

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université de Med-Seddik Benyahia Jijel

Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des Sciences de l'Environnement
et des Sciences Agronomiques



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم علوم المحيط والعلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'études

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

Option : Toxicologie de l'environnement

Thème

Etude de la variation de l'activité biologique de
quelques espèces bio-indicatrices (Lichens)

Jury de soutenance :

- Président: M^{me} Lekroune Z.
- Examineur: M^{elle} Benterrouche I.
- Encadrant: M^{me} Lemzeri H.

Présenté par :

M^{elle} Lacheb Chahinez
M^{elle} Rechoua Amina

Session ...Juin 2017

Numéro d'ordre :...../....

Laboratoire de pharmacologie

Remerciement

« Je tiens à remercier **Dieu** le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail ».

Ce travail a été réalisé au niveau de « Pharmacologie » de la faculté SNV de l'université

Med- Seddik Ben Yahia Jijel.

Je tiens avant tout à exprimer mes remerciements les plus sincères à M^m Lemzeri H, maître de conférences à l'université Med- Seddik Ben Yahia de Jijel pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire.

Je tiens également à remercier :

M^{me} Lekroune Z, maître de conférences à l'université Med- Seddik Ben Yahia de Jijel, pour avoir accepté de présider le jury.

M^{lle} Benterrouche I, maître de conférences à l'université Med- Seddik Ben Yahia de Jijel, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, à tous ceux et celles qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude et nos remerciements.

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches.

A mon cher frère : Walid

A mes chères sœurs : Nouna, Amel, Rania et Manel

A mon Fiancé : Ramzi

A mes amies : Kenza, Hadjer et Amina

A toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail

Amina

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches.

A mes chers frères : Mohamed, Yaakoub et Fayçal

A mes chères sœurs : Djoumana et zineb

A mon Fiancé : Ghani

A mes amies : Wafa, Sara, Chafia et Souad

A toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail

Chahinez

Liste des abréviations.....	iv
Liste des photos	vi
Liste des figures	vii
Liste des tableaux.....	viii
Introduction général :	1

Partie I : Recherche bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les lichens

1. Définition	3
2. Ecologie et répartition	4
3. Utilisation des lichens	4
3.1. Bio indicateurs de pollution	4
3.2. Propriétés médicinales et pharmacologiques	4
3.3. Autres applications	4

Chapitre II : Le métabolisme lichénique

1. Définition	6
2. Métabolisme primaire	6
3. Métabolisme secondaire.....	6
3.1. Voies de biosynthèse des métabolites secondaires	7
3.1.1. Voie de l'acide mévalonique.....	7
3.1.2. Voie de l'acide shikimique	8
3.1.3. Voie de l'acétate polymalonate.....	8
4. Molécules bio actives.....	8
4.1. Les composés phénoliques.....	8
4.1.1. Les flavonoïdes	9
4.1.2. Les tannins	9
4.1.3. Les coumarines	10
4.1.4. Les quinones	10
4.1.5. Les lignanes.....	10
4.1.6. Les stilbènes.....	10
4.2. Les terpènes.....	11
4.3. Les alcaloïdes	11

Chapitre III : Activités biologiques

1. Activité anti-oxydante.....	12
1.1.Le stress oxydant.....	12
1.2. Les radicaux libres	12
1.3. Conséquence du stress oxydatif.....	13
1.4. Biomarqueurs du stress oxydant.....	13
1.4.1. Biomarqueurs de l'oxydation des lipides	13
1.4.2. Biomarqueurs de l'oxydation des protéines	14
1.4.3. Biomarqueurs de l'oxydation des acides nucléiques.....	14
1.5. Système de défense antioxydants	14
1.5.1. Système enzymatique	14
1.5.2. Système non enzymatique	15
2. Activité anti-bactérienne	16
3. Autres activités.....	16
3.1. Activité anticancéreuse.....	16
3.2. Activité anti-inflammatoire	16

Partie II: Experimentale

Chapitr IV : Matériel et méthodes

1.Etude phytochimique	17
1.1.Matériel Végétal	17
1.2. Méthodologie.....	20
1.2.1. Préparation des échantillons	20
1.2.2. Préparation des extraits lichéniques	20
1.2.3. Dosage des composés phénoliques	21
1.2.3.1.Dosage des polyphénols totaux	21
1.2.3.2.Dosage des polyphénols polaires.....	22
1.2.3.3. Détermination de la teneur en polyphénols à polaires.....	23
1.2.3.4. Dosage des flavonoïdes	23
1.2.3.5. Dosage de tannins.....	24
2. Evaluation de l'activité biologique des extraitsméthanoliques.....	25
2.1. L'activité anti-oxydante.....	25
2.1.1. Test de la réduction du fer FRAP : Pouvoir réducteur.....	26
2.1.2. Activité anti-radicalaire du DPPH.....	27
2.2. L'activité anti bactérienne	28
2.2.1. Choix des bactéries.....	28

2.2.2. Méthodologie	29
3. Test de toxicité	30
3.1. Principe du test	30
3.1.1. Essai limite	30
4. Analyse statistique	32

Chapitre V : Résultats et interprétation

1. Teneurs composés phénoliques.....	33
1.1. Teneur des extraits lichéniques en polyphénols totaux	34
1.2. Teneur des extraits lichéniques en polyphénols polaires	34
1.3. Teneur des extraits lichéniques en polyphénols à polaires	34
1.4. Teneur des extraits lichéniques en flavonoïdes totaux	34
1.5. Teneur des extraits lichéniques en Tannins	34
2. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits lichéniques	35
2.1. Evaluation du pouvoir réducteur	35
2.2. Evaluation de l'effet anti radicalaire contre le radical DPPH	37
3. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits lichéniques	39
4. Test de toxicité.....	40
Discussion	41
Conclusion	45
Références bibliographiques	47
Annexe	

- : Pas de résultats

% : Pourcentage.

° : Degré

µg : Microgramme

µl : Microlitre

Abs : Absorbance

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGE : Produit de glycation avancé

AGPI : Acide gras polyinsaturé

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

C : Atome de Carbone

C° : Degré Celsius.

DPPH : 2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl.

E. Coli : Escherichia coli

EB : Extrait brut

ERN : Espèce réactive de l'azote

ERO : Espèces réactives dérivée de l'oxygène.

FeCl₃ : Chlorure de fer

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

g : Gramme

GSH : Glutation

h : Heurs

HCl : Acide chlorhydrique

IC₅₀ : Concentration inhibitrice.

K_3FeCN : Ferrocyanure de potassium.

Kg : Kilogramme.

KI : Iodure de potassium.

LDL : Lipoprotéine de basse densité.

M : Molaire.

mg : Milligramme.

mgEAG/g : Milligramme équivalent acide gallique par gramme.

mgEAT/g : Milligramme équivalent acide tannique par gramme.

mgEQ/g : Milligramme équivalent quercitine par gramme.

Min : Minute.

ml : Millilitre.

Mm : Millimètre.

Na_2PO_4 : Phosphate dissodique.

$NaCO_3$: Carbonate de sodium.

nm : Nanomètre.

OH : Hydroxyde.

pH : Potentiel d'hydrogène.

R : Résidus d'acide gras.

RS : Résidus sec.

T : Température.

TCA : Acide Trichloracétique.

UV : Ultraviolet.

UVA : Ultraviolet A.

UVB : Ultraviolet B.

Photo 1: lichens.....3
Photo 2: *Flavoparmelia caperata* (L.).....17
Photo 3: *Cetrelia olivetorum* (Nyl).....18

Tableau 1 : Fiche descriptive de l'espèce <i>Flavoparmelia caperata</i> (L.)	18
Tableau 2 : Fiche descriptive de l'espèce <i>Cetrelia olivetorum</i> (Nyl.)	19
Tableau 3 : Les composés phénoliques de <i>Flavoparmelia caperata</i> (L.) et <i>Cetrelia olivetorum</i> (Nyl.).....	33
Tableau 4 : La CR0.5 des deux extraits et de l'acide ascorbique.	36
Tableau 5 : IC ₅₀ des deux extraits et de l'acide ascorbique.	38
Tableau 6 : Effet du méthanol et de l'antibiotique.....	39
Tableau 7 : Diamètre des zones d'inhibition en mm obtenus par les extraits méthanolique de <i>Cetrelia olivetorum</i> (Nyl) et <i>Flavoparmelia caperata</i> (L.).....	39
Tableau 8: Résultats du test de toxicité.....	40

Figure 1 : Exemples de produits contenant des extraits de lichens.....	5
Figure 2 : Les voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques.....	7
Figure 3 : Représentation schématique de l'origine des marqueurs d'oxydation des cibles biologiques au cours du processus du stress oxydant.	13
Figure 4 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés du réactif de l'oxygène.....	15
Figure 5 : Carte géographique montrant la zone de collecte de lichens.	20
Figure 6 : Etapes de préparation de l'extrait lichénique.	21
Figure 7 : Protocole de dosage de polyphénols totaux.....	22
Figure 8 : Protocole de dosage de phénols polaires.....	23
Figure 9 : Protocole de dosage de flavonoïdes.	24
Figure10: Protocole de dosage des tannins condensés.....	25
Figure11 : Protocole de dosage des tannins hydrolysables.....	25
Figure 12 : Protocole de la détermination du pouvoir réducteur.	27
Figure 13 : Protocole du test au DPPH.	28
Figure14 : Teneurs en composés phénoliques chez les deux espèces.....	33
Figure 15 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et les deux extraits.	35
Figure16 : La concentration nécessaire pour la réduction de 50% du fer des deux extraits et de l'acide ascorbique.	36
Figure17 : L'activité anti radicalaire de l'acide ascorbique et les deux extraits.....	37
Figure18 : Concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH des deux extraits et de l'acide ascorbique.	38

« *Lichens...* » Souvent confondus avec les mousses, ils présentent une telle diversité de formes et de couleurs. Les lichens sont des organismes singuliers résultant de l'association entre un champignon et un ou plusieurs partenaires photosynthétiques. Cette relation symbiotique leur confère notamment l'incroyable aptitude à coloniser des habitats extrêmes, faisant d'eux de véritables pionniers. Leur grande sensibilité au changement atmosphérique permet leur utilisation comme bio-indicateurs. Ainsi, la bioindication lichénique est devenue un outil de biosurveillance de la qualité de l'environnement et en particulier celui de la qualité de l'air.

En effet, si certains lichens sont sensibles à la pollution, d'autres s'avèrent très résistants à des environnements hostiles. Cette résistance est en grande partie liée aux propriétés biologiques de métabolites secondaires originaux, essentiellement produits par le partenaire fongique (**Amandine, 2015**).

Les civilisations anciennes leurs connaissaient déjà des propriétés remarquables : les égyptiens les utilisaient par exemple pour préserver l'odeur des épices d'embaumement ou encore pour traiter les maux (**Elix, 1996**). Bien que moins utilisés que les plantes en médecine traditionnelle, ils sont devenus plus récemment des sources potentielles de substances biologiquement actives (**Amandine, 2015**).

Parmi les 1050 substances lichéniques décrites (**Stocker-Wörgötter, 2008**), seules quelques-unes sont disponibles commercialement, et le potentiel d'une grande partie d'entre elles reste peu voire pas étudié. En effet, la principale difficulté est d'extraire et d'isoler ces composés en quantité suffisante, avec une pureté convenable, pour en préciser les structures et en évaluer l'activité biologique (**Muggiaet al., 2009**).

Les applications des lichens étant bien connues, les propriétés biologiques de différents types d'extraits lichéniques font l'objet d'une multitude de travaux. Pour les industries pharmaceutiques, la recherche de nouveaux antibiotiques est une préoccupation majeure en termes de santé publique (**Amandine, 2015**).

Face au développement de formes résistantes de bactéries vis-à-vis des traitements antibactériens conventionnels, les métabolites lichéniques sont étudiés comme alternatives. En effet, plus de 50 % des lichens possèderaient une activité antibiotique et représenteraient donc une source importante de nouveaux composés bioactifs (**Zambare et Christopher, 2012**).

L'étude que nous avons menée vise l'exploration de quelques activités biologiques de lichens à partir d'un échantillon d'espèces bio-indicatrice de pollution. Nous avons axé nos travaux sur *Flavoparmelia caperata* (L.) et *Cetrelia olivetorum* (Nyl), ces deux espèces épiphytes foliacées qui sont très répandus dans le nord algérien qui sont des bio-indicateurs de la qualité de leur écosystème, ces deux lichens sont récoltés de la région de Jijel qui est connu par sa richesse et sa biodiversité végétale.

Ainsi le présent travail est structuré comme suit :

-La première partie décrira les lichens et plus particulièrement leurs métabolites secondaires, leurs voies de biosynthèse, ainsi que leurs propriétés biologiques à travers une revue bibliographique.

-La seconde partie « expérimentale » est organisée d'une façon à réaliser les points suivants :

- ✓ la quantification des composés phénoliques des extraits méthanoliques (les phénols totaux, les phénols polaires, les phénols apolaires, les flavonoïdes, et les tannins)
- ✓ l'évaluation de la variation de l'activité anti-oxydante (par le test du DPPH, le pouvoir réducteur)
- ✓ l'évaluation de l'activité antibactérienne sur deux souches de Gram négatif (*Escherichia. coli* et *Klebsiella pneumoniae*)
- ✓ le test de toxicité aiguë (essai limite) pour les deux extraits bruts méthanoliques des lichens testées.

-La troisième partie traite les résultats obtenus. Cette dernière se termine par une discussion et une conclusion générale.

1. Définition

Les lichens sont des organismes symbiotiques singuliers capables de s'adapter à des conditions environnementales extrêmes. Cette aptitude est possible en particulier grâce à la production de métabolites secondaires originaux qui possèdent pour la plupart des propriétés antimicrobiennes (Amandine, 2015).

Ces êtres vivants, résultent de l'association symbiotique d'un champignon appelé mycobionte (du grec mykes : champignon ; bios : vie) et d'une algue verte et/ou d'une cyanobactérie appelées photobionte (du grec photo : lumière ; bios : vie) (Yuan et al., 2005).

Le mycobionte appartient généralement au groupe des Ascomycètes (98%) et plus rarement au groupe des Basidiomycètes (2%), Quant aux algues, elles appartiennent majoritairement à la classe des Chlorophycées ou algue verte (Boustie et Grube 2005).

Cette symbiose confère aux lichens une structure et une reproduction spécifiques par rapport à chaque constituant seul. A la différence des plantes supérieures, ils ne possèdent ni racine, ni tige, ni feuille, mais un appareil végétatif rudimentaire : le thalle. La découverte de fossiles suggère qu'ils seraient apparus il y a quelques 600 millions d'années (Yuan et al., 2005).



Photo 1 : Lichens (Amandine, 2015).

2. Ecologie et répartition

Les lichens sont répandus à travers presque toutes les régions du monde : des zones les plus extrêmes, vers les pôles, dans les déserts rocheux, et représentent environ 8 % de la couverture terrestre (**Lange et al., 2001**). Ils colonisent la roche la plus dure, le sol le plus désertique et peuvent supporter de très fortes variations de température. Aussi, les lichens sont capables de reviviscence, c'est-à-dire de passer rapidement, réversiblement et répétitivement de l'état sec à l'état hydraté, en particulier en haute montagne (**Aubert et al., 2007**).

3. Utilisation des lichens

3.1. Bio-indicateurs

Les indicateurs biologiques sont des espèces capables par leur comportement général (disparition, augmentation ou variation de densité) de rendre compte de l'évolution générale d'un milieu (**Amiard, 2011**).

Une des utilisations très répandue des lichens est leur capacité à « révéler les pollutions ». En effet, ils sont de véritables sentinelles de l'environnement car ils développent rapidement des réactions physiologiques et cellulaires en relation avec les stress environnementaux. Contrairement aux plantes, ils n'ont ni cuticule protectrice, ni stomate, ce qui augmente les échanges des lichens avec l'air ambiant (**Häffner et al., 2001**). Les espèces de lichens sensibles à la pollution sont utilisées comme bio-indicateurs (**Gombert et al., 2006 ; Thormann, 2006**), leur présence ou leur disparition étant un signe de bonne ou de mauvaise qualité de l'air, des sols ou des rivières (**Amandine, 2015**).

3.2. Propriétés médicinales et pharmacologiques

Les lichens ont été consommés en temps de famine, (**Karagözet al., 2009**), et ils sont utilisés depuis des siècles en médecine traditionnelle, soit dans leur intégralité, soit sous forme d'extraits. Les Indiens d'Amérique, les Egyptiens, les Indiens et les Chinois employaient les lichens pour traiter les maux, et en premier lieu comme expectorants (**Elix, 1996**).

3.3. Autres applications

Dans l'Egypte ancienne, les lichens étaient utilisés également comme parfums ou pigments (**Amandine, 2015**). A l'heure actuelle, les extraits des lichens sont largement utilisés en parfumerie (**Joulain et Tabacchi, 2009**). Outre les parfums, certains extraits lichéniques trouvent des utilisations dans des produits de soin, tels que les déodorants, ou les produits cosmétiques. Par exemple, les marques Polaar et Vertumne à Vénus proposent des gammes de produits à base

d'extrait de *Cetraria islandica* pour lequel elles revendiquent des propriétés hydratantes, purifiantes, déodorantes, antiseptiques et anti-oxydante (Amandine, 2015).



Figure 1 : Exemples de produits contenant des extraits de lichens (Amandine, 2015).

1. Définition

Le nombre de métabolites lichéniques isolés dépasse les 800 d'après le recensement datant de 1996 (**Huneck et Yoshimura, 1996**) et actuellement le nombre de substances lichéniques identifiées dépasserait les 1050 (**Stocker-Wörgötter, 2008**).

Ils produisent une large variété de composés organiques divisés en deux groupes principaux : le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire (**Amandine, 2015**).

Au sein du lichen, les métabolites secondaires ont essentiellement un rôle de défense vis-à-vis des facteurs environnementaux physiques et biologiques : exposition intense à des rayonnements ultraviolets (UV), défense contre les herbivores, compétition pour l'habitat...etc. Aussi, ces composés contribueraient à l'altération des roches afin de faciliter l'adhésion du lichen (**Seaward, 1997 ; Lisciet al., 2003**).

Certains métabolites jouent également un rôle important dans la compétition car ils peuvent avoir une activité allélopathique, c'est-à-dire qu'ils sont capables d'affecter le développement et la croissance des lichens, des champignons, des mousses, des micro-organismes et des plantes voisines. Cette concurrence en termes d'espace, de lumière sur des substrats variés est déterminante pour la structure des communautés lichéniques et pour la distribution des différentes espèces (**Armstrong et Welch, 2007**).

2. Le métabolisme primaire

Regroupent les protéines, les lipides, les polyols, les polysaccharides, les pigments (chlorophylles, xanthophylles, carotènes...etc) et autres composés organiques intervenant dans le métabolisme et la structure des lichens (**Podterob, 2008 ; Mitrovicet al., 2011**). Ils ne sont pas spécifiques aux lichens et sont également retrouvés chez les champignons, les algues et plantes supérieures. Les polysaccharides, en particulier, ont fait l'objet d'études démontrant leurs activités biologiques, notamment anti-tumorale, immunostimulante et antivirale (**Olafsdottir et Ingólfssdóttir et Omarsdóttiret al., 2007**). Ils sont produits en grande quantité dans les lichens et sont principalement des α - ou β -glucanes linéaires ou peu substitués, des galactomannanes, des galactoglucomannanes, et des hétéroglycanes complexes (**Stocker-Wörgötteret al., 2013**).

