

الجمهورية الجزائرية الشعبية

République Algérienne Démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Med-Seddik Benyahia – Jijel

Faculté des sciences de la nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département des Sciences de l'Environnement
et des Sciences agronomique



قسم علوم المحيط والعلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en biologie**

Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie Fondamental et appliquée

Thème

**Etude phytochimique et potentiel anti-oxydant de quatre lichens
de la région de Jijel.**

Présenté par :

Jury de soutenance :

Président : Mr Sebti M.

- Bouladjoul Aicha
- Boumimiz Hizia

Examinatrice : M^{lle} Benterrouche I.

Encadrante : M^{me} Lemzeri H.

Session : Juin 2018

Numéro d'ordre :

Année universitaire : 2017-2018

Laboratoire : *Ecotoxicologie/ université de Jijel*

Remerciements

Nous remercions ALLAH le tout puissant qui nous permis d'être ce que nous somme aujourd'hui.

Nous tenons à adresser nos très sincères remerciements à notre encadrante madame **LEMZERI Houria** qui nous a guidé dans notre travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très patiente avec nous, Merci d'avoir mis votre expérience à notre profil.

Nous tenons à présenter nos sincères et vifs remerciement aux membres de jury : **Mr Sebti mohammed et M^{lle} Benterrouche Ilhem** qui ont accepté de juger notre travail.



Dédicace :

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes chers parents, qui m'avez dirigé et suivi pendant toute mes années d'étude, pour leurs sacrifices de tous les instants, leur patience sans limite et l'éducation qu'ils m'ont donnée. Je leur dit merci mille fois.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à :

Mes frères

ET

Mes sœurs

A toute ma famille

Et

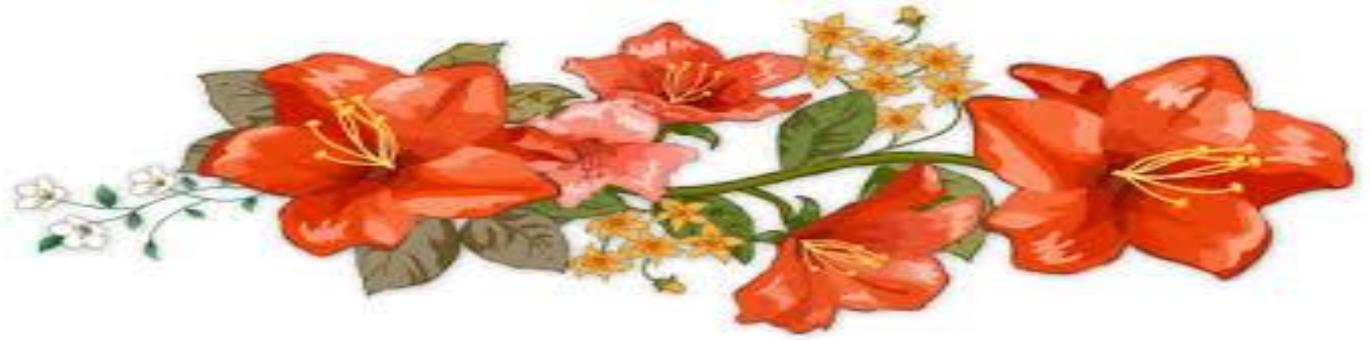
A mon binôme Aicha

Je te remercie pour ton soutien moral, ta patience et ton dévouement

A Mes chers amies : Amina, Assia, Chahrazed, Ghania, Iman et Nawal

A tous les collègues de ma promotion 2018





Dédicace

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé

La patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Que je dédie :

A Ma très chère mère ; source de l'amour et d'affection.

A Mon père pour son soutien durant mes années d'étude

A Ma deuxième mère :marhoma Noirra

A Mon deuxième père : Abdelhamid

A Mes frères : Ayoub, Nouh, Zakaria

A Mes sœurs : Meyada, Amina, Soumia, Mouna, Sara

A Mes beaux : Oussama Meriem Djihan et Rihab

A Mon faïencier Abderrahmane

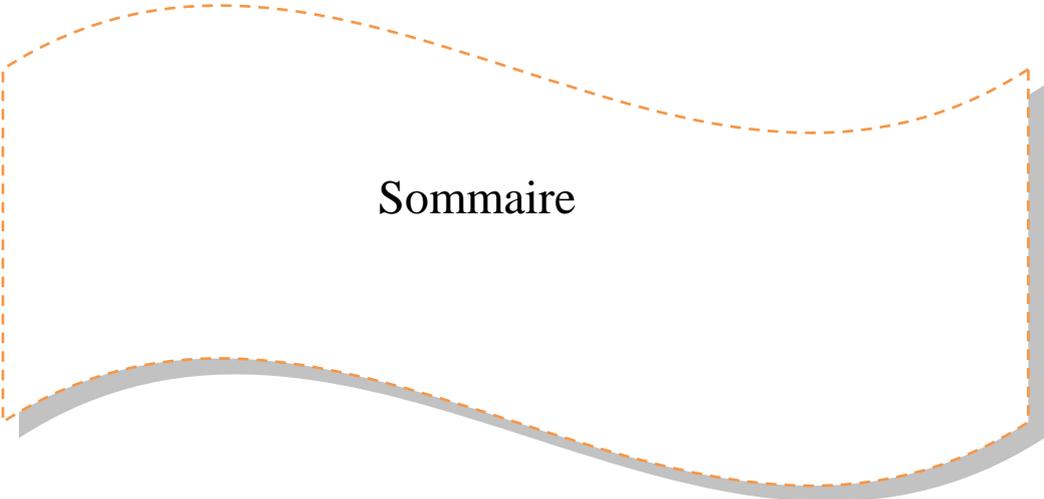
*A Mon binôme **Hizia** pour les moments de joie et de peine qu'on a partagé ensemble durant toute la période de nos études.*

A tous mes chères amies : Amina, Chahra, fahima, Iman, messaouda, Zahira,

A mes camarades de promotion 2017/2018

A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire

AICHA



Sommaire

Sommaire

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	iii
Liste des abréviations.....	iv
Introduction.....	01
Partie I : Recherche bibliographique	
Chapitre I : Potentiel pharmacologique des lichens	
I—Généralités.....	03
I-1-Constituant des lichens.....	03
I-2-Morphologie et anatomie des lichens.....	03
I-2-1-Morphologie.....	03
I-2-2-Structure anatomique.....	04
I-3-Echange nutritionnels entre les partenaires.....	04
I-4- Reproduction des lichens.....	05
I-4-1 La dissémination du complexe lichénique.....	05
I-4-2- La reproduction du champignon.....	06
I-5-Ecologie et répartition des lichens.....	06
I-6-Rôle et usage des lichens.....	07
I-7-Potentiel pharmacologique des lichens.....	08
1-7-1 Molécule bioactive des lichens.....	08
1-7-1-1-définition.....	08
I-7-2-Rôle des métabolites secondaires.....	09
I-7-3- Différentes classes de métabolisme secondaire.....	09
I-7-3-1-Les produits phénoliques.....	09
I-7-3-1-1-Les dérivés phénoliques.....	10
3-1-2- Les flavonoïdes	11
3-1-3Les tanins.....	11
3-2-Les alcaloïdes.....	12
3-3-Les saponines.....	13
3-4-Les terpénoïdes.....	13

3-5-Les lignines.....	13
3-6-Les coumarines.....	13
ChapitreII- Propriétés biologiques des composés lichéniques	
II- Propriétés biologiques des composés lichéniques	
II-1- Activités anti-herbivore.....	14
II-2- Activités allélopathique.....	14
II-3- Activités anti-inflammatoire.....	15
II-4- Pouvoir antibactérien des lichens.....	15
II-4-1- Les mécanismes probable d'action antibactérienne des lichens.....	16
II-5-- Activités antioxydants.....	17
II-5-1- les antioxydants endogènes	17
II-5-1-1- Antioxydants enzymatique.....	18
II-5-1-2- Antioxydants non enzymatique.....	18
II-5-2- Les antioxydants exogènes	18
II-5-3- Les antioxydants synthétiques.....	19
Partie II : Partie expérimental	
Chapitre III : Matériel et méthodes	
I- Préparation du matériel végétal.....	20
I-1- Le choix des espèces.....	20
I-2- Technique de séchage et broyage.....	21
I-3- Préparation des extraits de lichen.....	21
I-4- Détermination du rendement d'extraction.....	22
II- Etude phytochimique.....	22
II-1- Tests screening chimique.....	22
II-2- Analyse quantitative.....	23
❖ Dosage des polyphénols totaux.....	23
❖ Dosage des polyphénols polaires.....	24
❖ Détermination des polyphénols apolaires.....	24
❖ Dosage des flavonoïdes totaux.....	24
❖ Dosage des tannins	25
❖ Dosage des tannins condensés.....	25
III- Evaluation de l'activité antioxydant.....	26
III-1- La capacité antioxydant totale (C. A.T).....	26

III-2- Pouvoir réducteur.....	27
III-3- Effet scavenger du radical DPPH.....	28
Chapitre IV : Résultats et Discussion	
IV-I Résultats	
1- Rendement d'extraction.....	29
2- Etude phytochimique.....	31
2- 1 Tests screening chimique.....	31
2-2 Analyse quantitative.....	39
❖ Dosage des polyphénols totaux.....	39
❖ Dosage des polyphénols polaires.....	40
❖ Détermination des polyphénols apolaires.....	42
❖ Dosage des flavonoïdes totaux.....	43
❖ Dosage des tannins	44
❖ Dosage des tannins condensés.....	45
IV- I-4-Evaluation de l'activité antioxydant.....	46
IV-1- La capacité antioxydant totale (C. A.T).....	46
IV-2- Pouvoir réducteur.....	47
IV-3- Effet scavenger du radical DPPH.....	51
IV-II-Discussion.....	55
Conclusion.....	57
Référence bibliographies.....	59
Annexe	

N°	Titre	Page
01	Images en microscopie électronique à transmission d'une structure homéomère (à gauche) et d'une structure hétéromère (à droite)	04
02	Echange nutritionnels entre les partenaires des lichens	05
03	Lichens corticoles (à gauche) et lichens saxicoles (à droit)	07
04	Quelque exemple des composés phénoliques particuliers	10
05	Structure de basse des flavonoïdes	11
06	Exemple de structure de tannins condensés (Prodelphinidine)	12
07	Deux exemples de tannins hydrolysables (Pentagalloylglucose et Castalagine)	12
08	Les étapes de l'extraction par différents solvants	21
09	Rendement d'extraction des différents extraits des lichens	29
10	tests phytochimiques chez <i>Cetrelia olivetorum</i>	33
11	Tests phytochimiques chez <i>Cladonia foliacea</i>	34
12	Tests phytochimiques chez <i>Pseudeveria furfuracea</i>	35
13	tests phytochimiques chez <i>Flavopermelia caperata</i>	36
14	Teneur en polyphénols totaux dans les extraits (acétonique, aqueux et méthanolique) des espèces de lichens étudiées	39
15	teneur en polyphénols polaires des extraits des lichens étudiés.	41
16	Teneurs en polyphénols apolaires.	42
17	Teneur en flavonoïdes totaux.	43
18	teneurs en tannins	44
19	Teneur en tannins condensés	45
20	Capacité anti-oxydante totale des extraits lichéniques	47
21	pouvoir réducteur des extraits acétonique en comparaison avec l'acide ascorbique.	48
22	pouvoir réducteur des extraits méthanolique en comparaison avec l'acide ascorbique.	49
23	pouvoir réducteur des extraits aqueux en comparaison avec l'acide ascorbique.	49
24	Concentration nécessaire pour la réduction de 50% du fer des différents extraits lichénique et de l'acide ascorbique	50
25	Pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire des extraits	51

	acétonique et de l'acide ascorbique	
26	Concentration nécessaire pour la réduction de 50% du fer des extraits méthanoliques du lichen et de l'acide ascorbique	52
27	Pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux et de l'acide ascorbique	52
28	concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH° des extraits lichéniques et de l'acide ascorbique	54

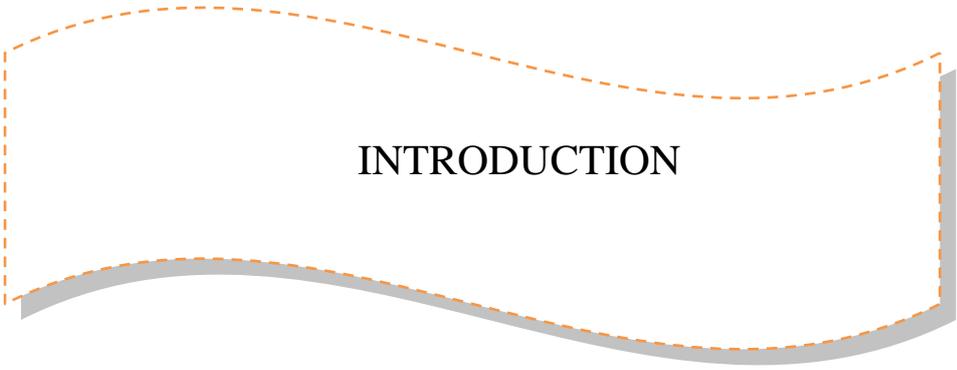
Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Rendement d'extraction des différents extraits des lichens	29
02	Tests phytochimique chez <i>Cladonia foliacea</i> et <i>Cétrelia olivetorum</i>	31
03	Tests phytochimique chez <i>Pseudoevernia furfurea</i> et <i>Flavopermelia caperata</i>	32
04	Teneur en polyphénols totaux	39
05	Teneur en polyphénols polaires	41
06	Teneur en polyphénols apolaires	42
07	Teneur en flavonoïdes totaux	43
08	Teneur en tannins	44
09	Teneur en tannins condensé	45
10	Capacité anti-oxydante totale des extraits lichéniques	46
11	Variation des absorbances de l'extrait acétonique en comparaison avec l'acide ascorbique	48
12	Variation des absorbances de l'extrait méthanolique en comparaison avec l'acide ascorbique	48
13	Variation des absorbances de l'extrait aqueux en comparaison avec l'acide ascorbique	49

Liste des abréviations

Abréviation	Description
µg	Microgramme
µl	microlitre
ADN	Acide désoxyribonucléique
BHA	ButylHydroxyanisole
BHT	ButylHydroxyluéne
C.-à-d.	C'est-à-dire
CAT	Catalase
CE	<i>Cetrelia olivetorum</i>
CL	<i>Cladonia foliacea</i>
DO	Densité optique
DPPH	2,2diphenyl-1picrulhyhydrozyl
Fe+2	Fer ferreux
Fe+3	Fer ferrique
FeCL3	Chlorure ferrique
FL	<i>Flavopermelia caperata</i>
FREP	Ferric Reducing Ability Of Plasma
g	Gramme
GSH-PX	Glutathion peroxydase
h	Heure
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
H2SO4	Acide sulfurique
HCL	Acide chlorhydrique
HNO3	Acide nitrique
KI	Iodure de potassium
Me OH	Méthanol
mg	Milligramme
mg Eq AA/g EB	milligramme Equivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait brut
mg Eq AQ/g EB	Milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut
mg Eq Q/ g EB	milligramme équivalent quercetine par gramme d'extrait

	brut
min	Minute
ml	millilitre
m/v	masse/volume
N	Normalité
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
Na OH	Hydroxyde de sodium
Nm	Nanomètre
O.-2	Anion superoxyde
O₂	Oxygène
OMS	Organisation mondial de santé
PG	Gallate propylée
PH	Potentiel hydrogene
PS	<i>Pseudovernia furfuracea</i>
R%	Pourcentage de rendement
RL	Radical libre
ROS	Reactive oxygen species
-SH	Thiol
SOD	Super Oxyde Discutasse
TAP	Taux Polyphénols apolaires
TBHQ	Tétreabutyhydroquinoni
TCA	Trichloracétique
TP	Taux Polyphénols polaires
TT	Taux Polyphénols totaux



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Pendant long temps les plante sont été une source précieuse de produits naturels pour le maintien de la santé humaine, en particulier dans la dernière décennie, avec des études plus intensives pour la thérapie naturelle. Maintenant, l'utilisation de produits phyto-chimiques à des fins pharmaceutiques a progressivement augmentée dans de nombreux pays. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), les plantes médicinales sera la meilleure source pour obtenir une variété des médicaments (**Selvamohan et al.,2012**).

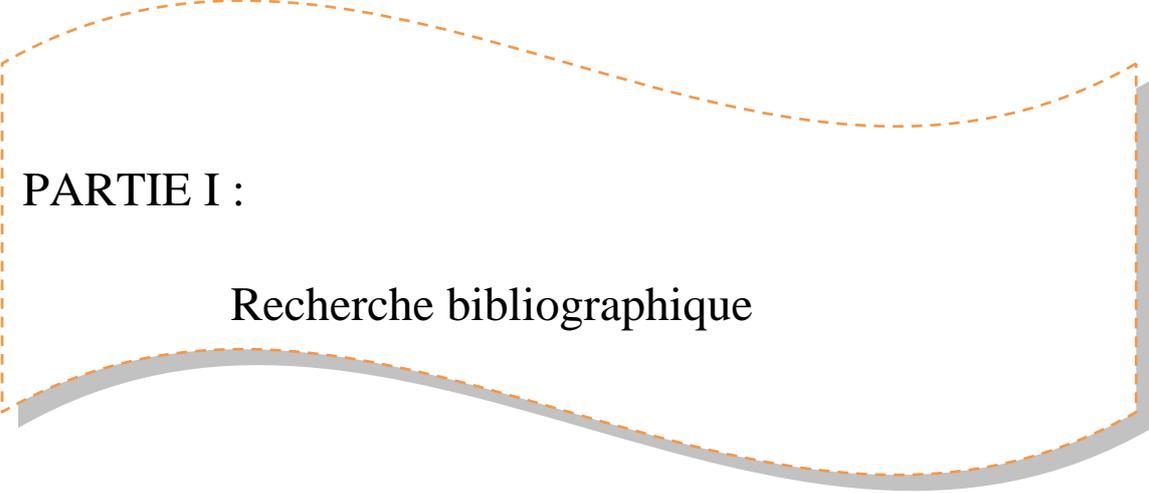
Les lichens ont été utilisé dés l'antiquité comme plante médicinales (**Ozenda., 2000**). A travers les âges, de nombreux lichens ont été utilisé à des fins médicinales telque *Cetraria islandica*, (mousse d'islande), *Lobaria pulmonaria* et les espèces de *Cladonia* ont été signalés efficace dans le traitement de la tuberculose pulmonaire (**Jayanthi et al., 2012**) ; grâce a leur richesse en de nombreux métabolites dites « substances lichénique » qui comprennent des substances aliphatiques, composés cyclo-aliphatiques, aromatiques et terpéniques (**Huneck., 1999 ; Rankovic et al., 2007**). Environ 1050 composés secondaires ont été identifiés à ce jour (**Molnàr et Farkes., 2010**). Selon leur structure chimique la plupart sont des composés phénoliques tels que les dibenzofuranes et les acides usniques, depsides, depsidones, les depsones, les quinones et des dérivés de l'acide pulvinique (**Boustie et Grube., 2005**), qui peuvent comporter jusqu'à 20% de poids sec du thalle mais dans la plupart des lichens la quantité change de 5 à 10% (**Schrestha et Clair., 2013**).

Les lichens et leurs métabolites ont une activité biologique importante d'après la littérature scientifique à savoir ; activité antimicrobienne, antiviral, anti- inflammatoire, analgésique, anti- oxydante, allélopathique et anti-herbivore (**Molnar et Farkes., 2010**).

Cette études'inscrit dans le cadre de la recherche est de la valorisation des substances bioactives telles que les substances naturelles douées d'activité anti-oxydante qui présentent un intérêt dans le domaine de la bio-pharmacologie. L'objectif principal de cet étude est d'évaluer in vitro l'activité anti-oxydante de quatre lichens ; *Cladonia foliacea*, *Flavoparmelia caperata*, *pseudevernia furfuracea* et *Cetrelia olivetorum*.

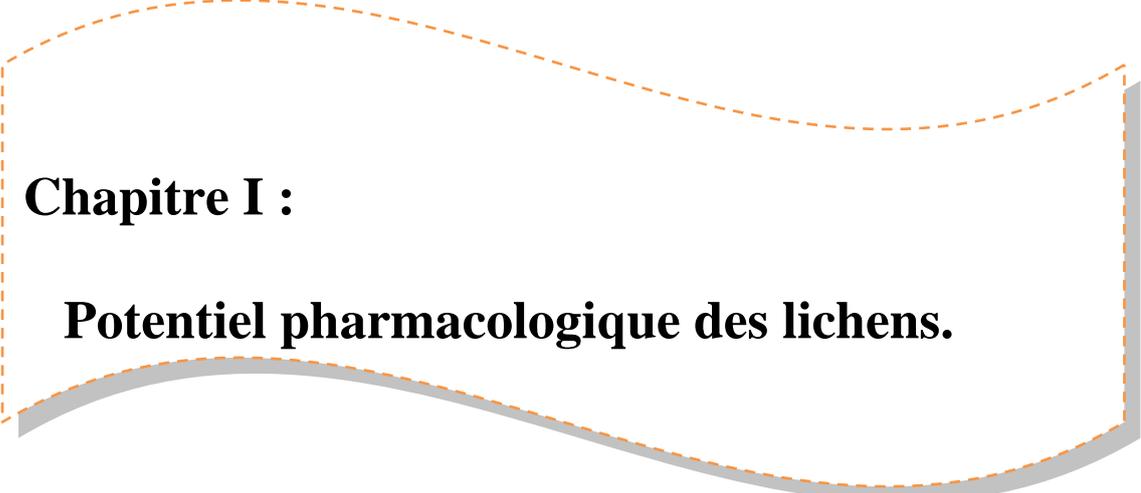
Les chapitres presents dans ce travail comprennent:

- Une synthèse bibliographique qui décrit les lichens sur le plan anatomique, physiologiqueainsiqueleursactivitésbiologiquesetleurpotentielanti-oxydant.
- Une partie pratique qui traite de la méthodologie suivie dans la caractérisation phytochimique des lichens, l'extraction et le dosage des poly-phénols, flavonoïdes et tanins et enfin l'étude de leurs activités anti-oxydante in vitro.
- Une partie consacrée aux résultats qui sont analysés, discutés et le tout est suivi d'une conclusion générale dotée de perspectives.



PARTIE I :

Recherche bibliographique



Chapitre I :

Potentiel pharmacologique des lichens.

I -GENERALITES

I- 1Constituants des lichens :

Les lichens sont des organismes semblables à des plantes symbiotiques, habituellement composés d'un partenaire fongique, mycobionte, et un ou plusieurs partenaires photosynthétiques, phytobionte, le plus souvent soit une algue verte ou une cyanobactérie (**Zambare et Christopher, 2012**).La quasi-totalité des champignons des lichens appartient aux ascomycètes ou basidiomycètes supérieurs (**Ozenda, 2000**).

I-2Morphologie et anatomie des lichens :

I-2-1 Morphologie :

La morphologie du thalle lichénique est fortement influencée par le phytobionte et son contact direct avec le mycobionte, Les thalles de lichen ont été regroupés comme:

- **Thalles crustacés** : formant une croûte étroitement adhérente au support (Écorces, roches ou terre), ce sont de loin les plus nombreux : plus des quatre cinquièmes. On appelle aussi micro-lichens ; le thalle est généralement inséparable du support, vis-à-vis duquel il n'est pas délimité ; les hyphes, et parfois les gonidies, pénètrent en profondeur, dissocient les assises cellulaires de l'écorce ou altèrent la roche (**Ozenda, 2000**).
- **Thalles foliacés** :(feuillu, phycobionte dans une couche inférieure à cortex supérieur avec un cortex discret en dessous, séparé du substrat sur lequel il pousse (**Zambare et Christopher, 2012**).La structure du thalle est hétéromère, faite de strates différentes : « écorce » (ou cortex) supérieure, couche gonidiale, médulle. L'analogie avec la coupe d'une feuille est intéressante (**Ozenda, 2000**).
- **Thalles fruticuleux** : ils n'adhèrent au substrat que par une surface très réduite, ils sont plus ou moins buissonnants, plus ou moins ramifiés, à section ronde ou aplatie (**Amirouche et al., 2009**).
- **Thalles gélatineux** : ils contiennent des cyanobactéries réparties dans toute l'épaisseur du thalle. (Pas de stratification dorsi-ventrale). A l'état sec ils sont noirs coriaces et friable. En présence d'eau ils gonflent pour donner des masses gélatineuses (**Amirouche et al., 2009**).
- **Thalles squamuleux** :se présentent sous forme de petites squamules ou écailles pouvant se chevaucher partiellement.

- **Thalles lépreux** : groupes de phycobiontes entourés de mycobiontes (**Zambare et Christopher, 2012**).
- **Thalles composites** : ils présentent un thalle primaire plus ou moins foliacé-squamuleux, plus un thalle moins adhérent au substrat et un thalle secondaire dressé, plus ou moins ramifié, développé dans un second temps sur le thalle primaire. (**Amirouche et al.,2009**).

I-2-2- Structure anatomique :

Selon (**Amirouche et al., 2009**) et (**Genevès, 1990**)il existe deux grands types structuraux des lichens :

- **Thalle homéomère** : les gonidies ou cellule de l'algue isolées ou formant des couronnes sont mélangées aux hyphes du champignon dans toute l'épaisseur du thalle. Néanmoins, on peut y observer une limite corticale supérieure et une limite inférieure.
- **Thalle hétéromère** :le thalle est limité par le cortex supérieur et le cortex inférieur.les gonidies et les hyphes sont réparties en couches superposées ou concentriques, couche gonidiale, médulle (hyphes), le cortex inférieur peut présenter des filaments destinés à la fixation. Ce sont des rhizines(**Amirouche et al.,2009**).



Figure01: Images en microscopie électronique à transmission d'une structure homéomère (à gauche) et d'une structure hétéromère (à droite) (**Aprile et al., 2011**).

I-3 Echanges nutritionnels entre les partenaires

Le lichen est un organisme autotrophe (**Amirouche et al.,2009**),le mycobionte assure la structure et la protection physique de l'ensemble, tandis que le phytobionte apporte, *via* la photosynthèse, la matière organique carbonée, ce qui fait du lichen un organisme autotrophe. Le champignon, grâce aux rhizines, a un rôle de fixation sur le substrat. Aussi, il fournit au phytobionte l'eau, les sels minéraux et des vitamines telles que la vitamine C.

Les algues vertes produisent de nombreux composés nécessaires au champignon, en particulier de la vitamine B et des polyols, dérivés des sucres.

Dans le cas des cyanobactéries, le carbone est cédé au champignon plutôt sous forme de glucose. Elles sont aussi capables de fixer l'azote atmosphérique, fourni au champignon sous forme d'ammonium. Les polyols et le glucose sont ensuite transformés par le champignon en polysaccharides et en métabolites secondaires, appelés substances lichéniques.

L'association symbiotique permet donc la production de composés originaux et spécifiques qui ne pourraient pas être synthétisés par chaque individu seul (Van Haluwyn et al., 2009).

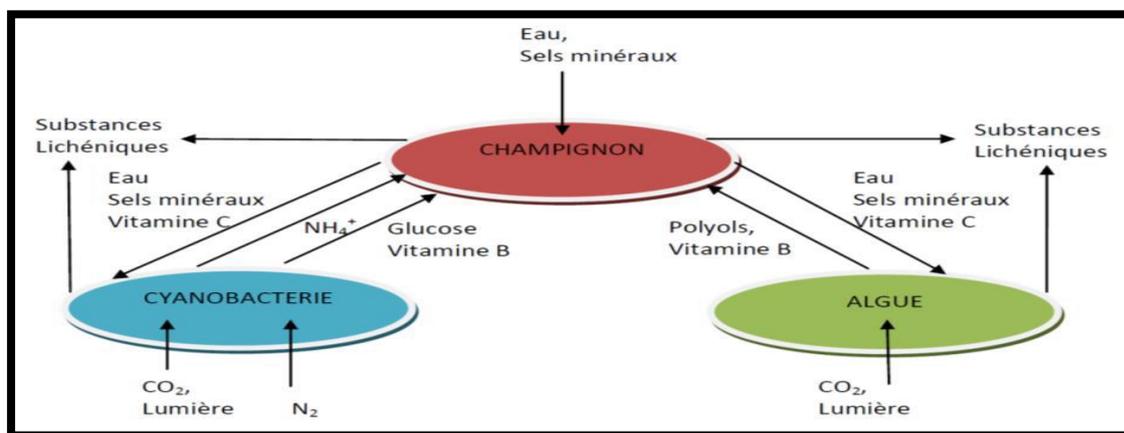


Figure 02: Echanges nutritionnels entre les partenaires des lichens (Van Haluwyn et al., 2009).

