POSSIBILITÉS D'UTILISATION DE SUBSTANCES LICHÉNIQUES COMME PROTECTEURS SOLAIRES

Wanda QUILHOT, M. E. HIDALGO, E. FLORES, E. FERNANDEZ et W. PEÑA.

Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso, Casilla 92-V, Valparaíso, Chile.

L' accroissement mesuré des radiations ultraviolettes (UV) à la surface de la terre, dû principalement à la diminution de la couche d'ozone, ainsi que les durées d'expositions prolongées à la lumière du soleil, sont les facteurs déterminants de l'augmentation progressive des maladies dégénératives de la peau (1).

Le spectre des radiations ultraviolettes (UV) comprend: la région UV C, de 200 à 280 nm, qui sont des radiations germicides; la région UV B, de 280 à 320 nm, qui est responsable des érythèmes et des brûlures solaires, et considérée commme carcinogène; la région UV A, de 320 à 400 nm, qui pénètre jusqu'au derme, provoque des réactions de photosensibilité et induit des processus de dégénérescence qui apparaissent avec l'âge (2, 3). Les pourcentages de pénétration dans la peau sont: 44% pour les UV A, 10 à 20% pour les UV B et 1% pour les UV C (4).

Afin de prévenir ou de diminuer les effets des rayons UV, des agents de protection contenant un ou plusieurs filtres solaires, sont utilisés. Les filtres solaires absorbent sélectivement ces radiations. Il s'agit de composés aromatiques qui ont un groupe carbonyle, un groupe cétone ou ester, et un substituant électrophile possédant un atome d'oxygène ou d'azote en position ortho ou para du carbonyle (Fig. 1). La radiation absorbée est réémise dans une longueur d'onde plus longue, mise en évidence par phosphorescence ou fluorescence, qui

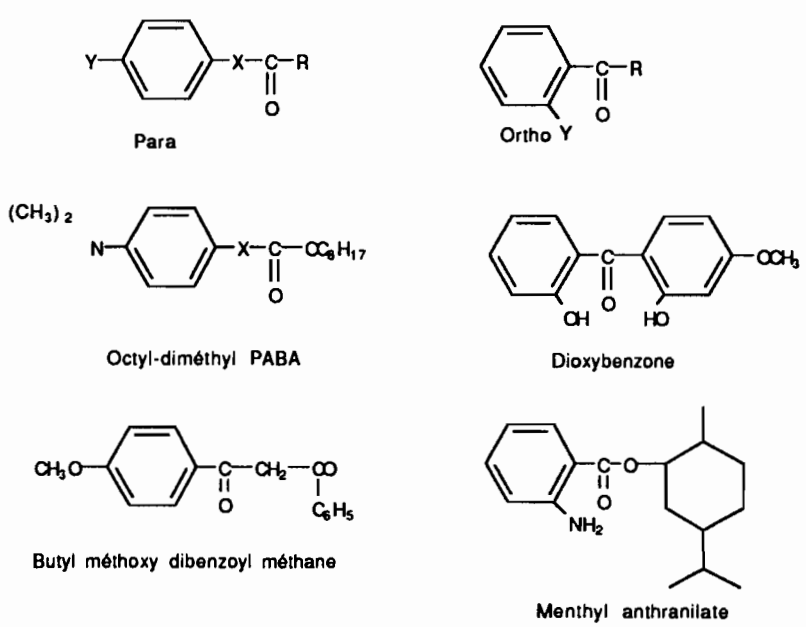


Figure 1

n'est pas nocive pour l'organisme (5). Tout de même, la plupart des filtres solaires produisent des réactions de photosensibilité comme la phototoxicité et la photoallergie (6).

Les lichens sont connus par leur morphologie très particulière: ils sont formés d'une association symbiotique d'algues unicellulaires vertes ou des cyanobactéries - qui fonctionnent comme des chloroplastes - et d'un champignon supérieur. Ils montrent un métabolisme particulier qui se traduit par la biosynthèse de substances phénoliques fréquemment spécifiques; celles-ci apartiennent en majeure partie à des groupes chimiques très peu répandus en dehors du monde lichénique (Fig. 2) comme les depsides, les depsidones, les diphényle-éthers, les dibenzofuranes et les acides usniques (7, 8).