3. Le métabolisme secondaire

Les substances issues de ce métabolisme sont des substances originales divisées en plusieurs familles et sont principalement responsables de l'aptitude des lichens à se développer dans des conditions extrêmes. Ils représentent en moyenne 5 à 10 % de la masse sèche du thalle (jusqu'à 20 %) (**Shuklaet al., 2010**) et sont généralement excrétés des cellules fongiques pour former des

Chapitre II _____ Le métabolisme lichénique cristaux à la surface du thalle. Ils peuvent également être accumulés au niveau de la médulle, du cortex supérieur ou d'organes spécialisés tels que les fructifications (Oksanen, 2006). Ils sont essentiellement produits par le mycobionte, mais la majeure partie provient exclusivement de l'action synergique des deux partenaires dans le lichen (Müller, 2001).

3.1. Voies de biosynthèse des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires lichéniques peuvent être obtenus via trois voies de biogenèse proposées dans la littérature : la majorité de ces composés est dérivée de la voie de l'acétate polymalonate ou polycétidesynthase ; les autres métabolites secondaires sont issus des voies de l'acide shikimique et de l'acide mévalonique (Stocker-Wörgötter et al., 2013).

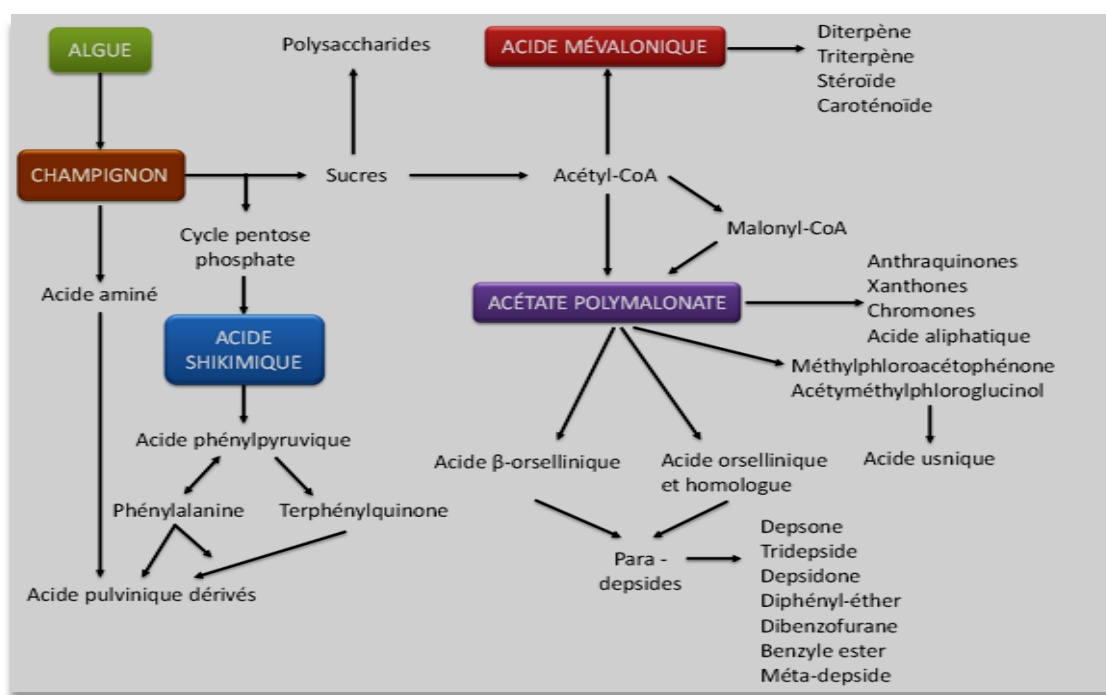


Figure 2: Les voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques (Elix, 1996 et Stocker-wörgötter, 2008).

3.1.1. Voie de l'acide mévalonique

La voie de l'acide mévalonique conduit essentiellement à la synthèse de mono-, di-, tri-, sesteret sesquiterpènes, stéroïdes et caroténoïdes (Huneck, 1999). Pour la plupart, ils ne sont pas spécifiques des lichens et sont issus de l'assemblage d'unités isopréniques formées à partir de l'acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA). L'isopentenylpyrophosphate (unité en C5), obtenu à partir de l'acide mévalonique, conduit soit au géranylgeranylpyrophosphate (unité en C20), précurseur des diterpènes et des caroténoïdes, soit aux sesterterpènes (unités en C25), soit au squalène (unité en C30), précurseur des stéroïdes et des triterpènes (Amandine, 2015).

3.1.2. Voie de l'acide shikimique

Cette voie permet la synthèse d'acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) qui, chez les plantes, sont les précurseurs des flavonoïdes, des coumarines, ou encore des alcaloïdes. En revanche, chez les lichens, des composés atypiques, tels que l'acide vulpinique et la calycine (Stocker-Wörgötter, 2008). La phénylalanine serait le précurseur, via la formation d'acide polyporique, de l'acide pulvinique dilactone, lui-même à l'origine de la calycine (Amandine, 2015).

3.1.3. Voie de l'acétate polymalonate

La voie de l'acétate polymalonate conduit à la synthèse des depsides, depsidones, depsones, dibenzofuranes, anthraquinones, xanthones, chromones, acides aliphatiques et dérivés de l'acide orsellinique (Eisenreich *et al.*, 2011 ; Kim *et al.*, 2012).

4. Molécules bioactives

Le règne végétal a fourni et fournit encore à l'humanité le plus grand choix de molécules bioactives (Adenot, 2000). L'année 1817 marque le début de l'obtention de substances pures à partir de plantes. Ces substances se caractérisent par le fait qu'elles contiennent de l'azote et que, dans la plupart des cas, celui-ci entre dans leurs structure moléculaire (Richter, 1993).

Les molécules bioactives peuvent être des métabolites secondaires. On peut les classer en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003).

4.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011), allant de simples molécules représentées par les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tannins, coumarines, stilbènes et les lignanes. (Dai et Mumper, 2010). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences) (Visioli, *et al.*, 2000).

La nature et la fonction des composés phénoliques s'accumulant dans les plantes sont variables. Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel

Chapitre II _____ Le métabolisme lichénique est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétérosid (**Bruneton, 1999**).

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme de la plante mais aussi peuvent réagir dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV). Toutes les catégories de composés phénoliques sont impliquées dans les mécanismes de résistance (**Dicko, et al., 2006**). Ils assurent la communication entre cellules, entre végétaux, entre végétaux et animaux (**Robert et Catesson, 2000**).

4.1.1. Les flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (**Edenharder et Grünhage, 2003**) et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C₆-C₃-C₆ de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane (**Yao et al., 2004**). La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C₂-C₃, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (**Yao et al., 2004 ; Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006**). En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; auresones (**Havsteen, 2002 ; Edenharder et Grünhage, 2003**).

4.1.2. Les tannins

Les tannins sont des substances polyphénoliques de structures variées, de masse moléculaire comprise en 500 et 3000 (**Merghem, 2009**). Ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant (**Roux et Catier, 2007**).

Très répandus dans le règne végétal ils peuvent exister dans divers organes. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. On distingue: les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Roux et Catier, 2007**).

- ✓ **Les tannins hydrolysables** : qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit

l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins(**Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999**).

- ✓ **Les tannins condensés** : qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone(**Bruneton, 1999**).

4.1.3. Coumarines

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzopyrone(**O'Kennedy et Thornes, 1997**) et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Ils se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Ils sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (**Cowan, 1999**).

4.1.4. Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Ils sont caractérisés par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) (**Bruneton, 1993**). Ils sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (**Cowan, 1999**).

4.1.5. Lignanes

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Ce sont des composés dont les deux noyaux phénoliques sont reliés par quatre atomes de carbone, au lieu de trois dans les flavonoïdes. Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante dix familles (**Belyagoubi, 2011**).

4.1.6. Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes, la stilbène oxydase et les peroxydases (**Perret, 2001**) contrairement aux flavonoïdes, ces composés sont peu répandus chez les végétaux; le raisin et le vin rouge constituent l'apport alimentaire le plus important de ceux-ci (**Krisa et al., 1997**).

4.2. Les terpènes

Les terpénoïdes sont classés aussi parmi les substances secondaires importantes du métabolisme lichénique. Les terpènes peuvent être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène. Ils sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités isopréniques. On distingue :

- ✓ **Monoterpènes** : ce sont des produits généralement odorants obtenus par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux entiers ou d'organes de végétaux.
- ✓ **Diterpènes** : ce sont des dérivés des hydrocarbures en $C_{20}H_{32}$ ($n=4$). Le phytol, la vitamine A, les acides résiniques des conifères, et les gibbérellines sont des exemples de diterpènes.
- ✓ **Triterpènes** : ces composés en C_{30} ($n=6$) sont très repondus, notamment dans les résines, à l'état libre (phytosterols), estérifiés, ou sous forme hétérosidiques (saponosides).
- ✓ **Tetraterpènes** : les seuls représentants de ce groupe sont les caroténoïdes, substances colorées en jaune, orange ou rouge.
- ✓ **Polyterpènes** : caoutchou naturel (**Merghem, 2009**).

4.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent un autre groupe, plus vaste, de substances dites secondaires. En raison de leurs propriétés toxiques ou médicamenteuses, ils ont toujours présenté, pour les pharmaciens et les industries pharmaceutiques, un intérêt exceptionnel. Ils contiennent de l'azote N, le plus souvent inclus dans un hétérocycle. La plupart de ces composés ont une réaction alcaline, à l'état naturel, ils sont généralement salifiés par des acides organiques (tartrates, malates) ou combinés à des tannins. Ils jouent un rôle de protection vis-à-vis des prédateurs, on distingue :

- ✓ **Pseudo-alcaloïdes** : ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale, exemple : la coniine.
- ✓ **Proto- alcaloïdes** : l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés, exemple : la mescaline.
- ✓ **Alcaloïdes vrais** : que l'on classe suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle, biosynthétiquement formés à partir d'acides aminés, possèdent une activité pharmacologique marquée (**Merghem, 2009**).

Le potentiel thérapeutique des lichens est depuis longtemps exploité par la médecine douce (**Huneck, 1999**). Différentes préparations provenant de lichens ont montré des effets analgésiques antipyrétiques (**Huneck et Yoshimura, 1996 ; Huneck, 1999**) 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, mais aussi leur potentiel antibiotique.

L'évaluation de l'activité biologique a également révélé des propriétés pesticides (**Dayan et Romagni, 2001**), phytotoxiques, (**Nishitoba et al., 1987 ; Rojas et al., 2000**) anti-tumorales, antiprolifératives, antimitotiques, antioxydantes et antivirales (**Kumaret Muller, 1999 ; Wiveche, 2003**).

1. L'activité anti-oxydante

Un des mécanismes de protection des lichens est la production et l'accumulation de pigments corticaux capables d'absorber les UVA et UVB, préservant ainsi le partenaire photosynthétique des radiations excessives. Il s'agit de caroténoïdes, de mélanines, de composés phénoliques, ou de composés issus de la voie de l'acide shikimique (**Rundel, 1978 ; Nguyen et al., 2013**). La plupart de ces métabolites secondaires est accumulée sous forme de cristaux sur la surface externe des hyphes dans le cortex supérieur ou dans la médulle interne du thalle (**Boustie et al., 2011**).

1.1. Le stress oxydant :

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre de la balance oxydante, qui met en relation d'un côté les activités pro-oxydantes, et de l'autre les activités anti oxydantes. Sans stress, cette balance est à l'équilibre, avec des activités pro-oxydantes naturelles, comme la respiration mitochondriale, parfaitement contrôlées par les activités anti oxydantes (**Favier, 2003**). Cependant, de nombreux mécanismes et polluants peuvent faire pencher cette balance et donc créer un stress oxydant (**Le guernic, 2015**).

1.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante « libre » en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Goudable, et Favier, 1997**).

1.3. Conséquence du stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN (**Hadj Salem, 2009**), les lipides (peroxydation), les protéines (**Jacob, 2007**)...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (**Pincemail et Defraigne, 2003**) et la dégradation des cellules et des tissus (**Bonnet, et al., 2010**).

1.4. Bio marqueurs du stress oxydant

L'attaque des cibles cellulaires dans un contexte de stress oxydant peut être schématisée selon les espèces moléculaires concernées, à savoir lipides, protéines, et acides nucléiques (**Beaudeau et Durand, 2008**).

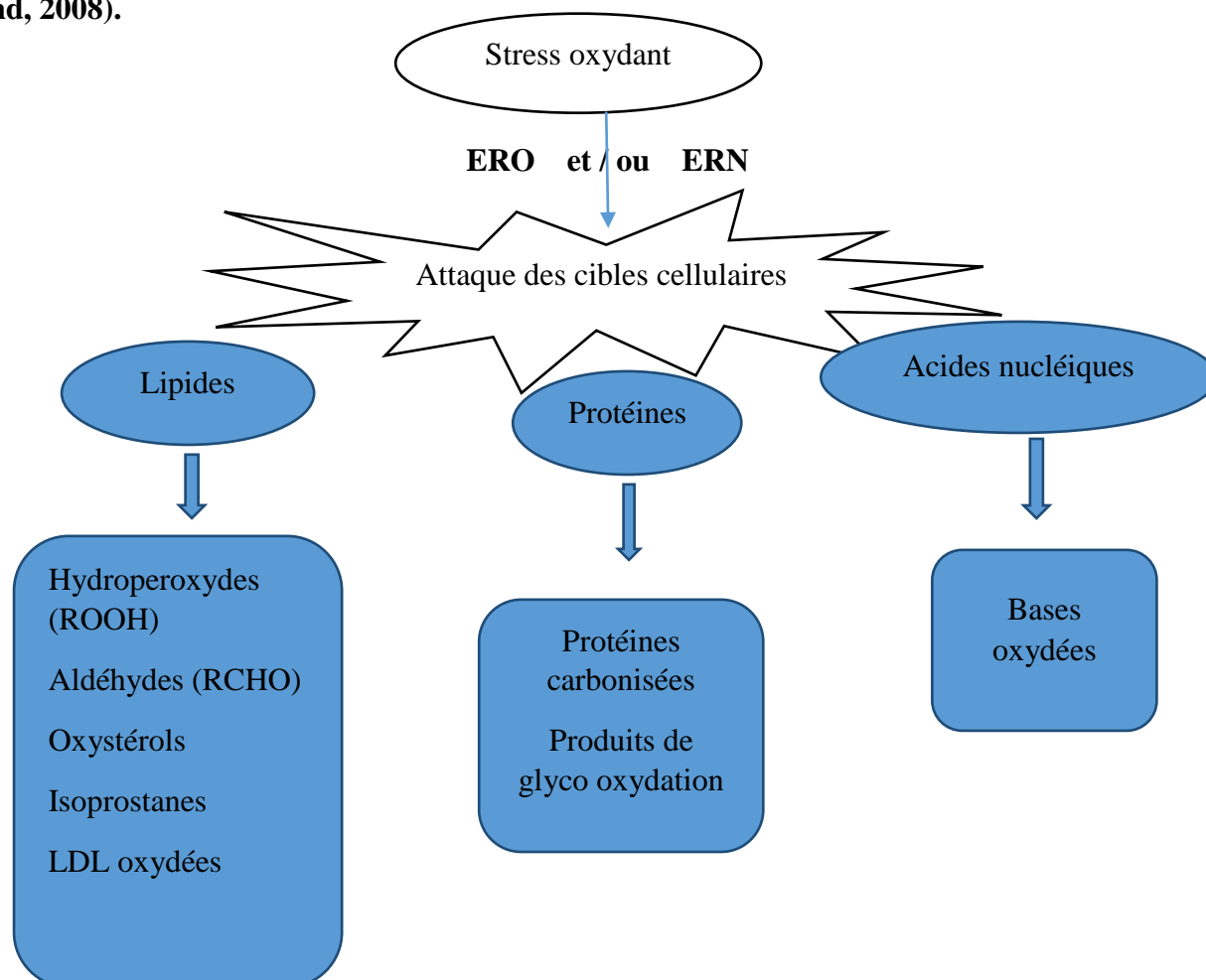


Figure 3: Représentation schématique de l'origine des marqueurs d'oxydation des cibles biologiques au cours du processus de stress oxydant (**Beaudeau et Durand, 2008**).

1.4.1. Biomarqueurs de l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides polyinsaturés en présence d'oxygène est connue sous le nom de peroxydation lipidique.

- ✓ **Hydroperoxydes (ROOH)** : produits précoces d'oxydation des AGPI
- ✓ **Aldéhydes (RCHO)** : produits précoces d'oxydation des AGPI
- ✓ **Oxystérols** : produits d'oxydation du cholestérol
- ✓ **Isoprostanes** : produits terminaux d'oxydation de l'acide arachidonique
- ✓ **LDL oxydées (Beaudeau et Durand, 2008).**

1.4.2. Biomarqueurs de l'oxydation des protéines

Les protéines, de par leur abondance au sein des systèmes biologiques et du fait de leur rôle fonctionnel majeur au sein de la cellule, constituent des cibles majeures des ERO et ERN. Il a ainsi été estimé que les protéines piègent 50 à 75% des espèces radicalaires générées (**Davies et al., 1999**).

- ✓ Protéines carbonylées
- ✓ Produits de glycation avancée résultant de réactions de glyco-oxydation et leurs précurseurs (**Beaudeau et Durand, 2008**).

1.4.3. Biomarqueurs de l'oxydation des acides nucléiques :

Les attaques oxydatives sur l'ADN sont considérées comme importantes dans les études touchant au vieillissement et au développement de cancer (**Bohr, 2002 ; Olinski et al., 2003**). Les espèces réactives de l'oxygène, en particulier le radical hydroxyle, peuvent attaquer le squelette désoxyribose-phosphate, en provoquant des liaisons croisées ADN-protéines, et en modifiant les bases puriques et pyrimidiques. La réparation de l'ADN *in vivo* est effectuée par des glycosylases (pour les bases) et des endonucléases (pour les désoxynucléotides) (**Beaudeau et Durand, 2008**).

1.5. Système de défense antioxydants

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (**Cano et al., 2006**).

1.5.1. Système enzymatique

Pour faire face à ces attaques, les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydante qui visent :

1. A éliminé les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation.

2. A induire la synthèse des antioxydants.

3. A augmenté l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules.

Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène (**Pelletier et al., 2004**). Comme illustre la **figure 4**.

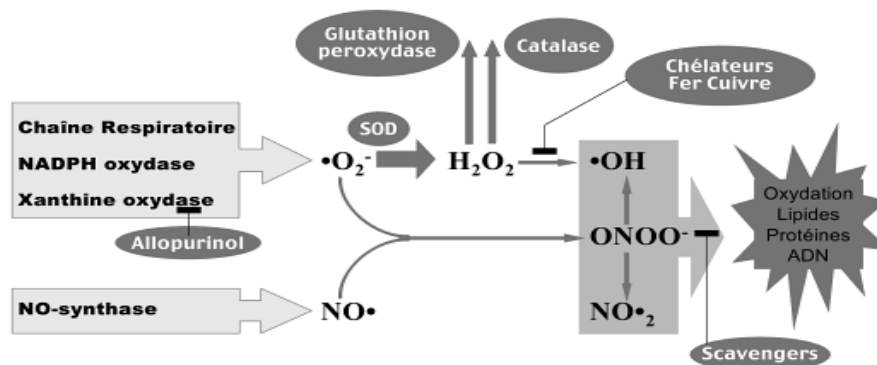


Figure 4: Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (**Boubekri, 2014**).

- Les superoxydesdismutases qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (**Droillard et Paulin, 1990; Arisiet al., 1998**).
- La catalase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau permettant l'élimination de celui-ci (**Yoshimoto et al., 2007 ; Garcı et al., 2007 Nicholls, 2012**).
- La glutathion peroxydase qui décompose aussi le peroxyde d'hydrogène en utilisant le glutathion comme donneur d'hydrogène (**Bédane, 2008**).