I-4- Reproduction des lichens

La reproduction des lichens se fait de deux façons :

- ❖ Par dissémination du complexe lichénique lui-même « par bouturage » de fragments de thalle ou émission de sorédies ou d'isidies ;
- ❖ Par la production de spores du champignon, qui en germant donnent des hyphes qui capturent des algues, en revanche, les gonidies ne se multiplient que par voie asexuée (sauf en culture) (Ozenda, 2000).

I-4-1a dissémination du complexe lichénique

Le complexe lichénique peut se disséminer globalement, soit sous la forme de fragment de thalle (les lichens, organismes reviviscent, peuvent subsister longtemps à l'état sec, ils sont alors très cassant et leur débris, dispersés par divers agents ; vent, animaux, constituent autant de boutures), soit par le jeu d'organes spéciaux.

Les soralies ; une soralie est une crevasse de l'écorce (celle-ci toujours formée par le champignon) au niveau de laquelle la médulle du lichen se résout en une poussière farineuse de sorédies, qui sont des glomérules formés de quelque cellule d'algues entourées d'un peloton d'hyphes, de très petite taille et de dispersion aisée .

Beaucoup de lichens présentent une surface supérieure hérissée de petites papilles, soit simple, soit ramifiées : c'est une isidium formé d'isidies .C'est une sorte de bourgeonnement du thalle, présentant hyphes et gonidies avec cortex, caractéristique que certaines espèces. Le rôle n'est pas encore parfaitement connu mais, comme ces isidies se détachent facilement et qu'elles présentent les deux constituants du lichen ; on les considère généralement comme des organes de multiplication (**Ozenda,2000**).

I-4-2 - La reproduction du champignon

Les lichens forment généralement à la surface de leur thalle des fructifications en coupe, en bouton ou en boule, de même structure que celles des discomycètes et appelées aussi apothécies, ou dans leur épaisseur des fructifications globuleuses analogues aux périthèces des pyrénomycètes ; plus rarement s'observent d'autres formes. La morphologie des asques et des spores est extrêmement variable comme chez les ascomycètes libres et elle est à la base de la classification et de la détermination des lichens (**Ozenda, 2000**).

I-5- Ecologie et répartition des lichens

Le grand nombre de lichens, leur extrême diversité structurale et les larges possibilités que leur offre la symbiose, entraînent une grande variété de leur écologie.

- ✓ La dépendance plus ou moins grande vis -vis du substrat, est croissante des lichens fruticuleux aux foliacés et aux crustacés, les substrats présentent des caractères physique (dureté, porosité) ou chimique (PH, teneur en calcium) influencent la répartition des lichens.
- ✓ L'exigence photophile, conséquence de la faible biomasse relative des cellules chlorophylliennes.
- ✓ La réviviscence, qui permet la colonisation de milieux à sécheresse temporaire, sans masquer pour autant la loi général, valable pour les lichens aussi, de la plus grande richesse des stations et des climats humide.
- ✓ La résistance aux basses températures, qui entraîne la richesse en lichens des montagnes et des régions nordique (**Ozenda, 2000**).

- ✓ La plupart des lichens se trouve sur les écorces (corticoles) ou sur la roche (saxicoles), mais ils se développent aussi sur les bois morts (lignicoles), le sol (terricoles), les mousses, les feuilles persistantes (folicoles), les débris de végétaux... ou même sur d'autres lichens (lichénicoles) (**Amandine, 2015**).



Figure03: lichens corticoles (à gauche) et lichens saxicoles (à droite) (**Amandine, 2015**).

I- 6- Rôle et usage des lichens

✓ *Rôle écologique*

Les lichens s'insèrent dans les chaînes alimentaires, sont consommés par certains animaux les (limaces et l'escargot). Ils font l'objet d'un parasitisme par d'autres champignons qui leur sont inféodés. Servir de matériaux de construction pour les nids d'oiseau et d'écureuils (**AFL, 2011**).

D'autres peuvent également être source de glucose et dans certaines régions ils sont consommés comme aliment pour l'homme au Japon comme au Canada (**Gregory et Dimijian, 2003**).

✓ **La bioindication**

Les lichens sont d'excellents indicateurs des effets des polluants sur l'environnement (**Deruelle, 1978**). Contrairement aux végétaux supérieurs, ils n'ont pas de vaisseaux conducteurs ni de système racinaire, ce qui assure une exposition quasi exclusive aux composés d'origine atmosphérique. Ce constat a incité les chercheurs à utiliser les lichens de diverses manières. La sensibilité intrinsèque de ces espèces face aux phytotoxiques urbains permet d'établir l'ampleur des effets des polluants sur des espèces sentinelles de l'environnement (**McCarthy et Vaughan, 2004**). La présence d'une grande variété d'espèces et leur abondance sont généralement indicatrices d'une bonne qualité de l'air (**Gombert et Asta, 2006 ; Thormann, 2006**).

✓ Teintures et pigments

De nombreux lichens ont anciennement été utilisés comme colorants par l'artisanat puis dans l'industrie textile. Ces espèces étaient dénommées « orseille de terre » ou « orseille de mer » selon leur lieu de ramassage (Mitrović et al., 2011).

✓ Parfums et cosmétiques

Plusieurs lichens comme l'évéronie du prunier ou la fausse évéronie poudreuse fournissent des extraits à odeur persistante, utilisés dans l'industrie des parfums (Joulain et Tabacchi, 2009).

✓ Utilisation en pharmacie

Les lichens produisent de très nombreux composés chimiques qui leur sont propres et qui sont susceptibles d'avoir des applications pharmaceutiques. Ainsi, certaines de ces molécules ont une activité antibiotique ou anti-inflammatoire marquée ou bien encore des propriétés photoprotectrices, (Karagözet et al., 2009).

I-7-- Potentiel pharmacologique des lichens :

Le principal intérêt des lichens en médecine semble être actuellement la possibilité d'en extraire des antibiotiques, l'acide usnique des usnées actif contre une vingtaine de bactéries, dont le colibacille et divers agents de la tuberculose (Ozenda, 2000).

D'autre part, *Cetraria islandica* est encore utilisé en pharmacie dans la fabrication des pâtes pectorales en raison des propriétés émoullientes de la lichénine.

Letharia vulpina est toxique et a été utilisé autrefois pour fabriquer des appâts empoisonnés contre les loups et les renards (Ozenda, 2000).

I-7 -1- Molécules bioactives des lichens :

I-7-1-1 définition

Les métabolites secondaires sont des composés non structuraux localisés dans certaines parties des végétaux, (Stead et al., 1998), généralement sont des molécules petite et complexe insolubles dans l'eau et peuvent être extraites dans des solvants organiques (Mitrović, 2011). Actuellement plus de 1059 composés secondaires ont été identifiés. Y compris composés phénoliques, dibenzofuranes, depsides, depsidones, depsones, lactones, quinones et dérivés de l'acide pulvique (Mitrović et al., 2015), et sont accumulés dans le cortex ou dans la médulle. Tous se trouvent extra-cellulairement et / ou sur la surface des hyphes sous forme cristalline

(**Eugenia C Pereira, 2017**). Ils représentent en moyenne 5 à 10 % de la masse sèche du thalle (jusqu'à 20 %) (**Shukla et al., 2010**).

De nombreuses structures moléculaires des substances lichéniques et voies de biosynthèse ont été décrites par Asahina et Shibata. dans lequel les substances sont classées en fonction de leur origine biosynthétique, ceux dérivés de l'acétate-polymalonate, de l'acide shikimique ou de voies d'acides mévaloniques. Différents métabolites secondaires bioactifs ont été isolés des lichens et certains d'entre eux sont utilisés dans les domaines pharmaceutiques (**Jayanthi et al., 2012**).

I-7-2 Rôle des métabolites secondaires :

Certains métabolites secondaires sont des espèces spécifiques; ils jouent un rôle dans l'interaction d'une cellule avec son environnement, qui peut être utilisé comme outil pour protéger des facteurs biotiques et abiotiques externes, y compris sa défense contre une concentration élevée de polluants (**Shukla, 2014**). Notamment, certains métabolites tels que les anthraquinones, pourraient agir comme pigments accessoires, permettant en condition de faible luminosité de capter l'énergie solaire ou à l'opposé, de protéger l'organisme contre les effets nocifs induits par les radiations solaires (**Fahsel, 1994**). Outre leur rôle comme agents protecteurs contre les stress physiques, les métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes de défense.

I-7-3 - Les différentes classes de métabolisme secondaire :

I-7-3-1-Les produits phénoliques :

Les composés phénoliques constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique hydroxylé (**Bruneton, 1999**). Ils résultent bio-génétiquement de deux voies synthétiques principales, la voie de shikimate et d'acétate (**Hopkins, 2003**).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation.), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénolique) (**Macheix et al., 2005**).

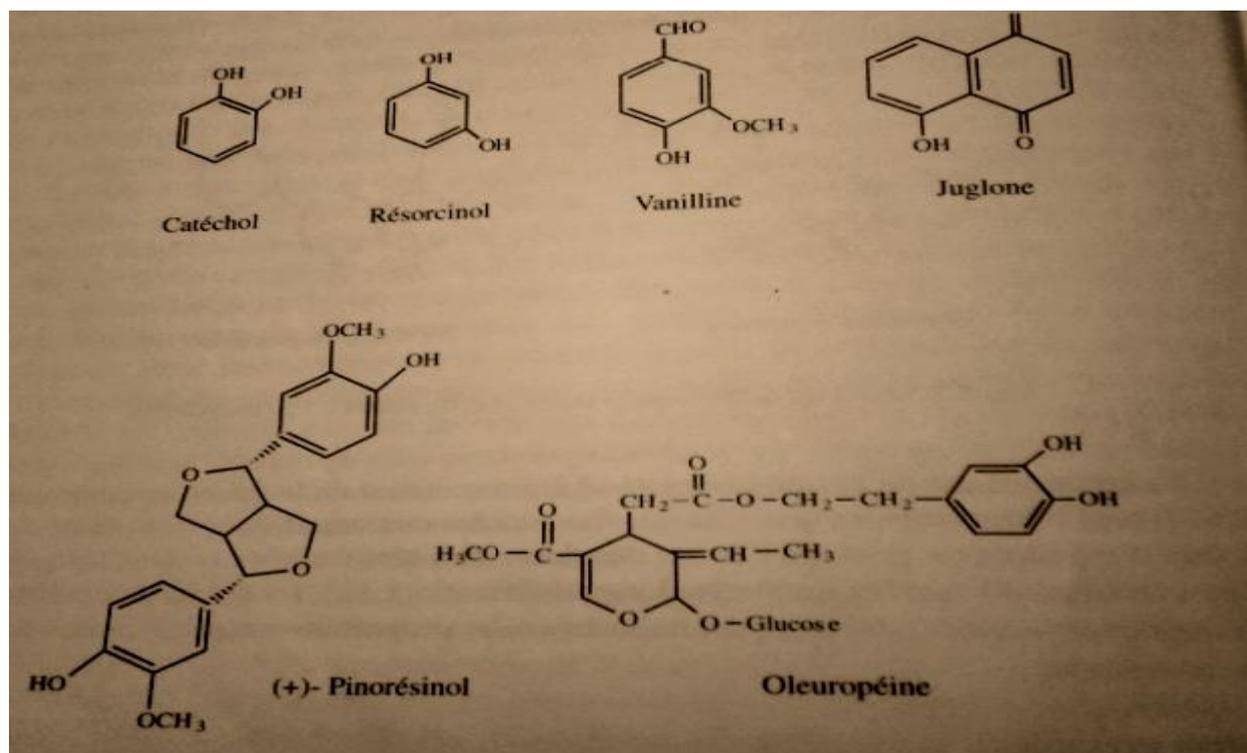


Figure04: Quelques exemples de composés phénoliques particuliers (Macheix et al., 2005).

I-7-3-1-1 Les dérivés phénoliques :

- ✓ **Composés monoaromatiques :** les orcinols et p-orcinols

Les composés monoaromatiques sont des dérivés phénoliques simples issus de la cyclisation des chaînes poly- β -cétoesters. Deux composés aromatiques seraient à l'origine de la variabilité des substances lichéniques, l'orcinol et le β -orcinol (Culberson et Elix, 1989; Fahselt, 1994).

- ✓ **Les depsides**

Sont une classe de molécules probablement issues de la famille des acétogénines, (Culberson et Elix, 1989).

- ✓ **Depsidones**

Les depsidones, telles que les acides protocétrarique et norstictique, sont issues du couplage oxydant intramoléculaire de depsides, sont basées sur un squelette composé de deux noyaux benzéniques (Elix, 1984).

- ✓ **Les dibenzofuranes et l'acide usnique**

Les dibenzofuranes et les acides usniques sont une autre classe d'acétogénine, (Culberson et Elix, 1989).

Les dibenzofuranes sont formées par le couplage oxydatif de deux noyaux benzéniques séparés par un groupement furane. Les acides usniques contiennent un noyau aromatique et un noyau acétophénone (**Bruneton, 1999**).

I-7-3-1-2- Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, ils sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes, provenant du mot latin flavus qui signifie jaune. Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques, reliés par un hétérocycle oxygéné, portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (**Athamena, 2008**).

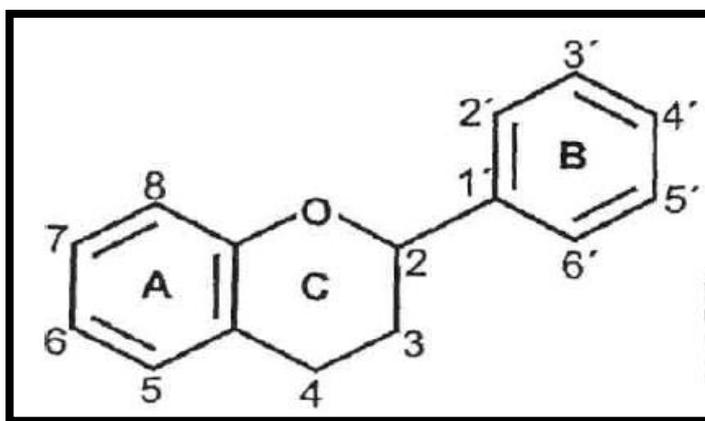


Figure05 : structure de base des flavonoïdes (**Athamena, 2008**).

I-7-3-1-3- Les tanins :

Groupe hétérogène de dérivés phénolique végétaux, leur poids moléculaire varie de 500 à 3000. (**Marouf, 2000**), dans la nature qui ont la capacité de précipiter les protéines, Les tanins peuvent être classés en condensés et hydrolysables (**Redondo et al., 2014**). Différent à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (**Macheix et al., 2005**).

- ✓ **Tannins condensés** : ces composés résultent de la condensation de certaines des formes simples précédemment évoquées. Selon la nature des constituants impliqués et selon le type de condensation (**Macheix et al., 2005**).

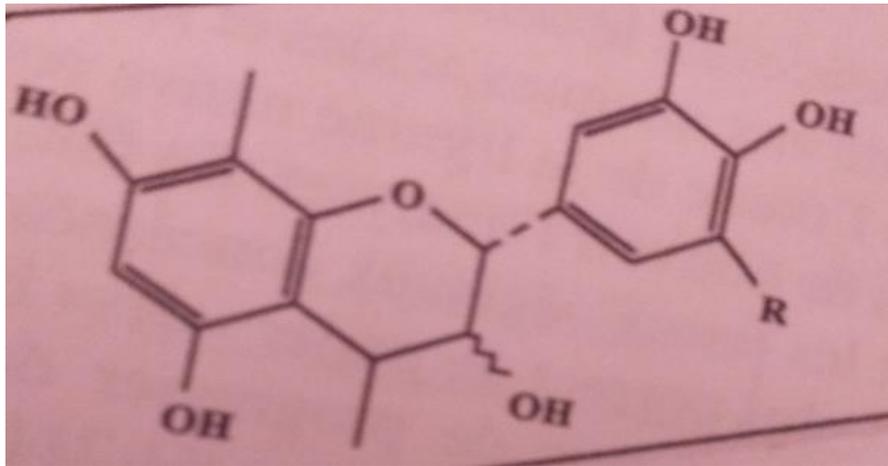
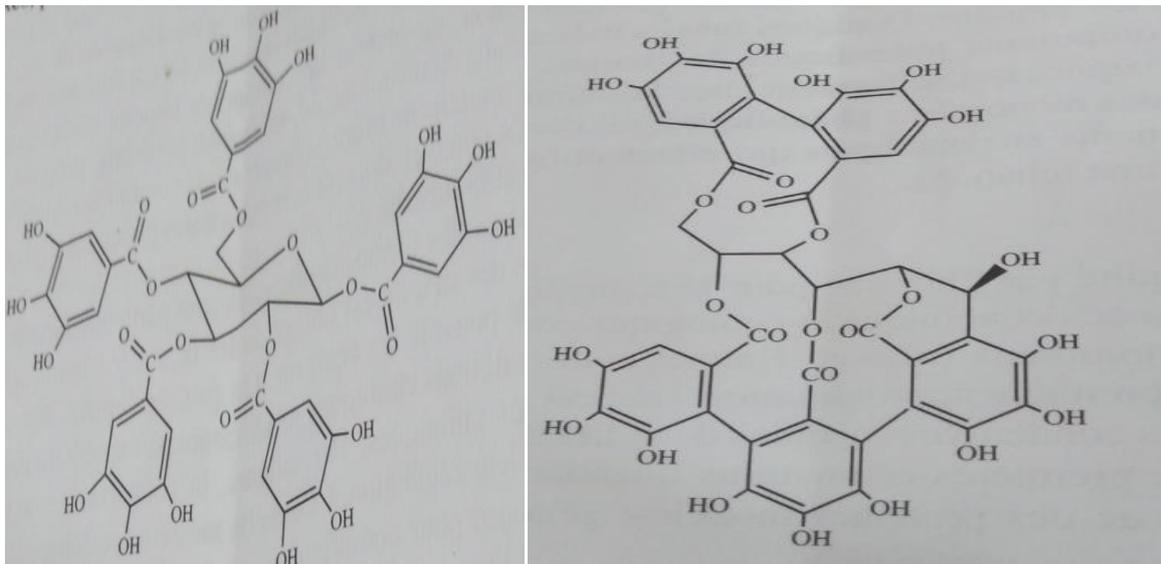


Figure 06: l'exemple de structure de tannin condensé (Prodelphinidine) (Macheix, 2005).

- ✓ **Tannins hydrolysable :** ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être de l'acide gallique (Macheix et al., 2005).



Pentagalloylglucose

Castalagine

Figure07 : Exemples de tannins hydrolysables (Macheix et al., 2005).

I-7-3-2-Les alcaloïdes :

Le nom alcaloïdes regroupe de nombreux composés azotés organiques à caractère basique. Les divers représentants présentent de grandes différences dans leur structure chimique (Nultsch, 1997). Ils dérivent de différents acide aminés ou de l'acide mévalonique en passant par

différentes voies biosynthétiques, ils ont une activité biologique chez les animaux, souvent même à très faibles concentrations, et beaucoup sont couramment utilisés en médecine (par exemple la cocaïne, la morphine, l'atropine, la cochicine) (**Judd, 2002**).

I-7-3-3- Les saponines :

Sont des composés tensio-actifs, qui forment des solutions colloïdales et font apparaître de la mousse comme savons ; ce sont des glycosides terpénique (**Richter, 1993**).

I-7-3-4- Les terpénoïdes :

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale, sont considérés en tant que métabolites secondaires qui jouent des rôles écologiques importants, notamment en contribuant aux phénomènes de communication et de défense (**Malecky, 2005**).

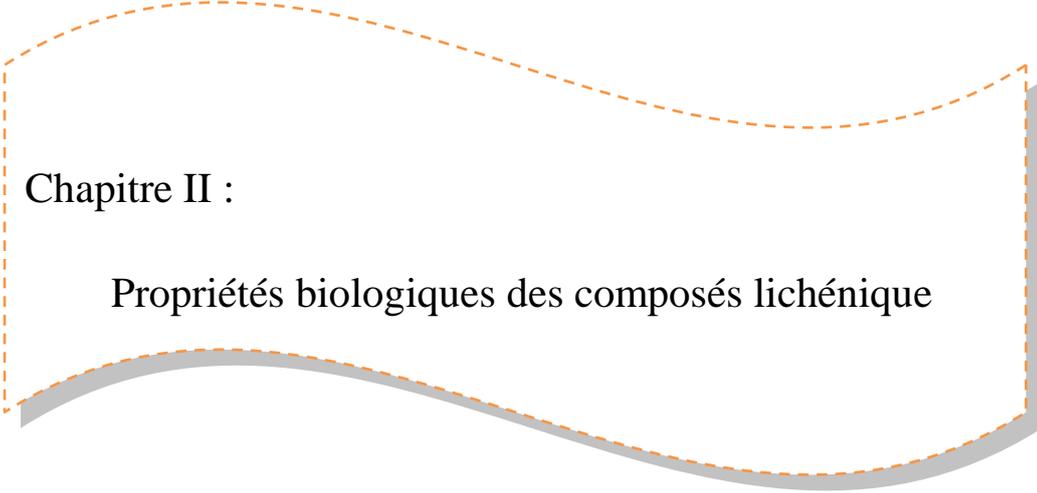
I-7-3-5- Les lignines

Sont les biopolymères les plus abondants après la cellulose et constituent 25% de la biomasse terrestre. Qui sont accumulées dans la paroi végétale (**François et al., 2009**), et sont des hauts polymères organiques de composition très complexe à structure réticulés, ils confèrent à ceux-ci une résistance mécanique mais limitant leur élasticité (**Marouf, 2000**).

I-7-3-6- Les coumarines :

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrène. Ils constituent une classe importante de produits naturels, A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien.

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce (**Richter, 1993**).



Chapitre II :

Propriétés biologiques des composés lichénique

II-Propriétés biologiques des composés lichéniques

A l'heure actuelle, plusieurs travaux montrent le fort potentiel des métabolites Secondaires lichéniques considérés comme composés bioactifs (**Boustie et Grube.,2005 ; Molnár et Farkas., 2010 ; Shukla et al., 2010**).

Le potentiel thérapeutique des lichens est depuis longtemps exploité par la médecine douce(**Huneck.,1999**). Différentes préparations provenant de lichens ont montrées des effets analgésiques (**Huneck, 1999 ., Huneck et Yoshimura., 1996**), antipyrétiques (**Huneck., 1999 ; Huneck et Yoshimura., 1996**) antibactériens (**Rowe et al., 1991**) et antifongiques (**Huneck, 1999**). Plus récemment, les tests de criblage d'activité biologique ont démontré non seulement leur action anti-inflammatoire (**Kumar et Muller., 1999**) mais aussi leur potentiel antibiotique (**Cardarelli et al., 1997**). L'évaluation de l'activité biologique a également révélé des propriétés pesticides (**Dayan et Romagni, 2001**), phytotoxiques (**Rojas et al., 2000 ; Nishitoba et al., 1987**),antitumorales(**Nishikawa et al., 1974 ; Olafsdottir et Ingolfsdottir.,2000 ;Cardarelli et al, 1997 ;Kupchan et kopperman.,1975**), antiprolifératives (**Kumar et Muller .,1999**), antimitotiques (**Cardarelli et al., 1997 ;Al-Bakairi et qureshi.,1995**), antioxydantes(**Kumar et Muller .,1999**)et antivirales (**Yamamoto et al ., 1995**).

II-1- Activité anti-herbivore

Les lichens sont broutés par des herbivores, par exemple des insectes, des acariens, des escargots, des limaces. Cependant, l'herbivorie sur les lichens semble être rare, vraisemblablement en raison de leur faible qualité nutritionnelle, de leurs caractéristiques structurelles spécifiques et de la production de composés de défense (**Molnár et Farkas ., 2010**).

II -2 - Activités allélopathique

Les métabolites secondaires des lichens peuvent fonctionner comme des agents allélopathiques, c'est-à-dire qu'ils peuvent affecter le développement et la croissance des lichens, des champignons, des mousses et des plantes vasculaires avoisinants, ainsi que des micro-organismes. La compétition se produit entre les thalles de lichen pour l'espace et la lumière sur une variété de substrats, et joue un rôle important dans la détermination de la structure des communautés de lichens et de la distribution des espèces individuelles (**Molnár et Farkas .,2010**). Ces auteurs suggèrent que les substances lichéniques pourraient donc être de bons candidats pour de nouveaux pesticides sachant que les produits dérivés de plantes naturelles ont un impact moins néfaste sur l'environnement que les produits chimiques synthétiques.

Des travaux portant sur le potentiel allélopathique du genre *Cladina*, montrent que des fragments de *Cladinastellaris* et de *Cladinarangiferina* dans des semis d'épinette blanche, induisent une diminution de la croissance et de l'accumulation du phosphore (**Molisch .,1937**).

II – 3 -Activités anti-inflammatoire

Les flavonoïdes peuvent inhiber différentes étapes de la réponse inflammatoire, depuis l'accroissement de la perméabilité vasculaire qui existe dans les étapes initiales jusqu'à la formation de tissu de granulation. Ils peuvent inhiber la libération des médiateurs pro-inflammatoires (histamine, dérivé de l'acide arachidonique, les enzymes lysosomales, les basophiles les mastocytes, les neutrophiles), aussi ils provoquent l'inhibition de la peroxydation non enzymatique des acides gras poly insaturés nécessaires pour l'activation de ces oxygénases ce qui provoque un effet anti -

Inflammatoire (**Fleurent et al., 1990**).

II -4activité antimicrobienne

Les plantes médicinales sont utilisées comme source de soulagement contre les maladies depuis plus de cinq millénaires écrits dans des documents de la civilisation ancienne en Chine, en Inde et au Proche-Orient (**Thomson.,1978**). L'augmentation de la résistance des micro-organismes pathogènes humains au cours des dernières années, est due en grande partie à l'utilisation des médicaments antimicrobiens couramment employés dans le traitement des maladies infectieuses. Cela a forcé les scientifiques à chercher de nouvelles substances antimicrobiennes provenant de diverses sources comme les plantes médicinales, De nombreuses plantes ont été utilisées en raison de leurs caractéristiques antimicrobiennes, qui sont dues aux métabolites secondaires synthétisés par les plantes (**Selvamohan et al., 2012**).

Les lichens sont utilisés aussi pour guérir de nombreuses infections (**Shukla et al.,2010**), Les propriétés antibiotiques des extraits de lichen sont connues depuis des décennies. Une Première étude par **Burkholder** est née en 1944, plus tard, **Vartia,(1973)**, ces auteurs ont signalé une activité antimicrobienne de plusieurs espèces de lichens. Selon une large sélection d'activité antimicrobienne des extraits de lichen, il semble que les inhibitions bactériennes peuvent varier selon le lichen et selon les solvants utilisés pour l'extraction et les bactéries testées (**Mitrović et al., 2011**).

L'atranorine, l'acide fumarprotocétrarique, l'acide gyrophorique, l'acide lécanorique, l'acide physodic protocarlarique, l'acide stictique et l'acide usnique ont eu des effets antimicrobiens relativement importants sur six bactéries et dix champignons.

Tous ces résultats suggèrent que les lichens et leurs métabolites produisent de nouvelles substances bioactives significatives pour le traitement de diverses maladies causées par des micro-organismes (Molnár et Farkas., 2010).

II -4-1- Les mécanismes probables d'action antimicrobienne

✓ Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire

Les inhibiteurs de la synthèse de la paroi cellulaire fonctionnent par inhibition de la synthèse du peptidoglycane (couche de la paroi cellulaires bactériennes) et ainsi arriver à la dégradation de la paroi cellulaire. Les produits phénoliques pénètrent dans la cellule bactérienne et inactivent les perméases du périplasme qui sont impliquées dans le transport des aminoacides et des polysaccharides. Ce là entraîne une modification de la perméabilité cellulaire (Leinmuller et al., 1991).

✓ Inhibition de la synthèse des protéines

Les inhibiteurs de la synthèse des protéines agissent sur le ribosome en inhibant la synthèse des protéines du pathogène et la séquence des acides aminés, et par conséquence, le fonctionnement des cellules pathogène est inhibé.

✓ Altération des membranes cellulaires des bactéries

Ce qui conduit à une mort par fuite du contenu cellulaire et perturbation du potentiel membranaire.

✓ Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

Les inhibiteurs des acides nucléiques bactériens agissent sur la production d'acides nucléiques (ADN et ARN).