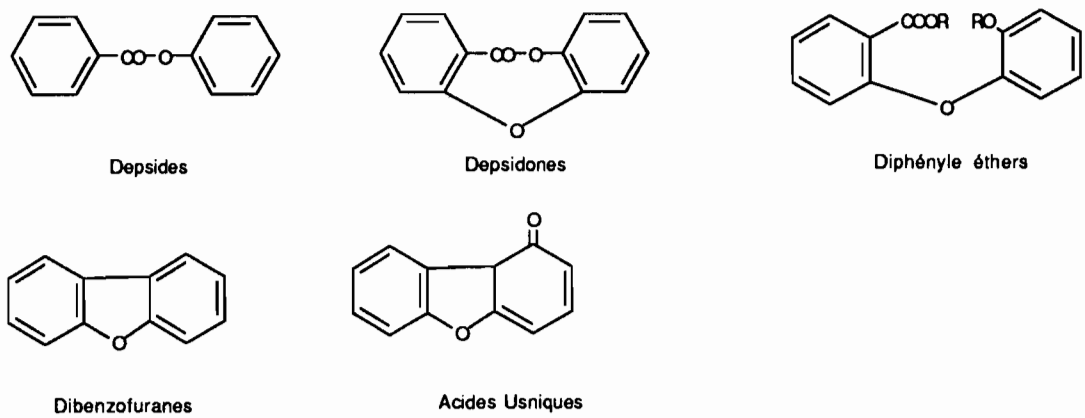


Figure 2: Structure de base des substances lichéniques

Quelques-uns de ces composés présentent des chromophores caractéristiques des filtres solaires (Fig. 3): un groupe carbonyle d'aldéhyde et un ou deux groupes hydroxyles en position ortho de ce carbonyle, comme l'atranorine, la pannarine et la 1'-chloropanarine; le groupe carbonyle peut provenir aussi d'un ester - exemple: acides divaricatique et gyrophorique -, ou d'une cétone, comme dans le cas de l'acide usnique.

On a supposé que les phénols lichéniques pouvaient jouer le rôle d'écrans filtrant une fraction de la lumière qui arrive à la surface du thalle, rayons UV inclus, protégeant ainsi les cellules du photobionte très sensibles à la lumière (9). Des évidences expérimentales confirment cet effet d'écran. La teneur en acide usnique, le plus répandu des métabolites lichéniques, augmente chez les individus appartenant à une même population au fur et à mesure que la radiation solaire augmente (10, 11). Des concentrations importantes de ce métabolite ont été mesurées dans les tissus jeunes, où l'activité photosynsthétique est plus élevée (12, 13).

Les études physiques et photochimiques des substances lichéniques ne sont pas nombreuses. Rao et Le Blanc, 1965 (14) ont indiqué que l'atranorine pourrait contribuer à la photosynthèse: en effet, elle absorbe la radiation d'onde courte à 425 nm, dans le toluène, région spectrale d'absorption des chlorophylles. En 1985, Takani et Takahashi (15) étudiant la photolyse de l'acide usnique dans le tétrahydrofurane - méthanol, ont mis en évidence que le processus a lieu depuis un état triplet court excité, de caractère np^* , localisé dans le groupe carbonyle. Peu après, dans notre laboratoire, dans le cadre de recherches sur les substances lichéniques et leur relation avec la physiologie du thalle, nous avons étudié les propriétés spectrales et le comportement photochimique et physique du depside atranorine et des depsidones chlorées pannarine et 1'-chloropannarine (16). Ces métabolites absorbent les radiations UV dans le bleu. Le temps de vie moyen des états excités est très court, 2,1 à 3,2 ns,ce qui est en accord avec un état triplet court excité, comme décrit pour des composés aromatiques du type benzaldéhyde (17). Les rendements quantiques de fluorescence sont bas, 0,002 à 0,021, ainsi que leur solubilité dans l'eau qui atteint 0,2 à 2,4 µM à pH 2, et 14 à 19 µM à pH basique.

