



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



Université des Frères Mentouri Constantine1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la et Nature de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie appliquée

Intitulé:

Caractéristiques phytochimiques et Activité anti inflammatoire de lichen

Présenté et soutenu par: kechkar Aya

Ben Ahmad khadidja

Soutenue le: 01/07/2018

Devant le jury:

Président: ELOUAR I.

M.C.A, Université Frères Mentouri Constantine 1

Encadreur: LATRECHE A.

M.C.B, Université Frères Mentouri Constantine 1

Examineur: GHERIB A.

M.C.B, Université Frères Mentouri Constantine1

2017 - 2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicaces

*Je dédie ce travail tout d'abord à ma chère mère Naïma. Merci
De m'avoir soutenu tant moralement que matériellement pour
que je Puisse atteindre mon but, et de ses prières pour moi.*

A mon cher père Nasser el dine tu t'es éloigné de moi

*J'avais tant besoin de toi pour avancer. «La mort d'un père est
une blessure mais aussi un enseignement Pour celles et ceux qui
savent comprendre le sens de la vie... Le sens de l'amour ».*

Papa tu ma manques tellement... Je t'aime... ta fille.

A mon grand père

A mes chère sœurs : Ghada.Hadia.

A Ma tante Salwa

A fils de ma sœur Nessra

A fille de ma sœur Bayanne.

A toute ma famille.

A mes ami(e)s de la promotion de master biochimie appliquée.

*A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur Et à tous ceux
qui M'ont aidé de près ou de loin*

Aya

Dédicaces

Avec ma gratitude et tous mon amour, je dédie ce travail à :

*Mes très chers parents, ma mère salima et mon père khoudir
qui ont consacré leur vie pour bâtir la mienne, qui ont toujours
été là pour mes joies ainsi que pour mes peines. C'est avec
émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon
admiration et mon profond respect.*

*Mes très chères sœurs : khawla, marwa et houria, pour leurs
conseils et leurs Encouragements.*

A mes chers frères : hafid et Abed nour

A fils de ma sœur Abed rahime

Mes amis :manel ,adra ,karima ,hawa ,hana ,khawla ,hala

A toute la promotion Biochimie Appliquée «2017- 2018 ».

Khadidja

Remerciements

Avant tout propos, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donnée la capacité et la volonté jusqu'au bout pour réaliser ce travail.

Nous remercions notre encadreur Dr. Latreche pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail ;

Nous remercions Dr. Elouar, Maître de conférences classe A, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions Dr. Gheribe asma, Maître de conférences classe B, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant d'examinée de ce mémoire.

Sans oublier l'ensemble de nos professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre cursus universitaire.

Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous aidé dans la réalisation de ce mémoire et spécialement au personnel' du laboratoire de biochimie en particulier Ammar, Nabil et Hocine.

Nous ne voudrions pas oublier tous nos collègues que nous avons côtoyés au Laboratoire de biochimie.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail de recherche et que n'a pas cités, trouvent ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.

Merci

Résumé

Les lichens, la nouvelle source de métabolites secondaires bioactives a intérêt médicale pharmacologique cosmétique et industriel. **Méthodologie** : on a procédé à une identification morphologique des lichens, extraction par macération, analyse par CCM, screening Phytochimique et test d'activité anti-inflammatoires induite par le formol 1%. **Résultats** : il s'agit du lichen *Xanthoria parietina*. Le meilleur rendement c'est le rendement d'extraction séquentielle 11.2% comparé à l'acétone 10%. La séparation et purification par CCM révélée six à sept spots correspondants à l'extrait acétone et tris solvant respectivement. Le screening phytochimique a montré la présence de polyphénols, tanins catéchiques et des stérols et l'absence de tri terpènes. Les extraits de *Xanthoria parietina* présentent une activité anti inflammatoire a une doses de 200 mg/kg avec un % d'inhibition 62% à 69% compare au Diclofénac (82%). Conclusion *Xanthoria parietina* semblerait un lichen prometteur a intérêt thérapeutique.

Mots clés : Lichens, *Xanthoria parietina*, CCM, screening phytochimique, activité anti-inflammatoire

Abstract

Lichens, the new source of bioactive secondary metabolites has cosmetic and industrial pharmacological medical interest. Methodology: morphological identification of lichens, maceration extraction, TLC analysis, phytochemical screening, and formalin-induced anti-inflammatory activity test were performed. Results: this is the lichen *Xanthoria parietina*. The best yield is the 11.2% sequential extraction yield compared to 10% acetone. The separation and purification by TLC revealed six to seven spots corresponding to the acetone extract and three solvent respectively. Phytochemical screening showed the presence of polyphenols, catechin tannins and sterols and the absence of tri terpenes. Extracts of *Xanthoria parietina* inhibit anti-inflammatory activity at doses of 200 mg / kg with 62% inhibition at 69% compared with Diclofenac (82%). Conclusion *Xanthoria parietina* seems to be a promising lichen with therapeutic interest.

Keywords : Lichens, *Xanthoria parietina*, TLC, Phytochemical Screening, anti-inflammatory activité

ملخص

الأشنيات هي المصادر الجديدة للأبيض الثانوية النشطة بيولوجيا لديها أهمية صيدلانية وصناعية، المنهجية، قمنا بإجراء تحديد المورفولوجيا الأشنيات وذلك عن طريق النقع، تحليل عن طريق الفصل على صفيحة سيليس، وفحص كيميائي نباتي، اختبار نشاط مضادات الالتهاب عن طريق الفورمول النتائج

وجدنا الأشنيات من نوع كزنتوريا بريتيينا، وو جدنا أفضل عائد استخلاص هو محلول استخلاص المتسلسل 11,2٪ مقارنة ب 1٪ كشف الفصل والتطهير بواسطة، س،م عن 6 مركبات مقابل 7 في مستخلص الالتهاب، اظهر نشاط مضاد الالتهاب بجرعة 200 مغ نسبة تثبيط على التوالي لمستخلص الالتهاب 69٪ ومستخلص ثلاث محاليل 62٪ مقارنة ب مضاد الالتهاب ديكلوفيناك، الخلاصة يبدو ان الأشنيات كزنتوريا بريتيينا مسكن واعد لها فائدة علاجية كبيرة.

كلمات مفتاحية الفحص الكيميائي النباتي. مضادات الالتهاب. كزنتوريا بريتيينا. الانتفاخ.

Abréviations



Abréviations

% : Pourcentage

ACTH : Adréno Cortico Trophic Hormone

ADN : Acide désoxyribonucléique

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdiens

AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens

CCM : chromatographie sur couche mince

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α, α -diphényl- β -picrylhydrazyle)

EA : extrait acétonique

EAM : extrait (éther d'éthyle, acétone, méthanol)

FeCl₃ : Trichlorure de fer

g : gramme

GC : glucocorticoïde

GR : récepteurs des glucocorticoïdes

h : heure

HSV1 : virus d'herpès simplex de type 1

IL-8 : interleukine 8

IL-2 : interleukine 2

IP : voie intra-péritonéale

JUNV : Junin virus

Abréviations

Kg : kilogramme

ME± : moyenne écart type

MIC : concentration minimale inhibitrice

min : Minutes

ml : Millilitre

N : nombre de rats

NaCl : Le chlorure de sodium

nm : nanomètre

PGE2 : La prostaglandine E 2

PGI2 : prostaglandine I2

PMNs : poly nucléaire neutrophile

PV1 : poliovirus de type 1

RE% : Le rendement d'extraction

Rf : rapport frontaux

UV : ultra violé

UVA : ultra violé A

UVB : ultra violé B

λ : longueur d'onde

Liste des tableaux



Liste des tableaux

Page

Tableau 01 : récapitule ces différentes voies de biosynthèse (selon Culberson et Elix., 1989)	12
Tableau02 : classification botanique de <i>Xanthoria parietina</i> (Beltr. 1858).....	38
Tableau 03 : Rendement massique %.....	38
Tableau 04 : Résultats des chromatogrammes de deux extraits	40
Tableau 05 : Les résultats du screening phytochimique des deux extraits	41
Tableau 06 : Evolution du volume de l'œdème de la patte.....	42
Tableau 07 : pourcentage d'inhibition du volume d'œdème de la.....	43

Liste des figures

	Page
FIGURE 01 : Echanges nutritionnels entre les partenaires des lichens.....	6
Figure 02 : Principaux types de thalles lichéniques	8
Figure 03 : Reproduction sexuée.....	9
Figure 04 : Reproduction asexuée par sorédies	10
Figure 05 : Reproduction asexuée par isidies	10
Figure 06 : Structure de la pariétine	18
Figure 07 : la phase vasculaire de l'inflammation aiguë	21
Figure 08: Mécanisme d'action des AIN et AINS.....	24
Figure 09 : photographie du lieu de récolte de lichen Xanthoria.....	26
Figure 10 : procédure d'extractions classique et successives	29
Figure 11 : les étapes de la révélation du chromatogramme de CCM	31
Figure 12 : Structure chimique de Diclofénac sodique.....	33
Figure 13: pied à coulisse Fisher scientifique.....	34
Figure 14 : Schéma présentant la procédure suivie dans le test de l'activité anti-inflammatoire de Xanthoria parietina.....	36
Figure15: Xanthoria parietina récoltée	37
Figure16 : Analyse par CCM.....	39

Sommaire



Sommaire

	Page
Introduction Générale.....	2
Chapitre I : Synthèse Bibliographique	4
I.Generalité sur les lichens	5
1. Définition	5
2. Ecologie et répartition	5
3. Constituants des lichens.....	6
4. Echanges nutritionnels entre les partenaires	6
5. Morphologie et anatomie de thalle lichénique	7
5.1. Le thalle :.....	7
5.2.Les cils :	8
5.3.La rhizine :	8
5.4.Les poils :	8
5.5. Les pseudocyphelles :.....	8
6 . La reproduction	9
6.1. reproduction sexuée (champignon seul).....	9
6.2. Reproduction asexuée (algue associée au champignon)	9
7. Les métabolites des lichens	10
7.1. Les métabolites primaires.....	11

Sommaire

7.2. Les métabolites secondaires	11
8. L'intérêt de l'utilisation des lichens	13
9. Propriétés biologiques et applications des métabolites secondaires lichéniques	13
9.1. Activités photoprotectrice	13
9.2. Effet allélopathique	14
9.3. Activité antibactériennes	15
9.4. Activité antifongique	15
9.5. Activité antioxydante	15
9.6. Activité anticancéreuse.....	16
9.7. Activité antivirale.....	16
9.8. Activité anti-inflammatoire	16
II .Generalite sur <i>Xanthoria parietina</i>	17
1. Description	17
2. Morphologie	17
3. Reproduction sexuée	18
4. Répartition géographique	18
5. Usages traditionnels	19
III. Generalite sur L'inflammation	20
1. Définition	20
2. Les types d'inflammation.....	20

Sommaire

2.1. L'inflammation aigue	20
2.1.1. La Phase vasculair	20
2.1.2. La Phase cellulaire (recrutement des leucocytes).....	21
2.1.3. La Phase de résolution.....	22
2.2. L'inflammation chronique.....	22
3. Les anti-inflammatoires.....	23
3.1. les anti-inflammatoire non stéroïdiens	23
3.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens	23
3.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale	24
ChapitreII. Matériels et méthodes	26
1. La Récolte	26
1.2. Identification des lichens récoltés	26
1.3. Séchage.....	26
2. Extraction par macération	27
2.1. Extractions classiques	27
2.2. Extractions séquentielles	27
3. Protocole d'extraction	28
3.1. Extraction classique.....	28
3.2. Extraction séquentielles.....	28
3.3. Paramètres calculés	28

Sommaire

4. Fractionnement des extraits par CCM.....	29
4.1. Mode opératoire de CCM.....	30
4.2. Développement et élution.....	30
4.3. Révélation chimique.....	31
4.4. Les paramètres calculés.....	31
5. Screening phytochimique de l'extrait végétal.....	31
5.1. Test de Liebermann-Bürchard.....	32
5.2. Test au chlorure ferrique.....	32
6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des deux extraits de <i>Xanthoria parietina</i>	33
6.1. Animaux.....	33
6.2. Réactifs.....	33
6.3. Appareillage.....	34
6.4. Protocole expérimentale.....	34
6.5. Les paramètres estimés.....	35
7. Analyse statistique.....	35
Chapitre III Résultats et interprétation.....	37
1. Identification des lichens récoltés.....	37
2. Classification botanique de <i>Xanthoriaparietina</i>	38
3. Rendements d'extraction R%.....	38
4. Analyse des chromatogrammes par CCM.....	39

Sommaire

5. Résultats du Screening phytochimique	41
6. Résultats d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire sur les rats.....	42
Conclusion générale.....	45
Références bibliographiques.....	47
Annexes.....	59



Introduction générale

Introduction Générale

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse. Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (**Gaziano et al., 2006**)

En Algérie la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Aujourd'hui les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions thérapeutiques et la vie des habitants, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne. Ces dernières années, beaucoup de recherches se sont orientés vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sureté et l'efficacité des plantes utilisées et d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes (**Rahmani et al., 2016**).

Les lichens, des organismes singuliers résultant de l'association entre un champignon et un ou plusieurs partenaires photosynthétiques, produisent de très nombreux composés chimiques qui leur sont propres et qui sont susceptibles d'avoir des applications pharmaceutiques. Ainsi, certaines de ces molécules ont une activité antibiotique ou anti-inflammatoire ou bien encore des propriétés photo protectrices, (**Karagöz et al., 2009**).

Bien que moins utilisés que les plantes en médecine traditionnelle, ils sont devenus plus récemment des sources potentielles de substances biologiquement actives. Ainsi, de nombreuses espèces font l'objet d'études phyto-chimiques approfondies afin de mettre à jour des composés nouveaux, qui pourraient trouver des applications dans des domaines tels que l'industrie pharmaceutique ou encore cosmétique (**Dieu ,2015**).

L'étude des lichens en Algérie a commencé il y a plus d'un siècle, mais sous forme d'explorations de naturalistes qui faisaient la collection des espèces lichéniques récoltées sur leur chemin et identifiées par Nylander (**Ait hammou Mohamed et al., 2014**) .