✓ Activité anti-métabolique

Les anti-métabolites fonctionnent par inhibition compétitive des enzymes et par incorporation erronée dans les acides nucléiques. Dans les deux cas, les cellules deviennent incapables de fonctionner normalement (Kosanic et Rankovic, 2015).

II-5 Activité antioxydante :

Les lichens contiennent une variété de substances secondaires qui sont des composés Anti-oxydants puissants (**Molnár et Farkas, 2010**).

Les antioxydants peuvent interférer avec le processus d'oxydation pour réagir avec des radicaux libres, chélate des métaux catalytiques libres et aussi en agissant comme capteurs d'oxygène, peuvent être utilisés pour préserver la qualité de la nourriture et empêcher la détérioration oxydative des lipides. La propriété anti-oxydante des métabolites secondaires joue un rôle majeur dans le traitement des diverses maladies (**Jayanthi et al., 2012**).

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toutes substances, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat (**Abuja et Albertini, 2001**), ces systèmes peuvent être exogènes ou endogènes et réagissent synergiquement afin de protéger les cellules vis-à-vis des ROS.

II-5-1 -Les antioxydants endogènes :

La production physiologique des ROS est contrôlée au sein des cellules par les systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques.

II-5-1-1-Antioxydant enzymatique :

- **La glutathion peroxydase**

La glutathion peroxydase (GSH-PX) est une enzyme, constituée de quatre sous unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélélocystéine (**Delattre et al., 2005**). Le rôle principal de la GSH-PX consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH) (**Schrader et Fahimi, 2006 ; Valko et al., 2007**).



- **La superoxyde-dismutase**

La superoxyde-dismutase (SOD) représente l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant. Ces métalloprotéines assurent l'élimination de l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (**Garrelet et al., 2007**).



▪ La catalase

La catalase (CAT) est une enzyme répartie dans les tissus (Milane, 2004 ; Borg et reeber, 2008). Elle catalyse le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produit dans les conditions physiologique et sa décomposition selon la réaction suivante (Nancy et al., 2006) :



La catalase est surtout active lorsque le niveau du stress oxydant est élevé ou que la quantité du glutathion peroxydase est limité (Niki et al., 2007).

II- 5- 1-2-Antioxydant non enzymatique :

L'action protectrice non enzymatique est renforcée par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique. Ces composés antioxydant sont produits dans les cellules de l'organisme et parmi lesquels on peut citer la glutathion, qui est l'antioxydant le plus important dans le contrôle du statu redox (Favier, 2003 ; Biswas et al., 2006). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intracellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH) (Halengat et al., 2007). La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupement « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (Tang et al., 2006). On peut citer, également l'acide urique, la mélatonine, la transferrine... (Pham-Huy et al., 2008).

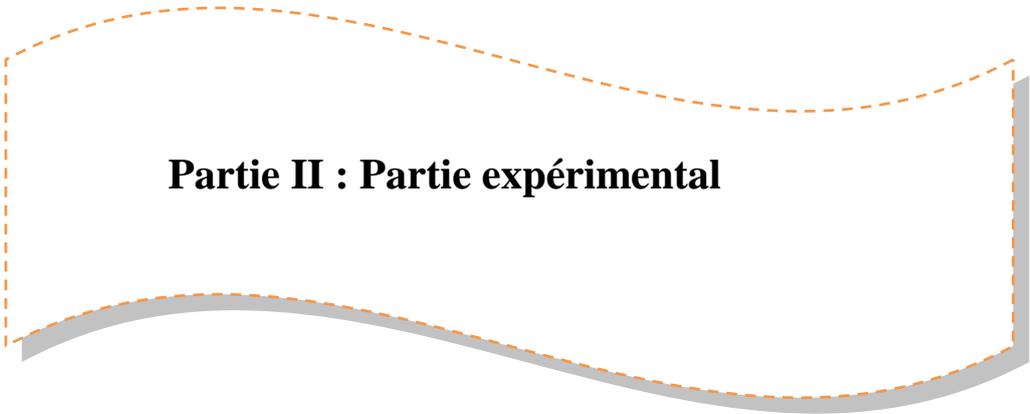
II-5 -2- Les antioxydants exogènes :

En plus des substances propres à l'organisme, l'alimentation et les plantes sont également d'importantes sources d'antioxydants. L'organisme peut tirer profit de nombreux antioxydants exogènes naturels présents dans son alimentation (Pham-Huy et al., 2008 ; Kalam et al., 2012). Bien que non indispensables à la vie, ces substances jouent un rôle majeur dans la lutte contre le stress oxydant. Les important parmi eux sont les vitamines C (L-acide ascorbique) ; les vitamines E (tocophérol), et les caroténoïdes agissent en neutralisant l'électron non apparié et le transformant ainsi en molécules stables (Pincemilet et al., 2002 ; Milane, 2004 ; Servais, 2004 ; Delattre et al., 2005 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006). D'autres composés tels que les alcaloïdes, les polyphénols, les huiles essentielles, les acides gras (oméga-3 et oméga-6) ainsi que des traces des métaux (sélénium, manganèse et le zinc) et les flavonoïdes apportés également par

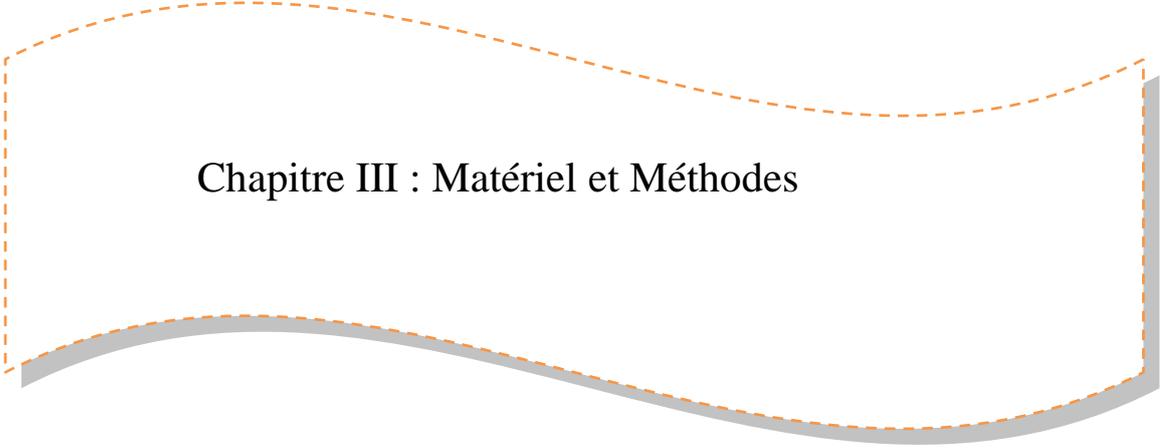
l'alimentation, jouent un rôle similaire de piègeurs de radicaux libres (**Bruneton, 1993 ; Pietta, 2000 ; Cottelle, 2001 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

II-5-3- Les antioxydants synthétiques :

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinoni (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels.



Partie II : Partie expérimental



Chapitre III : Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes :

Ce travail a pour objectif la réalisation d'une étude phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro* des polyphénols des extraits lichéniques de *Cladonia foliacea*, *Cetrelia olivetorum*, *Pseudevernia furfuracea* et *Flavoparmelia caperata* .

Les expériences rapportées dans ce mémoire sont réalisées comme suit :

- Identifications des espèces de lichens récoltées.
- Caractérisation phytochimique.
- Extraction des polyphénols totaux.
- Dosage spectral des polyphénols totaux.
- Evaluation, *in vitro*, de l'activité anti-oxydante des extraits méthanolique, acétonique et aqueux des lichens.

I. Préparation du matériel végétal :

I-1 Le choix des espèces :

Le matériel végétal utilisée dans cette étude est représenté par quatre espèces de lichens qui sont : *Cladonia foliacea*, *Cetrelia olivetorum*, *Pseudevernia furfuracea* et *Favoparmelia caperata*. Les échantillons ont été récoltés à divers endroits de la wilaya de Jijel à partir de troncs d'arbres de chêne et d'olivier, les récoltes ont été réalisées au mois de mars.

L'identification des espèces est d'abord effectuée par observation des caractéristiques morphologiques générales, telles que la forme, la couleur, la hauteur, l'orientation des extrémités et le type de ramification. Une observation sous la loupe permet de constater la présence ou l'absence du cortex apical et des structures apothéciaires.

L'identification est par la suite confirmée par les réactions colorimétriques, qui donnent selon l'espèce des réactions différentes. Les réactifs sont appliqués directement sur les différentes parties du lichen, le thalle et les apothécies si elles existent. Pour ce faire, les réactifs utilisés sont l'Hypochlorite de sodium (noté C), La potasse ou hydroxyde de potassium (noté K), et la combinaison des deux (C+K), où K est appliqué en premier. Après l'ajout de quelques gouttes, une coloration est obtenue rapidement (**Friardi ., 2012**).

La flore utilisée pour l'identification est celle de (Brodo, 2001).

I-2 Technique de séchage et broyage

Les lichens récoltés, sont lavés puis séchés à l'aire libre pendant quelques jours. Ils sont ensuite broyés par un broyeur électrique en poudre fine.

I-3 Préparation des extraits de lichen

8g de la poudre de chaque lichens sont macérés à température ambiante pendant 15min avec 100ml pour chaque solvants ; méthanol, acétone et l'eau chaude à 60°C.

Pour chaque poudre des lichens l'extraction a été répétée 3 ou 4 fois avec renouvellement du solvant afin d'extraire un maximum des composés phénolique jusqu'à épuisement c.-à-d. l'obtention d'un extrait incolore, les filtrats des extractions de différents extraits (aqueux, acétonique et méthanolique) ont été rassemblés puis concentrés en flacon.

Les extraits sont ensuite évaporés à température ambiante. Les extraits secs ont été conservés au froid.

L'organigramme suivant montre les différentes étapes du processus d'extraction.

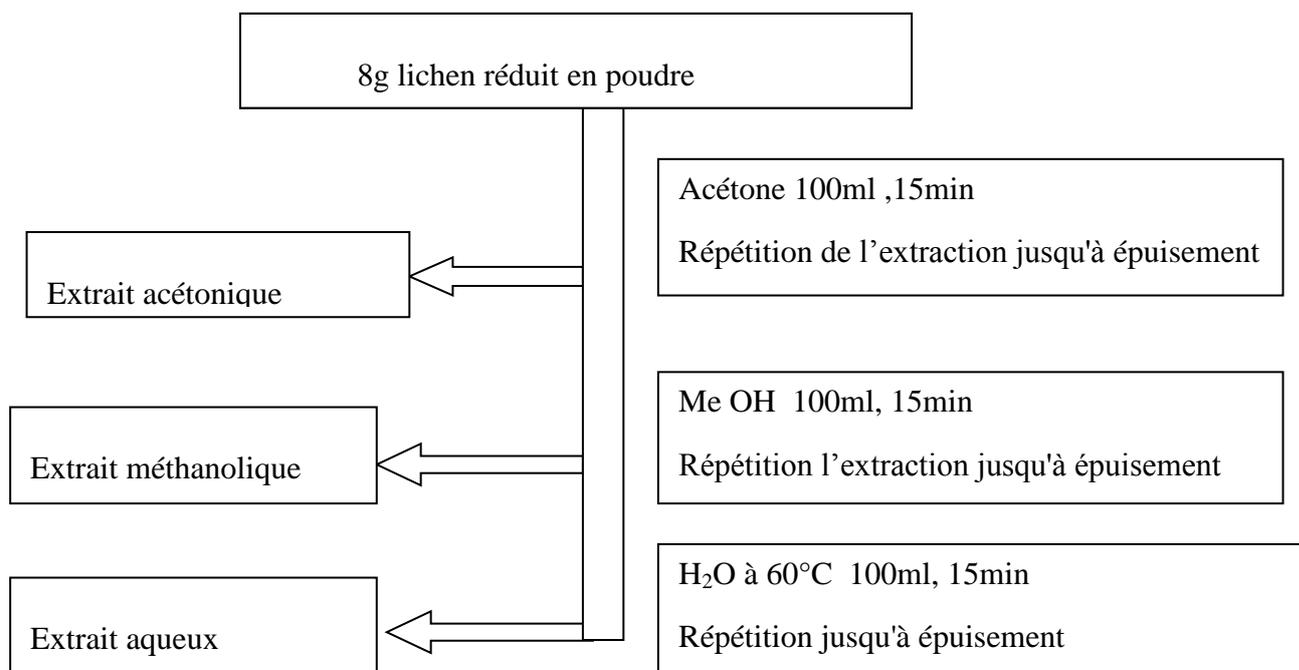


Figure08: les étapes de l'extraction par différents solvants.

I-4 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été calculé par la formule suivante ;

$$R(\%) = [(P1-P0) / P] \times 100$$

Où :

P1= Le poids de boîte pétri après séchage (g).

P0 = poids de boîte pétri vide(g).

P = poids de la matière végétale sèche(g).

II – Etude phytochimique:

II- 1 screening chimique

❖ Test pour les tannins

La détection des tannins est mise en évidence en ajoutant 2ml d'extrait brut, quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl₃) diluée à 5%. L'apparition d'une coloration bleue indique la présence des tanins.

❖ Test des saponines

Dans un tube à essai en ajoute 2ml d'extrait brut, 5ml d'eau distillée est additionnée et on mélange à l'aide d'un vortex ce qui induit l'apparition d'une mousse.

La stabilité de la mousse pendant quelque minute indique la présence des saponines.

❖ Test pour glycosides ; Test killer-kilani

Ce test consiste à traiter 2ml d'extrait brut mélangé avec 2ml d'acide acétique qui contient 1-2 gouttes de la solution FeCl₃ diluée à 2% , puis transférer dans un autre tube qui contient 2ml H₂SO₄ concentré . L'apparition de la coloration brune indique la présence des glycosides dans l'extrait.

❖ Test des flavonoïdes

La présence des flavonoïdes est détectée en ajoutant 2ml d'extrait brut et 2ml NaOH diluée à 10%. La formation de la couleur jaune ou orange indique la présence des flavonoïdes.

❖ Test des protéines : Xanthoproteic test

Un volume de 2ml d'extrait brut et 2ml de HNO_3 , sont bouillis au bain marie. L'apparition de coloration orange indique la présence des protéines.

❖ Test des triterpénoïdes: Salkowski test

2ml d'extrait brut mélangé avec 1ml de chloroforme puis l'ajout de quelques gouttes de H_2SO_4 . L'apparition de coloration orange-Brune indique la présence des triterpénoïdes.

II-2 Analyse quantitative**❖ Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé selon le protocole décrit par **Fernandez et al., 2016**. Avec le réactif de folin- ciocalteu

➤ Principe

Le principe de dosage des polyphénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdique et phosphotungstique (réactif de folin- ciocalteu). Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de Na_2CO_3 .

Mode opératoire

Un volume de 0,5ml de chaque extrait à [1mg/ml] des lichens et mélanger avec 0,5ml de folin-ciocalteu diluée 10fois, 10ml de Na_2CO_3 à concentration 75g/l est additionnées et l'ajout de 14ml de l'eau distillée, en suite l'incubation à l'obscurité pendant 1Heure, L'absorbance est mesuré à 760nm.

Toutes les mesures sont répétées trois fois.

Le taux des phénols dans nos extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique à différentes concentration comme standard de références dans les mêmes conditions que l'échantillon (Figure 1 en annexe). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait brut.

❖ Dosage des polyphénols polaires

La méthode utilisée est celle rapportée par **Owen et Johns (1999)**.

Un volume de 3ml de chaque extrait à 0,2mg/ml est soumis à une centrifugation à 3500 tours /min pendant 15 min, après incubation pendant 24h à l'obscurité. Le surnageant est récupéré, ensuite après 5min, 1,5ml de Na₂CO₃ (7,5%) sont ajoutés le mélange est soumis à une centrifugation à 600 tours/ min, le surnageant fait l'objet d'une lecture à 750nm

La concentration en polyphénols polaire a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 2 en annexe).

❖ Détermination des polyphénols apolaires

La quantité de polyphénols apolaires contenus dans les extraits de lichens est obtenue par soustraction du taux de polyphénols polaires de celui des polyphénols totaux selon **Owen et Johns (1999)**.

$$T_{ap} = T_t - T_p$$

Où :

T_{ap} : taux de polyphénols apolaires.

T_t : taux de polyphénols totaux.

T_p : taux de polyphénols polaires.

❖ Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode au chlorure d'aluminium a été employée pour la détermination de la teneur des extraits en flavonoïdes

➤ Principe

Les méthodes qui ont été rapportées pour la détermination des flavonoïdes sont basées sur la formation du complexe de chlorure d'aluminium, qui est l'une des procédures analytiques les plus couramment utilisées pour la détermination de la teneur en flavonoïdes dans diverses plantes.

En générale, le chlorure d'aluminium forme des complexes stables à l'acide avec le groupe C-4 carboxyle et soit le groupe hydroxyle C-3 des flavones et flavonols. De plus, le chlorure d'aluminium forme des complexes labiles avec les groupes ortho-dihydroxyle dans le cycle A ou B des flavonoïdes. Les méthodes analytiques ont été utilisées soit pour déterminer les flavonoïdes glycosylés ou non glycosylés (**Humadi et Istudor., 2008**).

➤ **Mode opératoire**

Les flavonoïdes sont déterminés par la méthode de chlorure d'aluminium décrite par **Maksimović et al. (2004)**.

La quantification des flavonoïdes est réalisée on ajoutant 2ml de l'extrait à 0,1mg/ml et mélangé avec 1ml de réactif de chlorure d'aluminium.

Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 10min, l'absorbance est mesuré à 430nm

Dans les mêmes conditions la quercétine est préparée à différentes concentrations (0,01 à 0,1mg/ml) utilisé pour la quantification des flavonoïdes (Figure 3 en annexe).

La teneur en flavonoïdes a été exprimée en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait brut.

❖ **Dosage des tannins**

➤ **Mode opératoire**

1ml de chaque extrait à 1 mg/ml et 2 ml de la solution de BSA (1 mg/ml) préparés dans le tampon acétate (PH=4, M=0,2) ont été mélangés, Après 24h d'incubation à l'obscurité à 4°C le mélange est centrifugé à 5000 tours pendant 20min. Le surnageant est jeté par contre le précipité est dissout dans 4ml de SDS /TEA, ensuite 1ml de FeCl₃ (0,001M préparé dans l'HCL (0,01N)) est ajouté, après incubation pendant 15 min à température ambiante, la lecture de l'absorbance est effectuée à 510 nm.

Les concentrations des tannins est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenus avec l'acide tannique exprimés en mg équivalent d'acide tannique par g d'extrait brut (mg Eq AT/ g EB) (Figure 4 en annexe).

❖ **Dosage des tannins condensés**

Les tannins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline.

➤ **Principe**

Les tannins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide, cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tannins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré (**Ba et al., 2010**).

➤ **Mode opératoire**

50µl de chaque extraits est ajouté à 1500µl de la solution vanilline / méthanol (4% m/v) est mélangé à l'aide d'un vortex, ensuite 750µl de l'HCL concentré ont été ajoutés et laissé réagir à la température ambiante pendant 20min. L'absorbance à 550nm est mesurée contre un blanc.

La concentration des tannins condensés est estimée en mg équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait brut (mg Eq AT /g EB) à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 5 en annexe).

III- Evaluation de l'activité antioxydante

Les méthodes évaluant l'activité antioxydante ont connu un intérêt important vu la recherche des substances antioxydantes naturelles. Les activités étudiées dans le présent travail sont la capacité antioxydante totale, le pouvoir réducteur et le pouvoir anti-radicalaire de DPPH.

III- 1- La capacité antioxydante totale(C. A. T)

➤ **Principe**

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de (Prieto et al., 1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate à molybdène Mo (V) MoO₂ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo (V) à PH acide.

➤ **Mode opératoire**

Dans un tube à vis un volume de 0,3ml de chaque extrait, préparé à une concentration de 1 mg/ml, est mélangé avec 3ml de solution du réactif (0,6M acide sulfurique, 28mM phosphate de sodium et 4mM molybdate d'ammonium).

Ensuite, les tubes sont vissés à demi et incubés dans un bain marie à 95°C pendant 90min. après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm contre le blanc qui contient 3 ml du réactif et 0,3ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

L'étalonnage consiste à préparer une gamme de concentration croissante d'acide ascorbique (1- 2- 4- 6- 8- 16µg/ml), dans les mêmes conditions que l'échantillon.

La capacité antioxydante totale est exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait brut (mg EqAA/g EB) (Figure 6 en annexe).

III -2 Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est déterminé par la méthode du fer FRAP. Cette dernière est un essai simple et rapide et reproductible (**Bougandoura et bendimerad., 2012**).

➤ Principe

Le test du pouvoir réducteur dans les extraits provoque la réduction de Fe⁺³ /complexe ferricyanure à la forme ferreux. Par conséquent, Fe⁺² peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm (**Bougandoura et bendimerad., 2012**).

➤ Mode opératoire

Un volume de 1ml de tampon phosphate (0,2M, PH= 6,6) est ajouté à 1ml d'extrait de différentes concentrations (0,01- 0,02- 0,04 - 0,06 - 0,08- 0,1 - 0,5 et 1 mg/ml), suivi de 1ml de ferricyanure de potassium (1%), après agitation le mélange est incubé à 50°C pendant 20min. Un volume de 1ml trichloracétique à 10% est additionné au mélange avant d'être centrifugé à 3000 tours/min pendant 10min. A partir de ces tubes 1,5ml sont prélevés, puis additionnés de 1,5ml d'eau distillée et de 150µl de chlorure ferrique (0,1%), après incubation de 10 min à température ambiante et à l'obscurité l'absorbance est mesurée à 700nm.

➤ Expression des résultats

L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

III-3 Effet scavenger du radical DPPH°

➤ Principe

Le DPPH° (2,2-Diphenyl-1- picrylhydrazyle) est pratiquement, le radical libre le plus stable.

En solution (le méthanol) le DPPH° est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515 à 517nm

En présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH° est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pale (forme d'hydrazine). Ce passage de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance (DO) qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction de DPPH°.

Conventionnellement une grande capacité de piégeage (réduction) des radicaux libres est considérée comme une grande activité antioxydante (**Lee et al ., 2004**).

➤ **Mode opératoire**

100µl de chaque extrait de différents concentration (0,02- 0,05- 0,1- 0,2- 0,5- 1- 2,4) mg/ml ont été mélangés avec 2,9ml de DPPH° (0,025g/L), après 30min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurés à 517 nm.

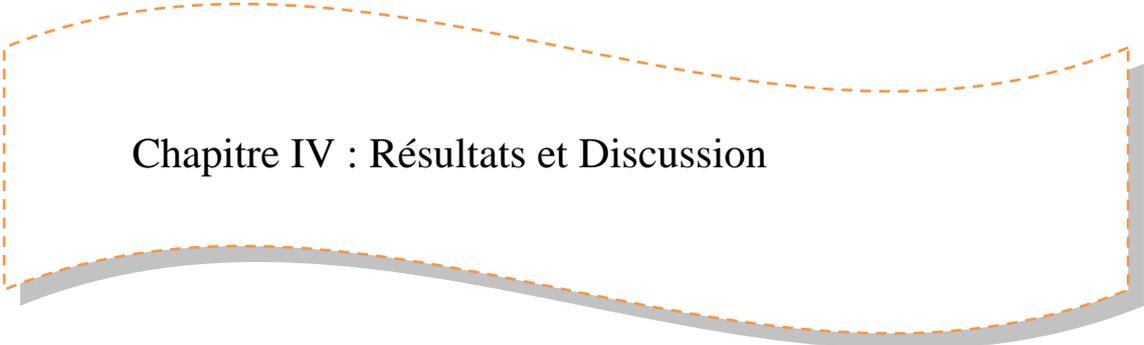
Le pourcentage de réduction du radical DPPH° est donné par l'équation suivante :

Pourcentage de réduction du DPPH= $[(At - Ae)/At.] \times 100$

Sachant que ;

At : Absorbance du témoin.

Ae : Absorbance de l'échantillon.



Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV-1- Résultats

1- Rendement d'extraction

L'extraction des différents composés phénoliques des lichens étudiés nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait brut (acétonique, méthanolique et aqueux). Le rendement a été déterminé par rapport à 8g de matériel végétal sec.

Les résultats de rendement d'extraction sont représentés dans le tableau 01 et graphiquement dans la figure 09.

Tableau01 : Rendement d'extraction des différents extraits de lichens.

	Extrait acétonique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
<i>Cladonia foliacea</i>	16,62 %	6,38 %	9,88 %
<i>Cetrelia olivetorum</i>	10,75 %	6,25 %	6,75 %
<i>Pseudevernia furfuracea</i>	6,25 %	3,63 %	4,87 %
<i>Flavoparmelia caperata</i>	4,5 %	10,25 %	5,75 %

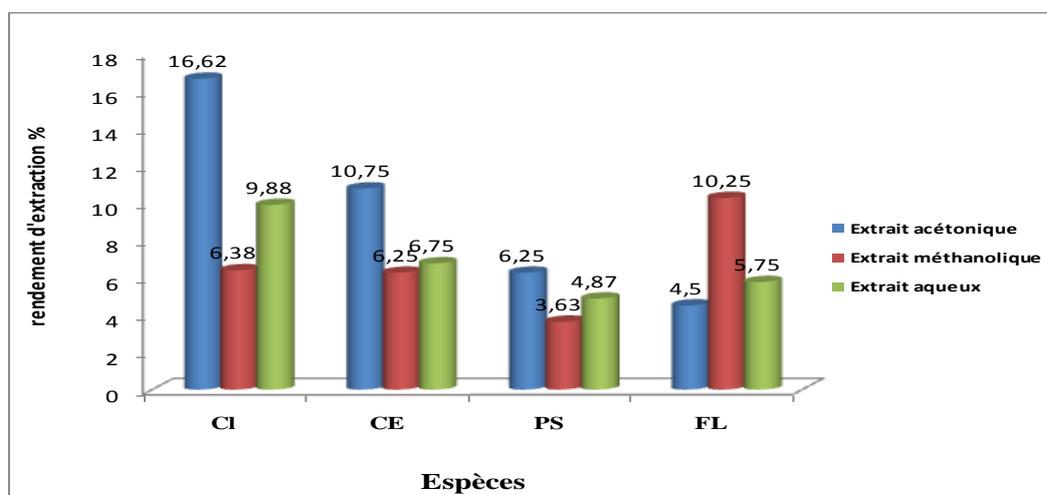


Figure 09: Rendement d'extraction des différents extraits de lichens.

Le choix d'effectuer sur les lichens une extraction classique par l'acétone, le méthanol et l'eau, à température ambiante a pour but de préserver l'intégrité des molécules et d'en éviter la dégradation (**Amandine., 2015**). L'intérêt de ce choix réside dans le fait qu'un solvant dissout bien plus facilement un composé qui renferme des groupements fonctionnels identiques ou analogues. L'utilisation de solvants à polarité différentes permet de séparer les composés selon leur degré de solubilité. On peut conclure que les quatre lichens possèdent des composés de polarités variables. Ceci est particulièrement notable pour *Cladonia foliacea* (16,62 %) qui présente le rendement le plus élevé de son extrait acétonique suivi de *Cetrelia olivetorum* (10,75 %), de *Pseudevernia furfuracea* (6,25 %) et en dernier *Flavoparmelia caperata* (4,5 %). Cela montre la présence de composés polaires à apolaires. Tandis que l'extrait aqueux contient principalement des composés très polaires, on classe donc les lichens pour cet extrait selon leurs rendements décroissants de la manière suivante : *Cladonia foliacea* (9,88 %), *Cetrelia olivetorum* (6,75 %), *Flavoparmelia caperata* (5,75 %) et *Pseudevernia furfuracea* (4,87 %). Le méthanol permet d'entraîner des molécules polaires, ainsi *Flavoparmelia caperata* (10,25 %) présente le rendement le plus élevé qui est trois fois supérieur à celui de *Pseudevernia furfuracea* (3,63 %).

Selon une étude menée par (**Amandine., 2015**) sur l'espèce *Flavoparmelia caperata* les rendements d'extraction pour les extraits méthanolique, acétonique et aqueux sont respectivement : (13.3%), (5.3%), et (6%) qui sont proches de nos résultats.

Dans la même étude l'espèce de *Cladonia portentosa* représente les rendements d'extraction pour l'extrait méthanolique, acétonique et aqueux suivants : (2%), (1.8%) et (3.2%) ; Ces rendements restent toujours inférieurs à ceux obtenus dans notre étude pour l'espèce *Cladonia foliacea*. Cela peut être dû à différents facteurs comme : l'âge du lichen ; la saison de récolte ; les conditions climatiques et les différents méthodes d'extractions. **Perez., 2008** confirme que le rendement en composés phénoliques est en fonction de plusieurs paramètres : la nature du solvant, sa polarité, le PH du milieu, la température et le temps d'extraction.