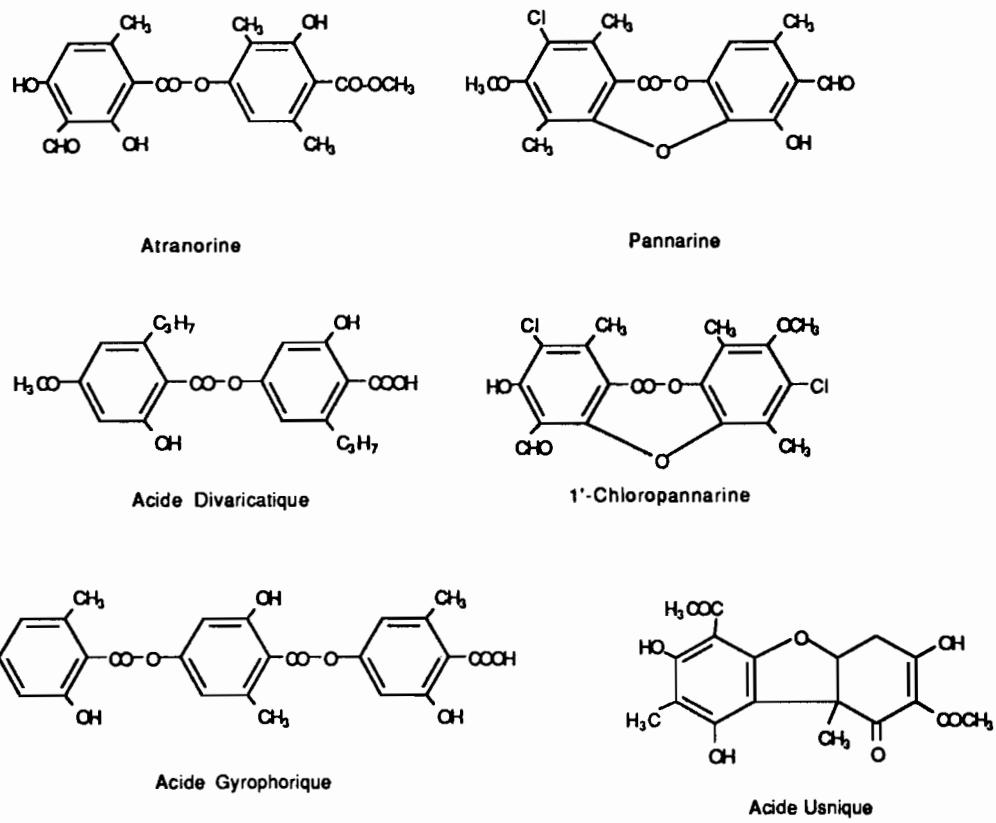


Figure 3 : structure chimique de quelques phénols lichéniques

La caractérisation spectroscopique des composés ci-dessus et des acides divaricatique, gyrophorique et usnique, est illustrée dans la Fig. 4. Ils absorbent dans l'UV C, l'UV B et l'UV A avec émissions dans le visible, de 430 à 485 nm; l'acide usnique fait exception et n'émet pas l'énergie absorbée. La comparaison des maximums d'absorption des filtres solaires et des phénols de lichens (Fig. 5) permet apprécier quelques coïncidences: dans l'éthanol, les 1 max des acides usnique et gyrophorique se trouvent dans l'UV B; pour l'atranorine, l'acide divaricatique, la pannarine et l'1 - chloropannarine, dans l'UV C. Mais ils absorbent aussi dans l' UV A.