1.5.2. Système non enzymatique

Les protagonistes antioxydants non-enzymatiques ont pour but général de piéger les radicaux libres, en récupérant un électron libre et les transformant en ion stable. Ces activités peuvent se dérouler dans un compartiment hydrique, où vont agir la vitamine C et le glutathion réduit (GSH), et dans un compartiment lipidique avec la vitamine E, et les caroténoïdes (**Sies, 1997; Lushchak, 2011**)

2. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne d'extraits lichéniques est reportée pour la première fois par (**Burkholder et al., 1944**); 42 espèces de lichens sont testées, en particulier des *Cladonia*, dont 27 se sont révélées actives contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Plus généralement dans la

Chapitre III ————— Les activités biologiques

littérature, les activités antibactériennes des extraits de lichens varient en fonction des solvants utilisés pour les extractions ainsi que des bactéries testées et notamment de la composition de leur membrane, différente chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les premières sont généralement plus sensibles à l'activité antibiotique des métabolites lichéniques que les secondes (**Rowe *et al.*, 1989**).

3. Autres activités

3.1. Activité anticancéreuse

Certains métabolites présentent une activité antiproliférative et cytotoxique vis-à-vis de plusieurs lignées cellulaires cancéreuses humaines et murines. De manière générale, les mécanismes d'action sur les cellules cancéreuses incluent l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose, la nécrose et l'inhibition de l'angiogenèse (**Shrestha et St Clair, 2013**).

3.2. Activité anti-inflammatoire

Peu d'études sont décrites concernant l'activité anti-inflammatoire de l'acide usnique. Des travaux effectués sur des rats ont démontré que l'acide (+)-usnique possède une efficacité significative et similaire à celle de l'ibuprofène (**Ôtsukaet *al.*, 1972 ; Vijayakumaret *al.*, 2000**).

Objectif du travail

Ainsi que témoigne l'étude bibliographique, les lichens sont une source de métabolites originaux, d'une grande diversité structurale et possèdent des activités biologiques variées, conférant notamment aux lichens la capacité de résister à des conditions environnementales extrêmes. Dans ce contexte, cette thématique a pour objectif d'étudier la variation des activités biologiques pour cela notre travail sera principalement axé sur :

- L'étude phytochimique des extraits lichéniques de *Flavoparmeliacaperrata*(L.)et *Cetreliaolivetorum*(Nyl).

- L'évaluation de l'activité anti-oxydante, antibactérienne et le test de toxicité.

1. Etude phytochimique

1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est constitué de deux espèces de lichens : *Flavoparmeliacaperrata*(L.)et *Cetreliaolivetorum*(Nyl).

- *Flavoparmeliacaperrata*(L.)

✚ Classification :

Domaine : Biota
Règne : Fungi
Phylum : Ascomycota
Sous -Phylum : Pezizomycotina
Classe : Lecanoromycetes
Sous-Classe : Lecanoromycetidae
Ordre : Lecanorales
Famille : Parmeliaceae
Genre : *Flavoparmelia* Hale
Espèce : *Flavoparmeliacaperrata* (L.) Hale
(Roux, 2012)



Photo 2: *Flavoparmeliacaperrata*(L.)

Tableau 1: Fiche descriptive de l'espèce *Flavoparmeliacapitata*(L.)(Smith et al., 2009).**Taille/poids :**

Variable, pouvant aller jusqu'à 20 cm de diamètre, formant parfois des colonies étendues.

Diagnose :

Thalle foliacé généralement de grande taille, vert-jaunâtre à lobes larges de 5 à 13 mm, s'élargissant à l'apex. La face supérieure est plus ou moins irrégulièrement ridée et recouverte de soralies granuleuses grossières émergentes, surtout au centre et très peu vers l'extrémité des lobes. Thalle facile à décrocher de son support, son centre tend à se détacher naturellement avec le temps. La face inférieure est noire et pourvue de rhizines hormis vers l'apex des lobes où elle est marron et dépourvue de rhizines.

Les apothécies sont rares, elles atteignent 8 mm de diamètre. Le disque est rouge-marron et le rebord vert-jaunâtre, parfois avec quelques soralies.

Facilité d'identification : simple

Confusions possibles :

Se distingue de *Flavoparmeliasoredians* (Nyl.) Hale par un thalle plus grand (*F. soredians* est généralement compris entre 5 et 10 cm de diamètre), des lobes dont l'extrémité est moins appliquée au substrat et plus large (jusqu'à 7 mm pour *F. soredians*) et des soralies granuleuses (farineuses pour *F. soredians*).

Répartition générale :

Répandu, présent en zone tempérée sur tous les continents et dans les montagnes tropicales à l'exception de l'Australie et de l'Antarctique.

Habitat et biologie :

Espèce surtout corticole croissant sur les écorces plus ou moins acides et assez bien éclairées, principalement sur feuillus, rarement sur résineux. Peut aussi se trouver sur des piquets de clôture, roches siliceuses, tuiles, etc.

- *Cetreliaolivetorum*(Nyl.)

- ✚ **Classification :**

Domaine : Biota

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycota

Sous-Phylum : Pezizomycotina

Classe : Lecanoromycetes

Sous-Classe : Lecanoromycetidae

Ordre : Lecanorales

Famille : Parmeliaceae

Genre : *Cetrelia*

Espèce : *Cetreliaolivetorum*(Nyl.).

(Elix et McCarthy, 1998 ; Roux, 2012)

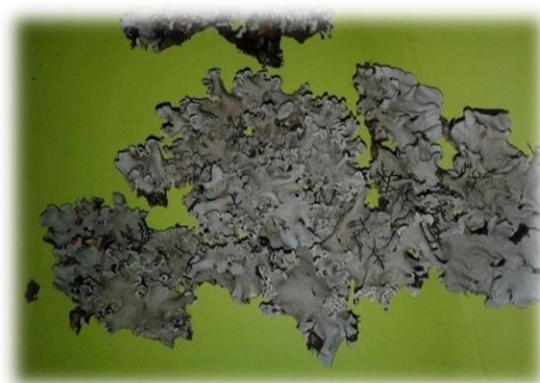


Photo3 : *Cetreliaolivetorum*(Nyl.).

Tableau 2: Fiche descriptive de l'espèce *Cetreliaolivetorum* (Nyl.) (Nashet *al.*, 2002).**Diagnose :**

Thalle foliacé pouvant atteindre 10-12 cm dans sa plus grande longueur, formé de grands lobes de 0,5-2 cm de largeur aux extrémités arrondies, les vieux lobes sont parfois munis d'un fin liseré de discrètes sorales marginales gris-verdâtre pâle ; face supérieure lisse à faiblement ridée, gris-verdâtre, glauque, plus ou moins foncés selon l'hydratation, parfois un peu tachée de brunâtre, typiquement avec des petites pseudocyphelles en points ou en virgules, blanches ; face inférieure noirâtre vers le centre du thalle avec quelques rhizines simples noires, lisse et brunâtre plus ou moins clair vers la marge. Apothécies très rares. Photobionte : *Trebouxia*. Il existe plusieurs taxons considérés comme des espèces, des variétés ou des chémotypes selon les auteurs, toutes ont le cortex : C-, K+ jaune, P-, mais différent pour la médulle :

C+ rouge, K-, KC+ rouge, P-, I-, UV- = *Cetreliaolivetorum* (Nyl.) *ss. stricto*.

Substrat et écologie: elle se développe sur les mousses, sur les arbres à feuilles larges, ou moins fréquemment sur les roches, dans des zones boisées bien humides.

Habitat : forêts tempérées et montagnes de l'hémisphère nord

❖ Description de la zone de collecte

Les deux lichens *Flavoparmeliacapitata* (L.) et *Cetreliaolivetorum* (Nyl.) ont été récoltés au mois d'avril de l'année 2017, le prélèvement a été effectué au niveau de l'OUED AZARAZ, dans la localité de BOUCIF OULED ASKEUR, qui se situe au sud de la wilaya de JIJEL à une altitude d'environ 700 m. Situé dans la partie Nord-est Algérienne. Cette zone présente un relief très accidenté englobant plusieurs chaînons montagneux et qui constitue le point culminant de la zone.

Cette région fait partie du secteur de la petite Kabylie des Babors, qui est considéré comme le plus boisé de toute l'Algérie avec un taux de 80%. La zone du prélèvement bénéficie d'une diversité floristique assez importante. Grâce à la forte humidité relative de l'air (80%) qui favorise l'installation et le maintien de la végétation.

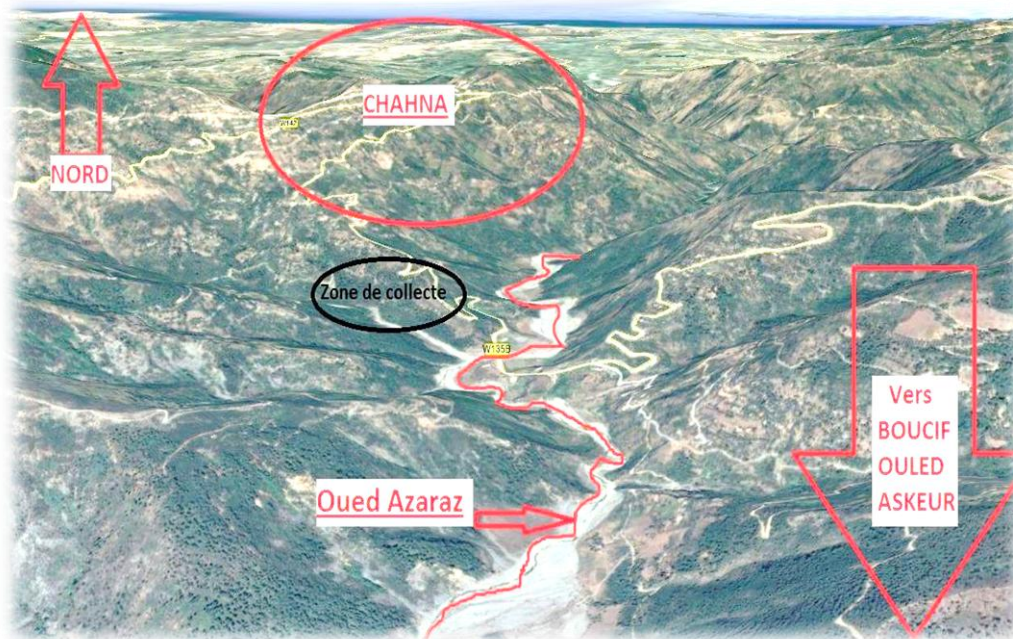


Figure 5 : Carte géographique montrant la zone de collecte des lichens.

1.2. Méthodologie

2.2. 1. Préparation des échantillons

La préparation des échantillons est d'une importance capitale pour toute analyse fiable. Les métabolites secondaires sont des molécules aliphatiques ou aromatiques de faible poids moléculaire présentant un caractère hydrophobe. Lorsqu'ils sont extraits, ils sont donc retrouvés principalement dans les fractions apolaires ou moyennement polaires.

En amont du processus d'extraction, les lichens récoltés sont débarrassés d'éventuels contaminants (mousses, terre, débris végétaux...etc). Puis, ils sont séchés, généralement à l'air ambiant pendant environ 72h, et sont réduits en poudre, puis tamisées dans le but d'obtenir une poudre très fine. En effet, le broyage permet d'augmenter la surface de contact entre le solvant et le lichen, et ainsi de favoriser l'extraction des composés.

I.2.2. Préparation de l'extrait lichénique

Pour apprécier le contenu en métabolites secondaires d'espèce de lichens, une extraction par macération a été réalisée dont son principe consiste à faire imprégner une quantité de poudre de lichens de chaque espèce séparément dans un volume du solvant (méthanol) sous agitation mécanique pendant 48h (Yu et Dahlgren, 2005).

L'extraction a été effectuée selon le protocole décrit dans la figure 6. Pour chaque espèce l'extraction a été répétée 2 fois avec renouvellement du solvant jusqu'à épuisement (afin d'extraire un

maximum de métabolite) à T° ambiante. Les extraits obtenus sont ensuite réunis séparément, puis filtrés en utilisant du papier filtre.

Les deux extraits sont concentrés sous vide au rotavapor à une T° de 50C° pour évaporer le solvant. Les résidus secs obtenus sont récupérés séparément par le méthanol pour chaque extrait puis conservés au réfrigérateur à une T° (-4C°) pour une utilisation ultérieure.

On a imprégné 16g de poudre de *Flavoparmeliacapitata*(L.) dans un volume de 77ml du méthanol, et 15g de poudre de *Cetreliaolivetorum*(Nyl.) dans 75ml du méthanol.

Les rendements des extractions sont calculés suivant la formule ci-dessous:

$$\text{Rdt (\%)} = [(P_1 - P_2) / P_3] \times 100$$

P₁ : poids du ballon contenant l'extrait après évaporation du solvant.

P₂ : poids du ballon vide **P₃** : poids de la matière végétale du départ.

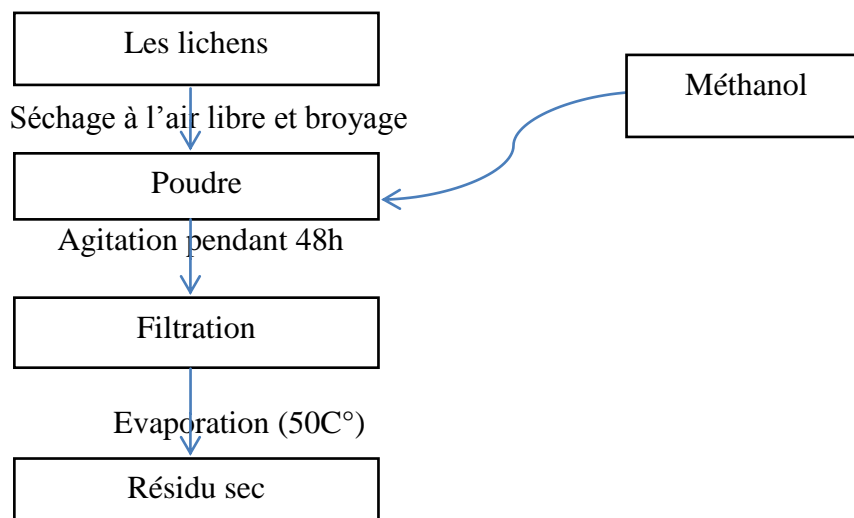


Figure 6 : Etapes de préparation de l'extrait lichénique (Mitrović *et al.*, 2011).

1.2.3. Dosage des composés phénoliques

1.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu afin de quantifier les teneurs en polyphénols totaux, La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques et possède une absorption maximale aux environs de 750 nm (Ribereau-Gayon, 1982).

La figure ci-dessous représente le protocole :

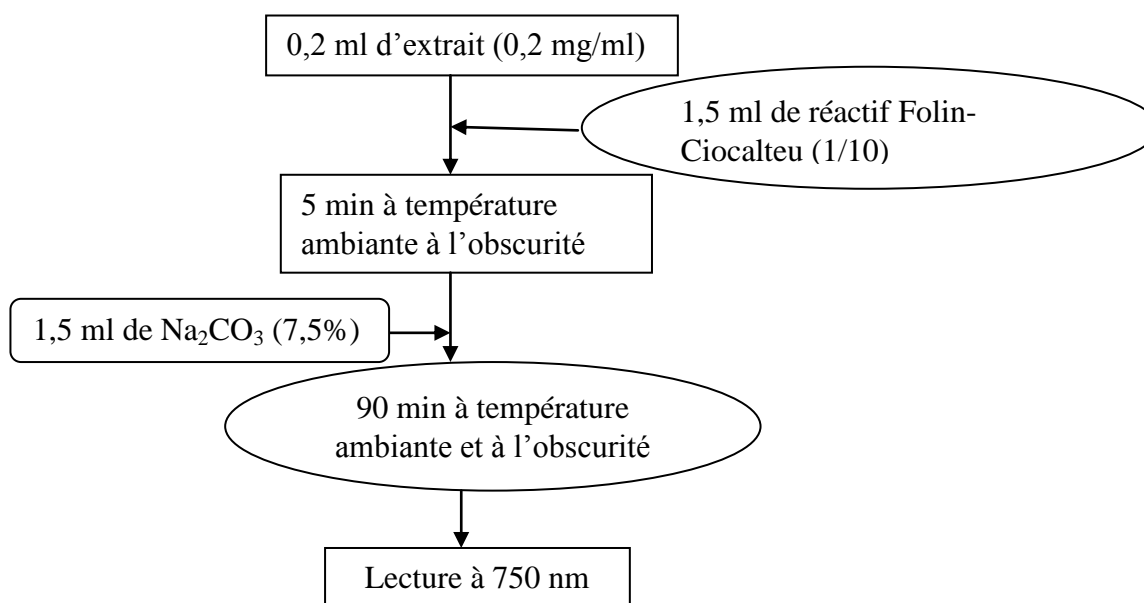


Figure 7 : Protocole de dosage des polyphénols totaux(Ribereau-Gayon, 1982).

La concentration en polyphénols a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (Annexe 1) établie avec de l'acide gallique.

La teneur moyenne en polyphénols est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme de résidu sec (mg Eq AG/g RS).

1.2.3.2. Dosage des polyphénols polaires

La méthode utilisée est celle rapportée par Owen et Johns (1999). 3 ml de chaque extrait méthanolique (0,2mg/ml) est soumis à une centrifugation à 3500 t/min pendant 15 min. Après incubation à température ambiante pendant 24 heures le surnageant est récupéré. Après 5 mn, 1,5 ml de carbonate de sodium monohydrate sont ajoutés. Le mélange est soumis à une centrifugation à 600 tours/min est indispensable pour éliminer la turbidité, le surnageant ainsi obtenu, fait l'objet d'une lecture à 750nm. Le protocole est présenté dans la figure ci-dessous :

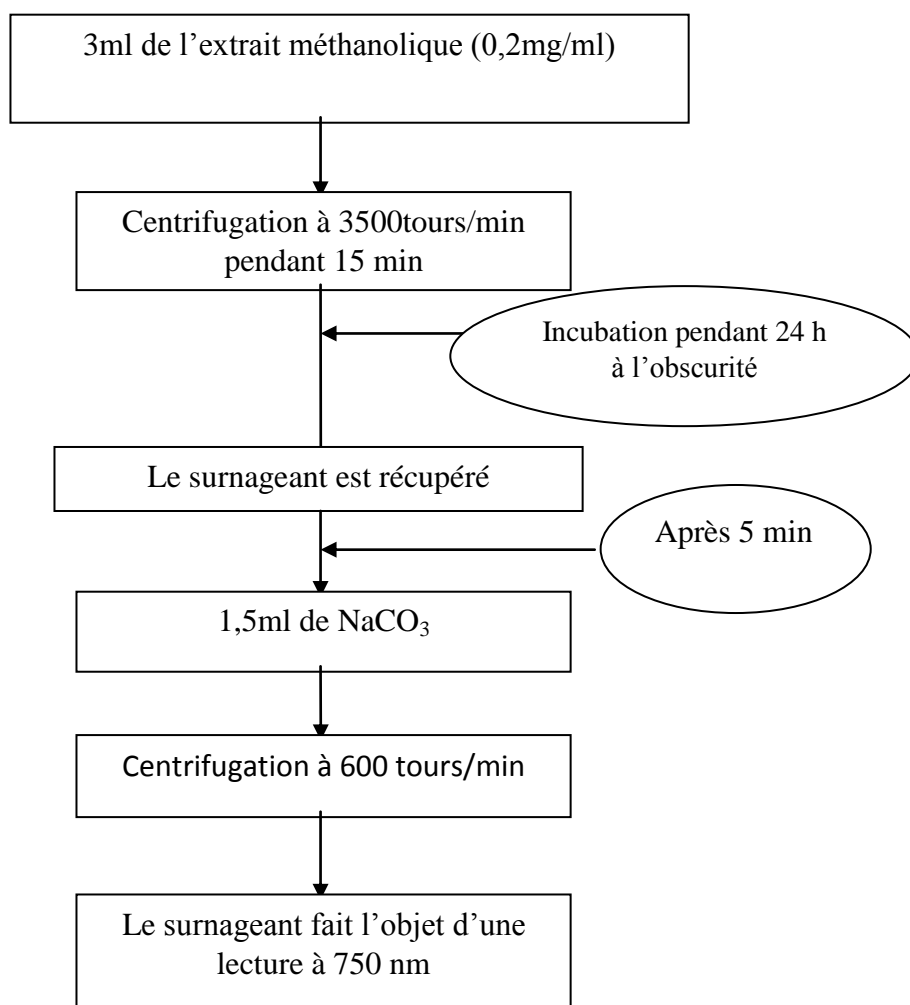


Figure 8 : Protocole de dosage des polyphénols polaires

La concentration en polyphénols polaires a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (Annexe 1) établie avec de l'acide gallique. La teneur moyenne est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme de résidu sec (mg Eq AG/g RS).