Aussi on remarque que nos résultats actuels sont plus ou moins proches de ceux obtenus par (**Odabasogluet al., 2005**) réalisés sur l'extrait méthanolique de *Pseudevernia furfuracea* dont le rendement est de l'ordre de : 4% par contre son rendement réalisé sur l'extrait aqueux est nettement supérieur à notre rendement , il est respectivement 16%.

D'après nos résultats, le critère de rendement en extrait brut n'est pas suffisant pour préconiser la richesse d'un extrait en composés phénoliques, mais on peut déduire que, l'extraction par l'acétone permet d'obtenir un extrait global, renfermant des composés de polarité très différente (polaire à apolaire).

2 Etude phytochimique

2- 1 screening phytochimique :

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des lichens. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultra violette. L'évaluation de la composition phytochimiques des extraits des lichens sélectionnés pour cette étude a permis de mettre en évidence la présence de quelque constituants chimiques tels que : tannins, flavonoïdes, saponines etc. Les résultats sont inscrits dans les tableaux 02 et 03 et dans les figures10, 11, 12 et 13

Tableau02: Tests phytochimiques chez *Cladonia foliacea* et *Cetrelia olivetorum*

TEST	Espèces de lichens étudiées					
	<i>Cladonia foliacea</i>			<i>Cetrelia olivetorum</i>		
	E acétonique	E aqueux	E méthanolique	E acétonique	E aqueux	E méthanolique
Tannins	-	+	+	++	++	+++
Flavonoïde	+++	++	ND	+++	+++	+++
Saponines	+	+	ND	-	-	+
Glycosides	+++	+	ND	+	+++	+
Protéines	-	+++	ND	+	++	++
Triterpénoïde	+++	-	ND	+++	++	+++

+++ : Fortement positive ; ++ : Moyennement positive ; + : faiblement positive ; - : négative, ND : non déterminé

Tableau 03 : Tests phytochimique chez *Pseudevernia furfuracea* et *Flavopermelia caperata*

TEST	Especes des lichens étudiés					
	<i>Pseudevernia furfuracea</i>			<i>Flavopermelia caperata</i>		
	E acétonique	E aqueux	E méthanolique	E acétonique	E aqueux	E méthanolique
Tannins	++	-	ND	ND	+	++
Flavonoïde	+++	+	ND	ND	+++	+
Saponines	+	+++	ND	ND	++	+
Glycosides	+++	+	ND	ND	++	+++
Protéines	+	-	ND	ND	+	+
Triterpénoïde	+++	-	ND	ND	+	-

+++ : Fortement positive ; ++ : Moyennement positive ; + : faiblement positive ; - : négative, ND : non déterminé

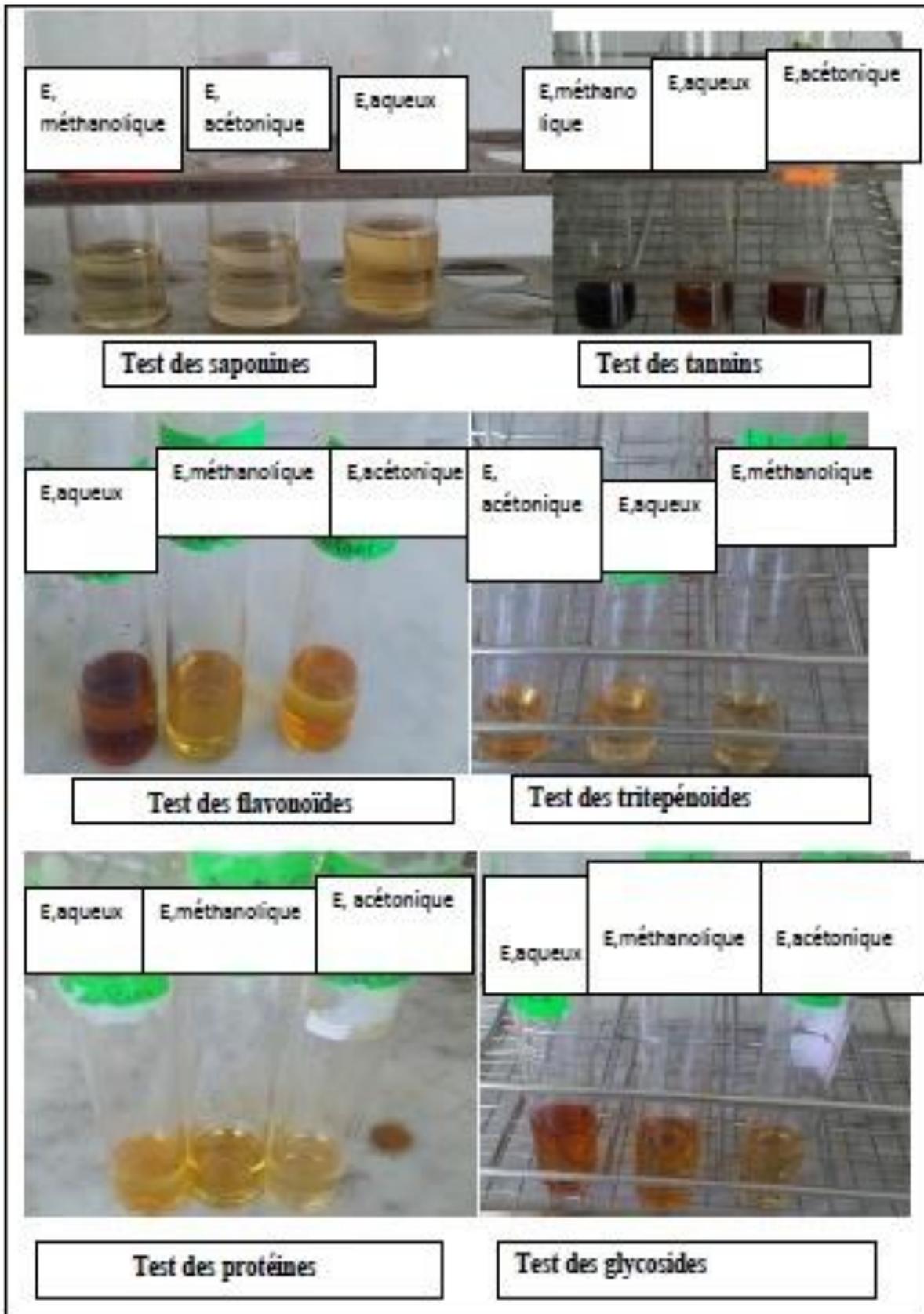


Figure10: tests phytochimiques chez *Cetrelia olivetorum*

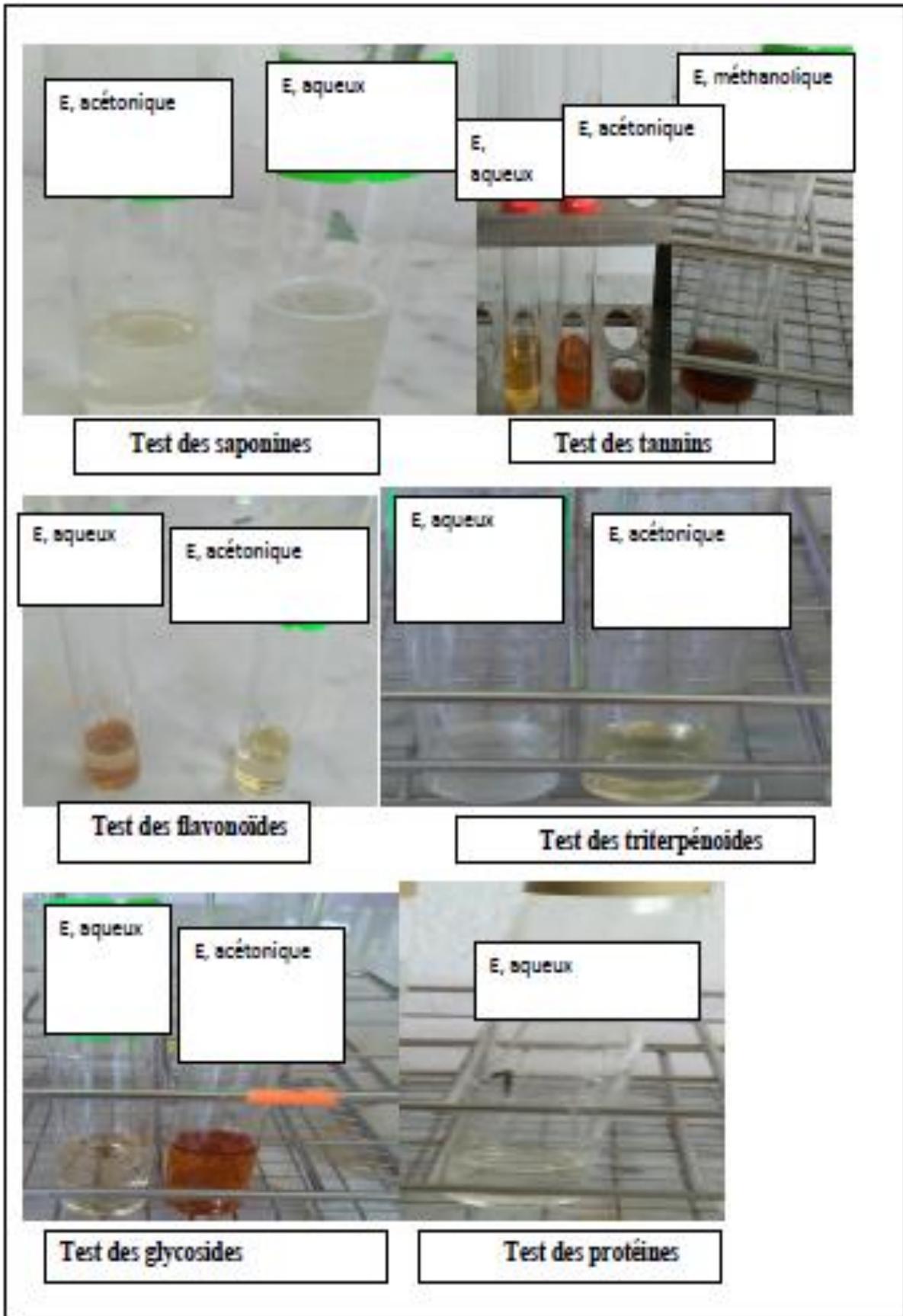


Figure 11 : Tests phytochimiques chez *Cladonia foliacea*

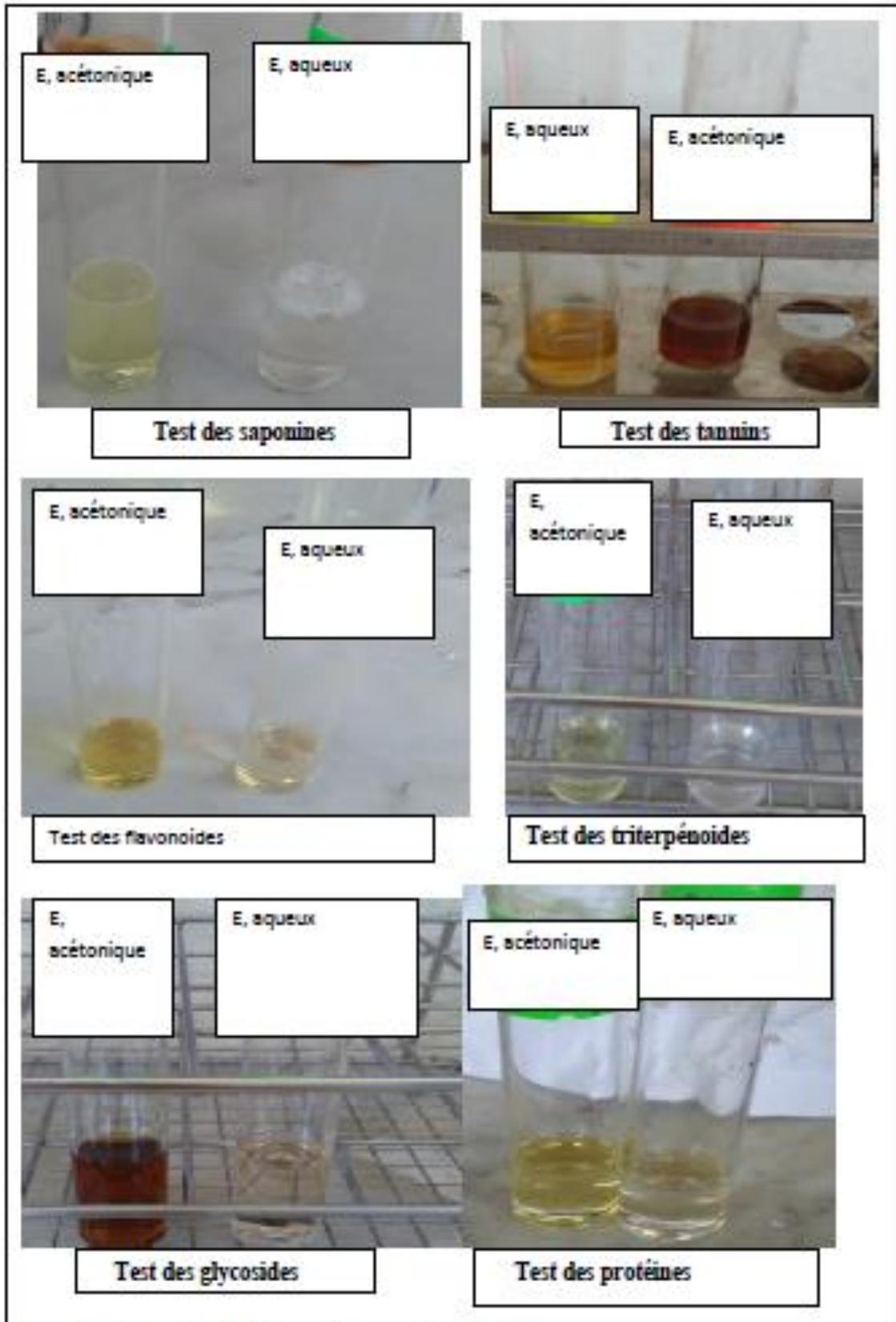


Figure 12 : Tests phytochimiques chez *Pseudeveria furfuracea*



Figure 13 : tests phytochimiques chez *Flavopermelia caperata*.

- **Test pour les tannins :**

La présence des tannins dans les extraits des lichens est révélée avec une intensité différente. La présence dans l'extrait méthanolique de *Cetrelia olivetorum* en quantité importantes (+++) et moyennement positive dans l'extrait aqueux et acétonique de *Cetrelia olivetorum* et dans l'extrait méthanolique de *Flavopermelia caperata*, et faiblement positive dans l'extrait aqueux de *Cladonia foliacea* et aqueux de *Cetrelia olivetorum* par contre dans l'extraits acétonique de *Cladonia foliacea* et aqueux de *Pseudevernia furfuracea* le résultat est négative.

Des résultats réalisés par **Roshimi et Rajkumer, 2014** sur l'espèce de *Favopermelia caperata* confirme la présence des tannins dans l'extrait méthanolique.

- **Test des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont présents dans tous les extraits des lichens avec une intensité différente.

Dans l'extrait acétonique la présence est fortement positive dans toutes les espèces. Et dans l'extrait aqueux est moyennement positive dans *Cladonia foliacea*, et fortement positive dans *Cetrelia olivetorum* et *Flavopermelia caperata*, et faiblement positive dans *Pseudevernia furfuracea*. Dans l'extrait méthanolique la présence est fortement positive dans *Cetrelia olivetorum* et faiblement positive dans *Flavopermelia caperata*.

Des résultats similaires ont été enregistrés par le travail réalisé par **Roshimi et Rajkumer, 2014** sur *Flavopermelia caperata* qui confirme la présence des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique.

- **Test de saponines :**

La présence des saponines dans les extraits est indiqué par la formation des mousses. D'après les résultats obtenues dans les tableaux 02 et 03 la formation des mousses est fortement positive dans l'extrait aqueux de *Pseudevernia furfuracea* et moyennement dans le même extrait de *Flavopermelia caperata* et *Cladonia foliacea* et faiblement positive dans l'extrait méthanolique de *Flavopermelia caperata* et *Cetrelia olivetorum*, et acétonique de *Cladonia foliacea* et *Pseudevernia furfuracea* et totalement absent dans l'extrait acétonique et aqueux de *Cetrelia olivetorum*.

La comparaison de ces résultats avec les résultats obtenue par **Roshimi et Rajkumer, 2014** dans l'extrait méthanolique de *Flavopermelia caperata* est différente

Selon **Roshimi et Rajkumer, 2014** l'extrait méthanolique de *Flavopermelia caperata* contient des saponines.

- **Test des glycosides :**

Les glycosides sont présents dans tous les extraits des lichens étudiés. La présence est fortement positive dans l'extrait acétonique de *Cladonia foliacea* et *Pseudevernia furfuracea* et dans l'extrait méthanolique de *Favopermelia caperata* et dans l'extrait aqueux de *Cetrelia olivetorum*, et moyennement positive dans l'extrait méthanolique de *Cetrelia olivetorum* et dans l'extrait aqueux de *Flavopermelia caperata*.

Les résultats enregistrés dans l'extrait acétonique de *Cetrelia olivetorum*, dans l'extrait aqueux de *Cladonia foliacea* et *Pseudevernia furfuracea* sont faiblement positive. Ces résultats sont différents des résultats réalisés par **Roshimi et Rajkumer, 2014** sur l'extrait méthanolique de *Favopermelia caperata*.

- **Test des protéines :**

La présence des protéines est fortement positive dans l'extrait aqueux de *Cladonia foliacea*, et moyennement positive dans l'extrait aqueux et méthanolique de *Cetrelia olivetorum*, elle est aussi faiblement positive dans l'extrait acétonique de *Cetrelia olivetorum* et *Pseudevernia furfuracea* et dans l'extrait aqueux et méthanolique de *Favopermelia caperata*. Des résultats similaires ont été obtenus par d'autres chercheurs qui ont travaillé sur l'extrait méthanolique de *Flavopermelia caperata* ou il constate la présence des protéines (**Roshimi et Rajkumer, 2014**).

Le résultat est négative dans l'extrait acétonique de *Cladonia foliacea* et aqueux de *Pseudevernia furfuracea*.

- **Test des triterpénoïdes :**

L'intensité des triterpénoïdes est différente selon les extraits et les espèces des lichens. La présence est révélée fortement positive dans l'extrait acétonique de *Cladonia foliacea*, *Cetrelia olivetorum* et *Pseudevernia furfuracea* et dans l'extrait méthanolique de *Cetrelia olivetorum*, et moyennement positive dans l'extrait aqueux de *Cetrelia olivetorum*. La présence des triterpénoïdes est faiblement positive dans l'extrait aqueux de *Flavopermelia caperata*, et négative dans l'extrait aqueux de *Cladonia foliacea* et *Pseudevernia furfuracea* et dans l'extrait méthanolique de *Flavopermelia caperata*.

Toujours d'après les résultats obtenus par le travail de **Roshimi et Rajkumer, 2014**. Ces résultats confirment les résultats obtenus dans notre travail pour l'extrait méthanolique de *Flavoparmelia caperata*.

2 -2 Analyse quantitative :

❖ Dosage des polyphénols totaux

La quantification des phénols totaux dans les trois extraits des espèces étudiées a été faite en utilisant la méthode colorimétrique de folin-ciocalteu. Les teneurs sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut, illustré dans le tableau 04 et graphiquement dans la figure14.

Tableau04 : Teneurs en phénols totaux.

Extrait	<i>Espèces</i>			
	<i>Cladonia foliacea</i>	<i>Cetrelia olivetorum</i>	<i>Pseudevernea Furfuracea</i>	<i>Flavoparmelia Caperata</i>
	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)
Acétonique	87,24± 4,989	119,341± 0,712	229,218± 34,838	97,530± 21,418
Aqueux	35,802± 1,234	45,679± 1,234	95,061± 18,436	52,674± 2,851
Méthanolique	64,197± 13,912	65,432± 2,469	152,674± 41,341	105,349± 14,624

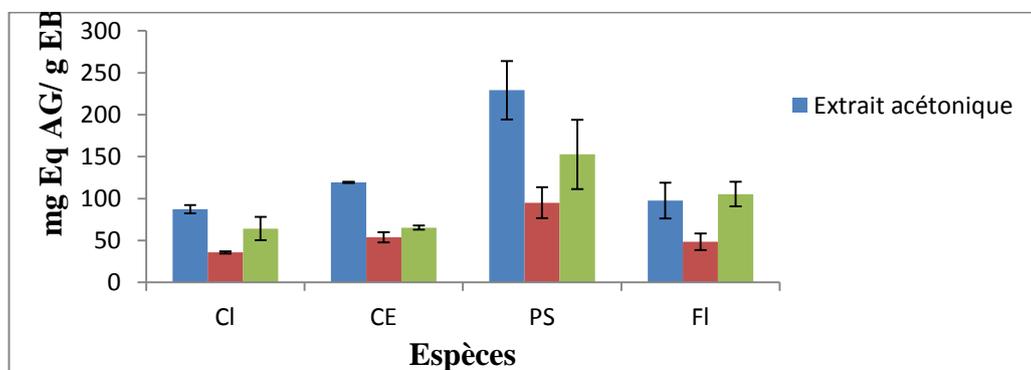


Figure 14 : Teneur en polyphénols totaux dans les extraits (acétonique, aqueux et méthanolique) des espèces de lichens étudiées.

D'après la figure 14 nous avons constaté une augmentation importante de la teneur en polyphénols dans le solvant acétonique (notamment chez *Pseudevernea furfuracea* (**229,218 ± 34,838**)) par rapport aux extraits méthanolique et aqueux.

Nos résultats ont été confirmés par une étude réalisée sur des espèces lichéniques par (**Odabasogluet al., 2005**) qui représente une forte teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique de *Pseudevernia furfuracea* qui est de l'ordre de (**77.1 ± 4.219**).

Notre résultat a été confirmé par une étude menée par (**Amandine, 2015**) qui montre que les teneurs d'extraction acétonique les plus élevées sont observées dans le cas de *Flavoparmelia Caperata*.

L'extraction par l'eau représente la plus faible teneur en polyphénols dans l'espèce de *Cladonia foliacea*.

Les résultats illustrés ont montré que, les teneurs en polyphénols totaux les plus importants ont été enregistrés par les extraits obtenus à partir de l'acétone et le méthanol, tandis que l'extraction par l'eau représente la plus faible teneur en polyphénols.

❖ Dosage des polyphénols polaire.

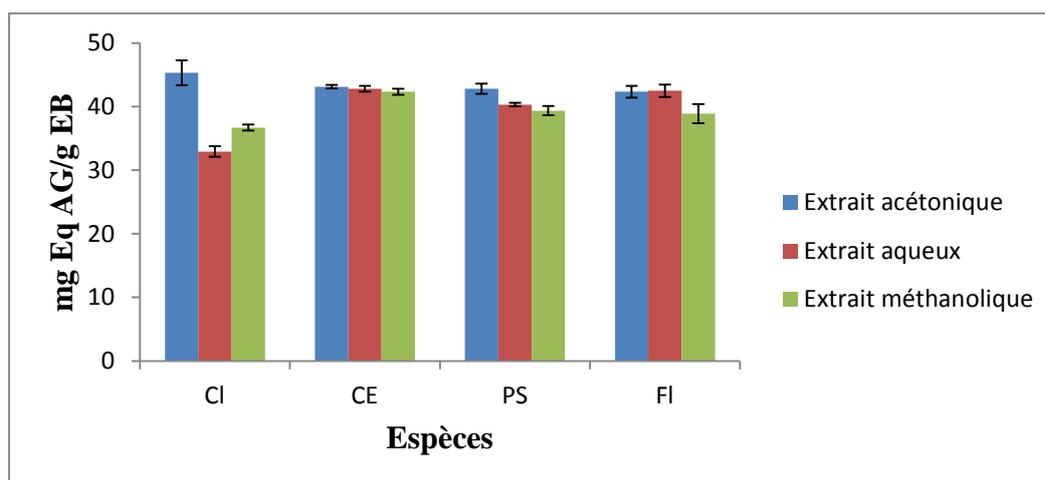
Le contenu en polyphénols polaire de nos extraits a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme standard

La concentration des polyphénols polaire est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut

Les résultats figurent dans le tableau 05 et sont illustrées graphiquement dans la figure 15.

Tableau05 : Teneur en polyphénols polaires des extraits des lichens.

Extrait	<i>Espèces</i>			
	<i>Cladonia foliacea</i>	<i>Cetrelia olivetorum</i>	<i>Pseudevernea furfuracea</i>	<i>Flavoparmelia Caperata</i>
	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)
Acétonique	45,312 ± 1,958	43.116±0.271	42.803 ± 0.814	42.333 ± 0.940
Aqueux	32.925±0.814	42.803± 0.470	40.294 ± 0.271	42.489 ± 0.979
Méthanolique	36.688±0.470	42.333 ± 0.470	39.354 ± 0.718	38.883 ± 1.512

**Figure15**: Teneur en polyphénols polaires des extraits des lichens étudiés.

D'après ces résultats l'acétone s'avère être le solvant le plus approprié qui permet d'obtenir une grande teneur en polyphénols polaires dans tous les espèces des lichens étudiés par rapport au extraits méthanolique et aqueux. Les teneurs en polyphénols polaires se présentent de la manière décroissante suivante :

Cladonia foliacea → *Cetrelia olivetorum* → *Pseudevernea furfuracea* → *Flavoparmelia Caperata*

❖ Détermination des polyphénols apolaires :

Les résultats sont représentés dans le tableau 06 et la figure16.

Tableau06 : Teneurs en polyphénols apolaire.

Extrait	<i>Espèces</i>			
	<i>Cladonia foliacea</i>	<i>Cetrelia olivetorum</i>	<i>Pseudevernea Furfuracea</i>	<i>Flavoparmelia Caperata</i>
	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)
Acétonique	41.930± 3.061	76.224 ± 0.880	186.414 ± 35.64	55.197 ± 21.139
Aqueux	2.876 ± 1.479	2.875± 1.525	54.766 ± 18.610	10.185 ± 3.599
Méthanolique	27.508 ± 13.941	23.099 ± 1.998	113.320 ± 40.662	66.466 ± 16.128

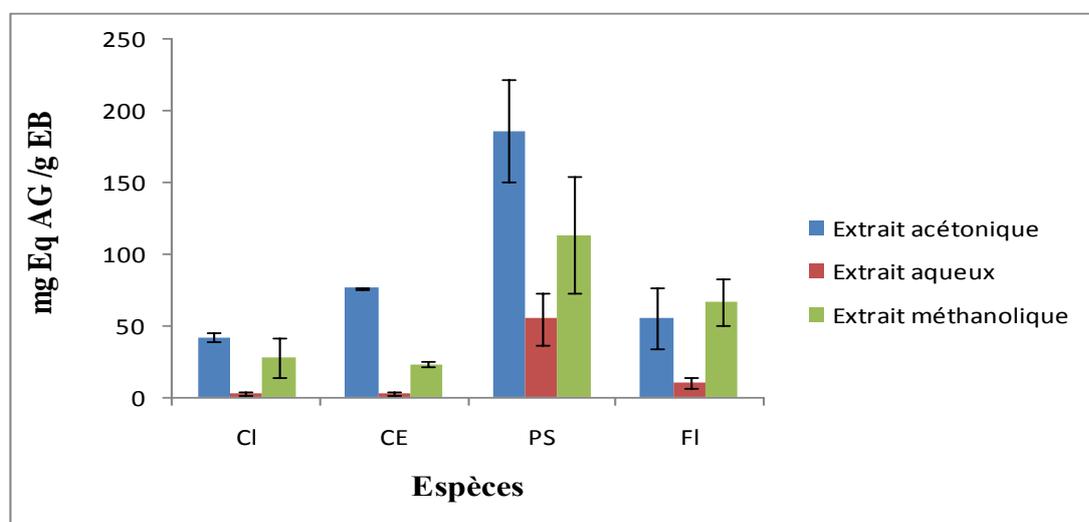


Figure 16 : Teneurs en polyphénols apolaires.