Introduction Générale

Nôtres travail s'inscrit dans le cadre d'identification des espèces de lichen d'Algérie potentiellement intéressantes (sur le plan de quantité de métabolites secondaires et de qualité des molécules bioactives) et de mise en place d'un Protocole d'extraction adéquat pour optimiser l'isolation des molécules bioactive.

Notre manuscrit est partagé en deux partie, la première réunis les généralités sur les lichens et leurs propriétés, la deuxième partie décrit notre démarche expérimentale qui vise à tester deux types d'extraction des métabolites secondaires extraction classique par acétone et extraction séquentielle par trois solvants (éther d'éthylique, acétone, méthanol), Puis une éventuelle séparation et purification par CCM. Et un screening phytochimique qualitatifs pour caractériser les extraits de lichen, enfin un test de biologique par l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Xanthoria parietina*.



*Chapitre I : synthèse
bibliographique*

I.Generalité sur les lichens

1. Définition

Les lichens, qui sont intégrés dans le règne fongique, 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). Cette symbiose confère aux lichens une structure et une reproduction spécifiques par rapport à chaque constituant seul. à la différence des plantes supérieures, ils ne possèdent ni racine, ni tige, ni feuille, mais un appareil végétatif rudimentaire : le thalle. **(Yuan et al., 2005).**

2. Ecologie et répartition

Les lichens sont répandus à travers presque toutes les régions du monde : des zones les plus extrêmes, vers les pôles, jusqu'aux sommets, à la limite des neiges éternelles, dans les déserts rocheux, et représentent environ 8 % de la couverture terrestre **(Lange et al., 2001).**

En Algérie environ 1085 espèces de lichens ont été répertoriées en 187 genres, 73 familles et 20 ordres **(Ait hammou Mohamed et al., 2014)**

Ils colonisent la roche la plus dure, le sol le plus désert et peuvent supporter de très grosses 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).**

Ils tolèrent une dessiccation extrême et une exposition intense aux ultraviolet (UV) en particulier grâce à la présence de pigments corticaux qui piègent ou empêchent la formation de radicaux libres **(Nybakken et al., 2004 ; Gauslaa, 2005 ; Vrábliková et al., 2006).**

Les lichens sont également adaptés aux basses températures ; l'activité photosynthétique peut être élevée à 0°C et chez certaines espèces à algues vertes, la photosynthèse peut être activée à -20°C grâce à la vapeur d'eau obtenue à partir de la neige.

3. Constituants des lichens

Dans le thalle, les algues représentent environ 10 % du lichen et se situent entre les deux couches du sandwich formé par le champignon (mycobionte) a 98 %, les champignons sont de la classe des ascomycètes. Il en existe environ 20 000 espèces, mais seulement 13 500 peuvent se licheniser. Le champignon permet la formation des cortex supérieur et inférieur entre les quels sont hébergées les algues (photosymbiotes) (Farou et Guerin , 2015).

les lichens abritent des communautés bactériennes, appelées bactériobiontes, pouvant former des structures de type biofilm sur certaines parties du thalle (Cardinale et al., 2006 ; Kirkelund Hansen et al., 2007) .

4. Echanges nutritionnels entre les partenaires

Chacun des deux partenaires tient un rôle important dans la survie de l'autre le champignon fournit un abri à l'algue ou à la cyanobactérie (protection contre les pertes d'eau trop brutales, contre les rayonnements solaires trop intenses, contre les animaux, etc.) ;ainsi que les sels minéraux, l'eau et les antibiotiques nécessaires à leur bon développement.L'algue ou la cyanobactérie, quant à elle, par son activité photosynthétique, va fournir au champignon la matière organique (entre autres les glucides) nécessaire à son existence.(Figure 01)

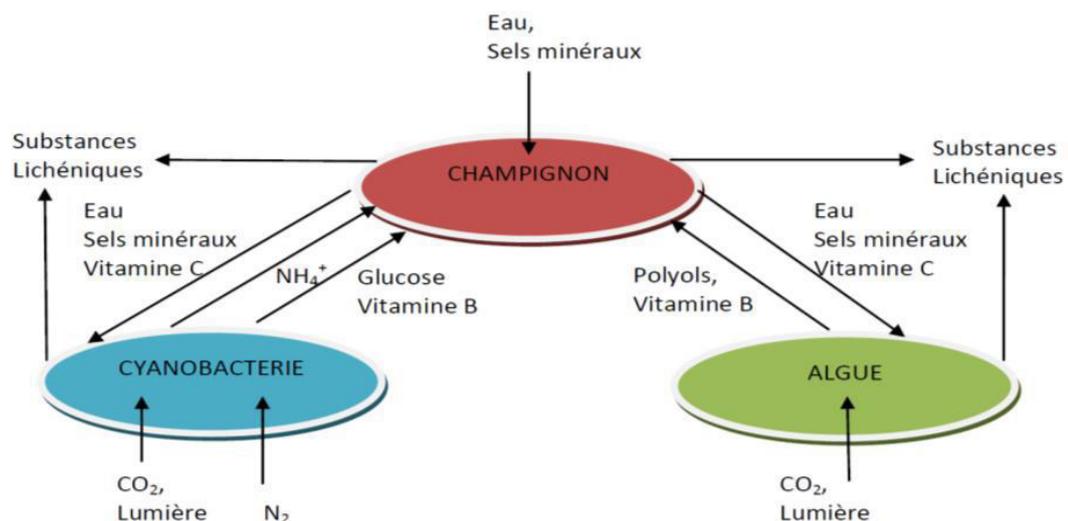


Figure01: Echanges nutritionnels entre les partenaires des lichens.

5. Morphologie et anatomie de thalle lichénique

Le champignon (mycobiote) est responsable de la morphologie des lichens, c'est-à-dire de la forme du corps du lichen. Le corps d'un lichen est appelé thalle. Le thalle est formé par un réseau de filaments nommés hyphes (ils sont comparables au mycélium des champignons). C'est au milieu d'un enchevêtrement de ces filaments que se trouvent les algues (**Anne Bauwens,2003**). Les lichens portent, encore, des organes particuliers qui leurs permettent d'assurer ces activités biologiques :

5.1. Le thalle : constitue la source principale de biomasse nécessaire à la collecte et à l'étude de ces lichens, Le thalle forme une sorte de croûte adhérente au substrat (support sur lequel se développe) et présenté des multiples colorations, du gris terne au jaune lumineux en passant par les nuances de verts et de bruns et de formes, évoquant des feuilles croûte, des poudres ou encore des petits buissons.le thalle lichénique peut être morphologiquement variable et définit sept principaux types de lichens (**Van Haluwyn et al., 2009**). (**figure 02**)

✓ **Les thalles crustacés** sont les plus communs (90 %). sous forme de croûte, ils adhèrent au substrat dans le quel ils peuvent pénétrer plus ou moins profondément (**Figure02a**).

✓ **Les thalles foliacés** se présentent sous forme de lames ou de feuilles, plus ou moins lobées ou découpées, se détachant facilement du substrat (**Figure 02b**).

✓ **Les thalles fruticuleux** sont des thalles en lanières ou tiges plus ou moins ramifiées, dressés ou pendants et adhèrent au substrat par une surface réduite (**Figure 02c**).

✓ **Les thalles complexes** ou thalles composites sont formés d'un thalle primaire plus ou moins liacé et adhèrent au substrat, sur lequel se développe un thalle secondaire dressé plus ou moins ramifié ou en forme de trompette (podétion) (**Figure 02d**).

✓ **Les thalles squamuleux** se présentent sous forme de petites squamules ou écailles pouvant se chevaucher partiellement (**Figure 02e**).

✓ **Les thalles gélatineux** sont noirs et cassants à l'état sec, ont une consistance gélatineuse à l'état humide. ils peuvent être foliacés, squamuleux, crustacés ou fruticuleux (**Figure 02f**).

✓ **Les thalles lépreux** ressemblent à de la poudre se détachant facilement du substrat (**Figure02g**).

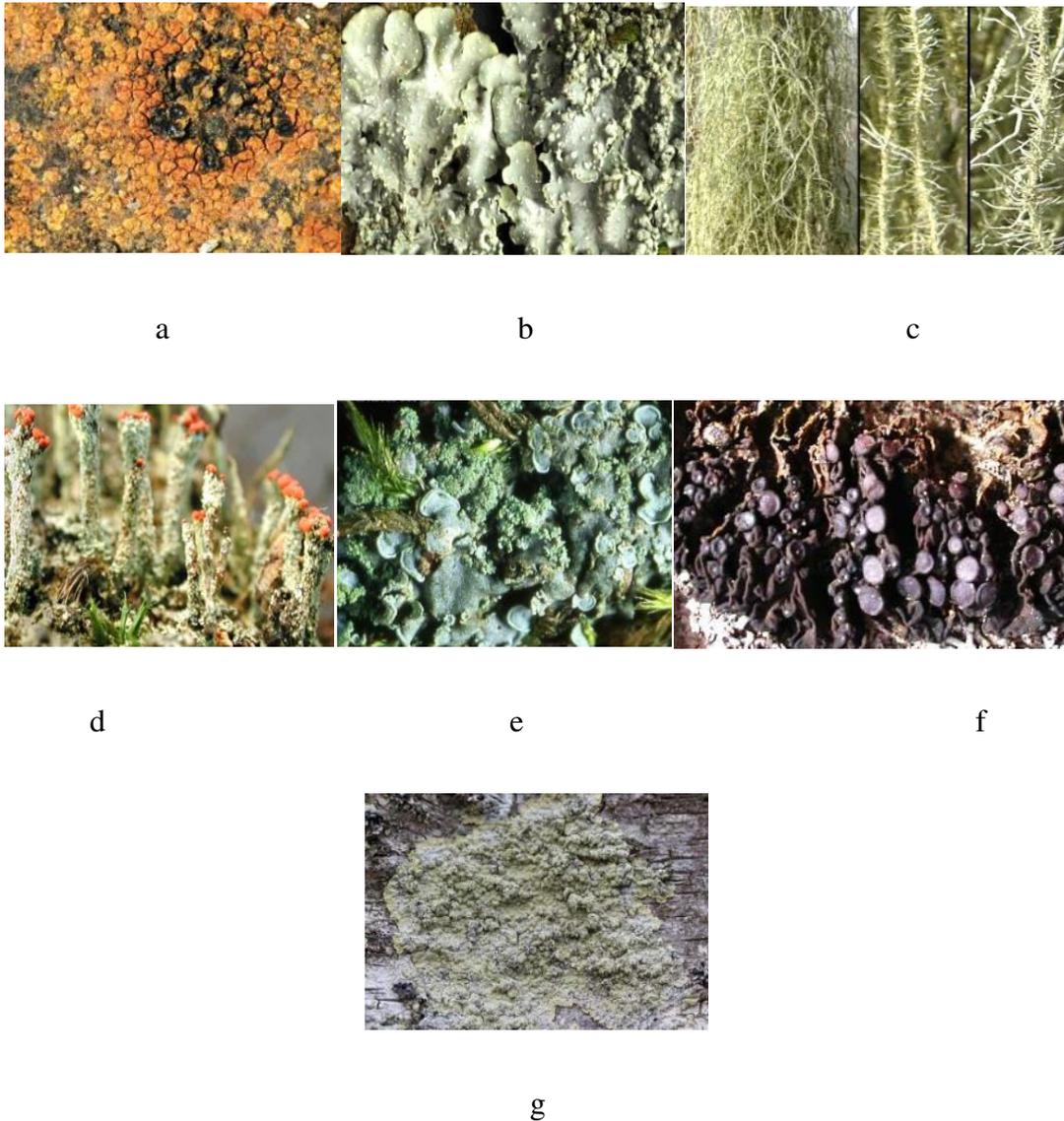


Figure 02 : Principaux types de thalles lichéniques

5.2. Les cils : augmentent la surface du lichen pour que l'algue capte mieux la lumière du soleil et pour que le champignon absorbe plus facilement l'eau atmosphérique.

5.3. La rhizine : permet la fixation au substrat.

5.4. Les poils : très fins et à peine visibles à l'oeil nu retiennent l'eau et jouent un rôle protecteur contre le soleil.

5.5. Les pseudocyphelles : petites ouvertures à la surface du thalle. Elles permettent les échanges gazeux avec l'atmosphère (Gregory et Dimijian., 2003).

6 . La reproduction

Les lichens sont capables de se reproduire selon deux modes : soit par reproduction végétative, soit par reproduction sexuée (rencontre des spores fongiques avec un photobionte).chez la majorité des lichens, la reproduction sexuée est très largement prédominante (Murtagh et al., 2000).

6.1. reproduction sexuée (champignon seul)

Les apothécies sont des organes qui indiquent la reproduction sexuée. La reproduction sexuée se déroule en deux phases :

- Dans le même thalle, des « hyphes + » et des « hyphes - » (sortes de filaments du champignon) fusionnent et forment des boutons appelés apothécies qui vont produire des spores.
- Ces spores facilement transportées par le vent vont constituer de nouveaux des hyphes asexuées qui devront capturer et emballer une algue présente dans le milieu de façon à pouvoir donner naissance à un nouveau lichen.