1.2.3.3. Détermination de la teneur en polyphénols apolaires (PA)

La teneur moyenne en polyphénols apolaires est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme de résidu sec (mg Eq AG/g RS) déterminé par le calcul suivant :

$$\text{PA} = \text{polyphénols totaux} - \text{polyphénols polaires}$$

1.2.3.4. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont déterminés par la méthode de chlorure d'aluminium décrite par Maksimović et ses collaborateurs (2004). Le protocole est présenté dans la figure 9.

2ml de l'extrait (100 μ g/ml) sont ajoutés à 1ml du réactif de chlorure d'aluminium (133mg de chlorure d'aluminium et 400mg d'acétate de sodium-cristalline dans 100ml d'eau distillée). Après 10min d'incubation, l'absorbance est lue à 430nm.

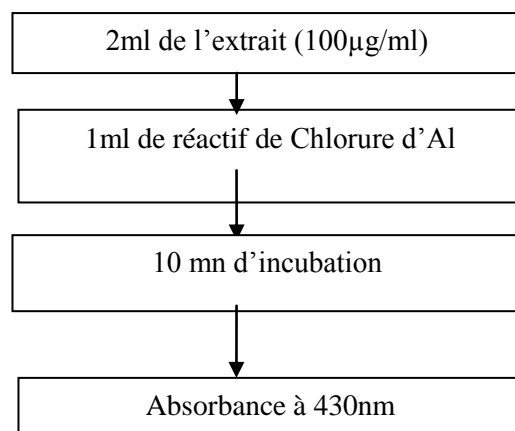


Figure 9: Protocole de dosage des flavonoïdes.

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie (Annexe 1) avec la Quercitine qui est exprimés en mg équivalent Quercitine/g de résidu sec (mg Eq Q/g RS).

1.2.3.5. Dosage des tannins

▪ Tannins condensés

Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode à la vanilline en milieu acide (**Julkunen-Tiito, 1985**).

Un volume de 50 μ l de l'extrait brut est ajouté à 1500 μ l de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v) et mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 μ l de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance à 550 nm est mesurée contre un blanc (Figure 10).

La concentration des tannins est estimée en milligramme (mg) équivalents d'acide tannique par gramme (g) de résidu sec (mg EqAT)/g RS) à partir de la courbe d'étalonnage (Annexe 1).

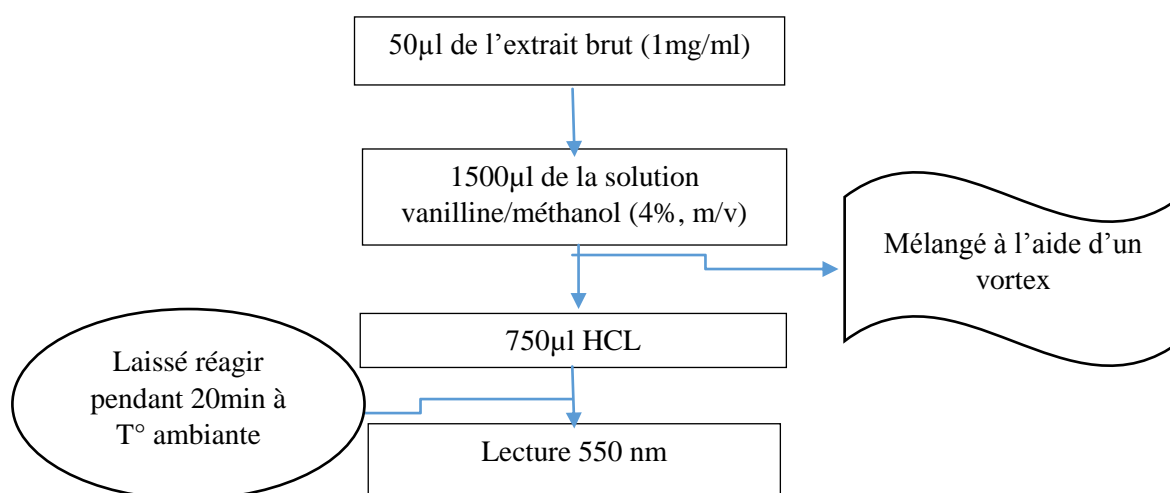


Figure 10: Protocol du dosage des tannins condensés.

▪ Tannins hydrolysables

Le principe de dosage des tannins hydrolysables repose sur la capacité de différent extrait de plantes de réagir avec l'iodure de potassium. Un volume de 50 µl d'extrait a été mélangé avec 3ml d'iodure de potassium. Après 10 min de repos, l'absorbance a été mesurée à 550 nm contre le blanc qui est le méthanol (Willis et Allen, 1998).

En se référant à la courbe d'étalonnage (Annexe 1) obtenue avec l'acide tannique, les concentrations sont exprimées en mg équivalent d'acide tannique par gramme de résidu sec.

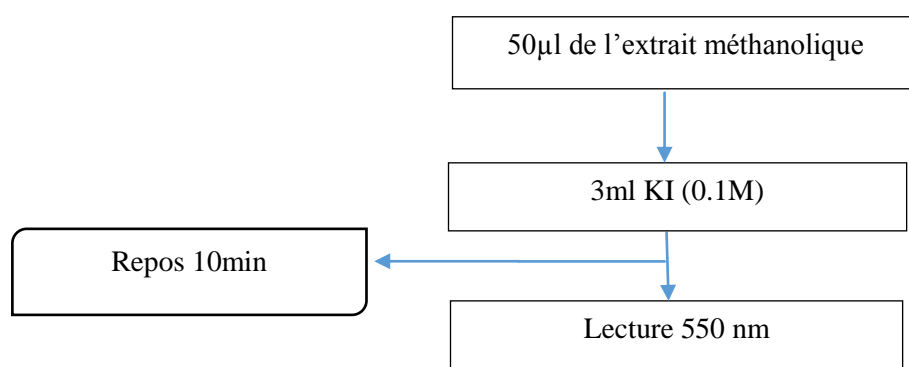


Figure 11 : Protocol de dosage des tannins hydrolysables

2. Evaluation de l'activité biologique des extraits méthanoliques

2.1. Activité anti oxydante

La mesure de l'activité anti-oxydante des polyphénols est effectuée par deux méthodes ; la méthode du test de piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur.

2.1.1. Test de la réduction du fer FRAP : Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique en fer ferreux en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium

[$K_3Fe(CN)_6$] et de l'acide trichloracétique en milieu acide (**Gulçin et al., 2005a**). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait.

Le pouvoir réducteur des extraits de plantes est déterminé selon la méthode décrite par **Karagozler et al., (2008)**. Un volume de 1ml de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) est ajouté à 1 ml d'extrait de plante de différentes concentrations, suivi de 1ml de ferricyanure de potassium (1%), après agitation le mélange est incubé à 50°C au bain marie pendant 20min. Un volume de 1ml de trichloracétique à 10% est additionné au mélange avant d'être centrifugé à 3000 tours /min pendant 10min. A partir de ces tubes 1,5 ml sont prélevés, puis additionnés de 1,5ml d'eau distillée et de 150 µl de chlorure ferrique (0,1%), après incubation de 10 minutes à température ambiante et à l'obscurité l'absorbance est mesurée à 700nm. Le test a été effectué à différentes concentrations des extraits : 0.01mg/ml, 0.02 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.08 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique (0.0002 mg/ml, 0.0005mg/ml, 0.0007mg/ml, 0.001mg/ml, 0.003mg/ml, 0.005mg/ml, 0.007mg/ml, 0.01mg/ml) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Les valeurs de CR0.5 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire. (Annexe 2)

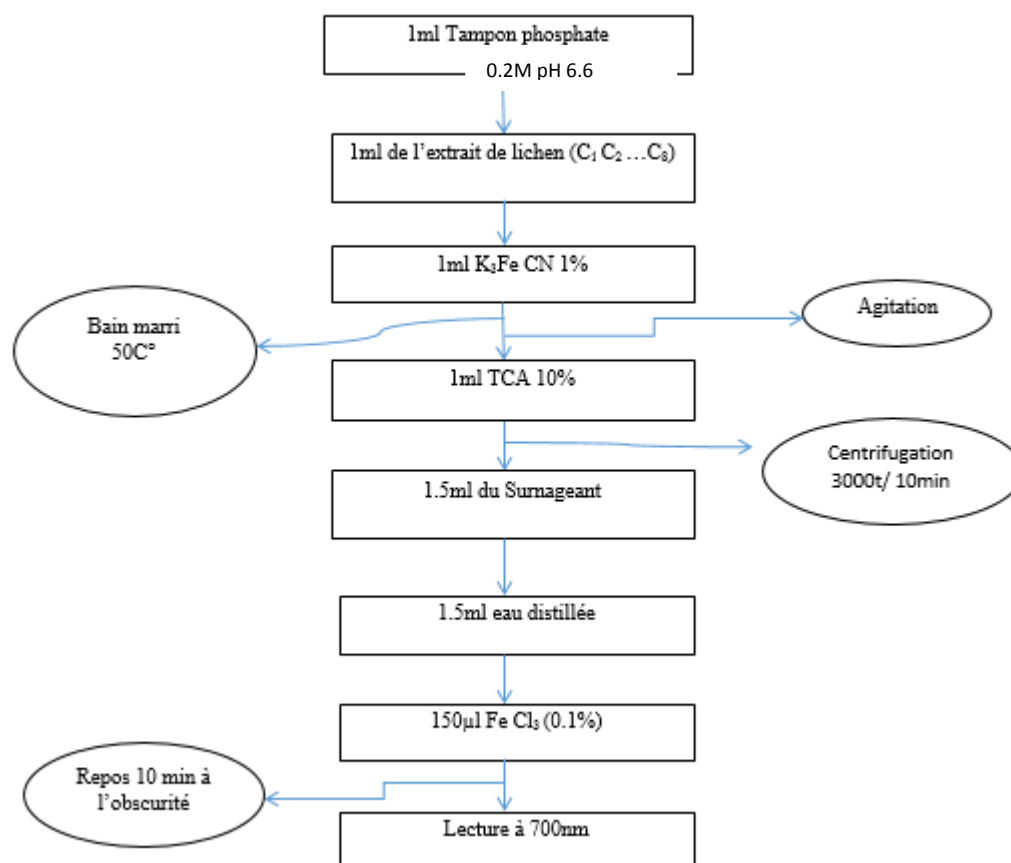


Figure 12 : Protocol de la détermination du pouvoir réducteur.

2.1.2. L'activité anti-radicalaire du DPPH[•]

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm (Wootton-Beard, et al., 2011). fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité anti-oxydante des composés phénoliques (Villañoetal., 2007 ; Floegel et al., 2011;Osman, 2011). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote.

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des antioxydants dans les extraits (Wu, 2007).

Le DPPH est initialement violé, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques (Hadbaoui, 2012).

Le protocole d'évaluation du pouvoir anti-radicalaire est illustré par la figure suivante :

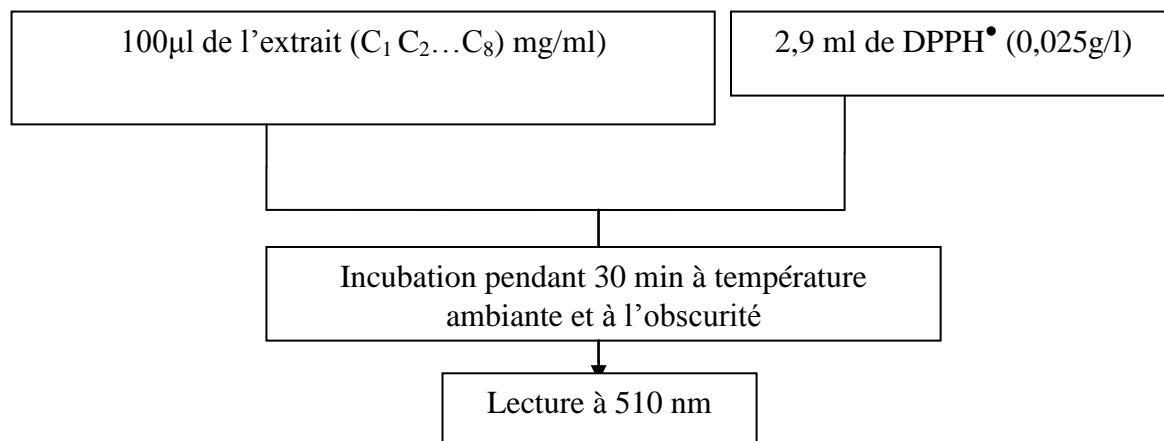


Figure 13: Protocole du test au DPPH.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Le test a été effectué à différentes concentrations des extraits : 0.01mg/ml, 0.02 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.08 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, et pour chaque concentration le test est répété 3 fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Abs contrôle : Absorbance du témoin

Abs test : Absorbance de l'échantillon ou du standard.

Les valeurs de l'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire (Annexe 2), sachant que l'IC50 est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

2.2. L'activité antibactérienne

2.2. 1. Choix des bactéries

- ✦ *Escherichia coli* (Gram négative) : fait partie de la famille des entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule, l'*Escherichia coli*, est utilisée à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La presque totalité des souches d'*E. coli* ne sont pas pathogènes puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères.
- ✦ *Klebsiella pneumoniae* (Gram négative) : appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* (El Fertas-Aissani et al., 2012 ; Srinivasan et al., 2012). Elle

est présente dans le tube digestif de l'homme et des animaux, et elle est commensale des voies respiratoires (**Joly et Reynaud, 2002**).

Les deux espèces utilisées sont des souches hospitalières, l'identification a été effectuée au laboratoire de la microbiologie université de Jijel(Annexe 4).Ces dernières sont responsables souvent d'infections nosocomiales qui constituent un problème majeur de santé publique (**Kaloustianetal.,2008**).

2.2. 2. Méthodologie

La méthode utilisée est celle de diffusion sur disque (**Meradi et al, 2009**).

▪ **Antibiogramme**

L'antibiogramme est l'interprétation de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique en termes d'efficacitéclinique. Il permet de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensible, intermédiaire ou résistante).

La technique utilisée est la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton et interprété après mesure des diamètres d'inhibition (**Meradi et al, 2009**).Les antibiotiques utilisés sont : Nitroxoline (NO), Céfazoline (CZ), Gentamycine (GN), Colistine (CL), Amoxicilline (AX), Augmentin (AMX).Le but d'antibiotique est de réaliser des témoins positifs.

▪ **Prélèvement des bactéries**

Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage. L'écouvillon est introduit dans un tube contenant du bouillon nutritif afin d'assurer la survie des souches, pour être incubés dans l'étuve à 37C° pendant 18à24h.

▪ **Préparation des disques**

Les disques sont fabriqués à partir du papier Wattman, avec un diamètre de 6 mm à l'aide d'un perforateur. Ensuite, ces disques sont placés dans un tube à essais et stérilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 120C°, puis stockés à une température ambiante dans un tube à essai hermétiquement fermé.

▪ Préparation des boîtes de Pétri

La gélose nutritive stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétri. L'épaisseur de la gélose est de 4-5mm répartie uniformément dans les boîtes, ces derniers sont placés à côté du bec bunsen jusqu'à solidification de la gélose.

▪ Ensemencement des souches

L'ensemencement est effectué par des écouvillons, à partir de suspension fraîchement préparée. Il consiste à tremper l'écouvillon dans la suspension puis le frotter après l'avoir étalé sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution uniforme de la suspension. Pour chaque souche le test est répété 3fois.

▪ Dépôt des disques

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques du papier Wattman imbibé par 10µl de l'extrait méthanolique des deux lichens à différentes concentrations 0.01mg/ml, 0.05mg/ml, 0.08mg/ml, 0.2mg/ml, 1mg/ml (5 disques par boîtes) sont déposés sur la gélose, précédemment inoculé avec le microorganisme choisi. Les boîtes sont maintenues à 4°C pendant 1 heure pour assurer une bonne diffusion de l'extrait dans la gélose.

▪ Incubation des boîtes

Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve pendant 17-24h à 37°C.

▪ La lecture

La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres d'inhibitions autour des disques. Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 6mm et à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée.

3. Test de toxicité

3.1. Principe du test

3.1.1. Essai limite

L'essai limite est utilisé principalement lorsque des informations indiquant que la substance d'essai n'est probablement pas toxique, c'est-à-dire la toxicité se situe au-dessus de la dose limite réglementaire. Des informations concernant la toxicité de la substance d'essai peuvent être recueillies à partir de connaissances de substances, produits ou mélanges similaires déjà soumis à essai, prenant en compte l'identité et le pourcentage des composants connus pour avoir une importance du point de

vue toxicologique. Quand on ne dispose d'aucune ou de peu d'informations concernant la toxicité, ou lorsque on s'attend à une substance toxique, il faut exécuter l'essai principale (OECD, 2001).

Un essai limite à un niveau de dose de 2000mg/kg peut être exécuté avec six animaux (3 animaux par étape). Exceptionnellement, un essai limite à un niveau de dose de 5000mg/kg peut être conduit avec trois animaux. Si de la mortalité liée à la substance se produit, il peut être nécessaire de tester au niveau de dose immédiatement inférieur (OECD, 2001).

Mode opératoire

▪ Préparation des animaux

Les animaux sont choisis au hasard, marqués pour permettre une identification individuelle et gardés dans leurs cages pour les acclimater aux conditions de laboratoire pendant au moins cinq jours avant l'expérience. On a utilisé dans notre étude trois souris, âgé de trois semaines, de poids corporel compris entre 31 et 35.5g. Les souris ont été mises dans des cages placées dans l'animalerie du département de biologie de l'université de JIJEL pendant 7 jours avant l'expérimentation soumises à une température ambiante, et à un photopériodisme de 12h d'obscurité et 12h de lumière. Les animaux reçoivent un régime alimentaire standard (Croquettes), et de l'eau. Les cages sont nettoyées et la litière est changée chaque jour jusqu'à la fine de l'expérimentation.

▪ Administration des doses

Les extraits d'essai sont administrés en une seule dose (500µl), 5000mg/kg en utilisant une sonde gastrique. Cette dose doit être préparée juste avant l'administration.