A partir de ces résultats on peut dire que la plus haute teneur en polyphénols apolaire est présenté dans l'espèce de *Pseudevernia furfuracea* pour tous ses extraits (acétone (**186.414 ± 35.64**), méthanol (**113.320 ± 40.662**) et aqueux(**54.766 ± 18.610**)). Tandis que les quatre espèces de lichens représentent une très faible teneur en polyphénols apolaire dans l'extraits aqueux (*Cladonia foliacea* (**2.876 ± 1.479**), *Cetrelia olivetorum*(**2.875± 1.525**), *Flavoparmelia caperata*(**10.185 ± 3.599**) et *Pseudevernia furfuracea*(**54.766 ± 18.610**))

❖ Dosage des flavonoïdes totaux :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode du chlorure d'aluminium et déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine et sont exprimés en mg équivalent quercétine /g d'extrait brut (mg Eq Q/g EB).

Les résultats sont présentés dans le tableau 07 et la figure 17

Tableau 07 : Teneur en flavonoïdes totaux.

Extrait	Espèces			
	<i>Cladonia foliacea</i>	<i>Cetrelia olivetorum</i>	<i>Pseudevernea furfuracea</i>	<i>Flavoparmelia Caperata</i>
	Moy± Ec (mg Eq AQ/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AQ/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AQ/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AQ/ g EB)
Acétonique	3.674± 0.083	67.704 ± 3.25	100.907 ± 0.259	46.087 ± 2.598
Aqueux	3.614 ± 0.833	49.978 ± 2.559	40.293 ± 0.396	50.064 ± 2.377
Méthanolique	4.366 ± 0.604	55.166 ± 8.063	49.113 ± 1.727	43.233 ± 2.26

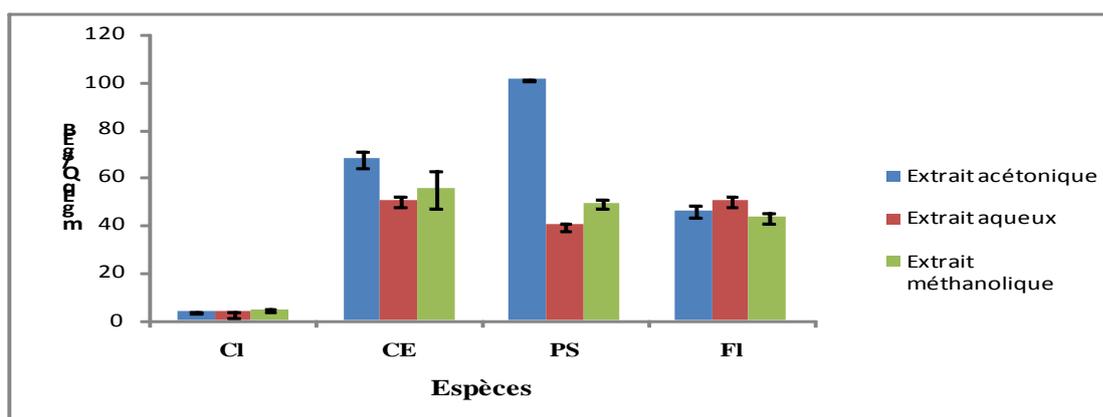


Figure 17: Teneur en flavonoïdes totaux.

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont présentés dans la figure (17), d'après ces résultats l'espèce de *Pseudevernea furfuracea* représente une forte Teneur en flavonoïdes totaux par son extraits acétonique (100.907 ± 0.259) par rapport aux autres espèces, tandis que la teneur en

flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux et méthanolique décroissent respectivement dans les quatre espèces : *Cladonia foliacea*, *Flavoparmelia caperata*, *Pseudovernia furfuracea* et *Cetrelia olivetorum*.

❖ Dosage des tannins totaux :

Les teneurs des extraits des lichens en tannin ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

Les teneurs sont exprimées en mg équivalent d'acide tannique par g d'extrait brut (mg Eq AT /g EB).

Les résultats des teneurs en tannins sont représentés dans le tableau 08 et la figure 18 ci-dessous.

Tableau 08 : Teneurs en tannins.

	<i>Espèces</i>			
	<i>Cladonia foliacea</i>	<i>Cetrelia olivetorum</i>	<i>Pseudevernea Furfuracea</i>	<i>Flavoparmelia Caperata</i>
Extrait	Moy± Ec (mg Eq AT/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AT/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AT/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AT/ g EB)
Acétonique	54.587± 10.154	75.958 ± 18.158	100.907 ± 0.259	67.363 ± 8.313
Aqueux	13.704 ± 1.609	36.004 ± 7.832	40.293 ± 0.396	17.421 ± 0.696
Méthanolique	29.732 ± 1.064	39.024 ± 4.828	49.113 ± 1.727	62.253 ± 7.516

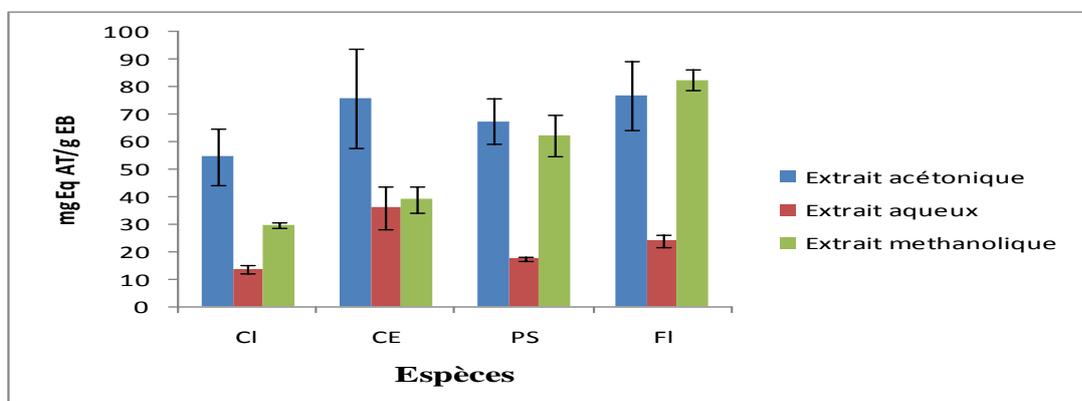


Figure 18: teneurs en tannins totaux.

D'après les résultats illustrés par la figure (18), on peut noter qu'il existe une augmentation importante des teneurs en tannins : d'une part dans l'espèce de *Flavoparmelia caperata* par ces deux extraits méthanolique et acétonique comparativement aux autres extraits lichéniques. D'autre part l'extrait aqueux représente une faible teneur en tannins notamment chez *Cladonia foliacea* (13.704 ± 1.609)

❖ dosage des tannins condensés :

Les résultats sont présentés dans le tableau 09 et la figure 19.

Tableau 09 : teneur en tannins condensés.

Extrait	<i>Espèces</i>			
	<i>Cladonia foliacea</i>	<i>Cetrelia olivetorum</i>	<i>Pseudevernea Furfuracea</i>	<i>Flavoparmelia caperata</i>
	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AG/ g EB)
Acétonique	3.674± 0.083	67.704 ± 3.25	100.907 ± 0.259	46.087 ± 2.598
Aqueux	3.614 ± 0.833	49.978 ± 2.559	40.293 ± 0.396	50.064 ± 2.377
Méthanolique	4.366 ± 0.604	55.166 ± 8.063	49.113 ± 1.727	43.233 ± 2.26

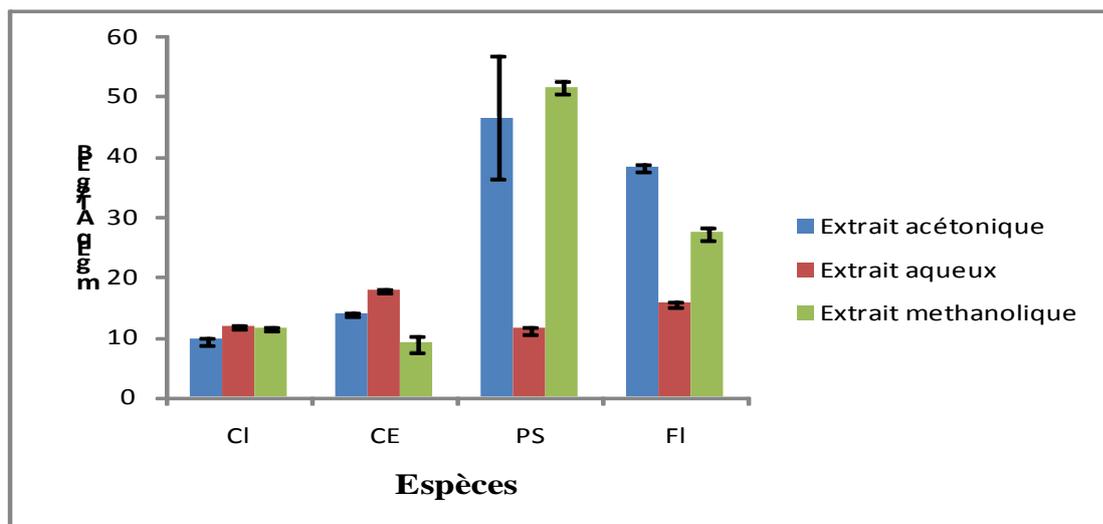


Figure 19 : Teneur en tannins condensés.

D'après les résultats illustrés par la figure (19), on peut noter qu'il existe une augmentation importante des teneurs en tannins condensés: d'une part dans l'espèce de *Pseudevernia furfuracea* par ces deux extraits méthanolique et acétonique comparativement aux autres extraits lichéniques. Suivi par l'espèce *Flavoparmelia caperata* dans ces extraits acétonique et méthanolique.

3 Evaluation de l'activité antioxydante

3-1- Capacité antioxydante totale (C. A. T) :

La méthode de la Capacité Anti oxydante Totale C.A.T permet la détermination de la quantité des espèces anti-oxydantes existantes dans les extraits lichéniques. La capacité antioxydante totale des extraits a été exprimée en équivalents d'acide ascorbique. A cet effet, une courbe d'étalonnage a été effectuée en parallèle, dans les mêmes conditions, en utilisant l'acide ascorbique comme étalon.

Les résultats sont représentés dans le tableau10 et la figure20.

Tableau10 : Capacité antioxydante totale des extraits des lichens

	<i>Espèces</i>			
	<i>Cladonia foliacea</i>	<i>Cetrelia olivetorum</i>	<i>Pseudevernea furfuracea</i>	<i>Flavoparmelia caperata</i>
Extrait	Moy± Ec (mg Eq AAS/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AAS/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AAS/ g EB)	Moy± Ec (mg Eq AAS/ g EB)
Acétonique	20.166± 1.258	86.333± 0.288	49.666 ± 1.443	74.833 ± 1.154
Aqueux	4.666 ± 1.258	31.666 ± 0.577	3.166 ± 0.288	7.000 ± 0.500
Méthanolique	41.833 ± 7.637	34.666 ± 0.288	151.166 ± 1.258	48.833 ± 1.040

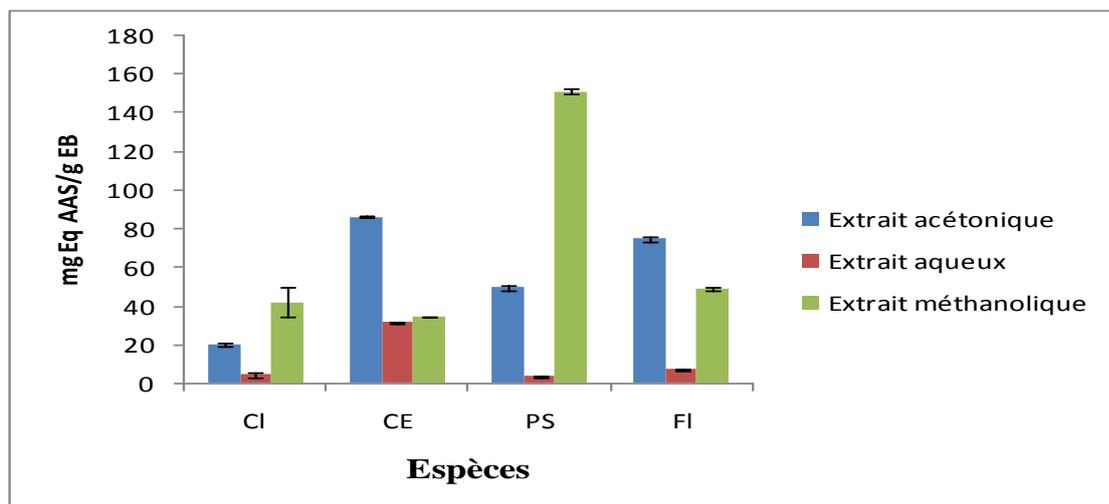


Figure 20 : Capacité anti-oxydante totale des extraits lichéniques.

Selon les résultats présentés dans la figure, Les extraits des quatre lichens montrent des valeurs différentes de la capacité anti-oxydante total, à partir de ces résultats l'activité la plus élevée est enregistré par l'extrait méthanolique de *Pseudevernia furfuracea* (**151.166 ± 1.258**)

De plus en remarque que l'extrait queux représente une faible activité antioxydante totale dans les espèces lichéniques :*Pseudevernia furfuracea*(**3.166 ± 0.288**);*Cladonia foliacea* (**4.666 ± 1.258**) ;*Flavopermelia caperata*(**7.000 ± 0.500**)et *Cetrelia olivetorum*(**31.666 ± 0.577**)

Selon (**Odabasogluet al., 2005**) la capacité antioxydante total dans l'extrait aqueux de *Pseudevernia furfuracea* est de **26.43%** ;Ce résultat reste toujours supérieurs à celui obtenu dans notre étude

3- 2 –Pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur de nos extraits des lichens étudiés a été évalué par la méthode de FRAP puisque c'est une analyse simple, rapide et reproductible, basé sur la capacité des extrait à réduire le fer ferrique présent dans le $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (**Mbaïogaou et al., 2013**).

Le pouvoir réducteur des extraits est testé à des concentrations allant de 0,01mg/ml à 1mg/ml

Les valeurs de l'absorbance en fonction des différentes concentrations sont représentés dans les tableaux 11-12 – 13- et dans les figures 21 -22 -23 pour chaque espèces.

Tableau11 : Variation des absorbances de l'extrait acétonique en comparaison avec l'acide ascorbique

	Concentration en mg/ml							
Espèces	0,001	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,5	1
CL	0,116	0,193	0,286	0,36	0,456	0,983	1,61	2,6
CE	0,123	0,133	0,152	0,16	0,161	0,179	0,391	0,368
PS	0,616	0,680	1,313	1,713	3,683	3,736	3,836	4,593
FL	0,25	0,51	0,74	0,91	1,45	1,9	2,29	3,903
A, ascorbique	0,559	2,655	4,875	5,442	5,694			

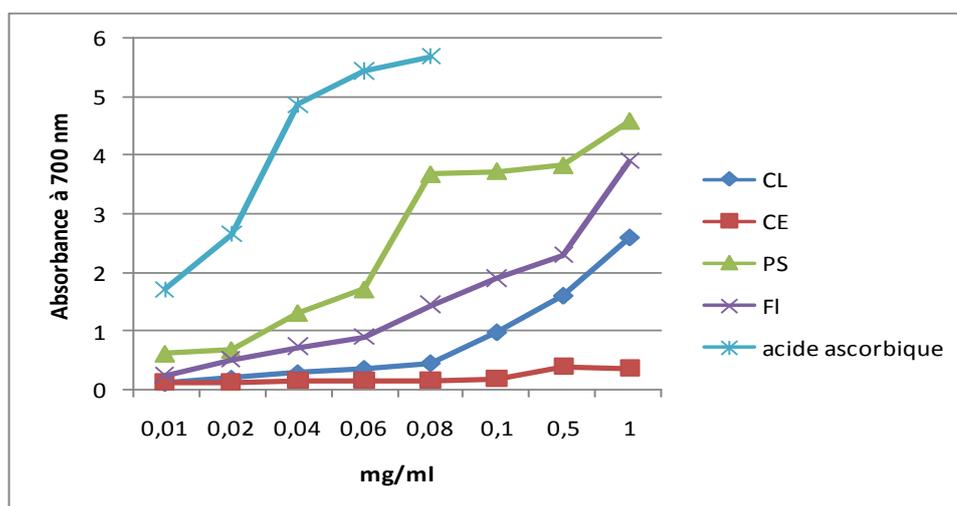


Figure21 : pouvoir réducteur des extraits acétonique en comparaison avec l'acide ascorbique.

Tableau 12 : Variation des absorbances de l'extrait méthanolique en comparaison avec l'acide ascorbique

	Concentration en mg/ml							
Espèces	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,5	1
DL	0,146	0,158	0,165	0,171	0,186	0,159	0,236	0,504
CE	0,131	0,15	0,338	0,366	0,389	0,391	0,400	0,421
PS	0,157	0,171	0,266	0,324	0,331	0,366	0,378	0,397
FL	0,010	0,041	0,094	0,115	0,121	0,139	0,160	0,206
A, ascorbique	0,559	2,655	4,875	5,442	5,694			

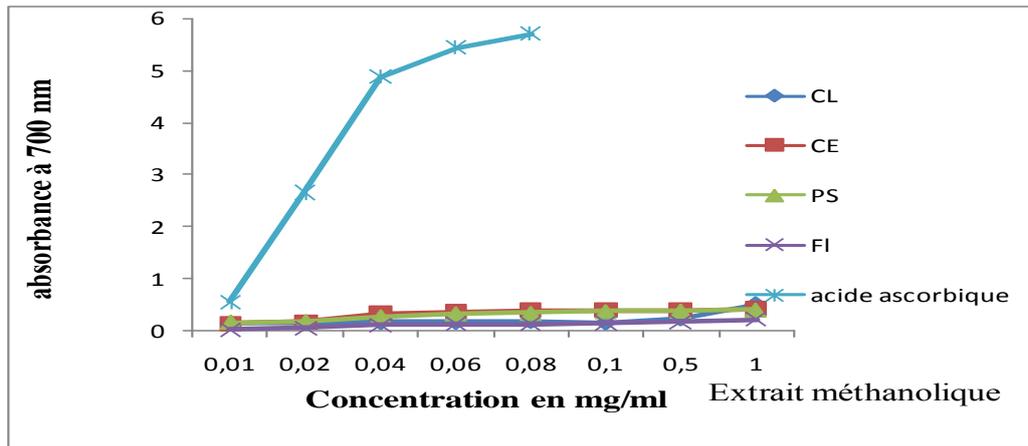


Figure22 : pouvoir réducteur des extraits méthanolique en comparaison avec l'acide ascorbique.

Tableau 13: Variation des absorbances de l'extrait aqueux en comparaison avec l'acide ascorbique

Espèces	Concentration en mg/ml							
	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,5	1
CL	0,089	0,110	0,124	0,125	0,139	0,111	0,166	0,395
CE	0,123	0,122	0,133	0,148	0,151	0,2	0,249	0,504
PS	0,126	0,131	0,149	0,163	0,172	0,153	0,254	0,301
FL	0,121	0,14	0,144	0,151	0,156	0,134	0,317	0,379
A ascorbique	0,559	2,655	4,875	5,442	5,694			

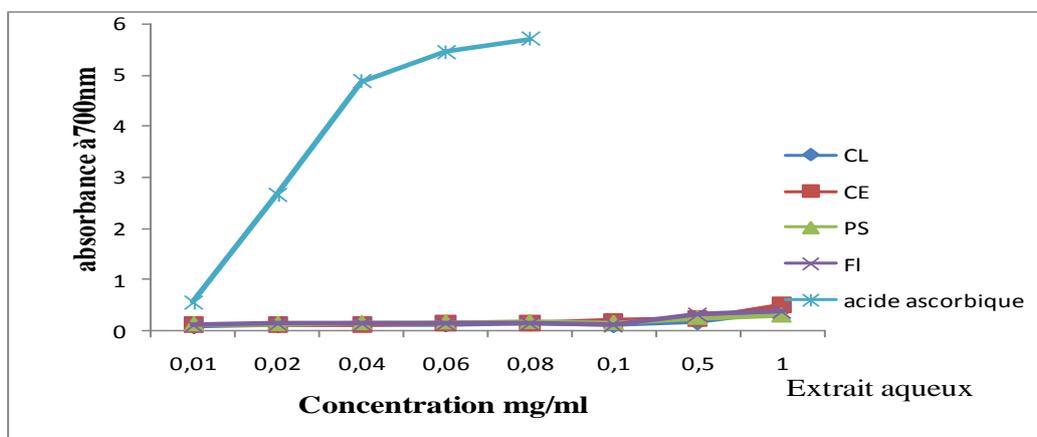


Figure23 : pouvoir réducteur des extraits aqueux en comparaison avec l'acide ascorbique.

Selon les résultats obtenus on constate que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits et de l'acide ascorbique.

D'après la figure 21, on constate que l'extrait acétonique de PS possède une activité vis-à-vis de Fe^{+3} que d'autres espèces.

A la concentration de 0,08mg/ml de l'extrait acétonique de PS est largement supérieur (DO= 3,68) par rapport aux autres espèces mais nettement inférieur celui de l'acide ascorbique.

Les absorbances des extraits acétonique des lichens étudiées et l'acide ascorbique, oscillent entre **0,559** et **5,694** pour l'acide ascorbique, entre **0,11** et **2,6** pour CL, entre **0,12** et 0,368 pour CE, entre **0,61** et 4,59 Pour PS et entre **0,25** et **3,90** pour FL.

Les figures 21 et 22 montre que l'extrait aqueux et méthanolique possèdent un pouvoir réducteur inférieur à celui de l'acide ascorbique

D'après les figures 21, 22 et 23 on constate que l'extrait acétonique présente une activité la plus grande pour réduire le fer par rapport à l'extrait aqueux et méthanolique.

- **Détermination de la $CR_{0,5}$:**

Pour comparer l'activité antioxydants de quatre espèces lichéniques : *Flavoparmelia caperata*, *Pseudevernia furfuracea*, *Cladonia foliacea* et *cetrelia olivetorum* de différents extraits nous avons calculé la $CR_{0,5}$ qui est considérée comme la concentration qui donne une absorbance de 0.5 à 700 nm qui représente la réduction de 50% du fer. Les CR 0.5 obtenus à partir des courbes de régression représentées par les figures **07** à **16** en annexe.

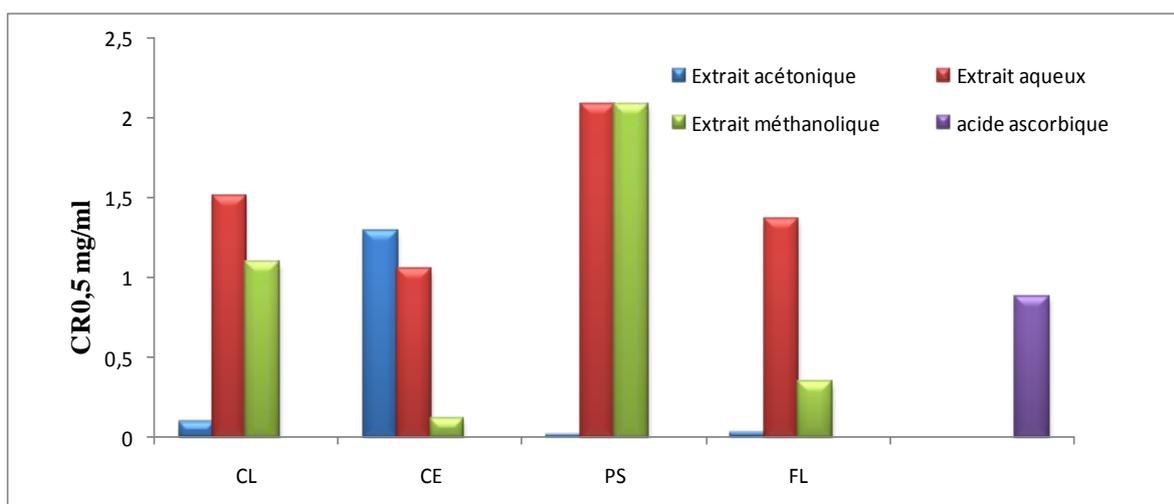


Figure 24 : Concentration nécessaire pour la réduction de 50% du fer des différents extraits lichénique et de l'acide ascorbique.

D'après la figure 24, nous remarquons que la capacité à réduire le fer est variable, elle est beaucoup plus importante pour l'extrait acétonique de *Pseudevernia furfuracea* (CR 0,5= 0,014 mg/ml) et *Flavopermelia caperata* (CR 0,5= 0,025mg/ml), suivie par *Cladonia foliacea* (CR 0,5= 0,091mg/ml) et enfin *Cetrelia olivetorum* (CR 0,5=1,29mg/ml). Et pour l'extrait méthanolique la meilleure activité est enregistrée chez *Cetrelia olivetorum*(CR 0,5= 0,119mg/ml) suivie par *Flavopermelia caperata* (CR 0,5= 0,34mg/ml) et *Cladonia foliacea* (CR0,5 =1,09mg/ml) et la faible activité est celle de *Pseudevernia furfuracea* (CR0,5 = 2,08mg/ml). Pour l'extrait aqueux, la capacité de réduction du fer est inférieure par rapport à l'extrait acétonique et méthanolique (CR 0,5= 1,05mg/ml) pour *Cetrelia olivetorum*, (CR0,5= 1,36mg/ml) pour *Flavopermelia caperata*, (CR0,5=1,5) pour *Cladonia foliacea* et la faible capacité pour *Pseudevernia furfuracea* (Cr0, 5 =2,08 mg/ml).

La capacité de la réduction de fer par l'acide ascorbique est importante que les extraits

3-3 Effet scavenger du radical DPPH° :

Le DPPH° est un radical libre stable, largement utilisé comme outil pour estimer les activités de piégeages et nettoyages des radicaux libres par les antioxydants (Krishnaiah et al., 2010).

Les figures ci-dessous rapportent les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction de différentes concentrations de nos extraits et de l'acide ascorbique utilisé comme antioxydant de référence.

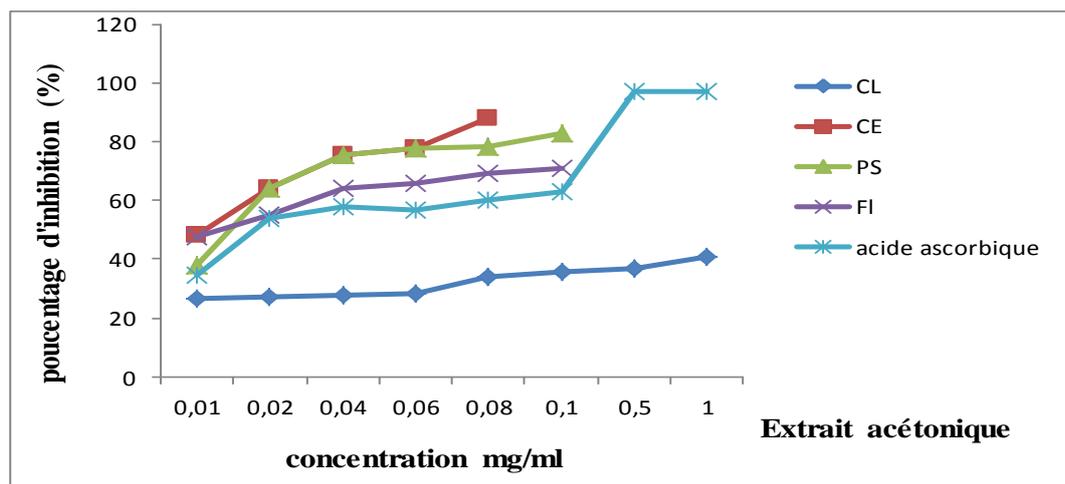


Figure25 : Pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire des extraits acétoniques et de l'acide ascorbique

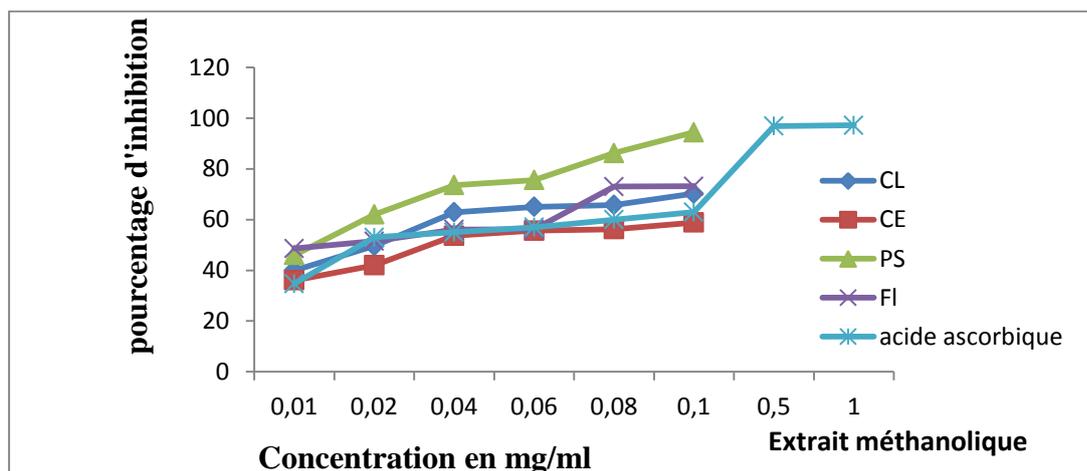


Figure26 : Pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire des extraits méthanolique et de l'acide ascorbique.