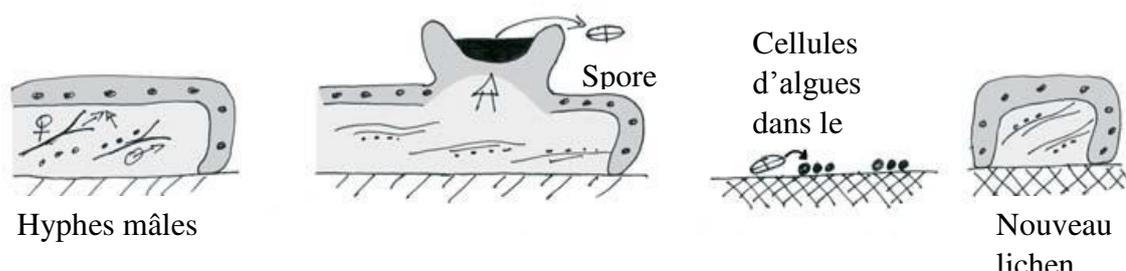


Figure 03 : Reproduction sexuée (champignon seul)

6.2. Reproduction asexuée (algue associée au champignon)

Les sorédies et les isidies qui contiennent à la fois le champignon et l'algue se réimplantent facilement et finissent par donner un nouveau thalle. Ces différents modes de reproduction permettent de coloniser de nombreux lieux. La reproduction asexuée s'accomplit selon deux modes :

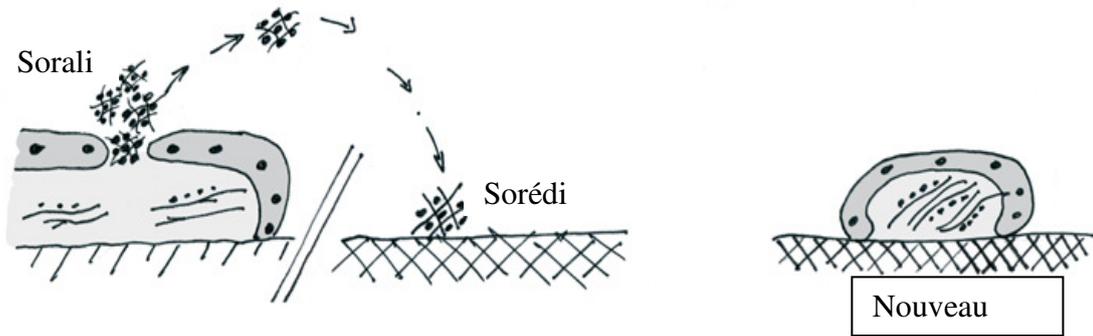


Figure 04 : Reproduction asexuée par sorédies

Le thalle se déchire et laisse pousser des sortes de bosses appelées soralies de couleur différente de la surface du thalle. Ces soralies émettent de petits granules légers appelés sorédies qui se séparent facilement du thalle puis sont transportées par le vent ou les animaux. Les sorédies permettent la colonisation de nouveaux lieux parfois très éloignés.

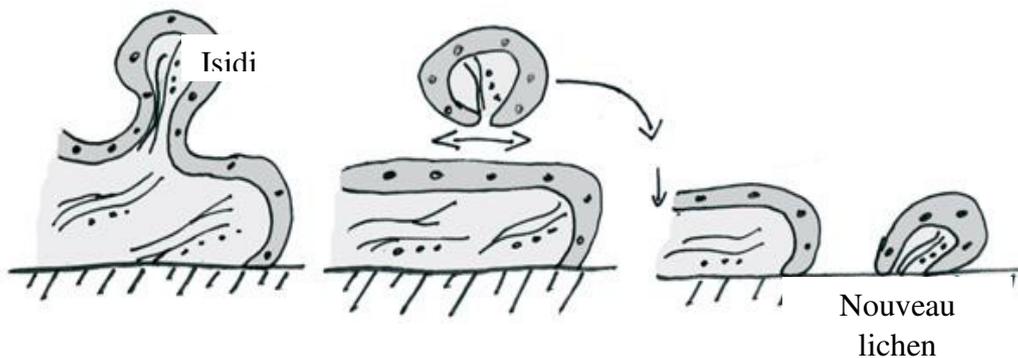


Figure 05 : Reproduction asexuée par isidies

Le thalle émet des petits bourgeons de la même couleur que la surface du thalle appelés isidies. Ces isidies se détachent mais, plus lourdes, elles tombent à proximité et permettent la colonisation d' un même endroit (ex : parois rocheuses ou murs).

7. Les métabolites des lichens

Les lichens produisent une large variété de composés organiques divisés en deux groupes principaux : les métabolites primaires et les métabolites secondaires :

Chapitre I :synthèsbibliographique

7.1. Les métabolites primaires

Les métabolites primaires regroupent les protéines, les lipides, les polyols, les polysaccharides, les pigments (chlorophylles, xanthophylles, carotènes...) et autres composés organiques intervenant dans le métabolisme et la structure des lichens (**Podterob., 2008 ; Mitrovic et al., 2011**) ; ils sont produits par le champignon et le photobionte (algue verte ou cyanobactérie). 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 antitumorale, immunostimulante et antivirale (**Olafsdottir et Ingólfssdóttir., 2001 ; Omarsdottir et al., 2007**).

7.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires 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 %) (**Shukla et al., 2010**), et sont généralement excrétés des cellules fongiques pour former des 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**).

Asahina et Shibata ont été les premiers à proposer la classification des métabolites secondaires lichéniques sur la base des voies de biosynthèse (**Asahina et Shibata., 1971**), décrites par la suite dans la littérature (**Culberson et Elix., 1989**).

Chapitre I :synthèsbibliographique



Tableau 01 : récapitule ces différentes voies de biosynthèse décrites dans la littérature pour les composés secondaires lichéniques

Voie de biosynthèse	Type de composé	Nombre de composé
Acide mevalonique	Di-, sesquiter-, et tri-terpènes	88
	Stéroïdes	33
Acetatepolymalonate	Anthraquinoneset dérivés	52
	Xanthoneset bis-Xanthones	78
	Chromoneset Chromanes	13
	Acide aliphatiques	56
	Depsones	8
	Depsidoneset diphényléthers	131
	Dibenzofuranes ,acide usnique et dérivés	29
	Monoaromatique phénoliques	32
Depside, tridepsides et benzyl esters	207	
Acide shikimique	Terphénylquinones	2
	Dérivés de l'acide pulvinique	13

8. L'intérêt de l'utilisation des lichens

Les lichens sont considérés comme une source potentielle des substances pharmacologiquement actives. Ils sont utilisés depuis des siècles en médecine traditionnelle (Wahyuono et al., 1995). les lichens sont anti vomitive (calment les vomissements), stomacique, fébrifuge et tonique (stimulant du système nerveux central), antianémique, anti-inflammatoire (Bugni et Andjelic., 2009). Ainsi ils possèdent des propriétés antibiotiques permettant de combattre le bacille de Koch (tuberculose) et des propriétés antibactériennes, notamment dans les infections intestinales (Podterob., 2008).

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

Plusieurs lichens fournissent des extraits à odeur persistante, utilisés dans l'industrie des parfums, (Joulain et Tabacchi., 2009).

Du fait de leur sensibilité ou de leur capacité d'accumulation de polluants, les lichens sont souvent utilisés comme bio-indicateurs. Très peu tolérants vis à vis de gaz toxiques tels que le dioxyde de soufre, ils disparaissent de ces zones polluées. La présence d'une grande variété d'espèces et leur abondance sont généralement indicatrices d'une bonne qualité de l'air (Gombert et Asta., 2006 ; Thormann., 2006).

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

9. Propriétés biologiques et applications des métabolites secondaires lichéniques

9.1.Activités photoprotectrice

L'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

Chapitre I :synthèsbibliographique

photosynthétique des radiations excessives. il s'agit de caroténoïdes, de mélanines, de composés phénoliques tels que les depsidones (acide lobarique, pannarine), les depsides (atranorine, acide gyrophorique), diphényléthers (buelline), l'acide usnique, d'antraquinones, de xanthones (bisxanthones telles que les acides sécaloniques), ou de composés issus de la voie de l'acide shikimique (acide vulpinique, calycine, mycosporines) (**Rundel, 1978 ; Nguyen et al., 2013**).

Parmi les composés photoprotecteurs des lichens, la pariétine, une anthraquinone présente chez les lichens des genres *Xanthoria* Caloplaca et Teloschistes, est largement décrite dans la littérature. sa quantité au sein du lichen varie en fonction des saisons afin de protéger le photobionte des fortes radiations solaires (**Solhaug et Gauslaa, 1996 ; Nybakken et al., 2004 ; Gauslaa et McEvoy, 2005 ; Vráblíková et al., 2006**).

Les métabolites secondaires lichéniques peuvent intervenir dans la tolérance aux pollutions notamment liées aux métaux lourds. Différentes substances lichéniques peuvent en effet chélater de tels atomes comme les acides psoromique (**Purvis et al., 1990**)

9.2. Effet allélopathique

Activités phytotoxique et antimicrobienne certains métabolites secondaires lichéniques 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 voisins. (**Armstrong et al., 2007**).

L'effet allélopathique des composés lichéniques peut se manifester de différentes manières : il peut s'agir d'une activité phytotoxique et/ou antimicrobienne. concernant l'activité phytotoxique, des études ont mis en évidence que les acides usnique, vulpinique, squamatique et évernique sont capables d'inhiber la germination des spores de certaines espèces de mousses (**Giordano et al., 1997 ; Favero-Longo et Piervittori, 2010**) et des graines de certaines plantes (**Cardarelli et al., 1997**).L'acide usnique l'émودية, l'atranorine ou encore la prunastrine sont décrits pour avoir un effet sur le développement et la croissance de certaines plantes (**Macías et al., 2007**).

9.3. Activité antibactériennes

Des nombreuses publications traitent notamment de l'activité antimicrobienne de l'acide usnique sur plusieurs souches microbiennes dont *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Bacillus* pour les bactéries, une étude raporter sur l'activité antimicrobiant de l'extrait de deux lichen du nord d'ameriue *Ramalina menziesii* et *Usneala pponica* présent une activité anti-bactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Escherchia coli* , et *Pseudomonas aureginosa*avec MIC (concentration minimale inhibitrice) de 15,6 µg/ml (**Gajendra et al.,2013**).

9.4.Activité antifongique

Certains métabolites secondaires peuvent être actifs sur différentes souches de champignons et de levures. L'acide (+)-usnique, isolé du lichen *Usneaflorida*, montre une activité antifongique sur *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* et trichophytonment agrophytes avec des CMI entre 100 et 250 µg/ml (**Schmeda Hirschmannetal.,2008**). aussi, il inhibe la croissance de *Fusarium moniliforme* (**Cardarelli et al., 1997**) mais il a également un effet antifongique intéressant sur *Candida orthopsilosis* et *C.parapsilosis* à l'état planctonique et de biofilm (**Pires et al., 2012**).

9.5. Activité antioxydante

De nombreux travaux se sont orientés vers la recherche d'antioxydants naturels. Au sein du lichen, les métabolites secondaires, dont les depsidones et depsides, généralement plus antioxydants que l'acide usnique (**Hidalgo et al., 1994 ; Lohézic-Le Dévéhat et al., 2007**), jouent un rôle contre le stress oxydatif. ces molécules peuvent trouver des applications en tant que conservateurs ou photoprotecteurs dans les cosmétiques (**Thadhani et al., 2011**).

L'activité antioxydante regroupe différents modes d'action tels que la capacité à piéger les radicaux libres pouvant être engagés dans la peroxydation lipidique, et l'aptitude à réduire des métaux impliqués dans des réactions générant des radicaux.

D'autres travaux ont mis en évidence une activité sur les radicaux oxyde nitrique et superoxyde mais une absence d'activité sur le DPPH (**Thadhani et al., 2011 ; Brisdelli et al.,**

Chapitre I :synthèsbibliographique

2013). enfin, dans certaines conditions expérimentales, l'activité pro-oxydante de l'acide usnique a été démontrée (Kohlhardt-floehr et al., 2010 ; Atalay et al., 2011)

9.6. 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 al., 2013).

Selon une étude effectuée sur des cellules de carcinome de poumons humains, l'administration de nanocapsules contenant de l'acide usnique permettrait d'améliorer la biodisponibilité de ce composé et de diminuer son hépatotoxicité(Santos et al., 2005).

9.7. Activité antivirale

L'activité antivirale de l'acide usnique a été démontrée par quelques travaux. les extraits éthanoliques de différentes espèces d'Usnea, riches en acide usnique, sont actifs sur le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV1) et le poliovirus de type 1 (PV1) (Perry et al., 1999).

L'activité antivirale de l'acide (+)-usnique a été mise en évidence sur le papillomavirus (étude linique) (Scirpa et al., 1999), sur le polyomavirus chez la souris (Campanella et al.,2002), et sur l'arenavirus JUNV responsable de la fièvre hémorragique d'Argentine (Fazio et al.,2007).

9.8. Activité anti-inflammatoire

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

II .Generalite sur *Xanthoria parietina*

1.Description

L'espèce a été décrite pour la première fois par Linné en 1753, sous le nom de Lichen parietinus est un champignon Ascomycète lichénisé par une chlorophycée (Algue verte unicellulaire) du genre Trebouxia.

Le genre Trebouxia est surtout connu comme un important photobionte du lichen (partenaire photosynthétique du thalle lichen), bien qu'il puisse également vivre librement sur des surfaces telles que l'écorce des arbres. Une espèce britannique vivant en liberté, *T. arboricola Puymaly*, est connue comme une algue terrestre commune sur le sol, les troncs d'arbres, les clôtures en bois, les murs et autres (**John et al. , 2002**).

2. Morphologie

Xanthoria parietina est un lichen d'assez grande taille, dont le diamètre des thalles individuels dépasse rarement huit centimètres, mais peut exceptionnellement atteindre une quinzaine de centimètres. L'espèce peut toutefois occuper des surfaces considérables, de nombreux thalles pouvant coexister sur un même support, voire confluer en plaques étendues (**Smith. C-W et al., 2009**).

Il s'agit d'une espèce foliacée dont les lobes, disposés en rosette, sont le plus souvent appliqués sur le substrat. L'extrémité des lobes est large et arrondie. Les rosettes ont parfois un aspect plissé, en particulier chez les exemplaires âgés. La face inférieure du thalle est blanchâtre et comporte quelques rhizines (fausses radicelles, issues de la soudure de poils, fixant le thalle à son support).

La couleur de ce lichen varie du jaune à l'orangé. Cette coloration est due à la présence dans le cortex d'une substance sécrétée par le champignon, la pariétine, un composé de la famille des anthraquinones (**figure 06**), L'intensité de cette coloration est très variable, et l'on observe parfois, surtout à l'ombre, des thalles plus ternes, d'un gris-vert sans trace apparente de jaune (**Smith.C-W et al.,2009**).