Les animaux doivent être à jeun avant administration de la substance ; on supprime la nourriture, mais pas l'eau pendant 3 à 4 heures. Après la période de jeun, les animaux doivent être pesés et puis la substance d'essai est administrée. Après l'administration de la substance, les animaux peuvent être à nouveau privés de nourriture, pendant 1 à 2 heures.

▪ Observation

Les animaux doivent être observés individuellement au moins une fois pendant les premier 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24h après traitement. Une attention particulière s'impose pendant les premières 4h et quotidiennement pendant 14jours. Les moments de l'apparition des signes de toxicité sont importants, toutes les observations sont enregistrées de façon systématique.

Les observations doivent porter sur les modifications de la peau, des poils, des yeux, etc. Si on retrouve les animaux morts, le moment doit être enregistré de façon précise que possible.

- **Lecture**

Les résultats doivent être représentés pour chaque animal, le nombre d'animaux présentant les signes de toxicité et le nombre d'animaux retrouvés morts.

4. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes suivit de leurs écart-type et illustrés graphiquement par des histogrammes et des courbes.

Les résultats sont soumis à une analyse statistique par le logiciel MINITAB. 13.

L'analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs de classification, permet de comparer les moyennes des différents types de paramètre et de chercher là où ces moyennes sont considérées comme étant égales, si au contraire, il y a une différence significative (valeur de P inférieure à la valeur de α ($=0,001$)). Le test de la corrélation choisi nous permet de compléter l'interprétation et d'établir les liens existants entre les différents paramètres. (Annexe 3)

1. Teneurs en des composés phénoliques

Afin d'évaluer les teneurs en molécules bioactives des extraits préparés à partir des lichens (*Flavoparmeliacaperrata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl) nous avons effectué les dosages suivants :

Le dosage des composés phénoliques est représenté dans le tableau 3:

	<i>Polyphénols totaux</i> (mgEAG/gR)	<i>Polyphénols polaire</i> (mgEAG/gRS)	<i>Polyphénols apolaire</i> (mgEAG/gRS)	<i>Flavonoïdes</i> (m gEQ/gRS)	<i>Tannins condensés</i> (mgEAT/gRS)	<i>Tannins hydrolysables</i> (mgEAT/gRS)
<i>Flavoparmelia</i>	7,133±0,423	0,0021±0,0005	7.1309±0,045	0,059±0,0008	0,025±0,0093	0,053±0,014
<i>Cetrelia</i>	32.24±1.87	0,21±0,08	32.03±0,09	10,27±0,004	7,67±1,54	16,39±3,80

Tableau 3 : Les composés phénoliques de *Flavoparmeliacaperrata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl).

Les résultats de ce tableau ont été repris puis représentés en histogramme (figure 14) pour mieux cerner les différences existantes entre le contenu des différents extraits méthanoliques en composés dosés (polyphénols, flavonoïdes et tannins).

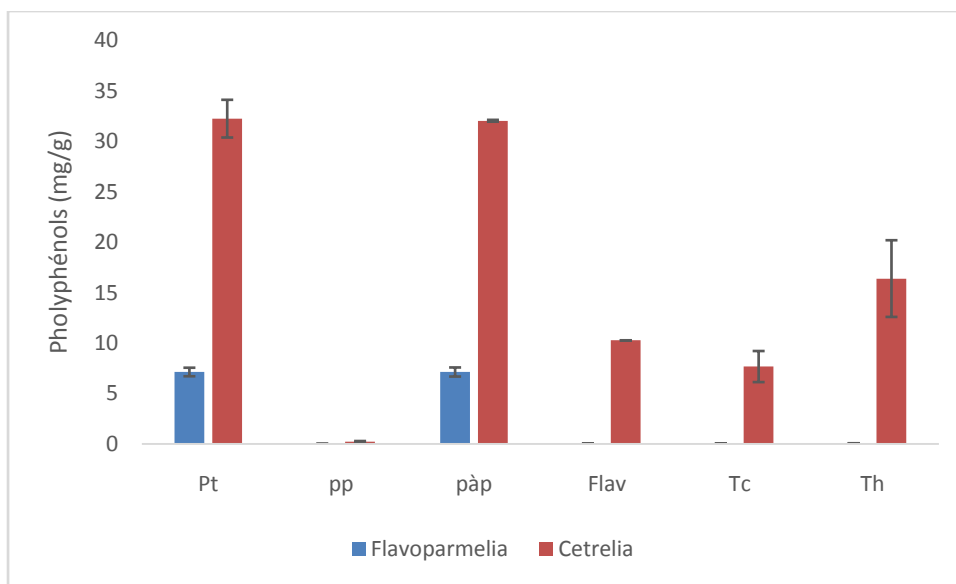


Figure 14 : Teneurs en composés phénoliques chez les deux espèces.

Pt : phénols totaux, **pp** : phénols polaires, **pàp** : phénols à polaires, **Flav** : flavonoïdes, **Tc** : tannins condensés, **Th** : tannins hydrolysables.

1.1. Teneur des extraits lichéniques en polyphénols totaux

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 14. Le dosage des phénols totaux est déterminé par la méthode de Spectrophotométrie au réactif de Folin-Ciocalteu.

La quantification des phénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisée par une solution étalon (acide gallique) à différentes concentrations (figure, annexe 1), donc la teneur en phénols totaux de chaque extraits a été calculée à partir de cette courbe et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de poids de résidu sec (mg EAG/g RS).

D'après les résultats obtenus, on remarque une teneur en phénols totaux modérée enregistrée dans les extraits lichéniques des deux espèces avec des concentrations différentes de l'ordre de 7,133 mg EAG/g RS pour *Flavoparmeliacapitata*(L.) et 32,24 mg EAG/g RS Pour *Cetreliaolivetorum*(Nyl).

1.2. Teneur des extraits lichéniques en polyphénols polaires

D'après la figure 14, on remarque que *Cetreliaolivetorum*(Nyl) possède la teneur la plus élevée en phénols polaires (0,21 mg EAG/g RS) par rapport à *Flavoparmeliacapitata*(L.) (0,0021 mg EAG/g RS).

1.3. Teneur des extraits lichéniques en polyphénols apolaires

D'après la figure 14 on remarque que *Cetreliaolivetorum*(Nyl) possède la teneur la plus élevée en phénols polaires (7.1309 mg EAG/g RS) par rapport à *Flavoparmeliacapitata*(L.) (32.03 mg EAG/g RS).

1.4. Teneur des extraits lichéniques en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisée par une solution étalon (la quercitine) à différentes concentrations (Annexe 1). La teneur en flavonoïdes des extraits lichéniques a été calculée à partir de cette courbe et exprimée en milligrammes équivalent de quercitine par gramme de poids du résidu sec (mg EQ/g RS). Les résultats sont indiqués dans la figure 14.

D'après ces dernières, on remarque que la teneur la plus élevée s'est avérée chez *Cetreliaolivetorum*(Nyl) avec 10,27 mg EQ/g RS contre 0,059 mg EQ/g RS chez *Flavoparmeliacapitata*(L.).

1.5. Teneur des extraits lichéniques en Tannins

La quantification des tannins a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisée par une solution (d'acide tannique) à différentes concentrations (Annexe 1). La teneur en tannins condensés et hydrolysables de chaque extraits a été donc calculée à partir de cette courbe et exprimée en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme de poids de résidu sec (mg EAT/g RS).

- Pour les tannins condensés on remarque que *Cetreliaolivetorum* (Nyl) possède la teneur la plus élevée (7,67mgEAT/gRS) par rapport à *Flavoparmeliacapitata* (L.) (0,025 mgEAT/gRS).
- Pour les tannins hydrolysables on remarque que *Cetreliaolivetorum* (Nyl) possède la teneur la plus élevée (16,39 mgEAT/gRS) par rapport à *Flavoparmeliacapitata* (L.) (0,053 mgEAT/gRS)

2. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits lichéniques

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité anti-oxydante, dans ce travail on a adopté : le pouvoir réducteur et l'activité anti-radicalaire du DPPH.

2.1. Evaluation du pouvoir réducteur

Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en Fer ferreux (Fe^{2+}) (Figure 15)

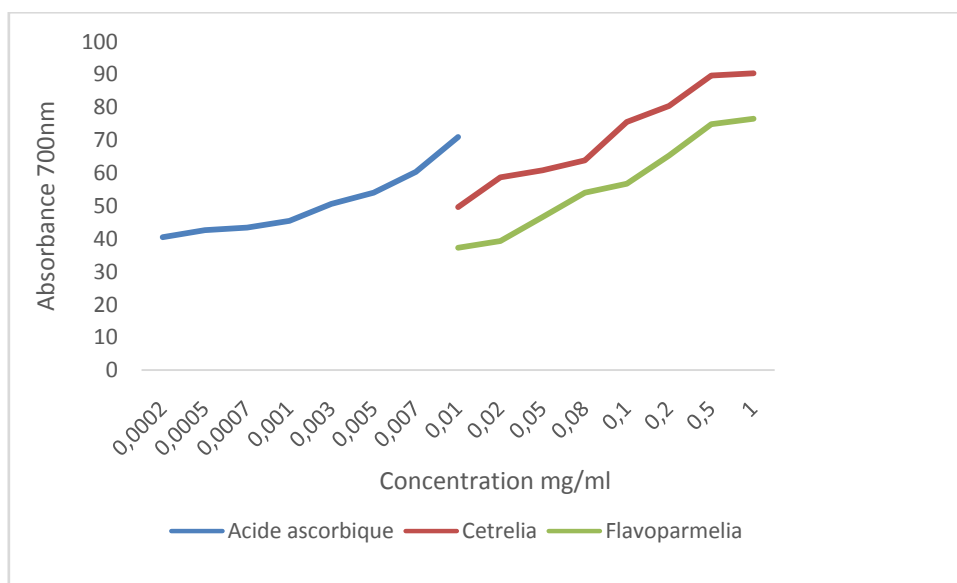


Figure 15 : Pouvoir réducteur des deux extraits et l'acide ascorbique.

Selon les résultats illustrés dans les figures 15 on constate que la capacité de réduction est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des extraits (Le pouvoir réducteur évolue avec l'augmentation de la concentration).

Les absorbances des extraits varient entre 0,4689 et 0,5037 pour l'acide ascorbique, entre 0,4795 et 0,9949 pour *Cetreliaolivetorum*(Nyl),et entre 0,2114 et 0,2568 pour *Flavoparmeliacaperata*(L.).

- **Détermination de CR0.5**

Dans le but de comparer l'activité anti-oxydante des deux extraits et de l'acide ascorbique, et pour être formel et ignorer toute incertitude, on a introduit le paramètre CR0.5 qui est la concentration du substrat pour laquelle le produit de la réduction donne une absorbance de 0,5 à 700 nm et qui représente la réduction de 50% du fer.Ce paramètre s'avère indispensable pour une comparaison des capacités réductrices.

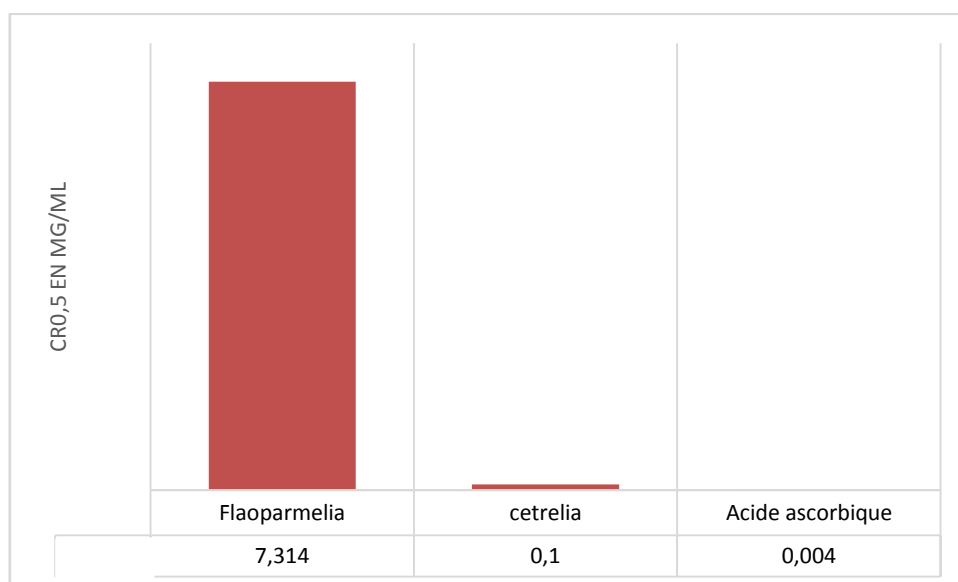


Figure 16 : La concentration nécessaire pour la réduction de 50% du Fer des deux extraits et de l'acide ascorbique.

<i>échantillon</i>	<i>CR0.5</i>
<i>Acide ascorbique</i>	0,004 mg/ml
<i>Cetreliaolivetorum</i> (Nyl)	0.1 mg/ml
<i>Flavoparmeliacaperata</i> (L.)	7,314 mg/ml

Tableau 4 : CR 0.5 des deux extraits et de l'acide ascorbique

D'après ces résultats, on remarque une variabilité dans la capacité à réduire le fer, l'acide ascorbique est le plus puissant ($CR_{0.5}=0.004$ mg/ml), suivi par *Cetreliaolivetorum*(Nyl)($CR_{0.5}=1,93$ mg/ml) et enfin *Flavoparmeliacaperrata*(L.)($CR_{0.5}=7,314$ mg/ml). Donc on ne constate que l'extrait de *Flavoparmeliacaperrata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl) ne possède pas un potentiel réducteur élevé, par rapport à l'acide ascorbique qui est un antioxydant puissant. On peut classer le pouvoir réducteur des extraits comme suivant :

Acide ascorbique > *Cetreliaolivetorum*(Nyl) > *Flavoparmeliacaperrata*(L.).

2.2. Evaluation de l'effet anti radicalaire contre le radical DPPH

Le test DPPH est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité anti-oxydante. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables.

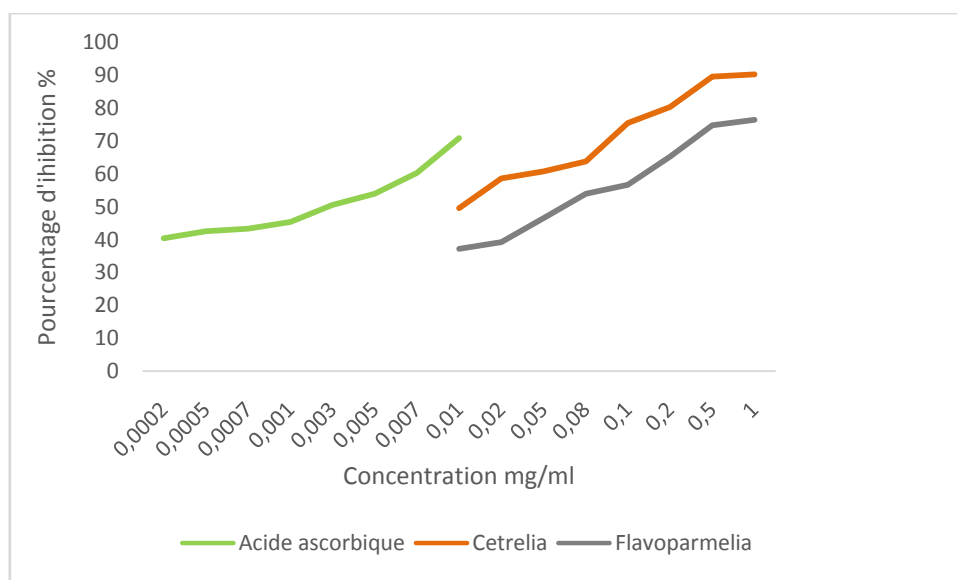


Figure 17 : Activité anti-radicalaire des deux extraits et l'acide ascorbique.

Les résultats de l'activité anti radicalaire des extraits et du standard sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH et sont illustrés dans la figure 17.

On remarque que le pourcentage d'inhibition est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait (l'augmentation du pourcentage d'inhibition est un indicateur d'une bonne activité anti radicalaire).

Les pourcentages d'inhibition des extraits varient entre 40,43% et 70,98% pour l'acide ascorbique, entre 49,59% et 89,69% et pour *Cetreliaolivetorum*(Nyl), et entre 37,24% et 76,50% pour *Flavoparmeliacaperrata*(L.).

On constate donc que le pourcentage d'inhibition de *Cetreliaolivetorum*(Nyl) est plus important que celui de *Flavoparmeliacaperrata*(L.).

On peut dire donc que les différentes concentrations des extraits ont un effet moins important sur l'activité anti-radicalaire contre le DPPH par rapport à l'acide ascorbique.

• **Calcul des IC 50**

L'IC50 est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, qui est déterminé graphiquement par la régression linéaire établie entre les pourcentages d'inhibition et les différentes concentrations

L'IC50 est exprimée en mg/ml, cependant une faible valeur d'IC50 correspond à une activité anti-oxydante élevée.

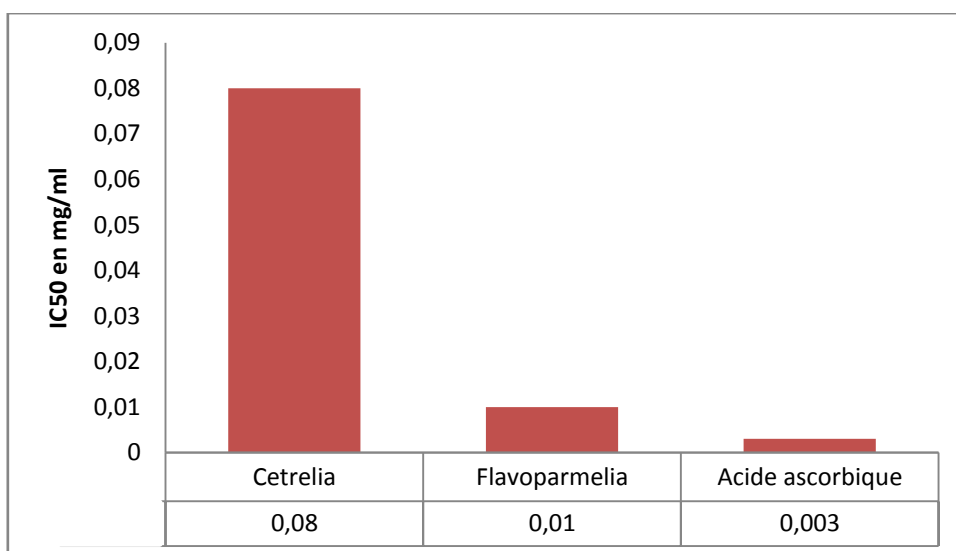


Figure 18 : Concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH des deux extraits et l'acide ascorbique.

En comparant les IC50 des deux extraits par rapport à ceux de l'acide ascorbique, on remarque une activité anti-oxydante élevée pour l'acide ascorbique suivi par *Flavoparmeliacaperrata*(L.), et finalement *Cetreliaolivetorum*(Nyl).

<i>Echantillon</i>	<i>IC₅₀</i>
<i>Acide ascorbique</i>	0,003mg/ml
<i>Flavoparmeliacaperrata</i> (L.)	0.01mg/ml
<i>Cetreliaolivetorum</i> (Nyl)	0.08mg/ml

Tableau 5 : IC₅₀ des deux extraits et de l'acide ascorbique.

Comme figurant dans le tableau 5, l'antioxydant standard (acide ascorbique) a montré une activité anti-oxydante puissante avec une CI_{50} de l'ordre de 0,003 mg/ml, suivi par *Flavoparmeliacaperrata*(L.)($IC_{50}=0.01$ mg/ml), puis *Cetreliaolivetorum* (Nyl)($IC_{50}=0.08$ mg/ml).Donc On remarque que la capacité à réduire le radical DPPH est variable d'un extrait à l'autre.