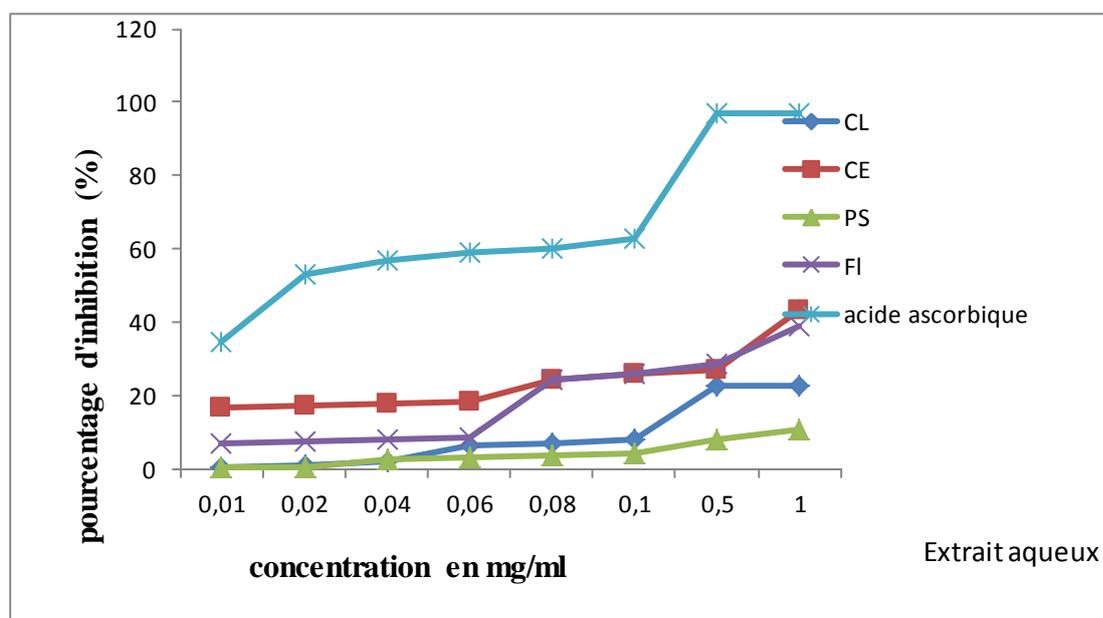


Figure27 : Pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux et de l'acide ascorbique

D'après les figures 25, 26 et 27, les extraits acétoniques, méthanoliques et aqueux présentent une capacité à piéger le radical DPPH°. Le pourcentage d'inhibition est différent d'une concentration à une autre.

A partir des résultats enregistrés dans la figure 25 : le taux d'inhibition des extraits acétoniques des lichens sont inférieur à ceux de l'acide ascorbique.

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est enregistré chez *Cetrelia olivetorum* à la concentration de **0,08mg/ml (88,2%)**, puis **(82,88%)** pour *Pseudevernia furfuracea* (**70,83%**) pour *Flavopermelia caperata* à la concentration 0,1mg/ml et **(41%)** pour *Cladonia foliacea* à la concentration de 1mg/ml qui sont inférieure à l'acide ascorbique (**96,83%**).

Pour l'extrait méthanolique (figure25) le pourcentage d'inhibition de *Pseudevernia furfuracea* est le plus élevé à celui des autres espèces mais inférieur à ceux enregistrés par l'acide ascorbique pour toutes les concentrations.

Où nous avons notés le pourcentage d'inhibition maximale, **97,17 %** pour l'acide ascorbique à la concentration de **1mg/ml**, **94,43 %** pour *Pseudevernia furfuracea*, **73,15 %** pour *Flavopermelia caperata*, **70, 24 %** pour *Cladonia foliacea* et **62,97%** pour *Cetrelia olivetorum*. Pour l'extrait aqueux nous remarquons que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH° est variable. Elle est beaucoup plus importante pour l'acide ascorbique (**34,75 à 96, 83%**) suivi par *Cetrelia olivetorum* (**16, 78 à 43**), *Flavopermelia caperata* (**6,78 à 39%**), *Cladonia foliacea* (**0,55 à 22,36%**) et enfin *Pseudevernia furfuracea* (**0,51 à 10,52%**).

D'une manière générale, tous les extraits testés méthanoliques, acétoniques et aqueux ont provoqué une diminution plus ou moins importante de l'absorbance à 517nm selon leurs concentrations.

- **Calcul des IC50 :**

La capacité antioxydante des différents extraits a été déterminée à partir des IC50 qui est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH*

Les valeurs IC50 sont déterminées graphiquement, en utilisant les courbes représentées par les figures **18 à 29** en annexe représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait testé est sont illustrées par la figure 28.

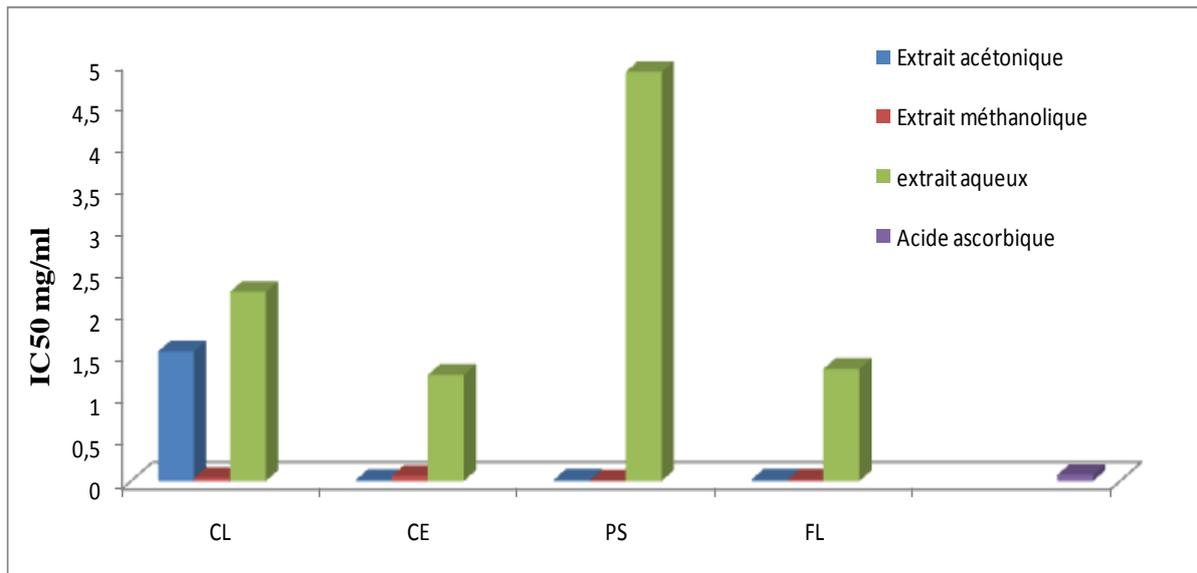


Figure 28 : concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH° des extraits lichéniques et de l'acide ascorbique

Les IC₅₀ sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet anti-radicalaire important.

En comparant les IC₅₀ des différents extraits testés les quatre espèces par rapport à ceux de l'acide ascorbique.

D'après ces résultats, pour l'extrait acétonique, *Cetrelia olivetorum* nécessite la plus faible concentration pour piéger le radical DPPH° (IC₅₀= 0,013) mg/ml et suivie par *Pseudevernia furfuracea* (IC₅₀ =0,014) et *Flavopermelia caperata* (IC₅₀= 0,016) mg/ml et enfin *Cladonia foliacea* (IC₅₀ =1,54) par rapport à l'acide ascorbique qui nécessite 0,07mg/ml.

Pour l'extrait méthanolique la faible concentration pour piéger le radical DPPH° est noté chez *Pseudevernia furfuracea* (IC₅₀= 0,003) suivie par *Flavopermelia caperata* (IC₅₀= 0,01) et *Cladonia foliacea* (IC₅₀= 0,038) et enfin *Cetrelia olivetorum* (IC₅₀= 0,06) qui est importante que l'acide ascorbique

Pour l'extrait aqueux, la meilleure capacité pour piéger le DPPH° est noté chez *Cetrelia olivetorum* (IC₅₀= 1,26) et la faible capacité chez *Pseudevernia furfuracea*.

IV-2 Discussion

Le travail s'inscrit dans le cadre des études phytochimiques ainsi que des dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins, dans le but d'évaluer les teneurs en molécules actives des différents extraits préparé à partir des espèces choisies pour notre travail. Certains études menés par **Ganesan et al 2015** ont indiqué que les composés phénoliques possèdent une large activité notamment l'activité antioxydant.

Jusqu'à présent, plusieurs centaines de métabolites secondaires, dont des depsides, des depsidones, des dibenzofuranes, ont été détectés dans les lichens (**Manojlovic et al., 2015**). La teneur en phénols totaux est déterminée par la méthode de folin-ciocalteu, d'après les résultats obtenus nos extraits lichéniques montre une grande richesse en composés phénoliques comme flavonoïdes et phénols totaux notamment l'extrait acétonique *Pseudovernia furfuracea* par rapport aux les extraits testés.

La réduction de l'ion ferrique Fe^{+3} en ion ferreux Fe^{+2} est traduite par la force de couleur bleu - vert de la solution qui absorbe à 700 nm.

À la lumière des résultats obtenues on constate que la capacité de réduction de fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos extraits (**Ozturk et al., 2007**) cependant l'augmentation de l'absorbance est indicatrice d'un pouvoir réducteur élevé (**Oyaizu 1986**).

D'après **Plaza et al (2006)**, l'absorbance de l'extrait est proportionnelle à sa puissance réductrice cela confirme les résultats obtenus ; les extraits testés ont un important pouvoir réducteur de fer, cette puissance est proportionnelle avec la teneur élevée en phénols totaux.

L'activité antioxydante des extraits testés sont comparés avec le témoin d'acide ascorbique pour confirmer la puissance antioxydant.

La capacité antioxydant total pour le test de piéger le radical de DPPH la plus élevée est enregistré par l'extrait méthanolique de *Pseudovernia furfuracea* par rapport aux autres extraits ; cela est bien confirmé par la détermination de l'IC50 ; la concentration qui inhibe 50% de radical DPPH.

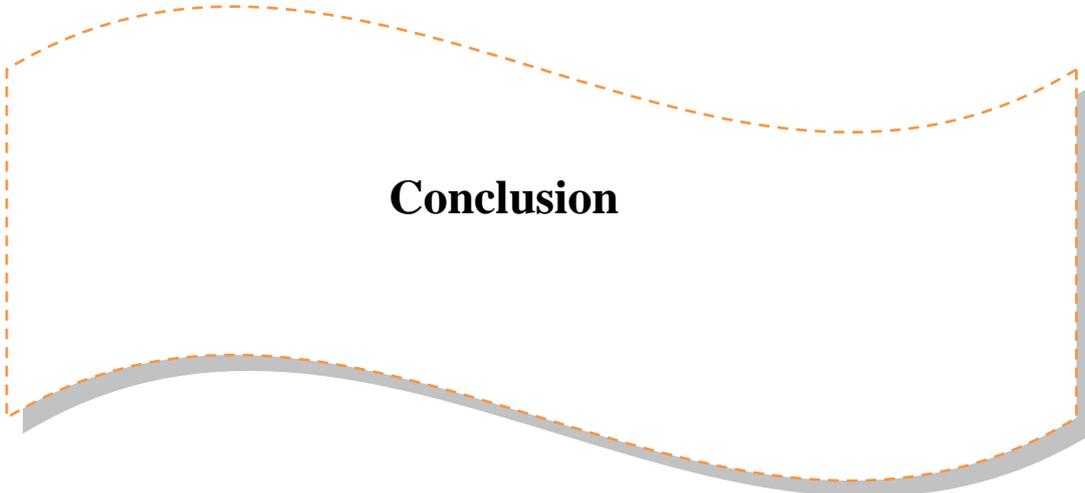
La capacité de piégeage des radicaux libres des antioxydants a été déterminée par un essai de piégeage des radicaux DPPH (**Manojlovic et al., 2015**).

nos résultats indiquent que les extraits de lichens testés sont capables de piéger les radicaux libres de DPPH et de réduire de fer.

L'extrait méthanolique du *Pseudovernia furfuracea* a exercé le pouvoir le plus élevé contre le radical de DPPH cela confirme que cet extrait a une bonne activité par rapport à

celle exerce par l'extrait de *Cladonia foliacea*, *Flavoparmelia caperata*, *Certelia olivetorum* car cette activité élevée nécessite une faible concentration IC50-0.003 mg/ml celle peut dû à une forte teneur en polyphénols

A partir de ces résultats obtenus on peut dire que les lichens occupent une large espace des sources des polyphénols neutralement bioactifs.



Conclusion

Conclusion :

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés sur les plantes médicinales et les lichens dont la présente étude qui est consacrée à la recherche d'éventuels effets antioxydant des extraits : aqueux, méthanoliques, et acétoniques, de *Cladonia foliacea*, *Cetrelia olivetorum*, *Pseudevernia furfuracea* et *Flavoparmelia caperata*.

Au cours de notre expérimentation, nous avons réalisé quelques tests phytochimiques à fin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains familles chimiques. Cet examen phytochimique nous a révélé la présence de tanins, de flavonoïde, Saponines, glycosides, protéines triterpenoides a intensité différents selon l'espèce et l'extrait. Les quatre espèces ont montré une richesse remarquable en métabolites secondaires tels que les phénols, flavonoïdes et tannins.

De plus, les extraits de lichens sont également évalués pour leur activité anti-oxydante. Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse. Grâce à cette méthode, nous avons étudié l'activité anti-oxydante des extraits de nos lichens. L'extrait méthanolique de *Pseudevernia furfuracea* a montré un pouvoir de piéger le DPPH un peu plus important que celui des autres extraits.

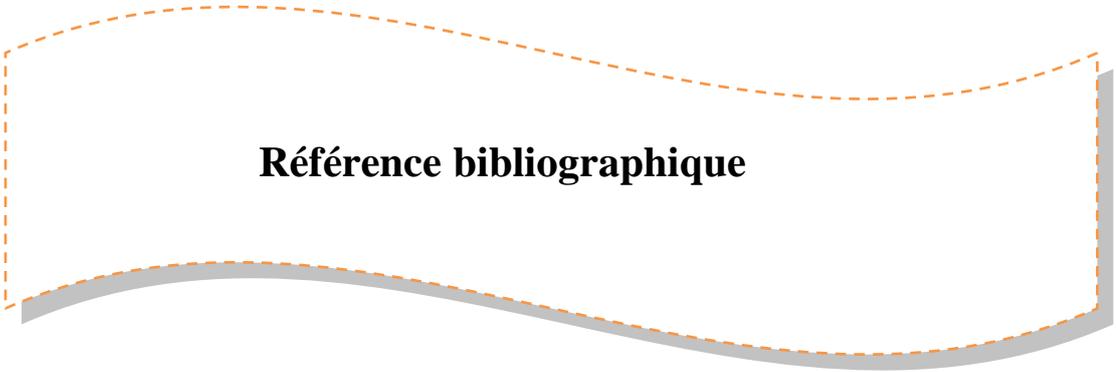
Les résultats obtenus à l'issue de ce travail montrent que les extraits préparés ont un pouvoir réducteur intéressant et variable, ce dernier augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait testé. Cette activité antioxydant est probablement liée à la richesse de nos extraits en métabolites secondaires.

La capacité antioxydante totale (CAT), reflète la quantité d'antioxydants présents dans les différents échantillons. Notre étude reste toutefois incomplète, pour

cela il serait intéressant de tester d'autres méthodes pour mieux évaluer l'activité antioxydante.

Dans cette perspective et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant de procéder à une caractérisation qualitative plus poussée, de ces extraits par la détermination des structures et propriétés chimiques de leurs composés phénoliques.

De même, une réflexion et des essais sur le mode d'utilisation de ces métabolites secondaires naturellement présents dans les lichens est nécessaire pour leur utilisation à la place de l'antioxydant de synthèse.



Référence bibliographique

A

Abuja P.M et Albertini R., (2001). Méthode for monitoring oxidative oxydative stress. Lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *ClinicaAhimicaActa*.306: 1-17.

Al-Bekairi, A. M. & Qureshi, S., (1991). Mitode pressive Clastogenic and biochemical effects of C+Vusnic acid in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 33, 217-220.

Amandine D., (2015). Etude phytochimique de trois lichens et approche synthétique de deux composés actif. Doctorat de l'université de limoges.

Amirouche N., Bouguedoura N., Haj-arab H., (2009). Botanique ; algues, champignons, lichens, Houma édition. Alger, ISBN 978-9961-65-159-9.

April G.G.,Catalano L., Migliozi A., Mingo A.(2011). Monitoring epiphytic lichen Biodiversity to detect environnemental quality and air pollution: The case study of Roccamonfina park (Campania Regio-Italy) In Amandine D., (2015). Etude phytochimique de trois lichens et approche synthétique de deux composés actif. Doctorat de l'université de limoges.

Association française lichénologie ., (2011). Les lichens: un enjeu pour la biodiversité du Finistère. 19p.

-Athamena S., (2008). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de cuminu cyminum et les feuilles de rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique, Magister Biochimie Appliquée, Université El-hadj Lakhdar-Batna

B

Ba K., Tine E., Destain J., cissé N., (2010). Etude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés des sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2010. 14(1), 131-139.

Biswas S., Chida A.S et Rahman I., (2006) "Redox modifications of protein-thiols : emerging roles in cell signaling". *Biochemical pharmacology*71: 551-564.

Borg J et reeber A.,(2008) Biochimie métabolique. Ed : ELLIPSES Marketing 2^{ème} édition. P. 285.

Bougandoura N., et Bendimerad N., (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.

Boustie J. et Grube M., (2005). lichens a promising source of bioactive secondary metabolites.

Bruneton P., (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2^{ème} Ed.

Bruneton P., (1999). Pharmaconosie . Phytochimie. Plantes médicinales.3^{ème} édition, Edition Médicinales internationales cachan, France, 1120P.

C

Cardarelli, M. Serino, G. Campanella, L. Ercole, P.; Nardone, F.Alesiani, O. et Rossiello, F., (1997). Antimitotic effects of usnic acid on different biological systems. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 53, 667-672.

Culberson C. F., Elix J. A., (1989). Lichens Substances. Methods in Plant Biochemistry, 1, 309-535.

D

Delattre J., Beaudoux J.L et Bonnefont-Rousselot D., (2005) Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Ed Tec et Doc lavoisier (Paris) : p : 547.

Dayan, F. E. & Romagni, J. G., (2001). Lichens as a potential source of pesticides. *Pesticide Outlook*, 229-232.

Deruelle S., (1978). Étude comparée de la sensibilité de trois méthodes d'estimation de la pollution atmosphérique, en utilisant les lichens comme indicateurs biologiques dans la région de Mantes (Yvelines). *Rev. Bryol. Lichénol*, n° 44 (4), p. 429-441.

Dif M. M., Benchiha H., Mehdadi Z., Benali-Toumi F., Benyahia M. et Bouterfas k., (2015) : Etude quantitative des polyphénols dans les différents organes des

papaver rhoeas L. Phytothérapie (2015) 13 :314-319.DOI 10-1007/s 10298-015-0976-5.

E

Elix J. A., (1984). Recent progress in the chemistry of the lichen substances. Progress in the chemistry of organic natural Product, 45c, 103-234.

F

-Fahselt, D., (1994). Secondary biochemistry of lichens. Symbiosis, 16, 117-165.

Favier., (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité clinique 108- 115.

Fernandez C.M ., Burgos E. G., Divakar P K., Crespo A et Gomez-Serranillos M. P., (2016). Evaluation of the Antioxidant Capacities and Cytotoxic Effects of

Ten *Parmeliaceae* Lichen Species. Hindawi Publishing Corporation

-Fleurentien J., Cabalion P., Mazars G., Santos J. D. et Yonus Ch., (1990).Ethnopharmacologie ; sources, methodes, objectifs

François J., Gaudry M., Prat R., (2009).Biologie végétale : Croissance et développement. Dunod, Paris 237P.

G

Ganesan A., Thangapandian M., Ponnusamy P., sundararaj J.P., Nayaka S., (2015). Antioxidant and Antibacterial activity of parmelioid lichens from shevaroyhills of east ernghats. International journal of pharmtechresearch No.9. vol, 8. 13-23.

Garrel C., Ceballos- Picot I., Germain G et Al-Gubory K.H (2007) Oxidative strss inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F2alpha-induced luteal cell death in vivo. Free Radical Research. 41: 251-259.

Génisevés, L., (1990) .Biologie végétale :thallophyte et microorganismes. Dunod, paris .159.ISBN2-04-019868-7.

Gombert S et Asta J., (2006). Seaward M.R.D. Ecological indicators, 6: 429-443.

Gregory G et Dimijian M.B., (2003). Les lichens et la qualité de l'air. Fascicule enseignants. Université catholique de Louvain. 40p.

H

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C., Chapelle J. P.,(2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege* 62 :10 :628-638.

Hidalgo M. E.; Fernandez, E.; Quilhot, W. & Lissi, E., (1994), Antioxydant activity of depsides and depsidones, *Phytochemistry*, 37 (6), 1585-1587.

Huneck, S., (1999). The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*, 86, 559-570.

. Huneck S. & Yoshimura, L., (1996). Identification of lichen substances. Springer-Verlag, Berlin, 493 pages.

Hopkins., (2003). Physiologie végétale, 2^{ème} édition, Boeck, p 276-280.

Humadi S. et Istudor V., (2008). quantitative analysis of bio-active compound in Hibiscus sabdariffa. Extrats . Note I quantitative analysis of flavonoides.

J

Jayanthi S. Priya, D.Monica devi et j.m.Benita smily., (2012). Lichens : Origin, types, secondary métabolites and applications.

Joulain D. et Tabacchi R., (2009). Lichen extracts as rawmaterials in perfumery. Flavor and fragrance journal. 24(2): 49-61.

Judd., Campbell., Kellogg. Stevens(2002). Botanique systématique : une perspectives phylogénétique. De Boeck. Paris, 467P.

K

Karagöz A., Doğruöz N., Zeybek Z. et Aslan A., (2009). Antibacterial activity of some lichen extracts. *Journal of medicinal plants research*. 3(12): 1034-1039.

Koechlin-Romonatxo C., (2006). Oxygène, stress oxydant et supplementation anti-oxydant ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. 20 : 165-177.

Koechtin

Kumar S. K. C. & Muller, K.; 1999, Lichen metabolites. II. Antiproliferative and cytotoxic activity of gyrophoric, usnic, and diffractaic acid on human keratinocyte growth. *Journal of Natural Products*. 62, 821-823.

Kupchan M. & Kopperman, H.; 1975. 1-Usnic acid: Tumor inhibitors isolated from lichens. *Experientia*, 31 (6), 625-752.

Kosanic.M, Rankovic. B, (2015). Lichen Secondary Metabolites as Potential Antibiotic Agents, Springer International Publishing Switzerland ,PP 83.

L

Lee K.W., Kim Y.J., Lee C.Y.(2004). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J. Agric. Food Chem.*51. P 7292-7295.

Leinmuller E., Steingass H., Henk K H.(1991). Tannins in ruminant feed stuffs. *Animal Research and Development*, 33:9-56.

M

Maheix J.-J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., (2005) . Les composés phénoliques des végétaux ; un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses Romandes. ISBN2-88074-625-6.

-Malecky m., (2005).Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse pour obtenir le grade de docteur de l'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement, agro paris tech. P 9, 13-19, 20, 27.

Maksimovic Z.; Malencié N.D., Kovacevié N., (2004).Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. Bio resource Technology, 96 (8): 873-877.

Marouf A., (2000). Dictionnaire de botanique : les phanérogames. Dunod. Paris. 256P.

Milane H., (2004) la quercétine et ses dérivés : molécule à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, étude et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'Université de Limoges. Paris : p : 155.

Mitrović, T., Stamenković, S., Cvetković, V., Nikolić, M., Tošić, S. Stojičić, D.,(2011). Lichens as source of versatile bioactive compounds, *BiologicaNyssana*,vol 2 (1) :1-6.

Mitrovic, s. Stamenkovic, m., cvetkovic. V. J radulovic, n. S., mladenovic, m. Z., stankovic, m. S.,topuzovic, M. D., radojevic,i. D., stefanovic ,o. D. ,vasic , s. M. Comic , l. R., seklic d. S ., obradovic ,a. D. Et markovic, s. D. (2015).contribution to the knowledge of the chemical composition and biological activity of the lichens *cladonia foliacea* h u d s. (wild.) And *hypogymnia physodes* (l.),oxydation communications 38, no 4a, 2016–2032.

Mahmoudi S. ; Khali M. ; Mahmoudi N. ;2012 Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) , Nature & Technologie, bUniversité de M'sila, Faculté des sciences de l'ingénieur, Département des sciences agronomiques, route d' Ichbillia, BP 166-28000, M'sila, Algérie

Molisch, H., (1937). Per einfluss einer pflanze auf die andere-Allelopathie. Jena, 106 pages.

Molnár, K et Farkas, E., (2010). Biological activities of secondary lichen metabolites.

Momojlovic,VasiljevicP, Gritsanopan W, Suppabphol R, Monojlovic I., (2010).phytochemical and antioxidant studies of laurera benguelensis growing in thailand.43 :169-176.

N

Nancy J., Linford S.I., Chriner E et Rabinovitch I., (2006). Oxidative damage and aping: spotlight on mitochondria. *Cancer research.* 66: 2497-2499.

Niki L., Reynaert S.M., Aesif T., Me Govern Amy B., Emiel F.M., Wouters C., Irvin Yvonne M.W et Janssen H., (2007). Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of immunology.* 178: 3814-3821.

Nishikawa, Y.; Ohki, K.; Takashi, K.; Kurono, G.; Fukuoka, F. & Emori, M., (1974), Studies on the water soluble constituents of lichens. II. Antitumor polysaccharides of *Lasallia. Usnea* and *Cladonia* species. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 22 (11), 2692-2702.

Nishitoba, Y.; Nishimura, H.; Nishiyama, T. & Mizutani, J., (1987), Lichens acids, plant growth inhibitors from *Usnea longissima*. *Phytochemistry*, 26 (12), 3181-3187.

NultschW., (1997). Botanique générale .De Boeck, Paris, 602P.

O

Olafsdottir, E. S. & Ingolfsson, K.; 2000, Polysaccharides from lichens: Structural characteristics and biological activity. *Planta medica*, 67, 199-208.

Oyaaizu M .1986.studies on products fobrowning reaction antioxidative activities of Product of browning reaction prepared from glucosamine *.japanese journal of nutrition* .44 ,307-315.

Owen P.L., Johns T., (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. *J. Ethnopharmacol.* 64: 149-160.

Ozenda P. (2000). Les végétaux : organisation et diversité biologique 2^{ème} Ed ;Dunod, paris. ISBN2 10 004684 5.

Oyaaizu M .1986.studies on products fobrowning reaction antioxidative activities of Product of browning reaction prepared from glucosamine .*japanese journal of nutrition* .44 ,307-315.

P

Pereira E. C, Monica CB Martins, Maria de Lourdes L Buril, Rocio Santiago, Emerson Peter da S Falcão, Nicácio H da Silva, Maria Estrella Legaz, et Carlos. Vicente ., (2017) .Biologically-Active Compounds from Brazilian Lichens and their Affinity with Ether, *Journal of Drug Design and Research*, ISSN: 2379-089x.

Pietta PG.,(2000).Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*. Jul;63(7):1035-42.

Pham-Huy LA., He H and Pham-Huyc C., (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2): 89- 96.

Pincemail J., Bonjeu K., Cayeux K., Delfraigne J. O.,(2002). Mécanismes physiologique de la défense anti-oxydante physiological action of antioxydant defences. *Nutrition clinique et Métabolisme*. 16 : 233-239.

Plazza national de Taza. (2006).plan de gestion (2000-2005).partie A : approche descriptive et analytique .37p

Prieto P.,Pineda M.,Aguilar M.,(1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269 (2): 337–341.