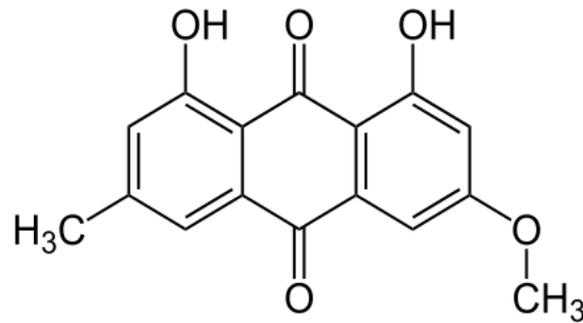


Figure 06 : Structure de la pariétine.

3. Reproduction sexuée

Le thalle, presque toujours fertile, est recouvert généralement en son centre d'apothécies en forme de coupes orangées (couleur toujours plus foncée que le thalle et que leurs marges). Les premiers stades de ces apothécies peuvent déjà apparaître sur de très jeunes thalles (Honegger, R. et al., 2004).

Ces structures, organes de la reproduction sexuée, donnent naissance à des ascospores, disséminées par le vent, l'eau ou les fèces des animaux qui se nourrissent des *Xanthoria*. Le développement de nouveaux thalles à partir d'ascospores ainsi disséminées nécessite toutefois la rencontre avec des cellules algales du genre *Trebouxia*, rares dans la nature (Meier, F et al., 2002).

4. Répartition géographique

Xanthoria parietina est une espèce cosmopolite, qui ne semble manquer que sur le continent Antarctique : elle habite essentiellement les régions tempérées d'Europe, d'Asie, d'Afrique, d'Amérique du Nord, d'Amérique du Sud et d'Australasie. Elle est cependant absente des massifs forestiers du fait de son héliophilie marquée (Lindblom et al., 2006)

Une étude de phylogénie moléculaire portant sur des populations réparties dans le monde entier met en évidence deux groupes dans l'espèce telle qu'elle est actuellement définie : un premier ensemble groupant les populations de péninsule Ibérique, des Baléares et des Canaries, et un second correspondant aux xanthories du reste du monde (Honegger et al., 2004) L'hypothèse selon laquelle *X. parietina* pourrait correspondre à un complexe d'espèces cryptiques n'est pas exclue (Scherrer, S. et Honegger, R., 2003).

5. Usages traditionnels

En raison de sa couleur jaune vif, il était utilisé par les guérisseurs médiévaux (appliquant la théorie des signatures) pour soigner la jaunisse, la diarrhée et les maladies du foie (**Tiévant, P., 2001**). En Andalousie, la médecine traditionnelle l'utilisait pour les douleurs menstruelles, les troubles hépatiques et comme analgésique (**González et al., 1995**). En outre, des études récentes ont révélé ses propriétés antivirales, notamment contre les virus de type influenza

L'étude de la pollution atmosphérique d'origine automobile de la région d'Alger a été réalisée au niveau de 32 sites. La teneur en plomb des thalles de *Xanthoria parietina* (moyenne des mesures réalisées en été et en hiver) nous a permis d'établir une carte de pollution par le plomb à quatre niveaux (inférieur à 80 ug/g, 80 à 160 ug/g, 160 à 320 ug/g, et supérieur à 320 ug/g). Par ailleurs, l'étude montre que la teneur en plomb dans les thalles de *Xanthoria parietina* est relativement plus élevée en hiver qu'en été au niveau de la plupart des sites étudiés. L'analyse statistique des données montre que l'accumulation du plomb par le lichen est en relation directe avec l'intensité du trafic routier et la distance de la route (**Mohammed Rahali ,2002**).

Étude de l'imprégnation de l'environnement de trois bassins de vie de la région Nord-Pas-de-Calais par les éléments traces métalliques vers une nouvelle utilisation des données de biosurveillance lichénique (*Xanthoria parietin*) du fait de leur longue persistance (**Florent et al., 2013**).

III. Generalite sur L'inflammation

1. Définition

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimulocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé.

La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé, en absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique (**Barton,2008**).

2. Les types d'inflammation

2.1. L'inflammation aigue

Elle est connue depuis fort longtemps et ses signes cardinaux elle relève de causes variées traumatismes, infections, réactions à des substances inertes irritatives endogènes ou exogènes, agents physiques...se constitue en trois phases :

2.1.1. La Phase vasculair

Il s'agit d'une vasoconstriction artériolaire, très brève de quelques secondes. elle est due à l'action du système sympathique, est très rapidement ressentie, puisqu douloureuse ,expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine, l'excitabilité des terminaisons nerveuses en est la conséquence et va conforter le processus douloureux.cette constriction n'est pas innocente sur les plaquettes présentes dans la circulation, laquelle est perturbée. ces plaquettes vont alors s'activer très vite à cette vasoconstriction, va faire suite une vasodilatation des vaisseaux sanguins. le débit local est augmenté et la perméabilité des capillaires est exacerbée, ce qui explique l'extravasation des cellules sanguines (diapedese) (**figure 6**).

Chapitre I :synthèsbibliographique

Ce qui explique en partie la constitution de la chaleur et de la rougeur la migration des cellules s'accompagne d'un transfert de plasma qui crée l'oedème (**Kumar et al.,2007**).

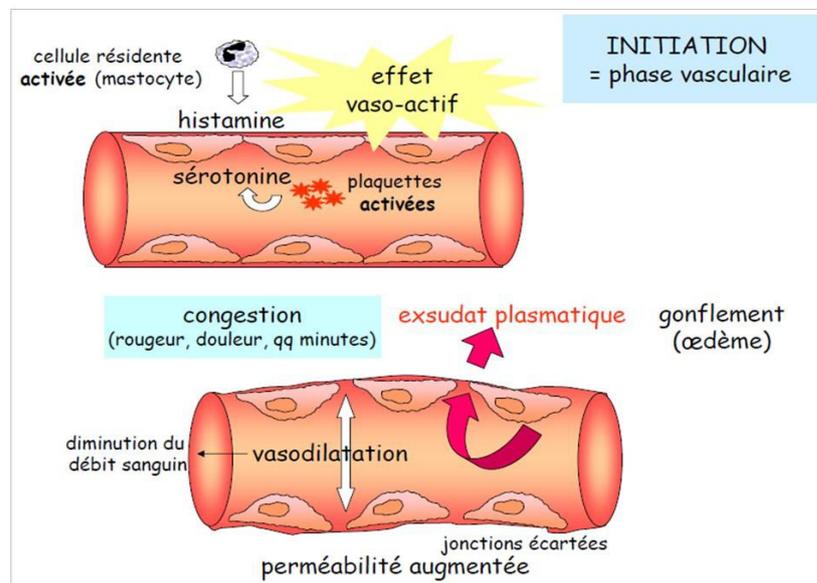


Figure 07 : la phase vasculaire de l'inflammation aiguë

2.1.2. La Phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. les premiers sur place sont les polynucléaires. le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la déterision grâce à leur capacité de phagocytose. il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (**Nathan, 2002**).

ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8.ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonctionn'est pas simple. elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. (**Charlesetal., 2010**).

2.1.3. La Phase de résolution

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PNNs (poly nucleaire neutrophile), et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaire sont phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont aussi sécréter des cytokines et de médiateur qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire.

Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes. les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Weill et al., 2003).

2.2. L'inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). elle est considérée comme être causé par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde. il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui inactivent les fibroblastes pour fixer le collagène et activent les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires.

L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (Charles et al., 2010).

Tout comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorisent l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. en tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales

Chapitre I :synthèsbibliographique

détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh et al., 2006; Charles et al., 2010).

3. Les anti-inflammatoires

3.1. les anti-inflammatoire non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti pyrétique et antalgiques.

Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial. le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2) (**figure 08**) importants médiateurs de l'inflammation. L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS semblait donc jusqu'à récemment , devoir obligatoirement s'accompagner d'effets Favorables et délétères (**Blain et al., 2000**).

3.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse. dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent à leurs récepteurs des glucocorticoïdes (GR) du cytoplasme de la cellule. après quoi, le complexe récepteur-ligand formé pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à des nombreux éléments de réponse aux glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles. le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. ce processus est appelé transactivation et conditionne la plupart les effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes.

Chapitre I :synthèsbibliographique

Le mécanisme opposé est appelé transrépression. le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles. les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant IL-2 (Barnes, 1998).(figure 08)

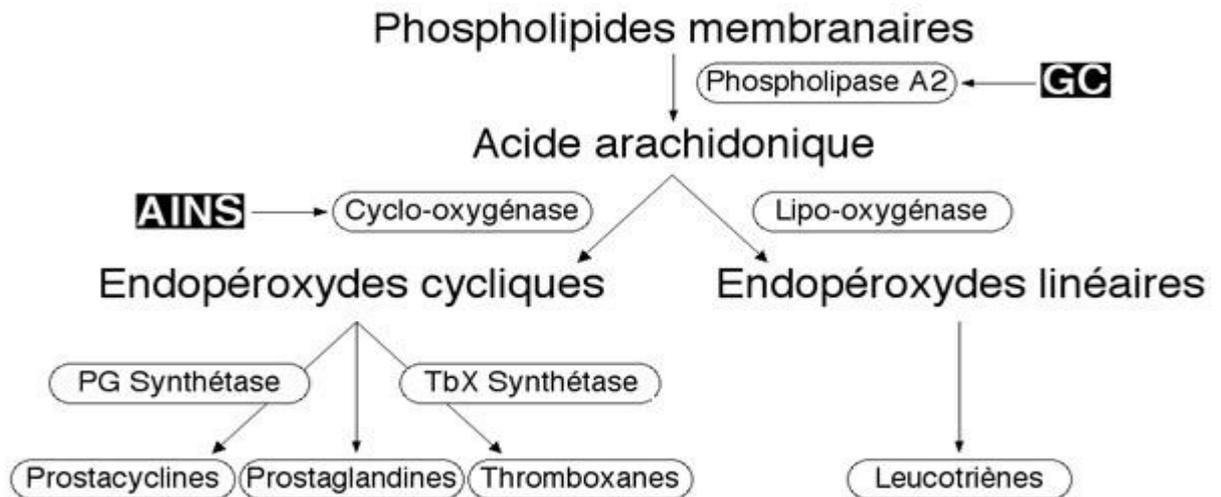


Figure 08: Mécanisme d'action des AIN et AINS

3.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoire. beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (Barnes, 1998).



Chapitre II : Etude expérimental

Chapitre II : Etude expérimentale

I. Matériels et méthodes

1. La Récolte

Les lichens de genre *Xanthoria* ont été récoltés le 7 mars 2018 au niveau de l'université des frères Mentouri wilaya de Constantine à partir de troncs d'arbres (figure 09).



Figure 09 : photographies du lieu de récolte de lichen *Xanthoria* (Université de Constantine 1, 2018)

1.2. Identification des lichens récoltés

L'identification des espèces est d'abord effectuée par observation des caractéristiques **morphologiques générales, telles que la forme, la couleur, la hauteur, l'orientation des extrémités et le type de ramification** ces observations sont comparées avec la description des espèces signalées par la littérature (**Ait hammou et al ., 2013 ; Marcel Vaillaud ,2011**).

1.3. Séchage

Les lichens récoltés sont débarrassés d'éventuels contaminants (mousses, terre, débris végétaux...). Puis, ils sont séchés, à l'air libre pendant environ 72 heures, et sont réduits en poudre par broyage manuelle. 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.

Chapitre II : Etude expérimentale

2. Extraction par macération

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules chimiques contenant dans Les lichens en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction (Dieu, 2015).

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. **L'extraction des métabolites secondaires est réalisée en tenant compte de La nature du solvant, du temps et de la température d'extraction (Dieu ,2015).**

L'extraction par macération consiste à faire tremper la biomasse dans un solvant pendant 24 h ou plusieurs jours sous agitation mécanique et à température pièce. La biomasse est ensuite filtrée pour récupérer le solvant qui contient les produits naturels (Claudia Carpentier, 2016).

On procède deux **type d'extraction la première c'est une extraction classique par l'acétone et deuxième** extraction successive utilisant des solvants de polarité croissante.

2.1. Extractions classiques

Selon la littérature, l'acétone est classiquement utilisée pour l'extraction des métabolites secondaires lichéniques et peut être effectuée à température ambiante pendant plusieurs heures (Vila et al., 2011) dans le cadre de ce travail, le choix de réaliser les extractions à **température ambiante a été faite, dans le but d'éviter la dégradation potentielle de certains** Composés (notamment des dépsides, sensibles à la chaleur).

2.2. Extractions séquentielles

Selon la littérature, différentes séries d'extractions peuvent être réalisées en présence d'heptane, hexane, toluène, éther d'éthylique, dichlorométhane, tétrahydrofurane, acétone, acétate d'éthyle, ou de méthanol (Verma et al., 2011 ; Millot et al., 2012).

Chapitre II : Etude expérimentale

Dans ce travail, des extractions séquentielles, utilisant Ether d'éthylique (Culberson et al., 1982), acétone (Asplund et Gauslaa, 2007), Méthanol (Ranković et al., 2008)

3. Protocole d'extraction

3.1. Extraction classique

L'extrait acétonique est préparé par 20 g de poudre dans 200 ml d'acétone macérée sous agitation magnétique pendant 4 h à température ambiante. Cette macération est répétée deux fois avec filtration du macérât sur un papier filtre et renouvellement du solvant chaque 24h. Après filtration, l'extrait acétonique est concentré à sec au moyen d'un évaporateur rotatif (BUCHI) à une température 40 °C (Madi, 2010) Pour récupérer l'extrait brut (figure 10).

3.2. Extraction séquentielles

Une quantité de 20g de lichen, broyé, est macérée dans 200 ml d'éther d'éthyle pendant 24h à température ambiante puis filtré, sachant que chaque 24 heures, on filtre et on conserve le sédiment encore une fois dans 200 ml d'acétone après 24h filtre et encore une fois dans 200 ml de méthanol. A la fin l'extrait obtenu concentré à sec au moyen d'un évaporateur rotatif (BUCHI) à une température 40 °C pour l'obtention d'un extrait sec (figure 10).

3.3. Paramètres calculés

Le rendement d'extraction R%

$$\% = \frac{h}{\times}$$

Sachant que :

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (Mohammedi, 2006).