3.Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits lichéniques

Le potentiel antimicrobien des extraits lichéniques a été évalué en utilisant 2 souches bactériennes de Gram-Négatif :*Escherichia coli* et *Klebsiellapneumoniae*. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous (tableau 5 et 6).

<i>Souches bactériennes</i>	<i>Méthanol (control négatif)</i>	<i>Antibiotique 0.5 mg/ml (control positif)</i>
<i>E. Coli</i>	–	15mm
<i>Klebsiella</i>	–	13mm

Tableau 6 : Effet du méthanol et l'antibiotique.

Le tableau ci-dessus montre que le méthanol n'a aucun effet inhibiteur sur les souches bactériennes testées. Par contre l'antibiotique utilisé possède une importante zone d'inhibition.

<i>Concentration</i> mg/ml	<i>Flavoparmeliacaperrata</i> (L.)					<i>Cetreliaolivetorum</i> (Nyl)				
	0.01	0.05	0.08	0.2	1	0.01	0.05	0.08	0.2	1
<i>Klebsiella</i>	6±0.5	6±0.5	6±0.5	7±0.5	7±0.5	6±0.5	7±0.5	7±0.5	7±0.1	7±0.5
<i>E. Coli</i>	7±0.1	7±0.1	7±0.12	7±0.1	8±0.17	7±0.1	7±0.1	7±0.12	7±0.1	9±0.4

Tableau 7 : Lediamètre des zones d'inhibition en mm obtenu par les extraits méthanoliques de *Cetreliaolivetorum*(Nyl)et *Flavoparmeliacaperrata*(L.).

A partir de ce tableau, on constate que :

Les deux extraits de *Flavoparmeliacaperrata*(L.)et *Cetreliaolivetorum*(Nyl)ont presque les mêmes valeurs d'inhibition sur les deux souches etpour toutes les concentrations.Les deux extraits n'ont exercé aucun effet dans la concentration 1mg/ml sur les deux souches.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

Tous les extraits ont réagi positivement sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que les extraits de *Flavoparmeliacapitata*(L.)et*Cetreliaolivetorum*(Nyl) sont dotés de propriétés antimicrobiennes.

4. Test de toxicité

	Signe de toxicité			Mortalité		
	2h	72h	14j	2h	72h	14j
<i>Cetreliaolivetorum</i> (Nyl) (5000mg/kg)	-	-	-	-	-	-
<i>Flavoparmeliacapitata</i> (L.)) (5000mg/kg)	-	-	-	-	-	-

Tableau 8 : Résultats du test de toxicité (Résultats de toxicité essai limite).

D'après les résultats :

- Aucun signe de toxicité remarquable.
- Aucune mortalité n'est enregistrée.

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal, ils prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Les extraits naturels des lichens contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées à diverses activités biologiques (**Esteban, 2002**).

Selon **Yamamoto et al., (2015)**, **Ganesan et al., (2015)** et **Plaza et al., (2014)**, les composés phénoliques sont l'une des plus grandes classes de biomolécules, qui peuvent être exploré dans diverses activités, notamment les activités antioxydantes et antibactériennes.

Le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire les antioxydants d'une plante (**Sun et al., 2007**). Pour cela on a choisi ce solvant pour extraire les composés phénoliques.

L'étude phytochimique sur ces lichens *Flavoparmeliacaperrata* (L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl) a permis une quantification des composés phénoliques, des teneurs modérées sont obtenues qui varient entre 7,133mgEAG/g RS pour *Flavoparmeliacaperrata*(L.) et 32,24 mgEAG/g RS pour *Cetreliaolivetorum*(Nyl). Par contre **Aous et Boufenchouche, (2016)** ont trouvé des teneurs beaucoup plus élevées 755,78 mgEAG/g RS pour *Flavoparmeliacaperrata*(L.) et 468,11 mgEAG/g RS pour *Cetreliaolivetorum*(Nyl).

Pour les flavonoïdes, on a utilisé la méthode de chlorure d'aluminium basée sur la capacité de ces composés à former des complexes de couleur jaune avec l' $AlCl_3$ (**Huang et al., 2004**). On a trouvé que la teneur la plus élevée est trouvée chez *Cetreliaolivetorum*(Nyl) 10,27mgEQ/g RS, et 0.059mgEQ/g RS pour *Flavoparmeliacaperrata*(L.). Ces teneurs sont beaucoup plus faibles que celles de **Aous et Boufenchouche (2016)** qui ont trouvé dans leur travail, 105mgEQ/g RS pour *Flavoparmeliacaperrata*(L.) et 76,45 mgEQ/g RS pour *Cetreliaolivetorum*(Nyl).

Concernant les tannins, on constate que la valeur la plus élevée est trouvée chez *Cetreliaolivetorum*(Nyl) 24,06 mgEAT/g RS, tandis que la valeur la plus faible est trouvée chez *Flavoparmeliacaperrata*(L.) avec 0,078 mgEAT/g RS.

La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces deux espèces est dû probablement à la richesse en composés phénoliques des extraits (**Hayouniet al., 2007**), aux facteurs génotypiques (**El-Waziry, 2007**), les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) (**Ksouriet al., 2008**), la nature du sol et le type du microclimat (**Atmaniet al.,**

2009), l'année et la saison de la récolte, (Lisiewska et al., 2006 ; Adedapo et al., 2008) et aussi le standard utilisé pour l'expression des résultats.

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles. (Popovici et al., 2009). Très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude des propriétés anti-oxydantes des lichens choisis (*Flavoparmeliacapitata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl)). Deux tests sont utilisés pour évaluer l'activité anti-oxydante, dans ce travail on a calculé le radical DPPH de l'acide ascorbique et des extraits de *Flavoparmeliacapitata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl).

Les pourcentages du DPPH résiduels en fonction des concentrations des échantillons nous permettent d'obtenir la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du DPPH initiale à 50%. Cette valeur est appelée IC₅₀ (Sanchez-Moreno et al., 1999).

Nos résultats indiquent que l'acide ascorbique est la substance la plus active à piéger les radicaux libres DPPH par rapport aux deux extraits avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 0.004mg/ml. Cela est en accord avec la littérature, car une étude réalisée par (Friardi Ismed., 2012) montre que les composés lichéniques de *Stereocaulon halei* Lamb et *Stereocaulon montagneanum* Lamb n'ont pas montré d'activité sur le test DPPH comparativement à l'acide ascorbique.

Les IC₅₀ sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet anti-radicalaire important (Maisuthisakul et al., 2008).

Bartak et al., (2004) indiquent que la différence de la concentration d'antioxydant fluctue avec les conditions de l'environnement extrêmes (haute température, haute lumière, pollution de l'air) car ces conditions réduisent la synthèse d'antioxydant dans les lichens et par conséquent diminuent son activité anti-oxydante.

Les antioxydants présents dans l'extrait ont l'aptitude à réduire le fer ferrique en fer ferreux en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium [K₃Fe(CN)₆] et de l'acide trichloracétique (milieu acide) (Gulçin et al., 2005a).

Quelques études ont montré que le pouvoir réducteur des extraits lichéniques est un indicateur significatif de leurs activités anti-oxydantes, cette activité est toujours corrélée avec la teneur élevée en phénols totaux (Grujicic et al., 2014).

Nos extraits ont montrés un pouvoir réducteur qui varie en fonction de la concentration, cela est probablement dû à la présence des groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurs d'électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres pour les transformer en des produits plus stables (**Sasikumar et al., 2010**)

Selon les résultats obtenus, on constate que l'extrait méthanolique de *Cetreliaolivetorum* (Nyl) est plus actif, cela peut être lié à sa teneur élevée en polyphénols.

Ceci a été confirmé par le test de corrélation où on a relevé une corrélation positivement significative entre le pouvoir réducteur et les flavonoïdes, le DPPH et les phénols polaires de l'espèce de *Cetreliaolivetorum*(Nyl) ($P \leq 0.05$).

$$\ll r = 0.999, p = 0.034 ; r = 0.998, p = 0.043 \gg.$$

D'autre part, face au développement de formes résistantes de bactéries vis-à-vis des traitements antibactériens conventionnels, les métabolites lichéniques sont étudiés comme alternatives. En effet, plus de 50 % des lichens possèderaient une activité antibiotique et représenteraient donc une source importante de nouveaux composés bioactifs (**Zambare et Christopher, 2012**).

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence par la technique de diffusion sur disque en papier Wattman une éventuel activité antibactérienne des extraits méthanoliques des deux lichens étudiés *Flavoparmeliacaperrata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl) contre deux souches bactériennes : *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

D'après les résultats, les extraits méthanoliques de *Flavoparmeliacaperrata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl) ont une activité inhibitrice modérée contre les microorganismes testés, aussi une étude de **Cansaran Duman (2009)**, a montré que l'extrait acétonique de *Flavoparmeliacaperrata* (L.) a une activité importante sur *Escherichia coli*.

En effet, les activités antibactériennes des extraits de lichens varient en fonction des solvants utilisés pour les extractions ainsi que des bactéries testées et notamment de la composition de leur membrane, différente chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les premières sont généralement plus sensibles à l'activité antibiotique des métabolites lichéniques que les secondes (**Rowe et al., 1989**). Aussi, faut-il rappeler que l'extrait de *Flavoparmeliacaperrata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl) contient des flavonoïdes, des tannins, des phénols. Ces composés ayant des propriétés antibactériennes connues, leur présence pourrait donc expliquer les propriétés antibactériennes observées.

D'après les résultats préliminaires du test de toxicité à 5000 mg/kg (essai limite) il n'y a aucun effet toxique remarquable des deux espèces *Flavoparmeliacapitata*(L.) et *Cetreliaolivetorum*(Nyl) sur les souris, il était souhaitable de confirmer ces résultats par une autopsie.

Donc ce test confirme l'utilisation de *Cetreliaolivetorum* (Nyl) et *Flavoparmeliacapitata* (L.) comme source de molécules bioactifs sans danger.

L'analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classifications montre une différence très hautement significative pour tous les paramètres étudiés « $P \leq 0.001$ ». Cela signifie qu'il y a une variation du potentiel bioactif entre les deux espèces qui est due à la variation de leur composition en substances chimiques.

Les deux espèces de lichens *Flavoparmelia caperata* (L.) et *Cetrelia olivetorum* (Nyl) possèdent plusieurs propriétés biologiques qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie et cosmétologie.

Ces lichens sont aussi des espèces capables de rendre compte de l'évolution d'un écosystème. En effet, ce sont des bio-indicateurs capables de révéler le degré de pollution de l'environnement. Ce sont de véritables sentinelles.

Notre étude a pour but d'évaluer l'activité biologique des lichens en question ainsi que leurs métabolismes secondaires bioactifs.

En premiers lieu, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude phytochimique des extraits méthanoliques. La quantification par la méthode spectrophotométrique nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu, en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et les tannins par le test de la vanilline.

Les résultats obtenus pour l'analyse quantitative de la composition en polyphénols des deux extraits, confirment que *Cetrelia olivetorum* (Nyl) possède la teneur la plus élevée.

Dans la deuxième partie, nous nous sommes intéressés à l'étude des propriétés anti-oxydantes des extraits des deux espèces testées. L'activité anti-oxydante est évaluée par deux tests : le pouvoir réducteur qui consiste à réduire le fer ferrique en fer ferreux et l'activité anti-radicalaire contre le DPPH qui se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables.

Le résultat obtenu nous a permis de constater que l'IC50 qui est considérée comme la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH de *Flavoparmelia caperata* (L.) est une faible valeur donc ce dernier possède une activité anti-radicalaire contre le DPPH plus importante que celle de *Cetrelia olivetorum* (Nyl), par contre la CR0, 5 qui représente la concentration nécessaire pour la réduction de 50% du Fer de *Cetrelia olivetorum* (Nyl) est faible donc ce lichen a un pouvoir réducteur élevé par rapport à *Flavoparmelia caperata* (L.). L'activité anti-oxydante varie d'un extrait méthanolique à l'autre.

L'activité antibactérienne des lichens étudiés est probablement due aux composés phénoliques. Cette activité a été déterminée sur deux souches bactériennes, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* selon la méthode de diffusion sur disques, ces deux souches sont des bactéries à Gram négatif. Les résultats indiquent que les deux extraits possèdent une faible activité antibactérienne sur les souches testées traduit par des faibles diamètres de zones d'inhibition par rapport à ceux exercés par l'antibiotique.

Un test de toxicité a été réalisé sur 6 souris (3 pour chaque extrait) par administration orale de l'extrait, les résultats préliminaires de ce test ont montré à première vue que *Cetrelia olivetorum* (Nyl) et *Flavoparmelia caperata* (L.) n'ont pas d'effet toxique, Ces résultats pourront être confirmé par une autopsie.

Donc, ce test confirme l'utilisation de *Flavoparmelia caperata* (L.) et *Cetrelia olivetorum* (Nyl) comme source de molécules bioactifs sans danger.

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer les activités de molécules bioactives afin de mieux connaître, de valoriser et d'utiliser ces ressources dans le domaine thérapeutique.

Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Elargir le panel des activités anti-oxydantes, antibactériennes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : anti-tumorale, anticancéreuse et anti-inflammatoire des métabolites secondaires synthétisés par les lichens.
- Caractériser et isoler les principes actifs responsables à ces propriétés.

A

- **Adedapo A.A, Jimoh F.O, Koduru S, Masika P.J et Afolayan, A.J. (2008).**Evaluation of the medicinal potentials of the methanol extracts of the leaves and stems of *Halleria lucida*.*Bioresource technology*,99:4158-4163. In Amieur,R et Chabounia, A.,(2014): étude quantitative des composés phénoliques de deux plantes et évaluation in vitro de leur activité biologique, spécialité: toxicologie de l'environnement. Université Med-Seddik ben Yahia. Jijel.
- **Adenot.M.(2000).** Initiation à la chimie médicinale les voies de la découverte du médicament, ellipses.Paris.25
- **AmandineAndraud-Dieu (2015).** Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.p 7.
- **Amiard.J.C. (2011).**Les risques chimiques environnementaux. Ed Lavoisier, Paris, p(721) ISBN : 987-2-7430-1344-8.
- **Aous, S. Boufenchouche, L. (2016).** Etude de la toxicité d'un mélange de pesticide chez la souris et exploration de l'effet protecteur de l'extrait brut de *Flavoparmelia caperata*. Thèse de fin d'étude. Option : Toxicologie de l'environnement. Université Med-Seddik benyahia. Jijel.p54, 56.
- **Arisi, A.-C. M., Cornic, G., Jouanin, L. et Foyer, C. H. (1998).** Overexpression of iron superoxide dismutase in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen. *Plant Physiology* **117** (2), 565-574. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P 48-49.
- **Armstrong, R. A., Welch, A. R. Symbiosis (2007),** 43, 1-12. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015.
- **Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem*, 112: 303–309. In Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.P 89

- **Aubert, S., Juge, C., Boisson, A.-M., Gout, E.; Bligny, R.** *Planta* (2007), 226, 1287-1297. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.

B

- **Bartak, M Hajek, J. Vrablikova, H. Dubova, J.(2004).** Hight-light stress and photoprotection in *Umbilicaria antarica* monitored by chlorophyl fluorescence imaging and changes in yeaxanthin and glutathione. *Plant Biol.*3, 331-341. In Aous, S. Boufenchouche, L (2016). Etude de la toxicité d'un mélange de pesticide chez la souris et exploration de l'effet protecteur de l'extrait brut de *Flavoparmelia caperata*. Thèse de fin d'étude. Option : Toxicologie de l'environnement. Université Med-Seddik benyahia. Jijel. P67.
- **Beaudeau.J.L et Durand.G.(2008).** Biochimie médicale marqueurs actuels et perspectives. 2eme Ed Lavoisier. Paris p113. ISBN : 978-2-257-20472-1.
- **Bédane, C. (2008).** Photodermatologie : Photobiologie. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P 49.
- **Belyagoubi N, (2011).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P 8 ,11,13.
- **Bhor.V.A, (2002).** Repair of oxidative DNA damage in nuclear and mitochondrial DNA, and some changes with aging in mammalian cells. *Free Radical biol Med*,32 :804-812. In : Beaudeau.J.L et Durand.G. (2008). biochimie médicale marqueurs actuels et perspectives. 2eme Ed Lavoisier. Paris p113. ISBN : 978-2-257-20472-1
- **Bonnet, C., Alamigeon, F. et Micheels, P. (2010).** Guide complet des soins esthétiques : du coté de ma vie. Edition Eyrolles, p 14 In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P 47.
- **Boubekri C., (2014).** Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra.

- **Boustie, J. et M. Grube.(2005).**Lichens a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genetic Resources*, , 3: 273-287. In : Rossignol. P. (2013). Les Lichens et les cosmétiques. Université de RENNES 1. U.F.R. Sciences Médicales et Pharmaceutiques Laboratoire de Pharmacognosie et de Mycologie. P6.
- **Boustie, J., Tomasi, S., Grube, M. *Phytochemistry Reviews* (2011),10, 287-307.** In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. *Biologie moléculaire*. Université de Limoges, 2015.
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris. In : Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P 8 ,11,13.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. *Edition Technique et documentation*, p233 In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P47.

C

- **Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S. M., Vasson, M.-P., Hasselmann, M. et Lerverve, X. (2006).** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. *Edition Springer*, p 255. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P48.
- **Cansaran Duman, D.(2009), *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*66 (4), 153-160.** In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. *Biologie moléculaire*. Université de Limoges, 2015
- **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582. In : Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P 8, 11, 13.

D

- **Dai, J. et Mumper, R. J. (2010).** Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propertes. *Molecules* **15**(10), 7313-52. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P24.
- **Dayan, F. E. er Romagni, J. G. (2001).** Lichens as a potential source of pesticides.the royal society of Chemistry.DOI:1039/b110543b.
- **Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G. J. et Van Berkel, W. J. H. (2006).** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review* **1** (1), 21-38 In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P41.
- **Droillard, M.-J. et Paulin, A. (1990).** Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* **94** (3), 1187-1192. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P49.

E

- **Edenharder, R., Grünhage, D. (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18. In : Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P 8 ,11,13.
- **Eisenreich, W., Knispel, N., Beck, A.(2011).** Phytochemistry Reviews, 10, 445-456. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français
- **El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R.(2012).**Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8. In Hassaine. S (2013). Etude de la

- résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen. Thèse de Master en biologie. Option Contrôle du développement microbien. Université Aboubaker bel kaid. Tlemcen. p 20.
- **Elix, J. A. (1996).** Biochemistry and secondary metabolites. *Lichen Biology*. T. H. Nash. Cambridge, , Cambridge University Press: 154-180. In : Rossignol. P. (2013). Les Lichens et les cosmétiques. Université de RENNES 1. U.F.R. Sciences Médicales et Pharmaceutiques Laboratoire de Pharmacognosie et de Mycologie.
 - **El-Waziry, A.M. (2007).** Nutritive value assessment of ensiling or mixing *Acacia* and *Atriplex* using in vitro gas production technique. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3(6): 605-614. In Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.P 89
 - **Esteban. I, (2002).** Liquenes usados en medicina tradicional. *Bol Soc Micol Madrid.* 36 : 163-174. In : Djennas. M, Hamioud. L (2016). Contribution à l'étude des métabolites secondaires et evaluation de l'activité antibactérienne et anti oxydante des extraits de deux lichens du genre *Laubaria* : *L. pulmonaria (L.) Hoffem* et *L. virens (with.) Laundon*.Thèse de fin d'étude. Option phytopharmacie et gestion des agrosystèmes. Université Med-Seddik benyahia. Jijel. p 41.