R

Rashmi S et Rajkumar H.G ., (2014). Preliminary phytochemecal screening of different solvent extracts of lichenss from kodagu district, karnataka

-Redondo M., Chacana P.A., Dominguez J.E et Mijakawa M.E.F., (2014). Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. Ed, Joshura D. Nosanchuk. Albert Einstein, college medicine, USA

Richter R., (1993). Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Ed presses romandes. ISBN : 2-88074-231-5.

Rojas, I. S.; Lotina-Hennsen, B. & Mata, R., (2000). Effect of lichen metabolites on thylakoid electron transport and photophosphorylation in isolated spinach chloroplasts. *Journal of Natural Products*, 63, 1395-1399.

Rowe, J. G.; Saenz, M. T.; Garcia, M. D. & Gil, A. M., (1991). Nouvelle contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne et identification des substances lichéniques de quelques lichens de sud de l'Espagne. *Annales Pharmaceutiques françaises*, 49 (5), 278-285

S

Schrader M et Fahimi H.D., (2006). Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1763: 1755-1766.

Selvamohan.T, Ramadas .V, Shibila Selva Kishore.S., (2012). Antimicrobial activity of selected medicinal plants against some selected human pathogenic bacteria ,*Advances in Applied Science Research*, 3 (5):3374-3381

Sharma A.k.,Sharma M.C.,Dobhal M.P.,(2012).phytochemical investigation of therapeutic important lichen perlata J.Nat.Prod.PlantResour.2(1):101

Shrestha.,G, Clair.,L.L.ST., (2013). Lichens: a promising source of antibiotic and anticancer drugs,*Phytochem Rev* ,12:229–244.

Shukla, V., Joshi, G, P.,Rawat, M, S, M., (2010). Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review, *Phytochem Rev*, 9:303–314.

Shukla V.(2014). Lichens to Biomonitor the Environment. Springer, India, 185p

T

Tang F., Chen S.R., Wu X.Q., Wang T.Q., Chen J.W., Li J., Bao L.P., Huang H.D et Liu P.Q (2006). Hypercholesterolemia accelerates vascular calcification induced by excessive vitamin D via oxidative stress. *Calcified tissue international*. 78: 326-339.

Thomson, W.A.R., (1978). Medicines from the Earth Maid en head, United Kingdom.

M

McGraw-Hill Book Co in Mahesh ,B Satish, S. ,(2008), Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plant Against Plant and Human Pathogens , *World Journal of Agricultural Sciences*, vol 4 : 839-843.

V

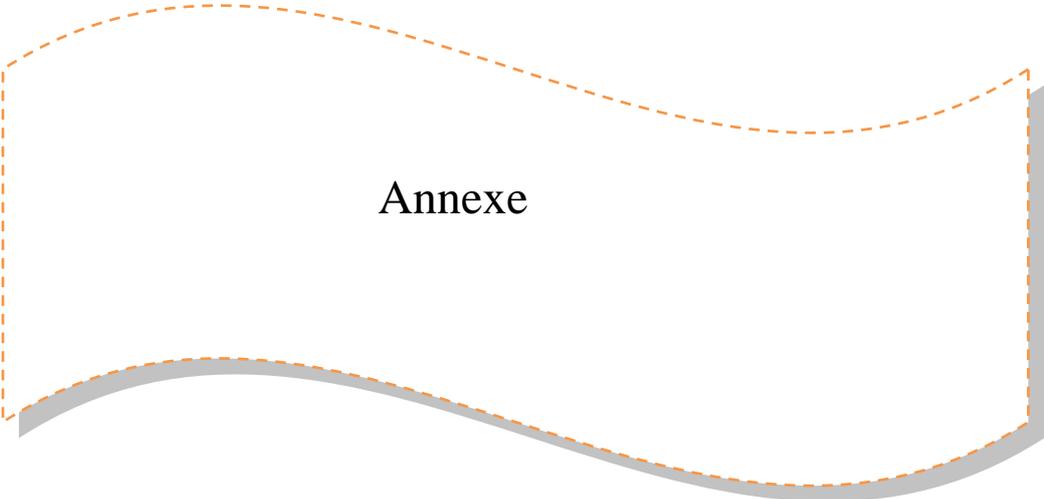
Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M etTelser J., (2007). Free radicals and antioxydants in normal physiological functions and human disease. *The international Journal of biochemistry and Cell Biology*. 39: 44-84.

Wu, H. (2007). Isolation and characterization of natural products from inger and *Allium Ursinum*. *ProQuest Edition*, p 28.

Yamamoto, Y.; Miura, Y.; Kinoshita, Y.; Higuchi, M.; Yamada, Y.; Murakami, A.; Ohigashi, H. & Koshimizu, K., (1995). Screening of tissue cultures and thalli of lichens and some of their active constituents for inhibition of tumor promoter-induced Epsteinbarr virus activation. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 43 (8), 1388-1390.

Z

Zambare V-P et Christopher L-P.,(2012). Biopharmaceutical potential of lichen 50(6) ; 778-798.



Annexe

Annexe

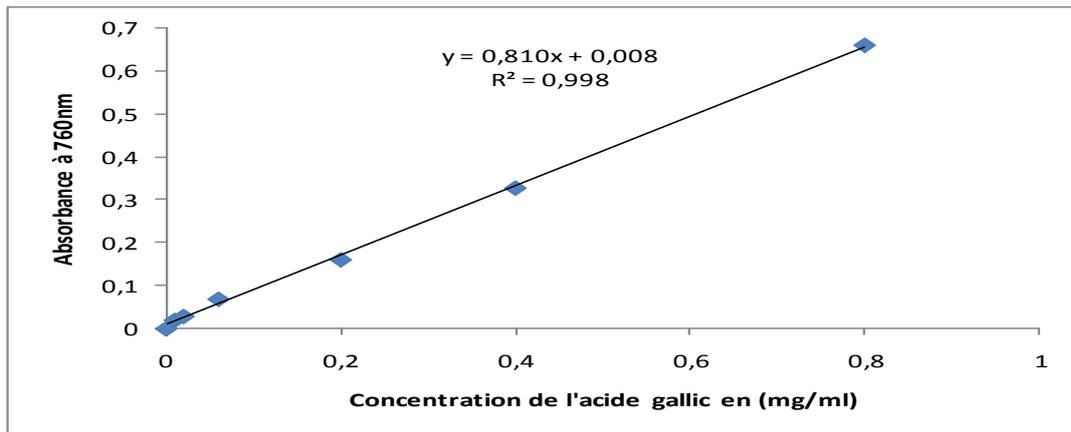


Figure 01 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

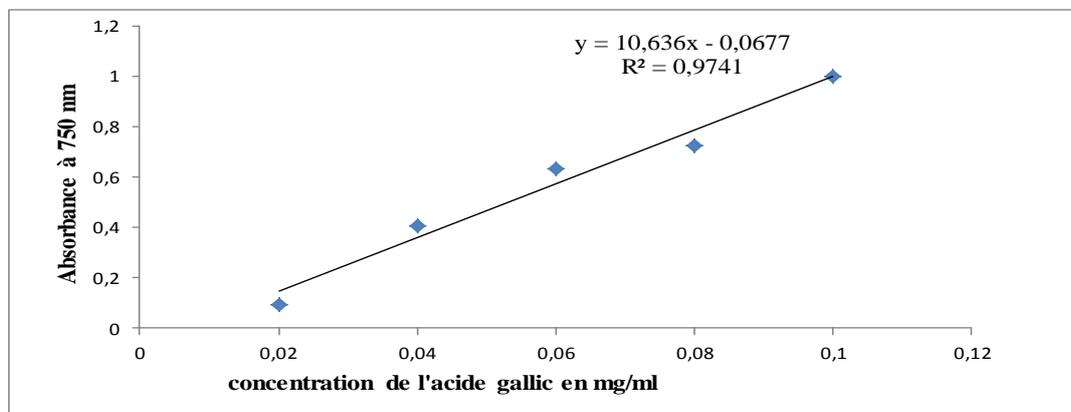


Figure 02 : Courbe d'étalonnage de polyphénols polaire.

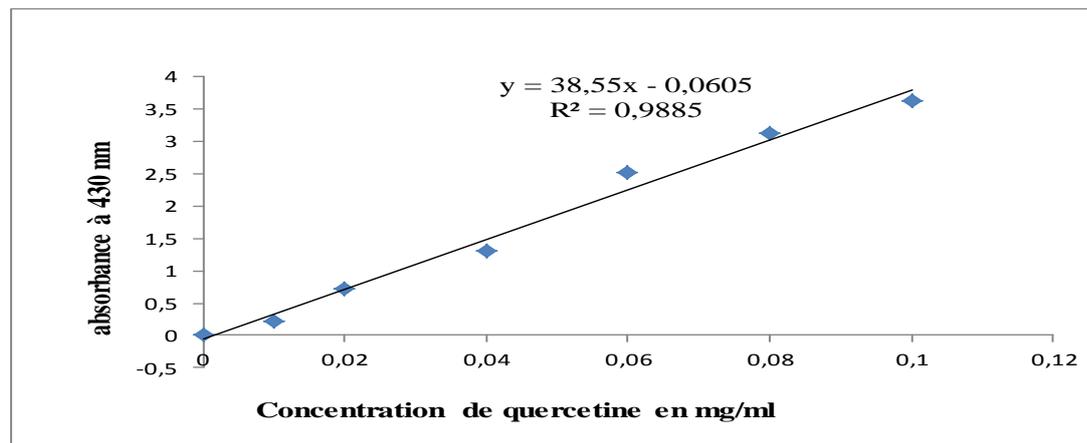


Figure 03 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux.

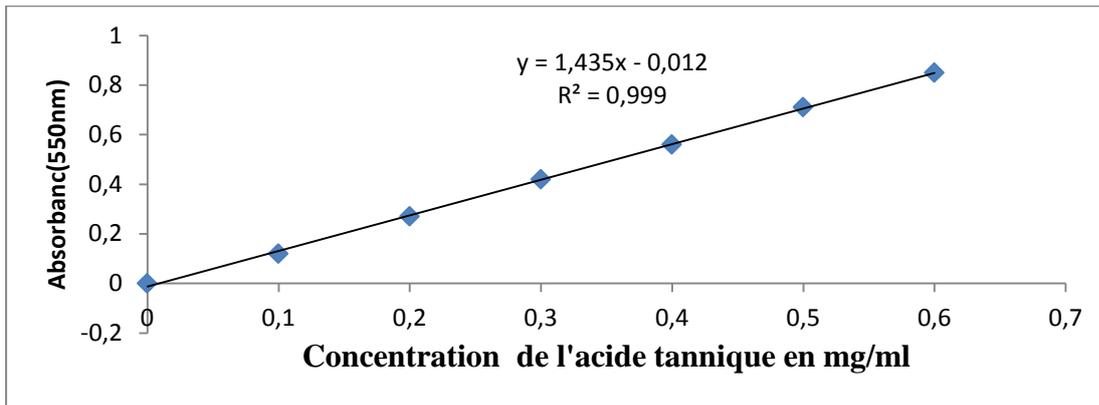


Figure 04 : Courbe d'étalonnage des tannins totaux.

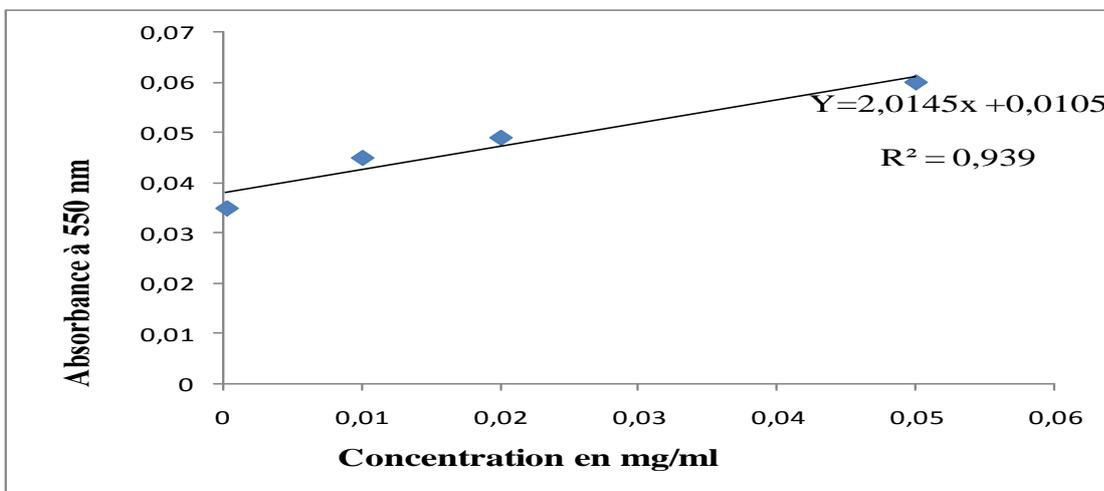


Figure 05 : Courbe d'étalonnage des tannins condensés.

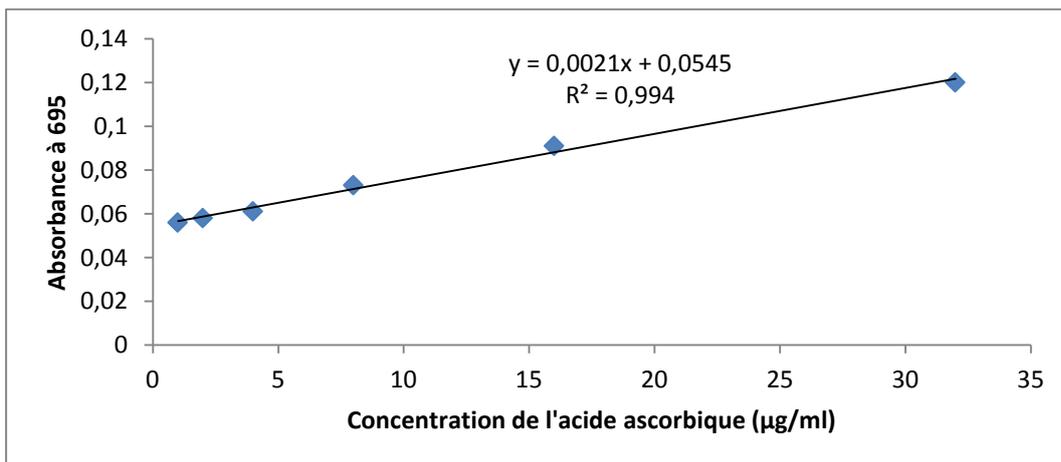
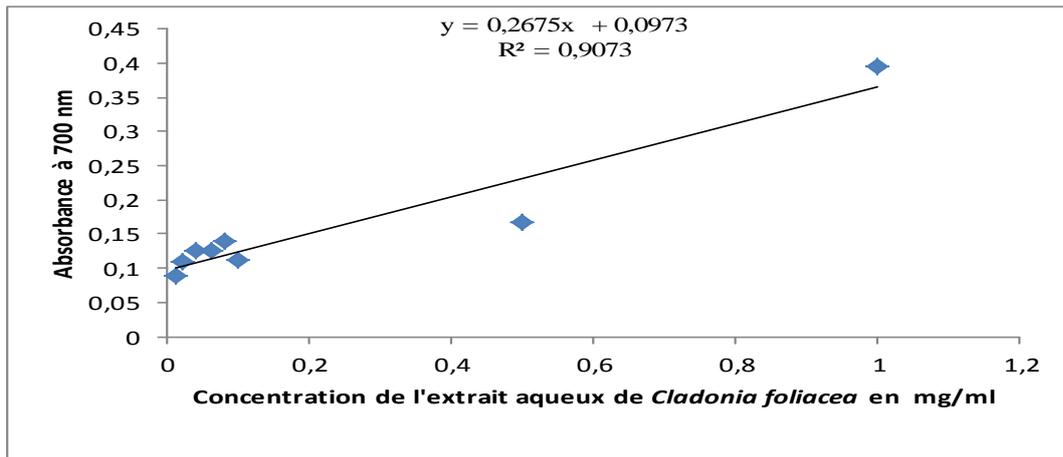
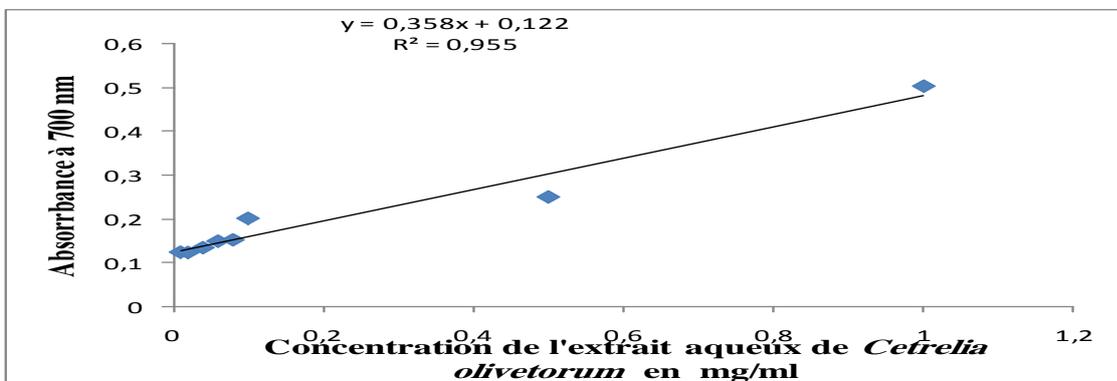
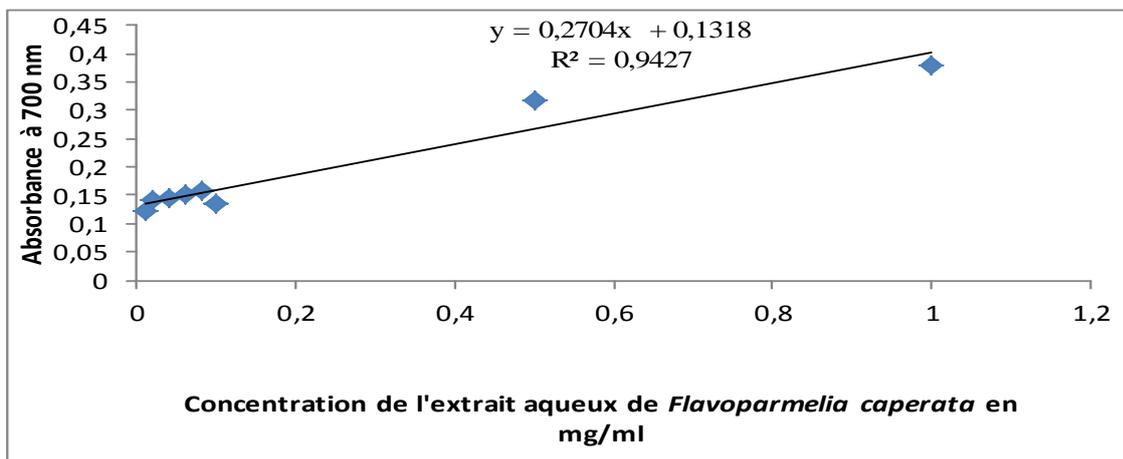
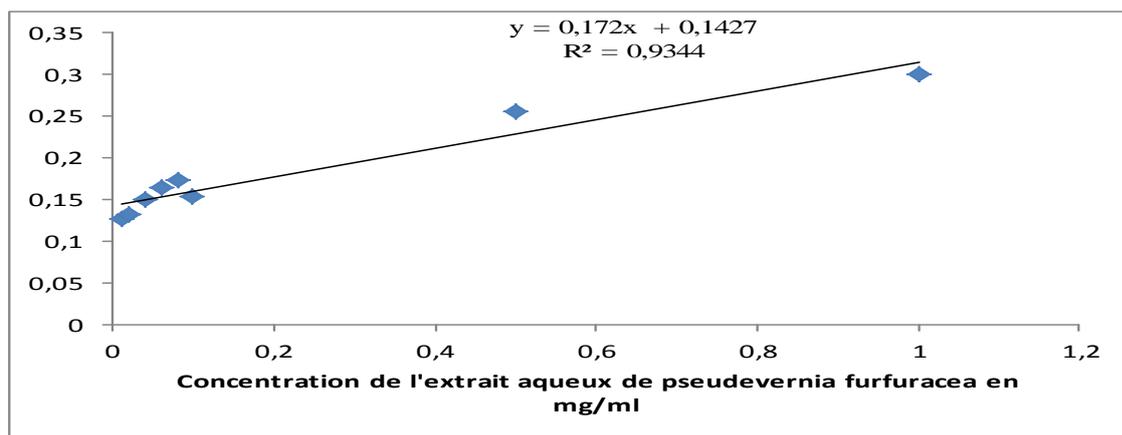
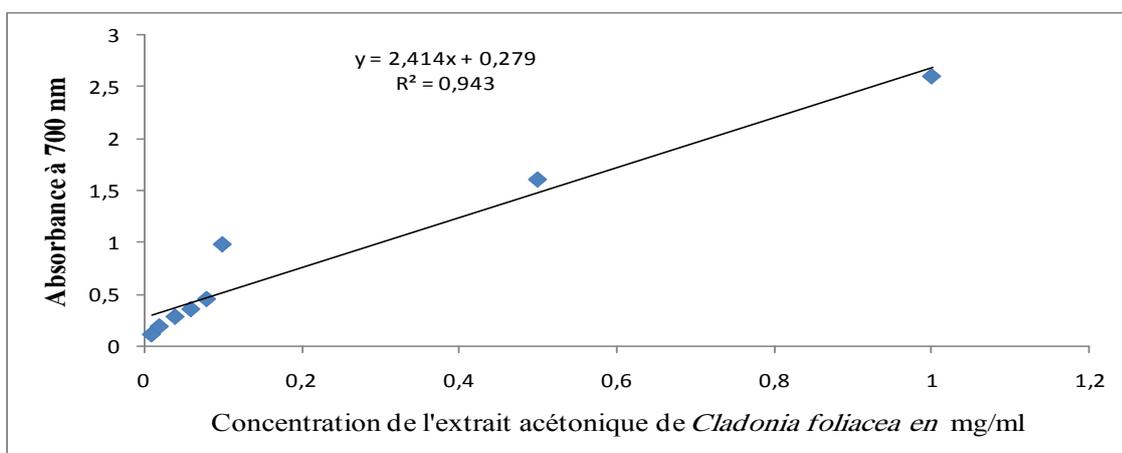
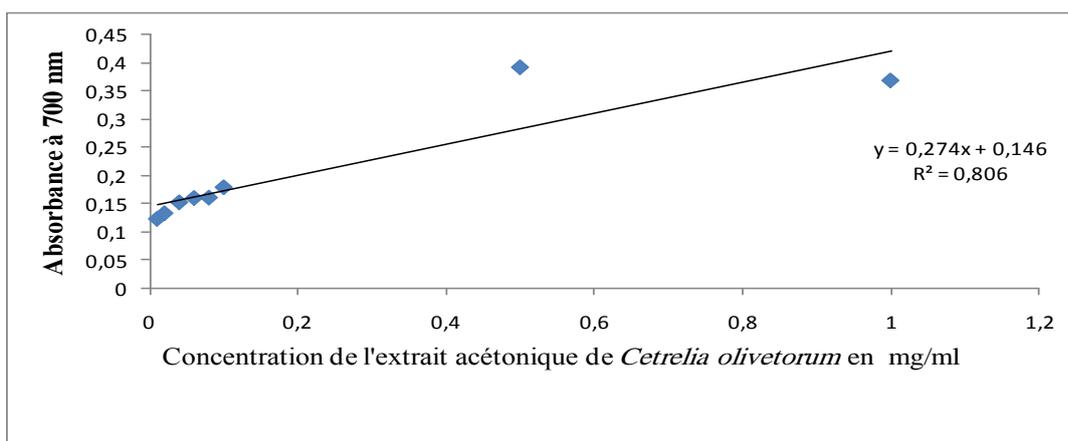
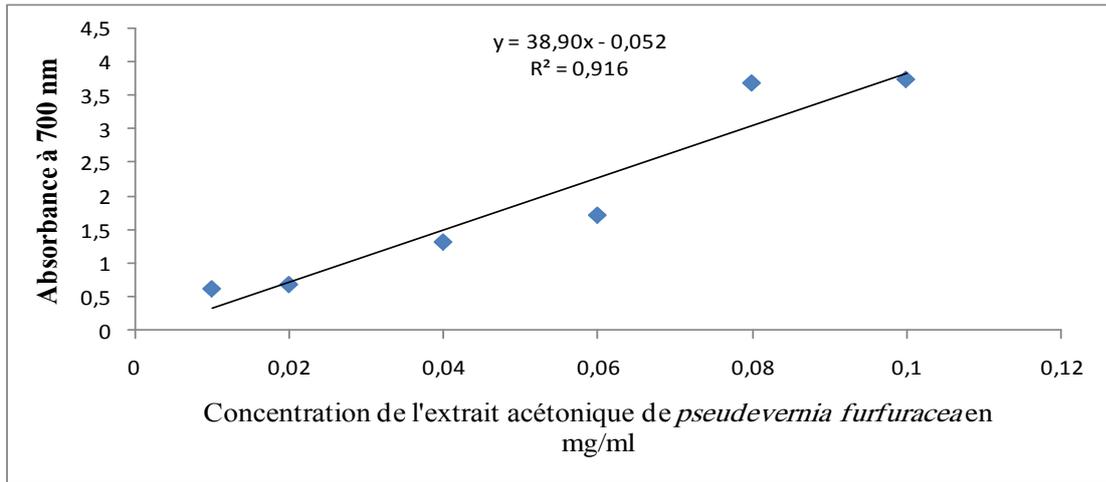
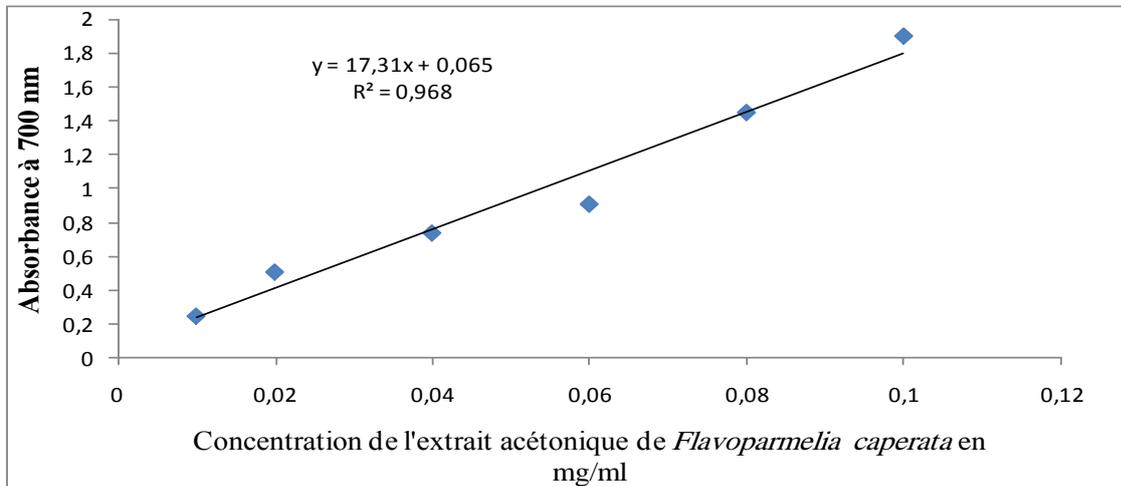
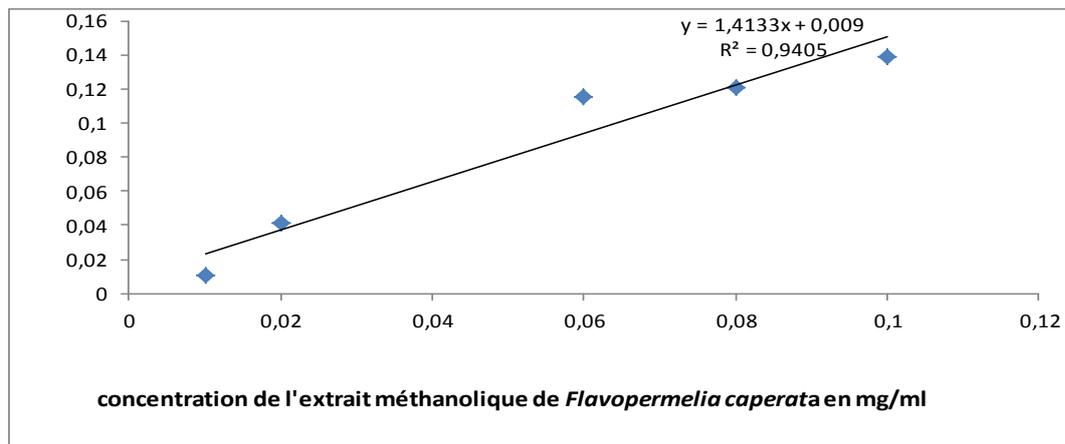


Figure 06 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour C.A.T

Figure07 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *Cladonia foliacea*.Figure08: Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *cetreria olivetorum*.Figure 09 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *flavoparmelia caperata*.