Chapitre II : Etude expérimentale

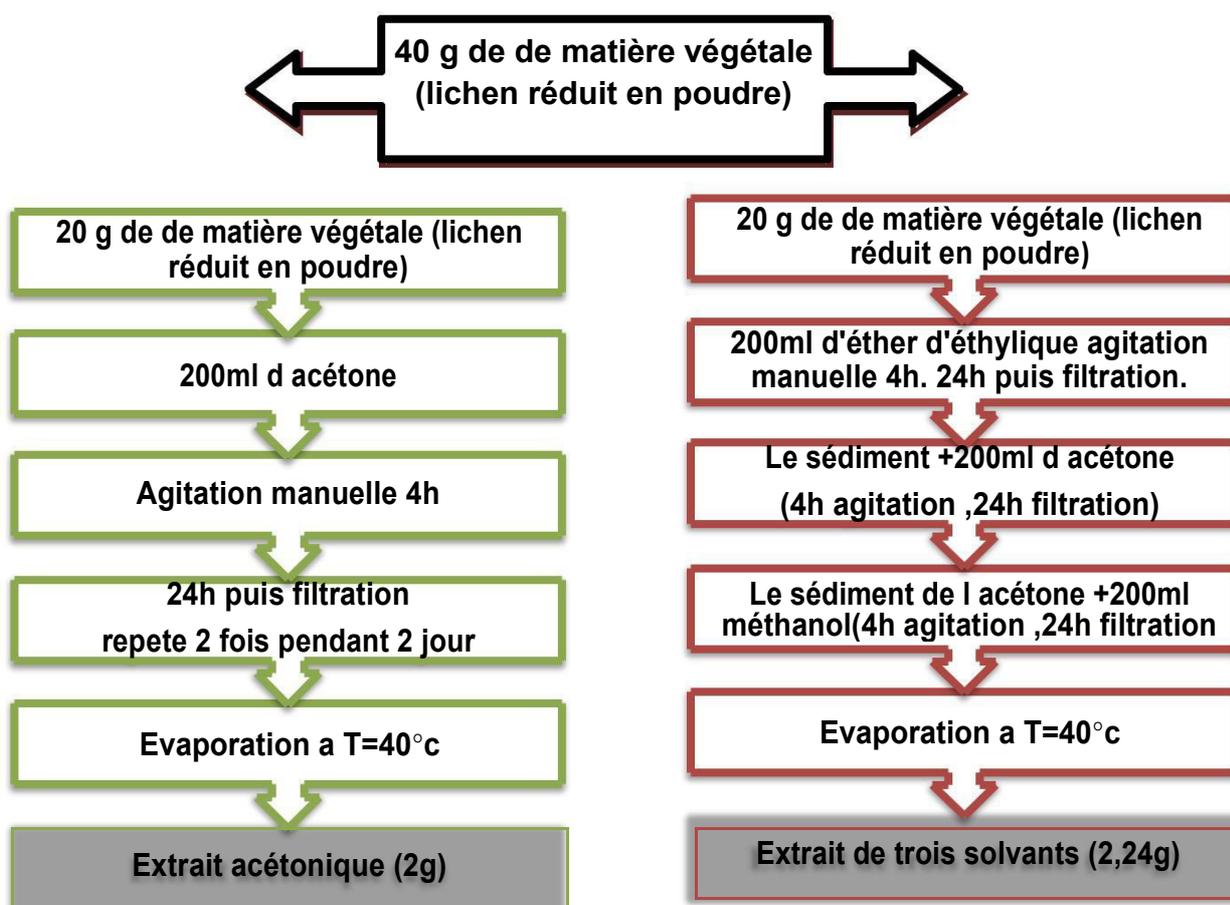


Figure 10 : procédures d'extractions classiques et successives par les solvants organiques des métabolites secondaires de lichens

4. Fractionnement des extraits par CCM

Le repérage des composés d'intérêt au cours de la purification peut s'effectuer de diverse manière. Les méthodes les plus usitées sont le suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) (Lohézie-Le Dévéhat et al., 2007).

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges leurs constituants ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe présentée par plaque de silice, l'autre mobile nommée éluant (Richardson, 2002).

Chapitre II : Etude expérimentale

La CCM est efficace, rapide et associe la sensibilité à la simplicité lorsque les conditions sont bien déterminées (**Wink, 1999**).

4.1. Mode opératoire de CCM

• Préparation de la phase mobile

La phase mobile (éluant) est constituée par un mélange des solvants organique **L'éluion est commencé avec des solvants peu polaire puis pour suivie par des solvants plus polaire.**

On a utilisé un système **solvants composé de toluène, acétate d'éthyle et acide formique (Srinivasa et Mohammed, 2013)** avec des volumes distribués respectivement comme suit : **70 /20 / 5 ml**

On remplit la cuve chromatographique du mélange de solvants (70 ml de toluène/ 20 ml acétate d'éthyle /5 ml acide formique). **Puis on la recouvre, afin que l'atmosphère dans la cuve reste saturée en vapeurs d'éluant.**

• Dépôt de l'échantillon

Sur la plaque chromatographique (20 cm sur 20 cm), on a tracé au crayon de papier un trait horizontal à 1 cm environ du bord inférieur et repérer la position de dépôt (deux dépôt) .**on a déposé sur la ligne à l'aide d'une micropipette 20 µl de chacun des extraits et on a aussi tracé le front d'éluion à 1cm du bord supérieur.**

4.2. Développement et éluion

La plaques chargée d'échantillons ont été séchée à l'aide d'un sèche-cheveux avant de la placée dans la cuve qui est bien fermée avec un couvercle adhésif.

Lorsque l'éluion s'approche de la limite du bord supérieur à 1 cm qui représente le front du solvant, ce dernier est marqué avec un crayon, les plaques sont retirées directement de la cuve. Après séchage, des différents spots sont observés à l'œil nu, sous UV (254nm) et après révélation chimique.

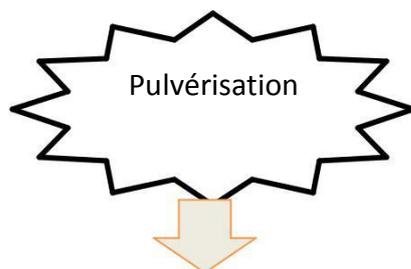
Chapitre II : Etude expérimentale

4.3. Révélation chimique

Le principe est de mettre en contact de la plaque un réactif spécifique qui donne une coloration spécifique par réaction chimique. Cette révélation est réalisée comme suivant

- La Vanilline sulfurique

1g de vanilline + 2ml d'acide sulfurique dans 100ml de méthanol



Apparition de plusieurs colorations en fonction de type de composés

Figure 11 les étapes de la révélation chimique par la vanilline sulfurique du chromatogramme de CCM des extraits de Xanthoria (Lhuillier, 2007).

4.4. Les paramètres calculés

Les spots sont repérés et les distances parcourues sont mesurées, les rapports frontaux (Rf) sont calculés par l'équation suivante :

=

5. Screening phytochimique de l'extrait végétal

Ce terme screening, correspond à une technique de « criblage » c'est-à-dire la recherche systématique des produits naturels ce sont aussi des essais chimiques de caractérisation porté sur la recherche dans les différents extraits des principaux groupes chimiques.

Chapitre II : Etude expérimentale

Ce teste consiste à détecter les différents composés chimiques existants dans les deux extraits de *Xanthoria* par des réactions qualitatives. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Ces dernières permettent de définir la présence ou non de quelques métabolites secondaires. Nos essais ont été faites en utilisant principalement des réactions en tube et nos les résultats sont qualitatifs classés en (-) : test négatif. (+) : test positif.

5.1. Test de Liebermann-Bürchard

Les stéroïdes et les polyterpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann-Bürchard (1890) qui consiste à ajouter quelques gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré à la solution chloroformique (**Nath et al, 1946**). L'évolution de la coloration est observée pendant 1h. La coloration verdâtre dénote la présence des stérols, Tandis que l'apparition d'un anneau rouge ou violet indique la présence de tri terpènes.

5 ml de chacun des deux extraits (acétonique et trois solvants) ont été évaporés sur bain de sable. Le résidu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique ; ajouter 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturrât.

5.2. Test au chlorure ferrique

La réaction au chlorure ferrique (FeCl₃) a permis de caractériser les polyphénols et les tanins. À 2 ml de chaque extrait (acétonique, trois solvants EAM), nous avons ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols. L'apparition de coloration bleuâtre dénote la présence de tanins de type galliques (**Dohou et al, 2003**). Tandis que l'apparition d'un précipité de couleur vert-noir indique la présence de tanins de type catéchiques.

Chapitre II : Etude expérimentale

6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des deux extraits de *Xanthoria parietina*

6.1. Animaux

19 rats femelles de souche Wistar Albinos, âgées de un mois, pesant entre 80-150g fournis par l'animalerie de l'université des frères Mentouri Constantine repartis en 3 lots homogènes de 5 rats et le quatrième lot témoins de 4 rats. Tous les animaux ont accès libre à la nourriture et à l'eau.

6.2. Réactifs

Solution de formol à 1%, solution NaCl 0,9%, extrait acétonique et extrait de trois solvants (éther d'éthylque, acétone, méthanol).

Acide 2-[2-(2,6-dichlorophenyl) amnophényl] éthanoïque (Diclofénac) comme anti-inflammatoire non stéroïdiens (ANS) de référence dont la structure est comme suit (figure 12)

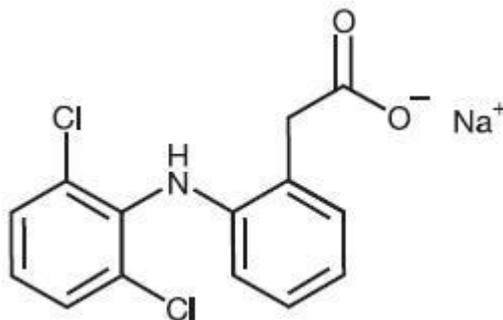


Figure 12 : Structure chimique de Diclofénac sodique (Brignon, 2012).

Chapitre II : Etude expérimentale

6.3. Appareillage

Pied à coulisse (Fisher scientific) pour mesurer le volume de la patte de rat (**figure 13**).



Figure 13 : pieds à coulisse Fisher scientifique

6.4. Protocole expérimentale

L'activité anti inflammatoire est évaluée par la provocation un œdème dû à l'injection dans l'aponévrose de la plante du pied d'une solution de formol à 1% (**Sen et al ., 1991**). L'inflammation est induite par Injection de formol au niveau du coussinet plantaire de la patte arrière gauche de rats. L'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduit en volume et mesuré à l'aide d'un pied à coulisse ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire (**Winter et al 1962**).

Les rats sont repartis en quatre lots de cinq rats, tous les rats ont été mis à jeun 24h avant l'expérimentation. En effet on utilise un lot témoin (eau physiologique), lot control (anti inflammatoire de référence) et deux lots traités (un lot reçoit l'extrait acétonique et l'autre Lot reçoit l'extrait des trois solvants) (**Figure 14**).

Lot Témoin : Les rats de ce lot reçoivent la solution véhicule (eau physiologique) Par voie intra-péritonéale (IP), 30 min avant l'injection de formol (0,05ml) L'administration de Nacl 0,9 % se fait à raison de 1ml /100g.

Chapitre II : Etude expérimentale

Lot Control : Les rats de ce lot ont été traités par voie (IP) avec un Anti inflammatoire non stéroïdien utilisé en thérapeutique Diclofénac, 30 min avant l'injection du formol (0,05ml). L'administration de l'anti-inflammatoire se fait à raison de 5mg /kg.

Lot Traité A : L'extrait acétonique à tester est administré aux rats par voie (IP) à raison de 200 mg /kg ; 30 min avant l'injection de formol (0,05 ml)

Lot Traité B : L'extrait de trois solvants (E.A.M) à tester est administré aux rats par voie (IP) à raison de 200 mg/kg ; 30 min avant l'injection de formol 1%.

Le suivi de l'évolution de l'œdème se fait par mesure des deux pattes : une patte traitée P(t) et une patte non traitée P(nt), et ceci à 0, 30, 60, 180 mn après injection du formol 1 % (Rahmani et al., 2016).

6.5. Les paramètres estimés

L'activité anti-inflammatoire des extraits testés et son évolution ont été estimés par la détermination des pourcentages moyens d'inhibition de l'œdème, calculés suivant la formule

$$\% \text{ d'inh} = \frac{V_0 - V_t}{V_0} \times 100$$

✓ V_0 représente le volume de la patte à t=0 (avant injection du formol),

✓ V_t représente le volume de l'œdème

7. Analyse statistique

Toutes les mesures expérimentales sont exprimées en tant que moyenne d'écart type (moyen \pm d'écart type), et sont calculé à l'aide de Microsoft Office Excel 2010.