F

- **Favier A.(2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108-115. In : Le guernic,A. (2015). Effets sublétaux d'une contamination métallique liée à des rejets miniers uranifères sur l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus L.*). Implication dans la susceptibilité envers un stress biologique. Discipline : Physiologie et biologie des organismes – populations – interactions Spécialité : Ecotoxicologie. Université. UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE – ARDENNE.
- **Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S. I. et Chun, O. K. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 24,1043–1048. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P78.

- **Friardi Ismed. (2012).**,Phytochimie de lichens du genre Stereocaulon : étude particulière de *S. Halei* Lamb et *S. montagneanum* Lamb, deux lichens récoltes en Indonésie Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. Université DE RENNES.

G

- **Ganesan A., Thangapandian M., Ponnusamy P., Sundararaj J.P., Nayaka S. (2015).** Antioxydant and antibacterial activity of parmelioid lichens from shevaroy hill of eastern ghats. *International journal of pharm tech research* No.9. Vol, 8. P13-23. In : Djennas. M, Hamioud. L (2016). Contribution à l'étude des métabolites secondaires et evaluation de l'activité antibactérienne et anti oxydante des extraits de deux lichens du genre Laubaria : *L. pulmonaria (L.) Hoffem et L. virens (with.) Laundon*.Thèse de fin d'étude. Option phytopharmacie et gestion des agrosystèmes. Université Med-Seddik benyahia. Jijel. p 41.
- **Garci', N. A. T., Iribarne, C., Palma, F. et Lluch, C. (2007).** Inhibition of the catalase activity from *Phaseolus vulgaris* and *Medicago sativa* by sodium chloride. *Plant Physiology and Biochemistry* **45**, 535-541. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P49.
- **Gombert, S., Asta, J., Seaward, M. R. D. (2006).***Ecological Indicators*6, 429-443. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Goudable, J. et Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* **11**,115-120. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P44.
- **Grujicic M., Snipes J., Ramaswami S., Yavari R., Cheeseman B.(2014).** Multi-scale computation-Based Design of Nano-Segregated polyurea for Maximum Shockwave-Mitigation Performance. *AIMS. Mater Sci* 1:15:27. In Djennas. M, Hamioud. L (2016). Contribution à l'étude des métabolites secondaires et évaluation de l'activité antibactérienne et anti oxydante des extraits de deux lichens du genre Laubaria : *L. pulmonaria (L.) Hoffem et L. virens (with.) Laundon*.Thèse de fin d'étude. Option phytopharmacie et gestion des agrosystèmes. Université Med-Seddik benyahia. Jijel. p 42.

H

- **Hadbaoui, Z. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. Thèse de Doctorat : Université de Kasdi Merbah OUARGLA-ALGERIE. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P78.
- **Hadj Salem, J. (2009).** Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat : Université de LORRAINE. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P47.
- **Häffner, E., Lomský, B., Hynek, V., Hällgren J. E., Batič, F., Pfanz, H. (2001).** *Water, Air, and Soil Pollution*), 131, 185-201. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*, 96: 67– 202. In : Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.P 8 ,11,13.
- **Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007).** The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts, *Food Chem.* 105: 1126-1134. In Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.P 89.
- **Huang, D. J., Lin, C., Chen, H. J., et Lin, Y. H. (2004).** Anti-oxidant and proliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas*) [L.]Lan Tainong (57') constituents Bot. Bull. Acad. Sin., 45, (179-186).
- **Huneck, S. et Yoshimura, L.(1996).** Identification of lichen substances. Springer-Verlag, Berlin, 493 pages. In :Wiveche, D ; 2003. Contribution à l'étude des métabolismes

secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina stellaris* et *Cladina rangiferina*. Option : biochimie. Université du Québec à Chicoutimi. P24

- **Huneck, S. et I. Yoshimura.** Identification of lichen substances, Berlin-Heidelberg,(**1996**).Ismed, F., Phytochimie de lichens du genre *Stereocaulon*: étude particulière de *S. halei* Lamb et *S. montagneanum* Lamb, deux lichens recoltés en Indonésie. Chimie. Université de Rennes 1. 2012. 284. In : Rossignol. P. (2013). Les Lichens et les cosmétiques. Université de RENNES 1. U.F.R. Sciences Médicales et Pharmaceutiques Laboratoire de Pharmacognosie et de Mycologie.
- **Huneck, S.Naturwissenschaften.(1999).** 86, 559-570. In :Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Huneck, S. (1999).**The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*, 86, 559-570.In :Wiveche, D ; 2003. Contribution à l'étude des métabolismes secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina stellaris* et *Cladina rangiferina*. Option : biochimie. Université du québec à chicoutmi. P24.

J

- **Jacob, L. (2007).** L'insuffisance rénale aiguë. Edition Springer, p 88 In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P47.
- **Joly B et Reynaud A.(2002).** Entérobactéries. Systématique et méthodes de diagnostic. P : 79-80-83. In Hassaine. S (2013). Etude de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen. Thèse de Master en biologie. Option Contrôle du développement microbien. Université Aboubaker bel kaid. Telemcen. P22.
- **Joulain, D.; Tabacchi, R.(2009).***Flavor and Fragrance Journal* 24, 49-61. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.

K

- **Karagöz, A., Dođruöz, N., Zeybek, Z., Aslan, A.(2009)***Journal of Medicinal Plants Research*, 3 (12), 1034-1039.In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche

- synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Kim, J. A., Hong, S. G., Cheong, Y. H., Koh, Y. J., Hur, J.-S.** *Mycologia* (2012).104 (2), 362-370. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
 - **Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., Abdelly, C. (2008).**Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol*, 331: 865- 873. In Belyagoubi Nabila., (2011):Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.P 89.
 - **Kumar, S. K. C. et 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. In :Wiveche, D ; 2003. Contribution à l'étude des métabolismes secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina stellaris* et *Cladina rangiferina*. Option : biochimie. Université du québec à Chicoutimi. P24

L

- **Lange, O. L., Green, T. G. A., Heber, U. (2001).** *Journal of Experimental Botany*, 52 (363), 2033-2042. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Le guernic.A. (2015).** Effets sublétaux d'une contamination métallique liée à des rejets miniers uranifères sur l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus* L.). Implication dans la susceptibilité envers un stress biologique. Discipline : Physiologie et biologie des organismes – populations – interactions Spécialité : Ecotoxicologie. Université. UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE – ARDENNE.
- **Lisci, M., Monte, M., Pacini, E. (2003).***International Biodeterioration & Biodegradation* 51, 1-17. In : Rossignol. P, (2013). Les Lichens et les cosmétiques. Université de RENNES 1. U.F.R. Sciences Médicales et Pharmaceutiques Laboratoire de Pharmacognosie et de Mycologie.
- **Lisiewka, Z., Kmiecik, W. et Korus, A. (2006).** Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on

- plant height. *Journal of Food Composition and Analysis*, 119: 134-140. In Amieur,R et Chabounia, A.,(2014): etude quantitative des composés phénoliques de deux plantes et evaluation in vitro de leur activité biologique, specilaité: toxicologie de l'environnement. Université Med-Seddik benyahia. Jijel.
- **Lushchak VI. (2011).** Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology* 101, 13-30. In : Le guernic,A. (2015). Effets sublétaux d'une contamination métallique liée à des rejets miniers uranifères sur l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus* L.). Implication dans la susceptibilité envers un stress biologique. Discipline : Physiologie et biologie des organismes – populations – interactions Spécialité : Ecotoxicologie. Université. UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE – ARDENNE.

M

- **Maisuthisakul P, Pasuk et Ritthiruangdj P. (2008).** Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some the plants. *Journal of Food.Composition and analysis* 21, pp: 229-240.
- **Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour M., Perrier Gros Claude J-D., Timinouni M. (2009).**Resistance aux quinolones de types qnr, aac (60)-Ib-cr chez les entérobactéries isolées a` Annaba en Algérie. *Pathologie Biologie* 59(2011) e73-e78. In Hassaine. S (2013). Etude de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen. Thèse de Master en biologie. Option Contrôle du développement microbien. Université Aboubaker bel kaid. Telemcen. p 27.
- **Merghem.R. (2009).**élément de biologie végétal, 1er edition Bahaeddine, Constantine, pp 135-153.
- **Mitrović, T., Stamenković, S., Cvetković, V., Tosić, S., Stanković, M., Radojević, I.,Stefanović, O., Čomić, L., Đaćić,D., Ćurčić, M., Marković, S. (2011).** *International Journal of Molecular Sciences* 2011, 12, 5428-5448. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. *Biologie moléculaire*. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Muggia, L., Schmitt, I., Grube, M.(2009),** *SIMNEWS* , may/june, pp. 85-97. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. *Biologie moléculaire*. Université de Limoges, 2015. Français

- **Müller, K. (2001).** Applied Microbiology & Biotechnology, 56, 9-16. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.

N

- **Nguyen, K. H., Chollet-Krugler, M., Gouault, N., Tomasi, S.(2013),** *Natural Product Reports* 30 (12), 1490-1508. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015.
- **Nicholls, P. (2012).** Classical catalase: Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 525, 95–101. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P49.
- **Nishitoba, Y., Nishimura, H., Nishiyama, T et Mizutani, J.(1987),** Lichens acids, plant growth inhibitors from *Usnea longissima*. *Phytochemistry*, 26 (12), 3181-3187. In :Wiveche, D ; 2003. Contribution à l'étude des métabolismes secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina stellaris* et *Cladina rangiferina*. Option : biochimie. Université du québec à chicoutmi. P24.

O

- **O'Kennedy, R., and Thornes, R.D. (ed). (1997).** Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley & Sons Inc. New York. N.Y. In : Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.P 8 ,11,13.
- **OECD (2001).** Guidance Document on Acute Oral Toxicity. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No 423.
- **Oksanen, I.** Applied Microbiology and Biotechnology(**2006**), 73, 723-734. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Olafsdottir, E. S.; Ingolfssdottir, K.** *Planta Medica* 2001, 67, 199-208. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique :

- Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Olinski.R, Gackowski.D, Rozalski.R, Foksinski.M, Bialkowski.K. (2003).**Oxidative DNA damage in cancer patients : a cause or a consequence of the disease development ? *Mutat Res*, 531 :177-190. In : Beaudoux.J.L et Durand.G. (2008).biochimie médicale marqueurs actuels et perspectives.2eme Ed Lavoisier. Paris p113. ISBN : 978-2-257-20472-1
 - **Olafsdottir, Omarsdottir, S., Freysdottir, J. S ,** *Phytomedicine. (2007)*, 14, 179-184. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
 - **Osman, A. M. (2011).** Multiple pathways of the reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH•) with (+)-catechin: Evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH• and the oxidized form of the polyphenol. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **412**, 473–478. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P78.

P

- **Pelletier, E., Campbell, P. G. C. et Denizeau, F. (2006).** Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement. *Edition PUQ*, p 182.4 In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P49.
- **Pincemail, J. et Defraigne, J.-O. (2003).** Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* 18 (2), 55-60. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P47.
- **Plaza C., Lorena E., Diaz de T., Robert K., Luckingf., (2014).**Antioxydant activity, total phenols and flavonoids of lichens from venezuelan andes *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 2(5), p 138-147. In : Djennas. M, Hamioud. L (2016). Contribution à l'étude des métabolites secondaires et evaluation de l'activité antibactérienne et anti oxydante des extraits de deux lichens du genre *Laubaria* : *L. pulmonaria (L.) Hoffem*

- et L. virens (with.) Laundon*.Thèse de fin d'étude. Option phytopharmacie et gestion des agrosystèmes. Université Med-Seddik benyahia. Jijel. p 41.
- **Podterob, A. P.** *Pharmaceutical Chemistry Journal* (2008), 42 (10), 582-588. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
 - **Popovici, C., Saykova, I. et Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* 4, 25-39.P 26.
 - **Purvis, O. W.***Botanical Studies* (2014), 55, 23-36. In : Rossignol. P, (2013). Les Lichens et les cosmétiques. Université de RENNES 1. U.F.R. Sciences Médicales et Pharmaceutiques Laboratoire de Pharmacognosie et de Mycologie.

R

- **Richter.G.(janvier 1993).** Métabolisme des végétaux physiologie et biochimie, press polytechniques et universitaires Romandes.Paris.P431.
- **Robert, D. et Catesson, A. M.(2000).** Biologie végétale : caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative. *Wolters Kluwer France Edition*, Volume2, p 320 In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P41.
- **Ribereau-Gayon., (1982).** Handbook of Enology Volume 2 The chemistry of wine stabilization and treatments. 2eme edition. Faculty of enology Victor Segalan University of Bordeaux II, France.
- **Rojas, I. S., Lotina-Henssen, B. et Mata, R.,(2000).**Effect of lichen metabolites on hvlakoid electron transport and photophosphorvlation in isolated spinach chloroplasts. *Journal of Natural Products*, 63, 1395-1399. In :Wiveche, D ; 2003. Contribution à l'étude des métabolismes secondaires chez les lichens fructiculeux *Cladina stellaris* et *Cladina rangiferina*. Option : biochimie. Université du québec à chicoutmi. P24.
- **Roux, D. et Catier, O. (2007).** Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie. Wolters Kluwer France Edition, p 74 In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P39.

- **Rowe, J. G., Saenz, M. T., Garcia, M. D.** *Annales Pharmaceutiques Françaises* **1989**, 47 (2), 89-94. P256. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015
- **Rowe, J. G., Saenz, M. T., Garcia, M. D. et 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. In : Wiveche, D ; 2003. Contribution à l'étude des métabolismes secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina stellaris* et *Cladina rangiferina*. Option : biochimie. Université du québec à chicoutmi. P24.
- **Rundel, P. W.***Biochemical Systematics and Ecology* (**1978**), 6, 157-170. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015.

S

- **Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F.** (1999).Free radical scavenging capacity of selectes red, rosé and white wines. *J. Sci Food Agric*, 79: 1301-1304. In Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.P 50.
- **Sasikumar J.M., Mathew G.M., Teepica P.D.D.,** (2010). Comparative studies on antioxidant activity of metha-nol extract and flavonoid fraction of *Nyctanthesarbor-tristis* leaves. *Electron J Environ Agric Food Chem*. 9:227-233. In Djennas. M, Hamioud. L (2016). Contribution à l'étude des métabolites secondaires et evaluation de l'activité antibactérienne et anti oxydante des extraits de deux lichens du genre *Laubaria* : *L. pulmonaria* (L.) Hoffem et *L. virens* (with.) *Laundon*. Thèse de fin d'étude. Option phytopharmacie et gestion des agrosystèmes. Université Med-Seddik benyahia. Jijel. p 41.
- **Seaward, M. R. D.***International Biodeterioration & Biodegradation* (**1997**), 40 (2-4), 269-273. In : Rossignol. P, (2013). Les Lichens et les cosmétiques. Université de RENNES 1. U.F.R. Sciences Médicales et Pharmaceutiques Laboratoire de Pharmacognosie et de Mycologie.
- **Shukla, V., Pant Joshi, G., Rawat, M. S. M.** *Phytochemistry Reviews* (**2010**), 9, 303-314. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine

- lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Sies H, (1997).** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 82, 291-295. In : Le guernic.A. (2015). Effets sublétaux d'une contamination métallique liée à des rejets miniers uranifères sur l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus* L.). Implication dans la susceptibilité envers un stress biologique. Discipline : Physiologie et biologie des organismes – populations – interactions Spécialité : Ecotoxicologie. Université. UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE – ARDENNE.
 - **Srinivasan V B., Vaidyanathan V., Mondal A., Rajamohan G.(2012).** Role of the Two Component Signal Transduction System CpxAR in Conferring Cefepime and Chloramphenicol Resistance in *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044. April 2012 | Volume 7 | Issue 4 | e33777. In Hassaine. S (2013). Etude de la résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques au niveau du CHU de Tlemcen. Thèse de Master en biologie. Option Contrôle du développement microbien. Université Aboubaker bel kaid. Tlemcen. p 20.
 - **Stocker-Wörgötter, E. (2008).** Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. *Natural Product Reports*, 25(1): 188-200. In : Rossignol. P, (2013). Les Lichens et les cosmétiques. Université de RENNES 1. U.F.R. Sciences Médicales et Pharmaceutiques Laboratoire de Pharmacognosie et de Mycologie.
 - **Stocker-Wörgötter, E.** *Natural Product Reports* (2008), 25, 188-200. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
 - **Stocker-Wörgötter, E., Mach Cortes Cordeiro, L., Lacomini, M.** *Studies in Natural Products Chemistry* (2013), 39, 337-380. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
 - **Sun, T. Jia, ZS. Chen, WX. Jin, YX. De Xuz. (2007).** Active oxygen radical scavenging ability of water-soluble β -Alanine C60 adducts. *Chin. Chem. Lett.* 12(11) : 997-1000. In Aous, S. Boufenchouche, L (2016). Etude de la toxicité d'un mélange de pesticide chez la souris et exploration de l'effet protecteur de l'extrait brut de *Flavoparmelia caperata*. Thèse de fin d'étude. Option : Toxicologie de l'environnement. Université Med-Seddik benyahia. Jijel.P67

T

- **Thormann, M. N.** *The Forestry Chronicle*. (2006), 82 (3), 335-343. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Biologie moléculaire. Université de Limoges, 2015. Français.
- **Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V. (2006)**. The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, 7: 140-146. In : Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P 8 ,11,13.

V

- **Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M. et García-Parrilla, M. C. (2007)**. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* **71**, 230–235. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P85.
- **Visioli, F., Borsani, L. et Galli, C. (2000)**. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research* **47**, 419–425 In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P24.

W

- **Waksmundzka-Hajnos, M. et Sherma, J. (2011)**. High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical ience. *Chromatographic Science Series*, 477-478. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P24.
- **Wiveche, D. (2003)**. Contribution à l'étude des métabolismes secondaires chez les lichens fructiculeux *Cladina stellaris* et *Cladina rangiferina*. Option : biochime. Université du québec à chicoutmi. P24.

- **Wootton-Beard, P. C., Moran, A. et Ryan, L. (2011).** Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International* **44**, 217–224. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P77, 78.
- **Wu, H. (2007).** Isolation and characterization of natural products from *Inger* and *Allium Ursinum*. *ProQuest Edition*, p 28. Hadbaoui, Z. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. Thèse de Doctorat : Université de Kasdi Merbah OUARGLA-ALGERIE. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P78.