Figure 10 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *Pseudevernia furfuracea*.Figure 11 : Pouvoir réducteur de l'extrait acétonique de *Cladonia foliacea*.Figure 12 : Pouvoir réducteur de l'extrait acétonique de *Cetraria olivetorum*.

Figure 13 : Pouvoir réducteur de l'extrait acétonique de *Pseudevernia furfuracea*.Figure 14 : Pouvoir réducteur de l'extrait acétonique de *Flavoparmelia caperata*.Figure 15 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *Flavoparmelia caperata*.

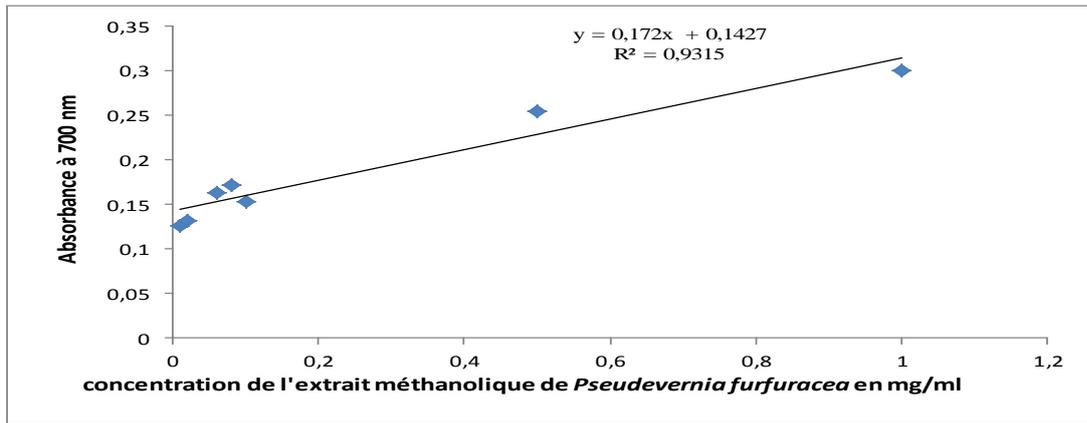
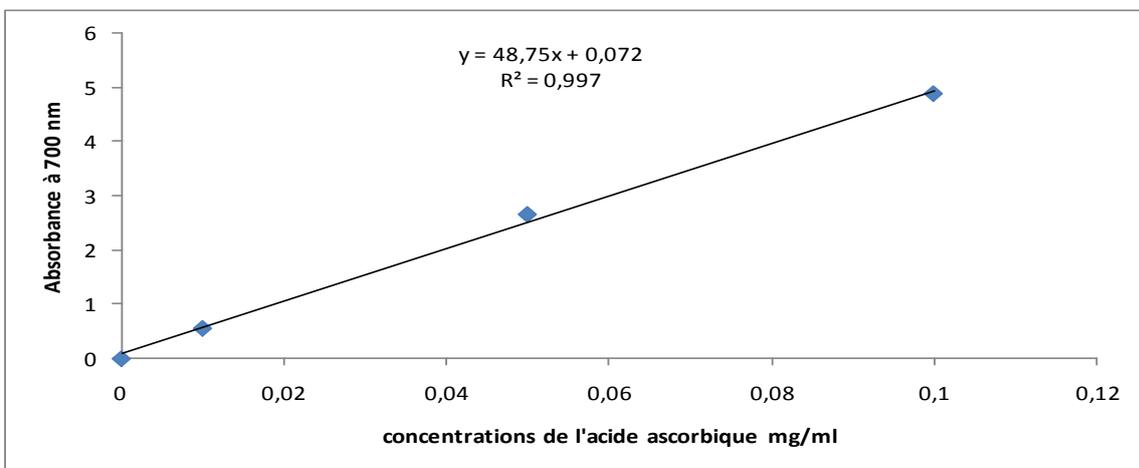
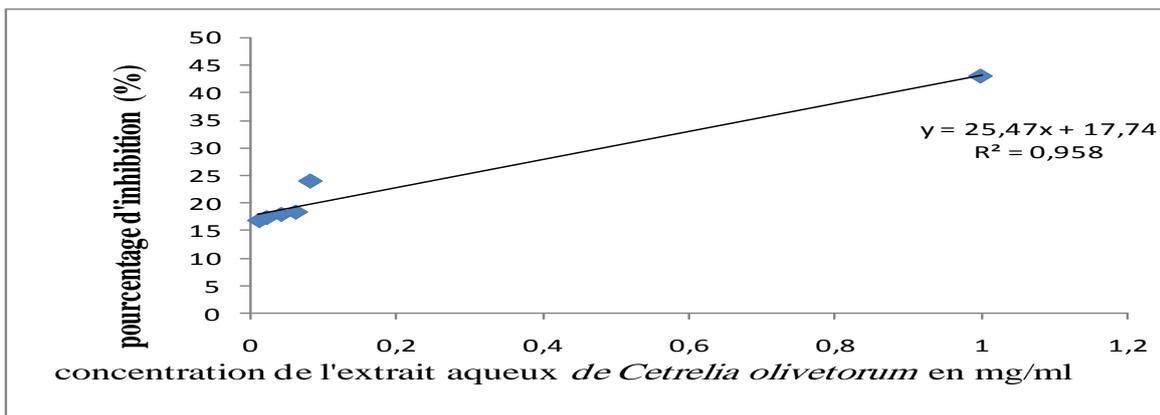
Figure 16 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *Pseudevernia furfuracea*.

Figure 17 : courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour FRAP.

Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH° par l'extrait aqueux de *Cetrelia olivetorum*.

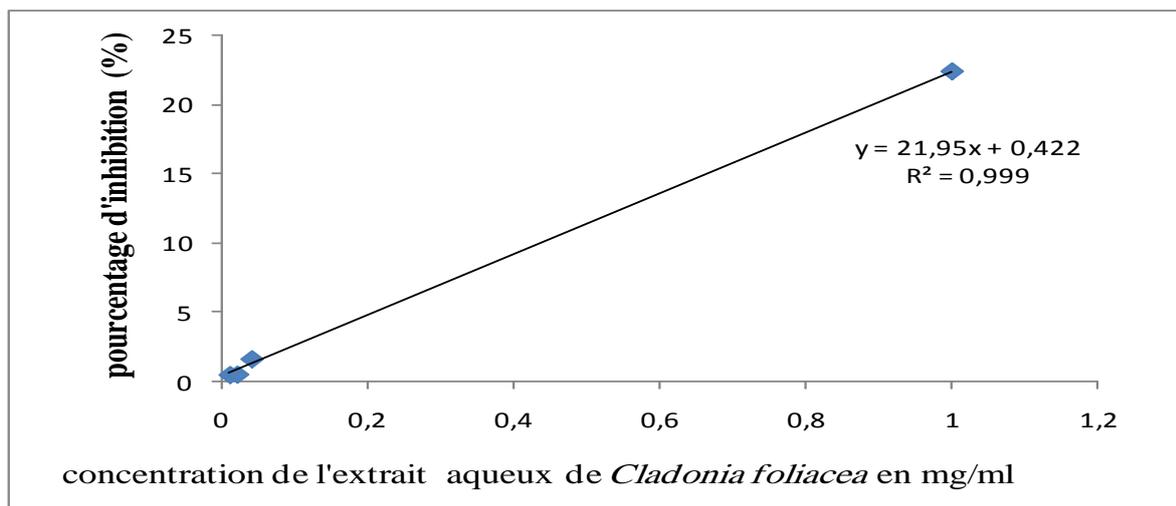


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° par l'extrait aqueux de *Cladonia foliacea*.

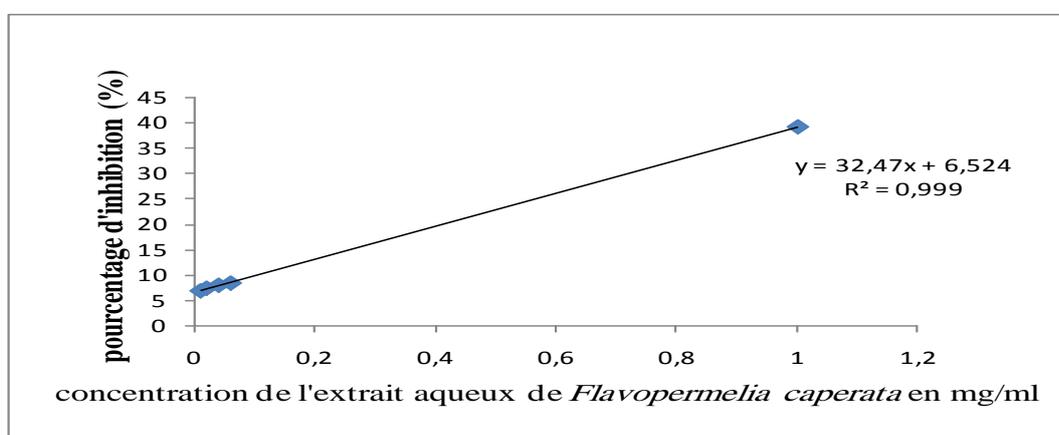


Figure 20: Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de *Flavopermelia caperata*.

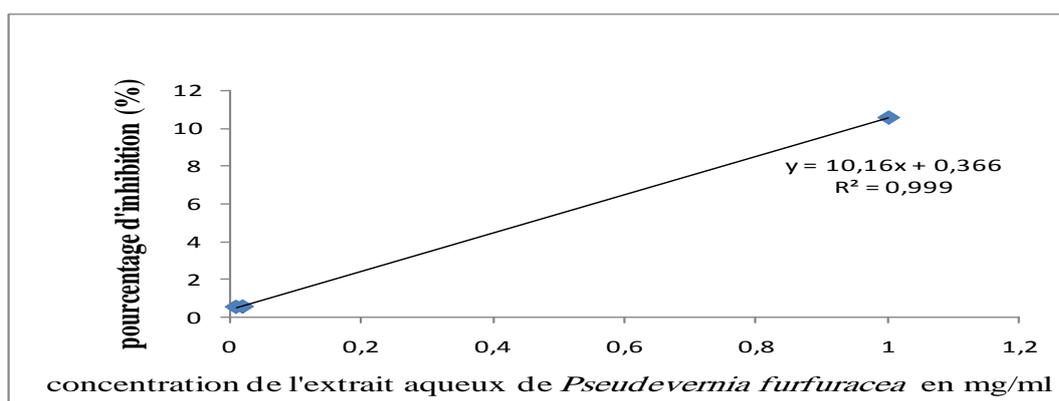


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de *Pseudevernia furfuracea*.

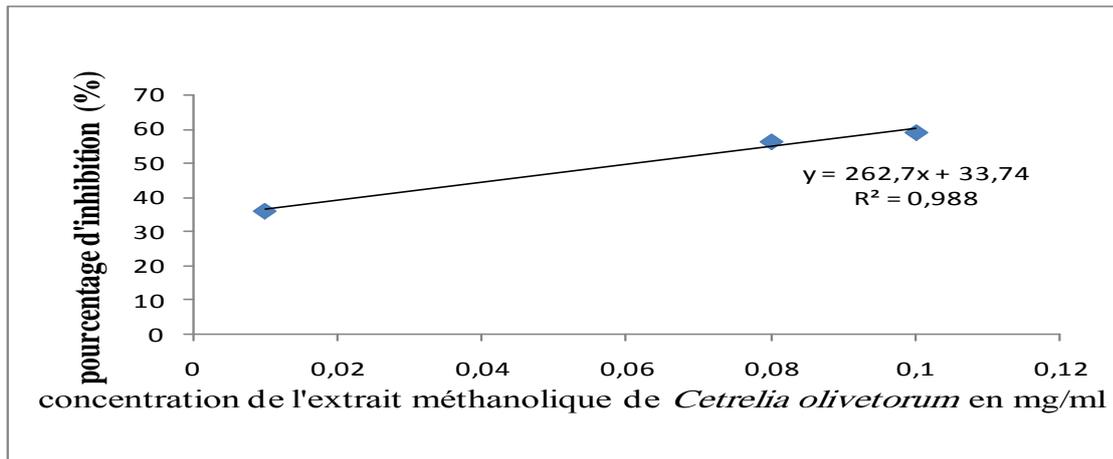


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH^o par l'extrait méthanolique de *Cetrelia olivetorum*

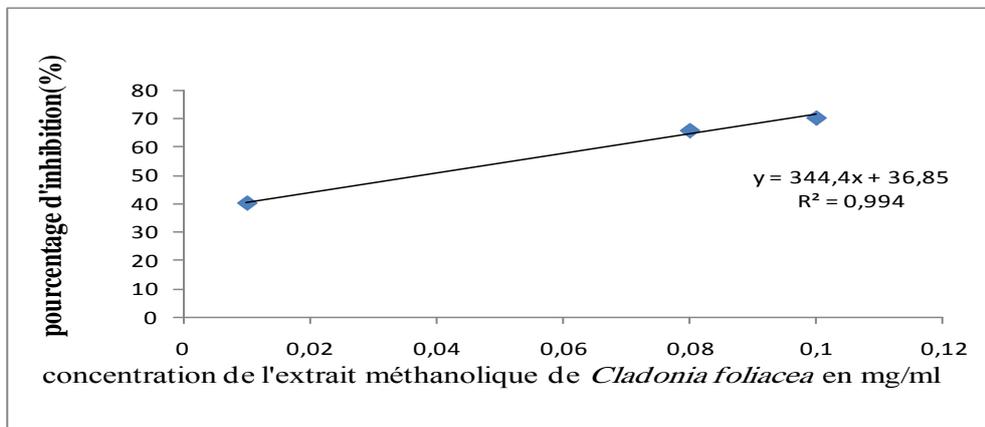


Figure 23 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait méthanolique de *Cladonia foliacea*.

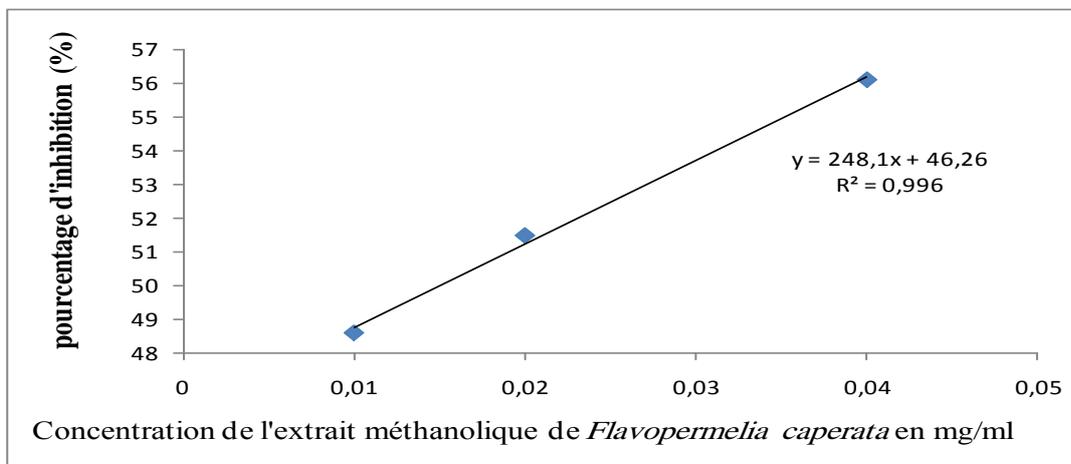


Figure 24 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait méthanolique de *Flavopermelia caperata*.

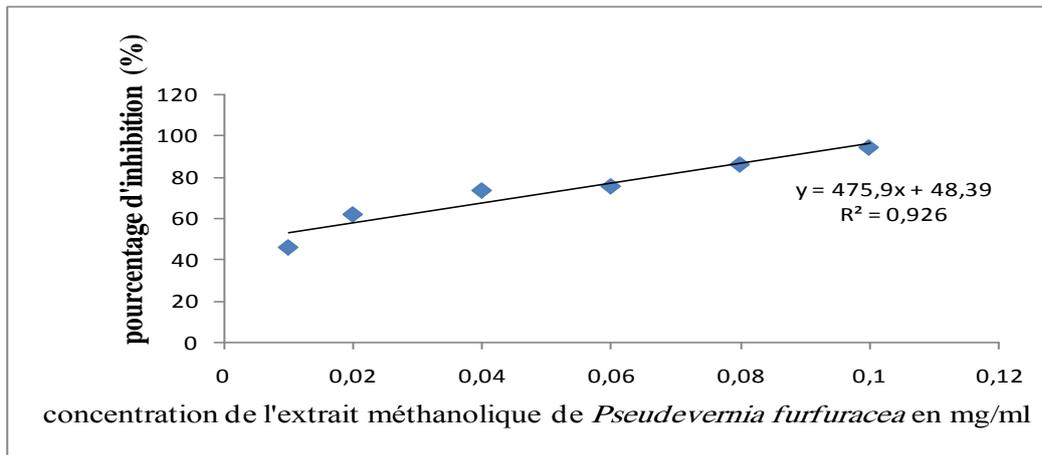


Figure 25 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° par l'extrait méthanolique de *Pseudevernia furfuracea*

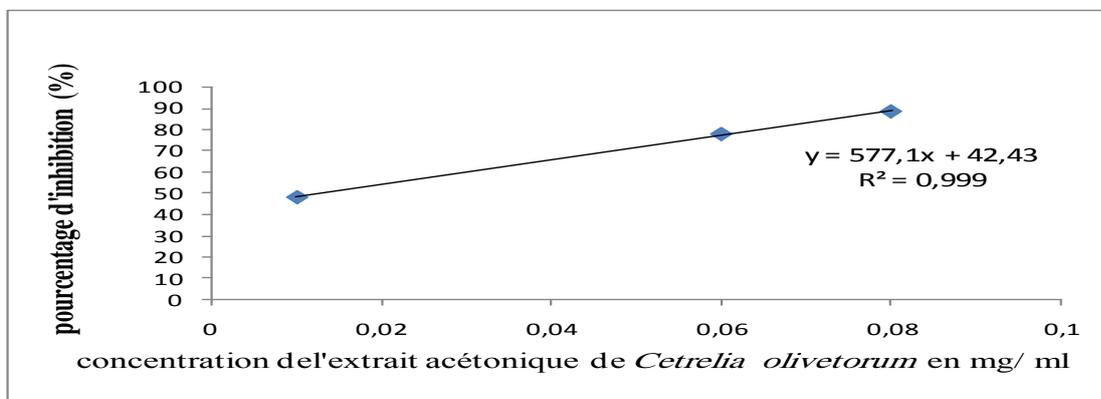


Figure 26: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° par l'extrait acétonique de *Cetraria olivetorum*.

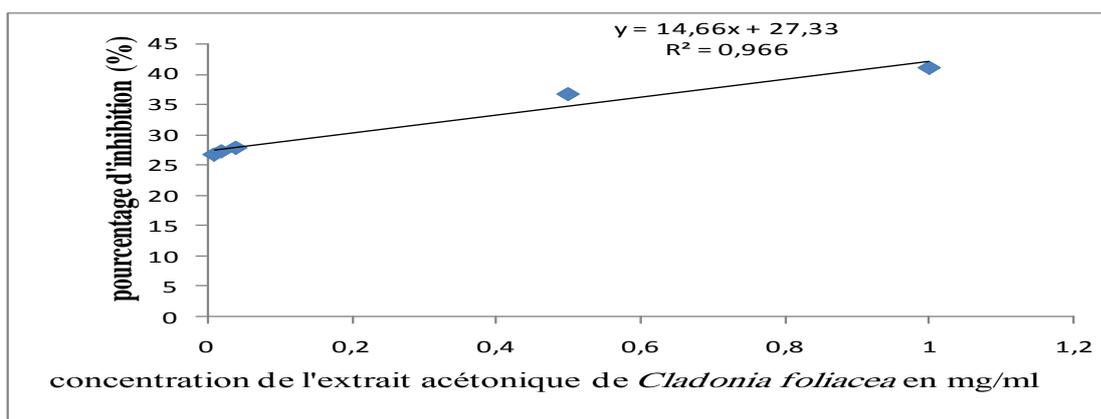


Figure 27 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° par l'extrait acétonique de *Cladonia foliacea*.

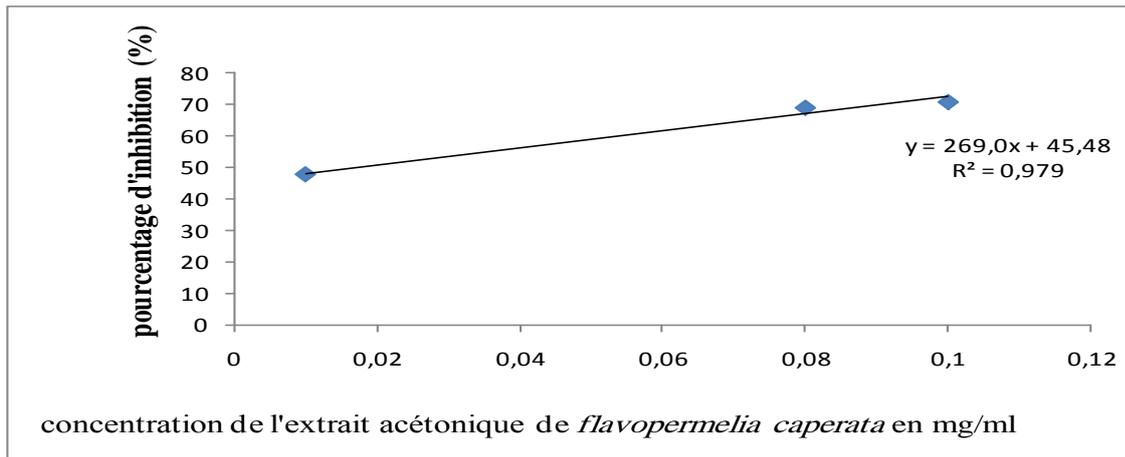


Figure 28 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° par l'extrait acétonique de *Flavopermelia caperata*.

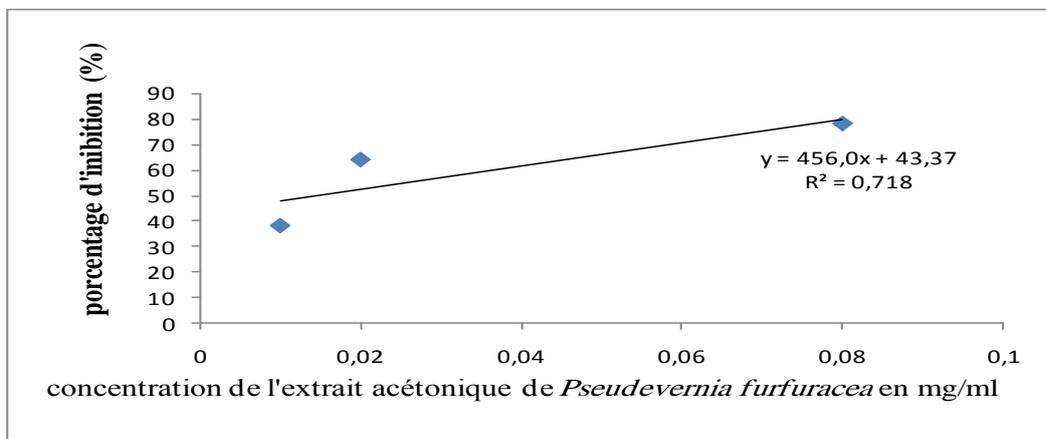


Figure 29 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° par l'extrait acétonique de *Pseudevernia furfuracea*.

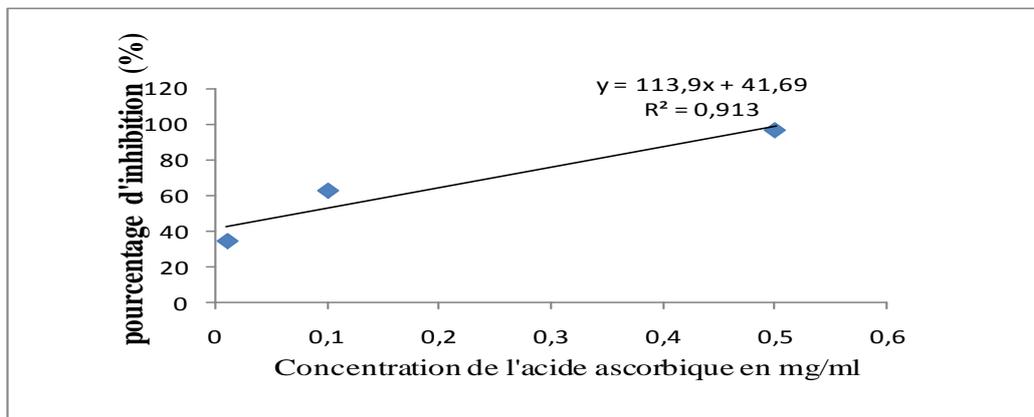


Figure 30 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour DPPH°

Présenté par : Bouladjoul Aicha Boumizez Hizia	Président : Mr Sebti M. Examinatrice : Mlle Benterrouche I. Encadrante : Mme Lemzeri H.
---	---

Thème : Etude phytochimique et potentiel anti-oxydant de quatre lichens de la région de jijel.

Résumé

Cette étude est une contribution scientifique à la détermination de certains composés phytochimiques, ainsi que l'étude de l'activité antioxydante in vitro de trois extraits des quatre espèces des lichens.

Notre travail a porté sur l'étude des extraits (acétonique, méthanolique et aqueux) des lichens, l'analyse de ces extraits par les tests colorimétriques a révélé la présence de quelques groupes chimiques : phénols, flavonoïdes et tannins.

L'activité antioxydante a été estimée par trois méthodes : la capacité antioxydante totale (C A T), FRAP et DPPH, les résultats d'analyse montrent que les extraits des lichens possèdent une activité antioxydante.

A partir de ces résultats intéressants on peut dire que les lichens constituent une source immense de molécules bioactives et ont une activité antioxydante, et ces résultats ont permis d'affirmer que l'activité antioxydante des lichens revient essentiellement aux composés phénoliques.

Mots clés : Lichens, Extraits, Phénols, Flavonoïdes, Tannins, Activité antioxydante, C A T, FRAP, DPPH.

Abstrac

This study is a scientific contribution to the determination of certain phytochemicals, as well as the study of the in vitro antioxidant activity of three extracts of the four species of lichens. Our work focused on the study of extracts (acetonic, methanolic and aqueous) lichens, analysis of these extracts by colorimetric tests revealed the presence of some chemical groups: phenols, flavonoids and tannins.

Antioxidant activity was estimated by three methods: total antioxidant capacity (C AT), FRAP and DPPH, the results of analysis show that lichen extracts have antioxidant activity. From these interesting results we can say that lichens are an immense source of bioactive molecules and have an antioxidant activity, and these results have made it possible to affirm that the antioxidant activity of lichens essentially amounts to phenolic compounds.

Key words: Lichens, Extracts, Phenols, Flavonoids, Tannins, Antioxidant Activity, C AT, FRAP, DPPH

المخلص

هذه الدراسة هي مساهمة علمية في تحديد بعض المواد الكيميائية النباتية ، فضلا عن دراسة نشاط مضادات الأكسدة في المختبر من ثلاثة مقتطفات من الأنواع الأربعة من الأشنات.

ركز عملنا على دراسة المستخلصات (الأسيتونية والميثانولية والمائية) ، وتحليل هذه المقتطفات عن طريق اختبارات اللونية كشف عن وجود بعض المجموعات الكيميائية: الفينولات ، الفلافونويد والتانينات ، DPPH و FRAP ، (C AT) تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة بثلاث طرق: القدرة المضادة للأكسدة الكلية أظهرت نتائج التحليل أن مستخلصات الأشنات لها نشاط مضاد للأكسدة.

من هذه النتائج المثيرة للاهتمام يمكننا القول أن الأشنات هي مصدر هائل من الجزيئات النشطة بيولوجيا ولها نشاط مضاد للأكسدة ، وقد جعلت هذه النتائج من الممكن التأكيد على أن النشاط المضاد للأكسدة من الأشنات يرقى أساسا إلى مركبات الفينولية

كلمات البحث؛ الأشنات، المستخلصات، فينول، فلافونويدات، التانينات،