Chapitre II : Etude expérimentale

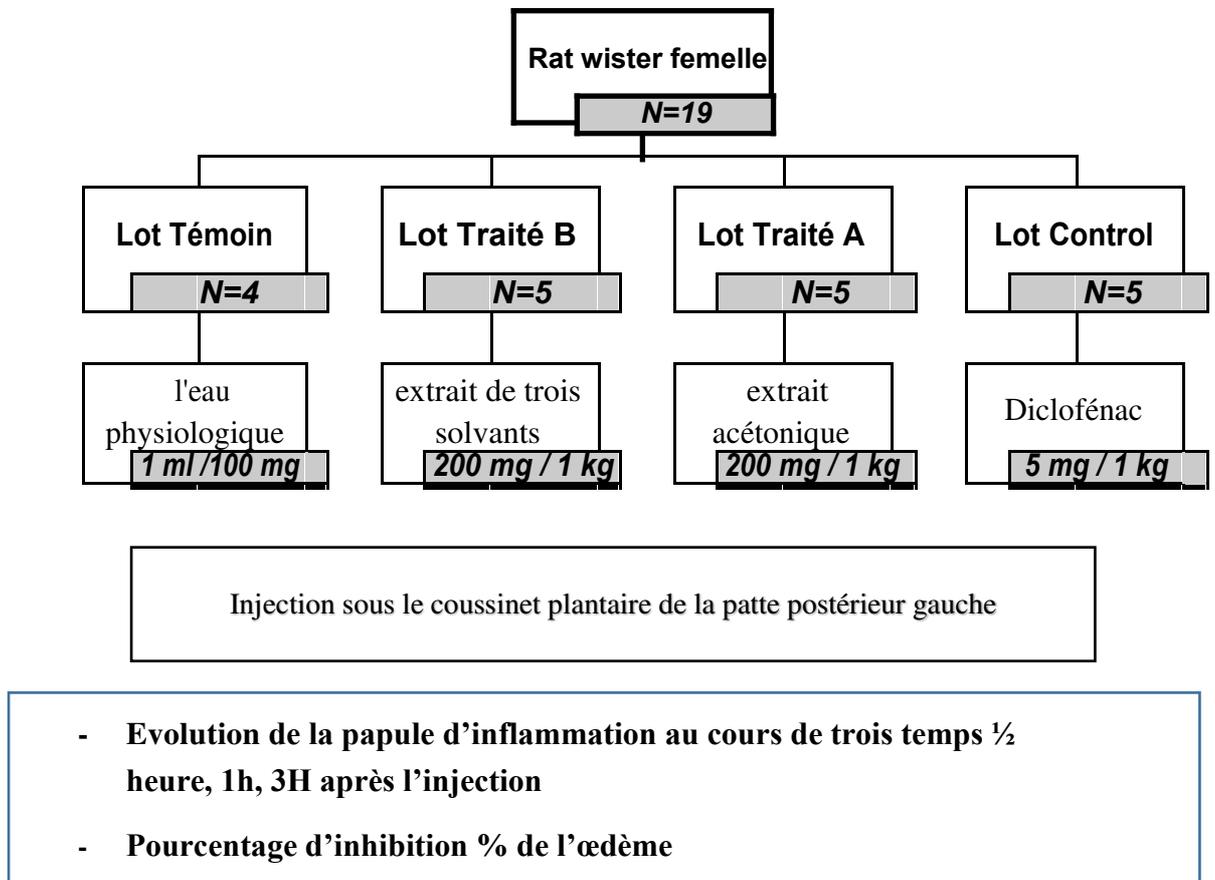


Figure 14 : Schéma présentant la procédure suivie dans le test de l'activité anti-Inflammatoire de *Xanthoria parietina*

Chapitre II : étude expérimentale

II. Résultats et interprétation

1. Identification des lichens récoltés

Lichen récolté possède un thalle de couleur jaune-orangé, sous forme d'une plaque foliacée circulaire, le thalle à lobe large et plat mesure un diamètre 7 mm avec des bords cassant et se détachant rapidement du substrat, dans notre cas de **(figure 15)** et tronc d'arbre.

Les apothécies sont nombreuses, souvent regroupés au centre, leur diamètre peut atteindre 0.5 à 2 mm, le disque est de couleur orangée au centre et le rebord est jaune, on parle alors de Apothécie à rebord thallin.

Toutes ses caractéristiques correspondent en comparants avec les données de la littérature à l'espèce *Xanthoria parietina*

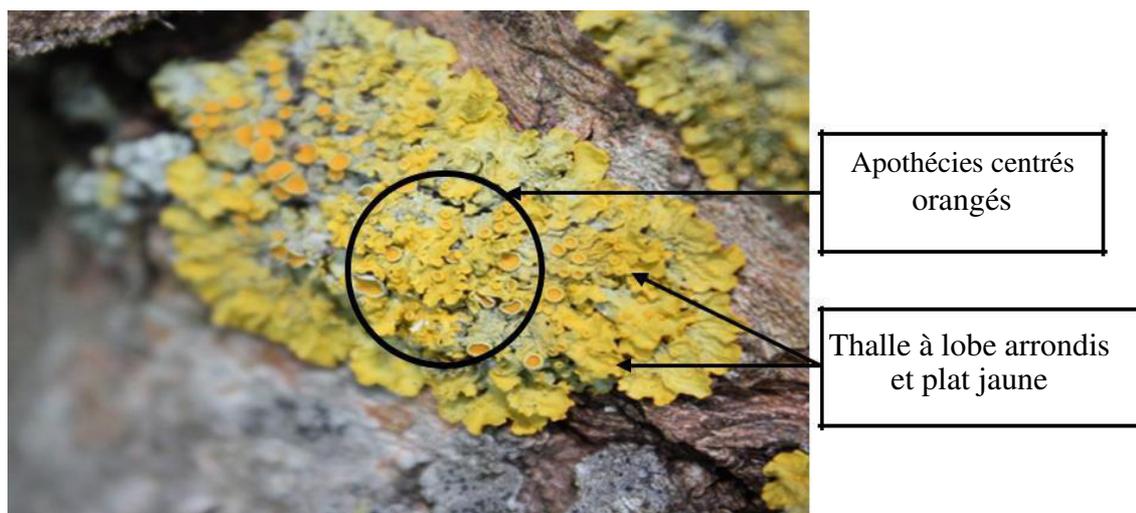


Figure15 : *Xanthoria parietina* récoltée de l'université des frères Mentouri Constantine

Chapitre II : étude expérimentale

2. Classification botanique de *Xanthoria parietina*

Tableau02 : classification botanique de *Xanthoria parietina* (L.), Beltr. (1858)

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Sous-embranchement	Pezizomycotina
Classe	Lecanoromycetes
Ordre	Teloschistales
Famille	Teloschistaceae
Genre	Xanthoria
Espèce	<i>Xanthoriaparietina</i>

3. Rendements d'extraction R%

Les rendements massiques des extraits obtenus par extractions successives et par Extraction classique à l'acétone sont présentés dans (**tableau 03**)

Tableau 03 : Rendement massique % obtenus par extraction séquentielle et extraction classique de *Xanthoria parietina*.

	Extrait EAM	Extrait A
Poids sec (g)	2.24	2
RE %	11.2	10

EAM : éther d'éthyle + acétone + méthanol

A: acétone

L'extraction, qui a pour but la désorption des molécules d'intérêt des sites actifs de la matrice végétale, est primordiale puisqu'elle déterminera la nature et la quantité des Molécules extraites et par conséquent le succès des étapes suivantes de notre expérience.

L'extraction avec trois solvant de polarité croissante a permis d'avoir un rendement plus au moins important par rapport à l'acétone (11,2% vs10%) qui est utilisé depuis longtemps

Pour extraire les composés secondaires des lichens.

Chapitre II : étude expérimentale

L'éther d'éthyle, l'acétone et le méthanol sont des solvants à polarités différentes, la légère différence dans le RE% obtenus serait probablement due à la nature du solvant, sa polarité, le PH du milieu, la température et le temps d'extraction.

Les composés secondaires de lichen sont de natures très variées et de polarité différente, l'emploi d'extraction séquentiel permet d'optimiser l'extraction des métabolites secondaires Bioactifs.

4. Analyse des chromatogrammes par CCM

Les résultats des chromatogrammes sont illustrés dans la (figure16) l'analyse des chromatogrammes est regroupée dans le (tableau04)

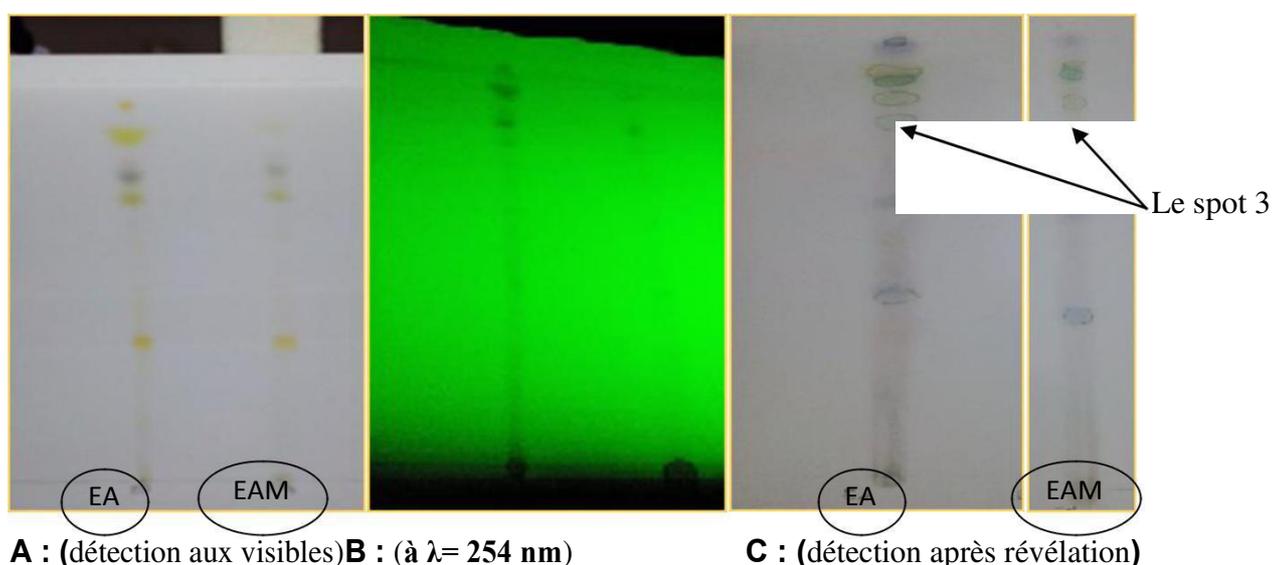


Figure16 : Analyse par CCM de l'extrait acétonique EA, et trois solvants EAM avant la révélation (A) .Observation sous UV (254 nm) (B), puis révélation par vanilline sulfurique(C)

L'analyse des profils chimiques des deux extraits de *Xanthoria parietia* par chromatographie sur couche mince révèle l'influence du solvant d'extraction sur la quantité des métabolites secondaires isolés par conséquent six spots ont été révélés dans l'extrait à Trois solvants à polarité croissante contre sept spots détectés dans le chromatogramme de l'extrait acétonique.

Chapitre II : étude expérimentale

Nos résultats rejoignent les hypothèses formulées précédemment que l'extrait acétone renferme une diversité de métabolites plus importante que les extraits d'autres solvants d'extraction.

Tableau 04 : Résultats des chromatogrammes de deux extraits (acétonique et trois solvants) obtenus par CCM de l'espèce *Xanthoria parietina*

Extrait acétonique				Extrait de trois solvants			
NS	RF	CR	RV	NS	RF	CR	RV
1	0,37	Jaune foncé	Mauve	1	0,37	Jaune foncé	Mauve
2	0,57	Jaune claire	Mauve claire	2	0,57	Jaune claire	Mauve claire
3	0,74	Gris claire	Mauve claire	3	0,79	jaune	Vert claire
4	0,79	Jaune	Vert claire	4	0,83	gris	Vert foncé
5	0,83	Gris	Vert foncé	5	0,84	jaune	Jaune
6	0,84	Jaune	Jaune	6	0,92	orange	Mauve foncé
7	0,92	Orange	Mauve foncé		/	/	/

NS: numéro des spots

RF : rapport frontaux

CR : couleur avant la révélation

RV : couleur après révélation à la vanilline sulfurique

On constate à partir des résultats du (**tableau04**), que le nombre de spots varie en fonction de l'extrait testé ces spots se distinguent entre eux par la valeur du rapport frontal (Rf) et de leurs colorations avant et après révélation pour chacun des extraits.

Chapitre II : étude expérimentale

D'ailleurs six spots sur sept sembleraient être les mêmes composés secondaires Obtenus avec les deux solvants d'extraction en tenant compte de la couleur du spot (soit avant ou après révélation) et le Rf. la différence est porté par le spot numéro trois obtenus avec l'extraction acétonique qui possède un Rf =0,74 (**figure16**) Une couleur gris clair aux visibles et mauve clair après révélation.

D'après ces résultats préliminaires, l'acétone s'avère être le solvant le plus approprié. En effet, Si les trois solvants utilisés permettent l'obtention d'extraits avec des profils chimiques similaires, L'acétone et semble extraire une plus large gamme de composés.

5. Résultats du Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique des deux extraits obtenu soit par macération acétonique soit macération E.A.M, sont regroupés dans le (**tableau05**)

Tableau 5 : Résultats du screening phytochimique des deux extraits de *Xanthoria parietina*

Tests effectués Extraits	Teste Liebermann-Bürchard			Test au chlorure ferrique		
	Couleur	Résultat	Discussion	Couleur	Résultat	Discussion
Extrait acétonique 	Verdâtre	+	Présence des Stérois	Verdâtre 	+	Présence des Polyphénol Et Tanins catéchiqes
Extrait 3 solvants 	Verdâtre	+	Présence des Stérois	Brun 	+	Présence des Polyphénol s et Tanins catéchiqes

(+) : test positif

(-) : test négatif

Chapitre II : étude expérimentale

Le screening phytochimique de *Xanthoria parietina* a révèlé la présence de stérois, poly phénol et tanin catéchiqes et l'absence de terpènes.

Cette approche a été effectuée afin de prospecter la présence des métabolites secondaires dans les deux extraits de *Xanthoriaparietina*, il s'avère, d'après nos données exposées dans le (tableau 05), que l'extrait (EAM) de *Xanthoria* ainsi que l'extrait (A) permettent d'isoler les mêmes types de composés secondaires.

La littérature rapporte, qu'il y aurait environ 1050 métabolites spécialisés décrits chez les lichens et de nombreux autres restent encore à caractériser.

6. Résultats d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire sur les rats

Tableau06 : Evolution du volume de l'œdème de la patte postérieur gauche du rat Wistar après injection de formol 1% chez les groupes : témoin, control et traité

	Évolution du volume de l'œdème de la patte (mm ³)			
	T= 0h	½ h	1h	3h
Lot témoin	4.725 ± 0.221	5.325 ± 0.499	5.925 ± 0,340	6,7 ± 1.202
Lot control	5.08 ± 0.263	6,48 ± 0.370	5,76 ± 0.357	5,42 ± 0.370
Lot traité A	5,58 ± 0.408	7.22 ± 0.756	6,34 ± 0.614	6,18 ± 0.496
Lot traite EAM	4.76 ± 0.461	5,68 ± 0.722	5,56 ± 0.709	5.5 ± 0.667

A: acétone

EAM: ether + acetone + methanol

L'étude a été conçue pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de la plante *Xanthoria parietina*, Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème de la patte Des rats induits par le formol à 1%.