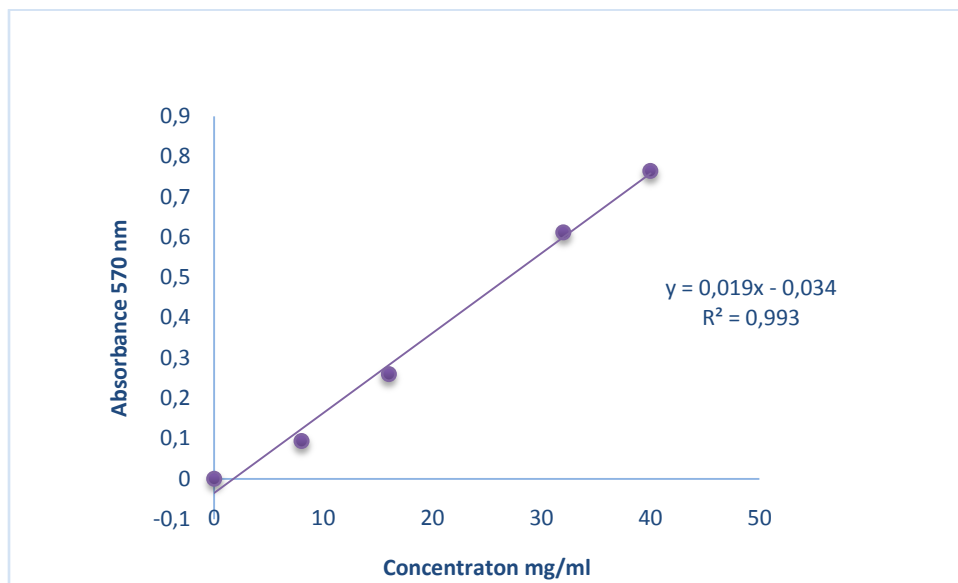
Y

- **Yamamoto Y., Hara K., Kawakami H., Komine M., (2015).** Lichen substances and their biological activities in Recent advances in lichenology modern methods and approaches in lichen systematics and culture techniques. **Upreti D.K., Pradeep K., Shukla D.V., Bajpai R.** 2^{ème} édition. Springer. India. p232. In : Djennas. M, Hamioud. L (2016). Contribution à l'étude des métabolites secondaires et evaluation de l'activité antibactérienne et anti oxydante des extraits de deux lichens du genre *Laubaria* : *L. pulmonaria* (L.) Hoffem et *L. virens* (with.) *Laundon*. Thèse de fin d'étude. Option phytopharmacie et gestion des agrosystèmes. Université Med-Seddik benyahia. Jijel. p 41.
- **Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59 :113-122. In : Belyagoubi Nabila., (2011): Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en biologie, spécialité : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P 8 ,11,13.
- **Yoshimoto, M., Sakamoto, H., Yoshimoto, N., Kuboi, R. & Nakao, K. (2007).** Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver : Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology* 41,849–858. In : Boubekri Cherifa., (2014). Etude de l'activité anti-oxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en sciences, spécialité : chimie. université Mohamed khider de biskra. P49.

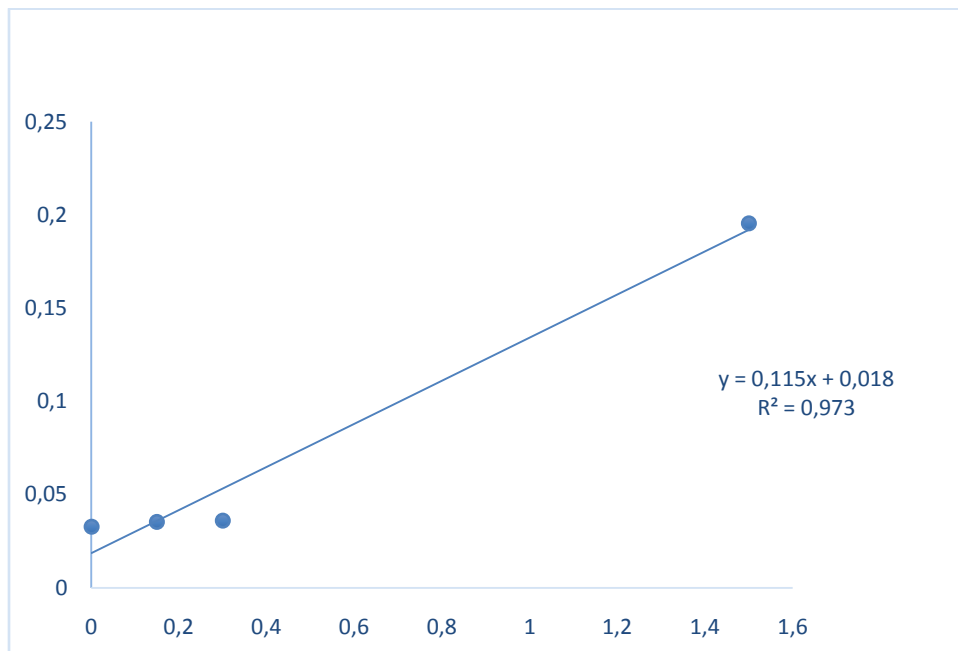
- **Yu Z., Dahlgren. (2005).** Evaluation Of Methods For Measuring Polyphenols In Copper Foliage. *J. Chem. Ecol*, 26 :2119-2140. In : Djennas. M, Hamioud. L (2016). Contribution à l'étude des métabolites secondaires et evaluation de l'activité antibactérienne et anti oxydante des extraits de deux lichens du genre *Laubaria* : *L. pulmonaria* (L.) Hoffem et *L. virens* (with.) *Laundon*.Thèse de fin d'étude. Option phytopharmacie et gestion des agrosystèmes. Université Med-Seddik benyahia. Jijel. p 22
- **Yuan, X., Xiao, S., Taylor, T. N. Science (2005),** 308, 1017-1020. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. *Biologie moléculaire*. Université de Limoges, 2015. Français. p 7.

Z

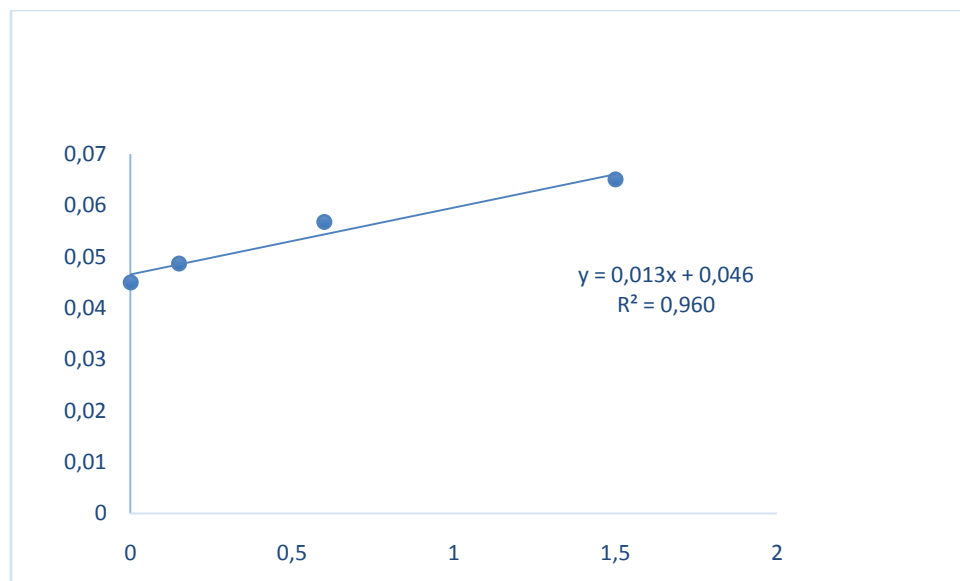
- **Zambare, V. P., Christopher, L. P.(2012).***Pharmaceutical Biology* 50 (6), 778-798. In : Amandine Andraud-Dieu. (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. *Biologie moléculaire*. Université de Limoges, 2015.p254

Annexe 1 : Les courbes d'étalonnages

Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

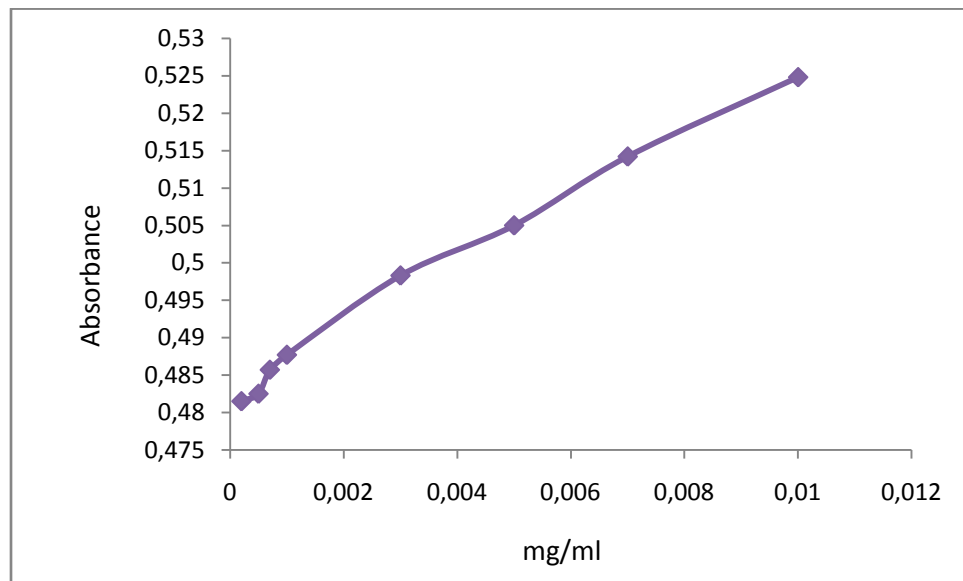
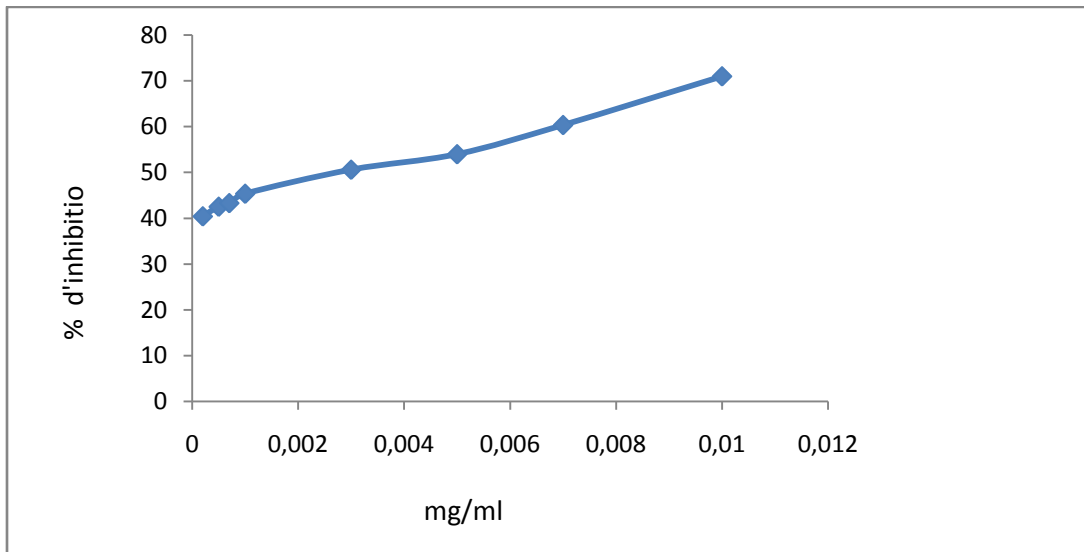


Courbe d'étalonnage de l'acide quercitine



Courbe d'étalonnage de l'acide tannique

Annexe 2 : la régression linéaire



Annexe 3 : Analyse statistique

ANOVA à deux facteurs contrôlés : C17 en fonction de ESPECES; DOSAGE

Analyse de variance pour C17

Source	DL	SC	CM	F	P
ESPECES	1	1328,17	1328,17	753,99	0,000
DOSAGE	5	1241,42	248,28	140,95	0,000
Interaction	5	1146,08	229,22	130,12	0,000
Erreur	24	42,28	1,76		
Total	35	3757,94			

Espèce *Flavoparmelia caperata*

Corrélations : PT; PP; PA; FLVO; TCO; THY; DPPH; PR; E COLI; KLEB

	PT	PP	PA	FLVO	TCO	THY	DPPH	PR
PP	0,376 0,754							
PA	0,981 0,125	0,189 0,879						
FLVO	0,614 0,579	-0,500 0,667	0,756 0,454					
TCO	0,526 0,648	-0,590 0,598	0,681 0,523	0,994 0,069				
THY	0,824 0,383	0,835 0,371	0,699 0,508	0,060 0,962	-0,048 0,969			
DPPH	0,425 0,720	-0,678 0,525	0,593 0,596	0,975 0,141	0,994 0,073	-0,162 0,897		
PR	-0,322 0,791	-0,998 0,037	-0,132 0,916	0,549 0,630	0,636 0,561	-0,802 0,408	0,720 0,489	
E COLI	-0,991 0,088	-0,500 0,667	-0,945 0,212	-0,500 0,667	-0,404 0,735	-0,894 0,295	-0,297 0,808	0,449 0,703
KLEB	0,376 0,754	1,000 *	0,189 0,879	-0,500 0,667	-0,590 0,598	0,835 0,371	-0,678 0,525	-0,998 0,037
KLEB	E COLI -0,500 0,667							

Contenu de la cellule : corrélation de Pearson
Valeur de p

Espèce *Cetrelia olivetorum*

Corrélations : PT_1; PP_1; PA_1; FLVO_1; TCO_1; THY_1; DPPH__1; PR_1; E COLI_1;

	PT_1	PP_1	PA_1	FLVO_1	TCO_1	THY_1	DPPH__1	PR_1
PP_1	0,516 0,655							
PA_1	0,663 0,539	-0,300 0,806						
FLVO_1	0,311 0,799	-0,654 0,546	0,918 0,260					
TCO_1	-0,261 0,832	-0,962 0,177	0,550 0,629	0,836 0,369				
THY_1	0,946 0,210	0,211 0,865	0,869 0,329	0,602 0,589	0,065 0,958			
DPPH__1	0,572 0,612	0,998 0,043	-0,235 0,849	-0,602 0,589	-0,941 0,220	0,276 0,822		
PR_1	-0,361 0,765	0,613 0,580	-0,937 0,226	-0,999 0,034	-0,806 0,403	-0,643 0,555	0,559 0,623	
E COLI_1	-0,980 0,127	-0,335 0,783	-0,798 0,411	-0,494 0,671	0,064 0,959	-0,992 0,082	-0,398 0,740	0,539 0,638
KLEB_1	0,662 0,539	0,983 0,116	-0,122 0,922	-0,506 0,662	-0,896 0,293	0,384 0,749	0,993 0,073	0,460 0,696
E COLI_1								
KLEB_1	-0,500 0,667							

Contenu de la cellule : corrélation de Pearson
Valeur de p

Enregistrement du fichier sous : C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\ADMINISTRATEUR\MES
DOCUMENTS\MINITAB PFE 2017.MPJ

* REMARQUE * Le fichier existant a été remplacé.

Annexe 4 :Résultats des tests biochimiques

Souches Tests	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Mannitol	+	+
Mobilité	+	-
VP	-	+
RM	+	-
Citrate de Simmons	+	+
Glucose	+	+
Lactose	+	+
Gaz	+	+
H ₂ S	-	-
OPNG	+	+
Catalase	+	+
Nitrate réductase	+	-
ADH	+	-
LDC	+	+
OCD	+	-

Réalisé par :

- Lacheb Chahinez
- Rechoua Amina

Jury :

Présidente : M^{me} Lekroune Z.
Examinatrice : M^{elle} Benterrouche I.
Encadreur : M^{me} Lemzeri H.

Thème : Etude de la variation de l'activité biologique de quelques espèces bioindicatrices (lichens).

Résumé

Les lichens sont des organismes présents dans le monde entier, ils sont considérés comme des espèces bio-indicatrices de la qualité de leurs écosystèmes, et sont devenus récemment des sources potentielles de substances pharmacologiquement actives. Nous avons axé nos travaux sur *Flavoparmelia caperata* (L.) et *Cetrelia olivetorum*(Nyl).

L'extraction des composés phénoliques est effectuée par le méthanol suivie d'une quantification des teneurs de ces composés. Les dosages obtenus exprimés en mg/ g de RS sont déterminés en utilisant les réactifs suivants : le Folin-Ciocalteu, le trichlorure d'aluminium et la vanilline. Les résultats montrent que *Cetrelia olivetorum* (Nyl) est la plus riche en polyphénols.

Dans l'étude de l'activité anti-oxydante on a utilisé deux tests: le piégeage du radical DPPH et le pouvoir réducteur. Les résultats obtenus montrent que ces deux lichens ont une activité anti-oxydante modérée par rapport à l'acide ascorbique.

Dans l'étude de l'activité antibactérienne sur deux souches *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. On a utilisé la méthode de diffusion sur disques, le résultat de cette étude nous a confirmé que ces deux lichens possèdent une activité antibactérienne.

Un test de toxicité (essai limite) des deux extraits de *Flavoparmelia caperata* (L.) et *Cetrelia olivetorum* (Nyl) est réalisé sur des souris. Ce test à la concentration de 5000mg/kg a démontré la non toxicité de ces lichens.

Mots clés : lichen, *Flavoparmelia caperata* (L.), *Cetrelia olivetorum*(Nyl), activité anti-oxydante, activité antibactérienne, test de toxicité, DPPH, pouvoir réducteur.

Absract

Lichens are plant like organisms, wide spread in nature throughout the world. They are considered as bio indicator species owing to the quality of their ecosystem. Recently, they have become a potential source to pharmacologically active agents. In our work, we focused specifically on *Flavoparmelia Caperata* (L.) and *Cetrelia olivetorum* (Nyl).

The extraction of phenolic compound is carried out using Methanol in addition to quantification of the contents of these compounds. The dosages obtained in term of mg/g are determined with the use of the following reagents: Folin-Ciocalteu reagent, trichloride Alumina, and Vanilla.

The study of antioxidant activity, we used two techniques: the radical trapping DPPH and the reducing power. The achieved results show that these two lichens have a moderate activity antioxidant.

On the other hand, and as far as the antibacterial activity study is concerned, we have used the disk diffusion method, the results confirm that these two lichens possess an antibacterial activity.

A toxicity test of the extracts of both *Flavoparmelia Caperata* (L.) and *Cetrelia olivetorum* (Nyl) has been carried, this test, with a concentration of 5000mg/kg reveals the nontoxicity of lichens.

Key words:Lichens, *Flavoparmelia Caperata* (L.), *Cetrelia olivetorum* (Nyl), antioxidant activity, antibacterial activity, toxicity test, DPPH, reducing power.

التلخيص

الأشنيات عبارة عن كائنات حية، تتميز بانتشارها الواسع في الطبيعة عبر العالم. وتعتبر كمؤشرات بيولوجية بسبب نوعية نظامها الإيكولوجي. في الآونة الأخيرة، أصبحت تستعمل في المجال الصيدلاني كمصدر معتبر للعوامل النشطة. في عملنا هذا، ركزنا أعمالنا خصوصا على الكائنين *Flavoparmelia caperata* (L.) و *Cetrelia olivetorum* (Nyl).

يتم استخراج المركبات الفينولية باستخدام الميثانول، حيث يتم بعدها تحديد محتويات مركباتها. الجرعات التي تم الحصول عليها بتركيز ملغ/غ تحدد باستخدام الكواشف التالية: كاشف فولين-سيوكالتيو، ثلاثي كلوريد، والفانيليا.

من خلال دراستنا للنشاط المضاد للأكسدة، قمنا باستخدام تقنيتين: القيام بمحاصرة جذرية لـ DPPH، وتقنية القدرة على التخفيض. النتائج التي تم التوصل إليها تبين أن هذه الأشنيات تتمتع بنشاط معتبر مضاد للأكسدة مقارنة مع حمض الاسكوربيك.

من ناحية أخرى، وفيما يتعلق بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا، استخدمنا طريقة نشر القرص، وأكدت نتائج هذه الدراسة أن هذه الأشنيات تمتلك نشاطا مضادا للبكتيري.

تم إجراء اختبار السمية على مستخلصات كل من *Flavoparmelia caperata* (L.) و *Cetrelia olivetorum* (Nyl) على الفئران. هذا الاختبار أعد بتركيز 5000مغ/كغ، حيث تبين نتائج أولية تبين عدم سمية هذه الأشنيات.

الكلمات المفتاحية: الأشنيات، *Flavoparmelia caperata* (L.)، *Cetrelia olivetorum* (Nyl)، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، اختبار السمية، DPPH، القدرة على التخفيض

