352] Charchari, S., Boudina, N., Benhalla, A., “Optimisation de l’extraction de l’huile essentielle de sauge (*Salvia officinalis* L.) par hydrodistillation en présence de tensioactif”, 4ème Symposium International sur les plantes Aromatiques et Médicinales, SIPAM4, 12-13 Mai (2011), FST-Mohamedia, Maroc.