Nos résultats montrent une augmentation importante du volume de l'œdème de patte postérieure gauche chez le groupe témoin ce qui traduit la réponse inflammatoire aigue locale vis avis de l'agent phlogogène (formol a 1%) avec un volume d'œdème maximum de **6,7 ± 1.202mm³** à la troisième heure (**tableau 06**)

Chapitre II : étude expérimentale

En ce qui concerne le lot control le volume d'œdème a atteints son maximum après une demi-heure de l'injection du formol 1% avec $6.48 \pm 0.370 \text{ mm}^3$; On observe une baisse du Volume de la patte, après une heure, ce qui caractérise l'effet du Diclofenac, l'anti inflammatoire de référence dans notre expérience. L'administration préventive de Diclofenac a réduit l'œdème de façon progressive.

On observe chez lot traite par l'extrait acetonique de *Xanthoria parietina* une baisse du volume d'œdème de la patte une heure après l'injection du formol 1%, pour atteindre un volume de $6,18 \pm 0.496 \text{ mm}^3$ après 3 heure. L'extrait A a réduit progressivement l'œdème

On remarque chez le lot traite avec l'extrait EAM de *Xanthoria parietina*, une diminution de l'œdème de la patte de $5,68 \pm 0.722 \text{ mm}^3$ (après une demi-heure de l'administration de formol) jusqu'à $5.5 \pm 0.667 \text{ mm}^3$ après 3 heure.

Tableau07 : Pourcentage d'inhibition du volume d'œdème de la patte sous l'effet des deux extraits de *Xanthoria parietina* compare aux Diclofenac

	Le pourcentage d'inhibition du volume d'œdème			
	0h	½ h	1h	3h
Lot control	0%	-133%	43%	82%
Lot traité A	0%	-63%	36%	69%
Lot traité EAM	0%	-53%	33%	62%

Le pourcentage d'inhibition du volume d'œdème par le Diclofénac est de 43% après 1h et atteint un pourcentage de 82% après 3h c'est l'effet anti inflammatoire de référence dans Notre expérience (**tableau 07**)

Le traitement par les extraits de *xanthoria parietina* atteints d'inflammation aigue traduit un effet anti inflammatoire préventif avec un pourcentage d'inhibition variant de 62 à 69 %

Le % d'inhibition de l'inflammation provoqué par l'extrait de *Xanthoria parietina* est inferieur à l'effet de Diclofénac qui est égale à 82%, Cela pourrait être en rapport avec la dose Utilisée des extraits.

Chapitre II : étude expérimentale

Les résultats obtenus à l'issue des tests anti-inflammatoires montrent que l'extrait A de *Xanthoria parietina*, réduisent de façon appréciable l'œdème induit par le formol par rapport L'extrait de trois solvants administré au lot EAM. Cela pourrait être en rapport avec le type de solvant d'extraction par ailleurs la nature de métabolites secondaires isolés.

Peu d'études sont décrites concernant l'activité anti-inflammatoire des composés bioactifs des lichens. Des travaux effectués sur des rats ont démontré que l'acide usnique possède une efficacité significative et similaire à celle de l'ibuprofène (**Vijayakumar et al.2000**).



Conclusion générale

Conclusion

Conclusion

Dans le but de l'identification et la caractérisation des espèces de lichens riche en métabolites secondaire bioactive nous avons procédé à une récolte au hasard de lichen puis procédé à plusieurs analyses qualitative (à savoir extraction, CCM, screening phytochimique) et biologiques (recherche d'activité anti-inflammatoire) pour répondre à notre objectif.

L'identification morphologique nous a permis de distinguer la *Xanthoria parietina* qui est un organisme singulier résultant de l'association entre un champignon ascomycète et une chlorophycée de genre *Trebouxia*.

L'extraction des métabolites secondaires est réalisée en tenant compte de la nature du solvant, du temps et de la température d'extraction. Le meilleur rendement était obtenu avec extrait de trois solvants.

Le fractionnement des extraits *Xanthoria parietina* avec la CCM a révélé la présence de différents composés chimiques. Confirmer ensuite avec le screening phytochimique, par des tests colorimétriques, qui ont mis évidence la présence de stérols, tanins et polyphénols susceptibles de provoquer des activités biologique recherchées.

Il semblerait que l'extrait acétonique de *Xanthoria parietina* possède un effet anti-inflammatoire (préventif) suite à l'injection du formol 1% dans le coussinet plantaire du rat compare à l'effet de Diclofénac.

A l'issue de ce travail, nous percevons que les lichens sont des organismes particulièrement intéressants à étudier compte tenu des relations établies entre plusieurs organismes différents (champignons, algues, cyanobactéries) mais aussi la production de métabolites bioactifs qui présente plusieurs applications biologiques d'intérêt thérapeutique. Pour meilleure connaissance des métabolites secondaire, l'isolation et l'identification est le meilleur moyen pour cibler la recherche et connaître la structure des nouvelles molécules et tester leurs rôles biologiques

Aujourd'hui l'isolation des métabolites secondaire et l'identification de produits naturels des lichens emploient de nouvelles techniques de haute performance et un gain de temps irréprochable principalement l'HPLC, les systèmes de détection les plus communément utilisés sont les détections par absorption dans l'ultraviolet visible (UV-vis), fluorescence, diffusion de lumière électrochimie (DEDL), spectrométrie de masse (MS) et résonance magnétique nucléaire (RMN).



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

« A »

Ait hammou. M, Miara. MD, Hadjadj. A, Khedim .R, Safa .A, inventaire des lichens du chêne vert (*Quercus rotundifolia*) de la forêt communale guezoul de Tiaret, écologie-environnement, 2013, 2 : 1-6.

Ait hammou. M, Miara .M.D, Rebbas. K, Slimani .A, Ravera .S, Hamer, Mise à jour de l'inventaire des lichens d'Algérie, écologie-environnement 2014, 76 : 75-103.

Amandine Dieu, Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine Lichéniques Etude phytochimique de trois lichens et approche synthétique de deux composés actifs, Thèse de doctorat de l'université de limoges 2015, p38

Anne Bauwens, les lichens et la qualité de l'air, Scienceinfuse université catholique de Louvain 2003.

Armstrong. R, Welch. A.R, Competition in lichen communities. *Symbiosis* 2007. 43: 1-12.

Asahina. Y, Shibata. S, Chemistry of lichen substances. Japon Society for the Promotion of Science, Asher & Co. Ltd. (Vaals), Ed. 1971, p 165.

Asplund. J, Gauslaa. Y, Content of secondary compounds dépends on Thallus size in the foliose lichen *Lobaria pulmonaria*. *The Lichénologist* 2007, 39 (3), 273-278.

Atalay. F, Halici. M. B, Mavi. A, Çakir. A, Odabaşoğlu. F, Kazaz. C, Aslan. A, Küfrevioğlu. Ö. I, Antioxidant Phenolics from *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm and *Usnea longissima* lichen species .*Turkish Journal of Chemistry* 2011, 35: 647-661.

Aubert. S, Juge. C, Boisson. A.M, Gout. E, Bligny. R, Metabolic processes sustaining the reviviscence of lichen *Xanthoria elegans* (Link) in high mountain environments .*Planta* 2007, 226: 1287-1297.

Références bibliographiques

« B »

Barnes .P. J, Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms, *Clin Sci* 1998, 94: 557-572.

Barton. G.M, A calculated reponse: control of inflammation by the innate immune system, *J Clin Invest* 2008, 118: 413-420.

Bates. S. T, Crospey. G. W. G, Caporaso. J. G, Knight. R, Fierer. N, Bacterial communities associated with the lichen Symbiosis *Applied and Environnemental Microbiology* 2011, 1309-1314.

Blain. J, Netter. J, Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives, *Rev Méd Interne* 2000, 21 : 978-88.

Brisdelli. F, Perilli. M, Sellitri. D, Piovano. M, Garbarino. J. A, Nicoletti. M, Bozzi. A, Amicosante. G, Celenza.G, Cytotoxic Activity and Antioxidant Capacity of Purified Lichen Metabolites: An In Vitro Study. *Phytotherapy Research* 2013, 27 (3), 431-437.

Bugni .T .S, Andjelic .C.D, Biologically active components of a papua new Guinea analgesic and anti-inflammatory lichen preparation. *Fitoterapia* 2009. 80(5), 270-273.

« C »

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

Cardinale. M, Puglia. A. M, Grube. M, Molecular Analysis of lichen-associated bacterial communities .*Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology* 2006. 57 : 484-495.

Campanella. L, Delfini. M, Ercole. P, Lacoangeli. A, Risuleo. G, Molecular characterization and action of usnic acid: a drug that inhibits proliferation of mouse polyomavirus in vitro and whose main target is RNA transcription *Biochimie* 2002, 84, 329-334.

Références bibliographiques

Charles .N, Peter. A, Derek. W, Fundamentals of Inflammation. Cambridge University press 2010. 2-3.

Claudia Carpentier. Investigations phytochimique de lichens soumis au stress de la nordicité. Mémoire 2016. Canada, p 209.

Culberson. C. F, Elix. J. A, Lichen substances. In methods in Plant Bio Chemistry, Plant Phenolics, Harborne, Ed. 1989, 1: 509-536.

« D »

Dohou.N, Yani.K, Thahrouch.S, Idrissi Hassani.L.M, Badoc.A, Gmira.N, Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine. Thynelaea lythroides, Bull.Soc, Pharm. Bordeaux 2003. 61-78.

« F »

Farou. J.L, Guerin .J.F, Les lichens indicateurs environnementaux, palnte & cité 2015, 1-7

Favero-Longo. S.E, Piervittori. R, lichen plant interactions .Journal of plant interactions 2010, 5 (3), 163-177.

Fazio. A. T, Adler. M. T, Bertoni. M. D, Sepúlveda. C. S, Damonte. E. B, Maier. M.S, Verlag, Lichen secondary metabolites from the cultured lichen mycobionts of Teloschistes chrysophthalmus and Ramalina celastri and their antiviral activities .Zeitschrift für Naturforschung 2007, 62: 543-549.

Florent .O, Marie. A .C, Inès .D, Annabelle .D, Stéphanie. Q, Damien. C, Pollution atmosphérique N° 220 – 2013.

« G »

Gajendra. S, Larry .L. C, Antimicrobial Activity of extracts from two Lichens Ramalina menziesii and Usnea lapponica, Bulletin of the california lichen society 20(1) 2013,5-10.

Références bibliographiques

Gauslaa.Y, Mcevoy. M, Seasonal variation in solar radiation drive acclimation of the sun-screening compound parietin in the lichen *Xanthoria parietina*. *Basic and Applied ecology* 2005, 6: 75-82.

Gauslaa. Y, Lichen palatability depends on investments in herbivore defence. *Oecologia* 2005, 143 : 94-105.

Gaziano. J.M, Gibson. C.M, Potential for drug-drug interactions in patientstaking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *Am J Cardiol* 2006, 97: 23-9.

Giordano. S, Basile. A, Lanzetta. R, Corsaro. M. M, Spagnuolo. V, Castaldo. R. C, Potential allelochemicals from the lichen *Cladonia foliacea* and their in vitro effects on the development of mosses. *Allelopathy Journal* 1997, 4 (1), 89-100.

Gombrecht .S , Asta J, Lichens and tobacco plants as complementary biomonitors of air pollution in the Grenoble area (Isère, southeast France) .Seaward M.R.D. *Ecological indicators* 2006. 6 : 429-443.

González-Tejero. M. R, Martínez-Lirola. M. J, Casares-Porcel. M, Molero-Mesa. J, Three lichens used in popular medicine in Eastern Andalucia (Spain) *Economic Botany* 1995, 49 (1), 96-98.

Gregory .G et Dimijian .M .B, Les lichens et la qualité de l'air. Fascicule enseignants. Université catholique de Louvain 2 .2003. p40.

« H »

Hidalgo. M.E., Fernández. E, Quilhot. W, Lissi. E, Antioxidant activity of depsides and depsidones .*Phytochemistry* 1994, 37 (6), 1585-1587.

Honegger. R, Zippler. U, Scherrer. S, Dyer. P.S, Genetic diversity in *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. (lichen-forming ascomycete) from worldwide locations. *The Lichénologist* 2004, 36 (6), 381-390.

Références bibliographiques

« J »

Johns.D.M, Whitton.B.A, Brook. A. J, the fresh water algal flora of the british isles. Cambridge, Cambridge university press.

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

« K »

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

Kohlhardt-Floehr. C, Boehm. F, Troppens. S, Lademann. J, Truscott. T. G, Prooxidant and antioxidant behaviour of usnic acid from lichens under UVB-light irradiation--studies on human cells. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 2010, 101: 97-102.

Kirkelund Hansen, Rainey. R. B, Haagensen. J. A. J, Molin. S, Evolution of species interactions in biofilm community .Nature 2007, 445: 533-536.

Kumar .V, Abul .K. A, Nelson. F, Richard. M, Robbins Basic Pathology, 2007, 20-60.

« L »

Lange. O. L, Green .T. G, Heber. U, Hydration-dependent photosynthetic production of lichens: what do laboratory studies tell us about field performance? .Journal of Experimental Botany 2001, 52 (363), 2033-2042.

Lhuillier. A, Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook. f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat en sciences des agro ressources à l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 2007, 200.

Lindblom. L, Ekman. S, Genetic variation and population differentiation in the lichen-forming ascomycete *Xanthoria parietina* on the island Storfosna, central Norway. Molecular Ecology 2006, 15 (6), 1545–1559.

Références bibliographiques

Lohéziec-Le Dévéhat. F, Tomasi. S, Elix. J. A, Bernard. A, Rouaud. I, Uriac. P, Boustie. J, Stictic Acid Derivatives from the Lichen *Usnea articulata* and Their Antioxidant Activities. *Journal of Natural Products* 2007, 70: 1218-1220.

« M »

Macías. F. A, Molinillo. J. M- G, Varela. R. M, Galindo. J. C. G, Allelopathy-a natural alternative for weed control. *Pest Management Science* 2007, 63 : 327-348.

Madi.A, Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de Magister Université de Constantine 2010. p 12.

Marcel Vaillaud, la garrigue des lichens 2011, 14 : 1-17.

Meier. F.A, Scherrer .S, Honegger. R, Faecal pellets of lichenivorous mites contain viable cells of the lichen-forming ascomycete *Xanthoria parietina* and its green algal photobiont. *Trebouxia arboricola*. *Biological Journal of the Linnean Society* 2002. 76 (2), 259-268.

Millot. M, Di Meo. F, Tomasi. S, Boustie. J, Trouillas. P, Photoprotective capacities of lichen metabolites : a joint theoretical and experimental study. *Journal of Photochemistry and Photobiology B : Biology* 2012, 111 : 17-26.

Mitrović. T, Stamenković. S, Cvetković. V, Tosić. S, Stanković. M, Radojević. I, Stefanović. O, Čomić. L, Đačić. D, Ćurčić. M, Marković. S, Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Five Lichen Species. *International Journal of Molecular Sciences* 2011, 12 : 5428-5448.

Mohammed Rahali, Cartographie de la pollution plombique dans la région d'Alger en utilisant un lichen (*Xanthoria parietina*) comme bioaccumulateur. *Pollution atmosphérique N°* 175, 2002. 421-432.

Mohammedi.Z, Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister 2006, Tlemcen.

Références bibliographiques

Murtagh. G. J, Dyer. P.S, Crittenden. P. D, reproductive systems-sex and single lichen. Nature 2000, 404: 564-564.

« N »

Nathan. C, Points of control in inflammation. Nature 2002, 420: 846-852.

Nguyen. K. H, Chollet-Krugler. M, Gouault. N, Tomasi. S, UV-protectant metabolites from lichens and their symbiotic partners .Natural Product Reports 2013, 30 (12), 1490-1508.

Nicolas. J.F, Florence. C, Jean. T, Immunologie clinique et allergologie. Aspirineet AINS : intolérance et allergie, John Libbey Eurotext, 2001, 55-58.

Nikolić .V, Stanković. M, Nikolić. L, Nikolić. G, Ilić-Stojanović. S, Popsavin. M, Zlatković. S, Kundaković. T, Inclusion complexes with cyclodextrin and usnic acid Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 2013, 76: 173-182.

Nourshargh .S, Fritz .K, Elisabetta .D, the role of JAM-A and PECAM-1 inmodulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues, J of Leuk Biol 2006, 80:714-718.

Nybakken. L, Solhaug. K- A, Bilger. W, Gauslaa. Y, The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitat .Oecologia 2004, 140: 211-216.

« O »

Oksanen. I, Ecological and biotechnological aspects of lichens. applied microbiology and biotechnology 2006, 73: 723-734.

Olafsdottir. E. S, Ingolfsdòttir. K, Polysaccharides from lichens: structural characteristics and biological activity. Planta Medica 2001, 67: 199-208.

Omarsdottir. S, Freysdottir. J, Olafsdottir. E. S, Immuno modulating polysaccharides from the lichen *Thamnolia vermicularis* var. *subuliformis*. Phytomedicine 2007, 14: 179-184.

Ôtsuka. H, Komiya. T, Tsukui. M, Toyosato. T, Matsuoka. T, Fujimura. H, Hiramatsu. Y, Journal of the Takeda Research Laboratory 1972, 31: 247-254.

Références bibliographiques

« P »

Perry. N. B, Benn. M. H, Brennan. N. J, Burgess. E. J, Ellis. G, Galloway. D. J, Lorimer. S. D, Tangney. R. S, the Lichénologist 1999, 31 (6), 627-636.

Pires. R. H, Lucarini. R, Mendes Giannini. M. J. S. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2012, 56 (1), 595-597.

Podterob. A. P, Chemical composition of lichens and their medical applications. Pharmaceutical Chemistry Journal 2008, 42 (10), 582-588.

Purvis. O.W, Elix. J.A, Gau. K.L, The occurrence of copper-psoromic acid in lichens from cupriferous substrata. The Lichénologist 1990.22 : 345–354.

« R »

Ranković. B, Mišić. M, the Antimicrobial Activity of the Lichen Substances of the Lichens Cladonia Furcata, Ochrolechia Androgyna, Parmelia Caperata and Parmelia Conspresa. Biotechnology & Biotechnological Equipment 2008, 22 (4), 1013-1016.

Richardson. D. H. S, Reflections on lichenology: achievements over the last 40 years and challenges for the future. Canadian Journal of Botany 2002, 80: 101-113.

Rundel. P. W, the ecological role of secondary lichen substances. Biochemical Systematics and Ecology 1978, 6, 157-170.

« S »

Santos. N. P, Nascimento. S. C, Silva. J. F, Pereira. E. C. G, Silva. N.H, Honda. N. K, Santos. Magalhães. N. S, Usnic acid-loaded nanocapsules: an evaluation of cytotoxicity Journal of drug delivery science and technology 2005, 15 (5), 355-361.

Schmeda-Hirschmann. G, Tapia. A, Lima. B, Pertino. M, Sortino. M, Zacchino. S, Rojas d’Arias. A, Feresin. G. E, Phytotherapy Research 2008, 22, 349-355.

Scirpa. P, Scambia. G, Masciullo. V, Battaglia. F, Foti. E, Lopez. R, Villa. P, Malecore. M, Mancuso. S, A zinc sulphate and usnic acid preparation used as post-surgical adjuvant

Références bibliographiques

therapy in genital lesions by human Papillomavirus. *Minerva Ginecologica* 1999, 51 (6), 255-260.

Semadi.A, Deruelle. S, Détection de la pollution plombique à l'aide de transplants Lichéniques dans la région d'Annaba (Algérie), 1993, 86 : 86-102

Shrestha. G, Clair. L. L, Lichens: a promising source of antibiotic and anticancer drugs *Phytochemistry Reviews* 2013, 12: 229-244.

Shukla. V, Pant Joshi. G, Rawat. M. S. M, Lichens as a potential natural source of bioactive compounds .*Phytochemistry Reviews* 2010, 9, 303-314.

Smith. C.W, Aptroot. A, Coppins. B.J, Fletcher. A, Gilbert. O.L, James. P.W, Wolseley. P.A, The lichens of Great Britain and Ireland. The British Lichen Society 2009, 1046 p.

Solhaug. K. A, Gauslaa. Y, Parietin a Photoprotective secondary product of the lichen *Xanthoria parietina*. *Oecologia* 1996, 108, 412-418.

Srinivasa Rao. A, Ahmed M. F, Simultaneous estimation of quercetin and rutin in ethanolic extract of *Melia azedarach*. Linn leaves by HPTLC method. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 2013, 3(21), 56.

Sen .T, Nag .C. A. K., Anti-inflammatory evaluation of *Pluchea indica* root extract. *J. of Ethnopharmacology* 1991, 33: 135-141.

« T »

Thadhani. V. M, Choudhary. M. I, Ali. S, Omar. I, Siddique. H, Karunaratne. V, Antioxidant activity of some lichen metabolites. *Natural Product Research* 2011, 25 (19), 1827-1837.

Thormann. M .N, La diversité et le rôle des champignons dans les tourbières vus sous l'angle du cycle du carbone. *The forestry chronicle. Can. J. Soil Sci* 2006. 86 : 281–293.

Tievant. P, Guide des lichens : 350 espèces de lichens d'Europe, Édition Délachaux et Niestlé 2001, Paris, 304 p

Références bibliographiques

« V »

Van Haluwyn. C, Asta. J, Gavériaux .J.P, Guide des lichens de France : lichens des arbres. 2009, Belin (Ed.) 231p.

Verma. N, Behera. B. C, Parizadeh. H, Sharma. B. O, Bactericidal activity of some lichen secondary compounds of *Cladonia ochrochlora*, *Parmotrema nilgherrensis* and *Parmotrema sancti-angelii* . *International Journal of Drug Development & Research* 2011, 3 (3), 222-232.

Vijayakumar. C. S, Viswanathana. S, Kannappa Reddya. M, Parvathavarthinia. S, Kundub. A. B, Sukumar. E, Anti-inflammatory activity of (+)-usnic acid. *Fitoterapia* 2000, 71, 564-566.

Vila. J, Mollinedo. P, Sterner. O, Spectrometric studies of lichen depsides and depsidones .*Revista Boliviana de Química* 2011, 28 (1), 28-34

Vráblíková. H, Mcevoy. M, Solhaug. K. A, Barták. M, Gauslaa. Y, Annual variation in photo acclimation and photo protection of the photobiont in the foliose lichen *Xanthoria parietina* *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2006, 83: 151-162.

« W »

Wahyuono. S, Sudarson .O, The purity test of the major compound isolated from the green and yellow kayangin (usneasp). *Majalahfarmasi Indonesia* 1995. 6(1), 1-7.

Weill. B, Batteux. F, Dhainaut .J, Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck University (Paris) 2003, 12-23.

Wink, Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology .CRC Press. IL.SI North America flavonoids workshop. *Journal of Nutrition* 1999.

Winter. C.A, Risley. F.A, Nuss. O.W, Carrageenin induced oedema in handpaw of the rat as assays anti-inflammatory drugs, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med* 1962, 111, 544-547.

Références bibliographiques

+

« Y »

Yuan. X, Xiao. S, Taylor. T. N, lichene like symbiosis 600 million ago. *Science* 2005, 308, 1017-1020.



Annexes

1. Calcule du Rendement d'extraction

1.1 Extrait de trois solvants EAM

$$R\% = (279,79 - 277,55) / 20 \times 100$$

$$R\% = 11,2\%$$

1.2 Extrait acétonique

$$R\% = (279,55 - 277,55) / 20 \times 100$$

$$R\% = 10\%$$



a

b

c

Annexe 01 : Les étapes d'extraction classique par l'acétone a : macération et agitation magnétique b : filtration c : évaporation par évaporateur rotatif



a

b

Annexe 02 : Développement de CCM a : dépôts de deux extraits b : cuve d'éluant

2. Rapport frontaux de profile chimique CCM

a. L'extrait acétonique

$$Rf1=6,3/17=0,37$$

$$Rf2=9,8/17=0,57$$

$$Rf3=12,7/17=0,74$$

$$Rf4=13,5/17=0,79$$

$$Rf5=14,2/17=0,83$$

$$Rf6=14,3/17=0,84$$

$$Rf7=15,7/17=0,93$$

b. l'extrait de trois solvants

$$Rf 1= 6,3 / 17 = 0,37$$

$$Rf 2 = 9,8 / 17 = 0,57$$

$$Rf 3 = 13,5 / 17 = 0,79$$

$$Rf 4 = 14,2 / 17 = 0,83$$

$$Rf 5 = 14,3 / 17 = 0,84$$

Annexes



Rf 6 = 15, 7 / 17 = 0, 93

2. La préparation des solutions

- ✓ Solution alcoolique de FeCl₃ a 2%

Mélanger 2 ml de FeCl₃ dans 100ml de méthanol.

3. Tableaux de l'activité anti-inflammatoire sur les rats

Annexe 03 : Lot témoin .Après injection de formol à 1% dans la patte arrière gauche du rat

Évolution de la circonférence de la patte (mm3)				
	Avant traitement	30 min	1h	3h
1	4.8	5	5.6	6
2	4.5	5.7	6.4	8.5
3	5	5.8	5.8	6.1
4	4.6	4.8	5.9	6.2
Moyenne	4.725	5.325	5.925	6.7

Annexe 04 : lot control

Évolution de la circonférence de la patte (mm3)				
	Avant traitement	30 min	1h	3h
1	5	6.2	5.4	5.3
2	4.9	6.2	5.9	5.7
3	5	7.1	5.5	5.2
4	4.9	6.5	5.7	5
5	5.6	6.4	6.3	5.9
Moyenne	5.08	6.48	5.76	5.42

Annexe 05 : Lot essai A

Évolution de la circonférence de la patte (mm 3)				
	Avant traitement	30 min	1h	3h
1	5.4	7.4	7	6.5
2	5.5	7.6	6	5.5
3	6.3	8	7	6.8
4	5.4	6	5.7	6.1

Annexes

5	5.3	7.1	6	6
moyenne	5.58	7.22	6.34	6.18

Annexe 06 : Lot essai EAM

Évolution de la circonférence de la patte (mm3)				
	Avant traitement	30 min	1h	3h
1	5	5.9	5.8	5.7
2	5.2	6.8	6.6	6.5
3	4.9	5.3	5.2	5.2
4	4.7	5.5	5.5	5.4
5	4	4.9	4.7	4.7
moyenne	4.76	5.68	5.56	5.5

Annexe 07 : poids des rats

poids	somme	moyenne
Témoin (n=4)	416,5	104,12
Control (n=5)	717,3	143,46
Essie A (n=5)	896,6	179,32
Essie B (n=5)	751,8	150,36

Résumé

Les lichens, la nouvelle source de métabolites secondaires bioactives a intérêt médicale pharmacologique cosmétique et industriel. **Méthodologie** : on a procédé à une identification morphologique des lichens, extraction par macération, analyse par CCM, screening phytochimique et test d'activité anti-inflammatoires induite par le formol 1%. **Résultats** : il s'agit du lichen *Xanthoria parietina*. Le meilleur rendement c'est le rendement d'extraction séquentielle 11.2% comparé à l'acétone 10%. La séparation et purification par CCM révélée six à sept spots correspondants à l'extrait acétone et tris solvant respectivement. Le screening phytochimique a montré la présence de polyphénols, tanins catéchiques et des stérols et l'absence de tri terpènes. Les extraits de *Xanthoria parietina* présentent une activité anti inflammatoire a une doses de 200 mg/kg avec un % d'inhibition 62% à 69% compare au Diclofénac (82%). Conclusion *Xanthoria parietina* semblerait un lichen prometteur a intérêt thérapeutique.

Mots clés

Lichens, *Xanthoria parietina*, CCM, l'œdème, screening phytochimique, activité anti-inflammatoire