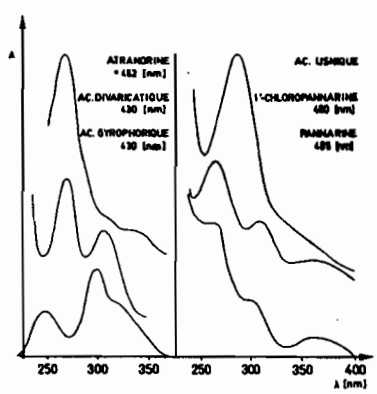


Figure 4 : Spectres d'absorption des phénols lichéniques dans l'éthanol. (*max λ emission)

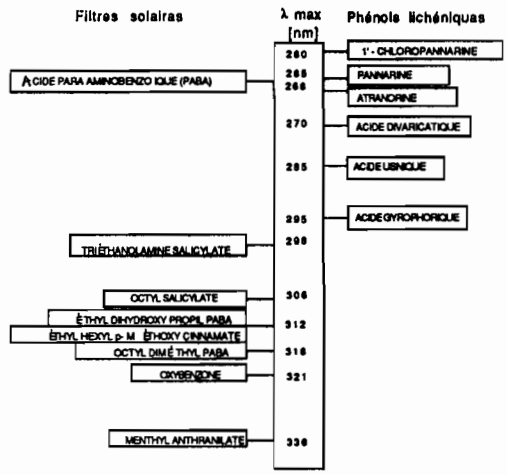


Figure 5 : λ max d'adoption de filtres solaires et de phénols lichéniques

On sait que les métabolites lichéniques produisent des dermatites de contact et de photocontact (18, 19) et que la photosensibilisation peut être due à l'oxygène sous forme singulet (20). En tenant compte de ces faits, et que les altérations de la peau pourraient être associées à la photomodification des membranes due à la peroxydation de lipides, on a choisi le modèle du globule rouge (21) pour évaluer l'action hémolytique des composés lichéniques. L'hémolyse a été réalisée à 20º C et à 37º C, en utilisant les concentrations suivantes: atranorine $1{,}25 \times 10^{-5}$M; acide divaricatique et gyrophorique 1×10^{-5}M; pannarine $7{,}79 \times 10^{-6}$M; 1'-chloropannarine $1{,}25 \times 10^{-5}$M. Pour les essais de photohémolyse, les échantillons ont été irradiés avec une lampe au mercure demi-pression et un filtre à 366 nm.

Les résultats obtenus à 20º C, pour des durées d'expérimentation de 60 mn, 120 mn et 180 mn, sont rassemblés dans la Fig. 6. La pannarine, la 1'-chloropannarine et l'atranorine ne sont pas hémolytiques; cette dernière ne montre donc pas d'action photohémolytique. Les pourcentages de l'acide gyrophorique et de l'acide divaricatique sont négligeables en absence de lumière, mais on observe une augmentation à 8,8% pour l' acide gyrophorique, à 45,1% pour la pannarine et à 60,1% pour la 1'-chloropannarine après 180 min d'irradiation.

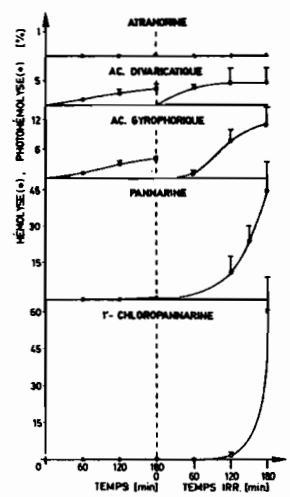


Figure 6 Action hémolitique et photohémolitique des phénols lichéniques à 20°C.

A 37ºC (Fig.7) la capacité hémolytique de l'acide gyrophorique ne montre pas de changement important avec l'augmentation de la température. L'acide divaricatique produit 42% d'hémolyse à 180 mn d'irradiation; le pourcentage de l'atranorine, 42%, est aussi élevé.

Les depsidones chlorées sont les plus hémolytiques des composés étudiés; la 1'-chloropannarine, qui possède deux atomes de chlore, hémolyse 58% de globules rouges en absence de lumière et 98,1% à 45 mn d'irradiation. Cette action nuisible provient probablement de la formation de radicaux libres de chlore produits au cours de l'irradiation. Il faut remarquer que dans une publication de Shaath, 1987 (6), il est décrit que sur 23 filtres solaires actuellement en usage, 20 d'entre eux sont toxiques; la toxicité s'exprime sous forme de dermatite de contact et de photocontact, et de phototoxicité.

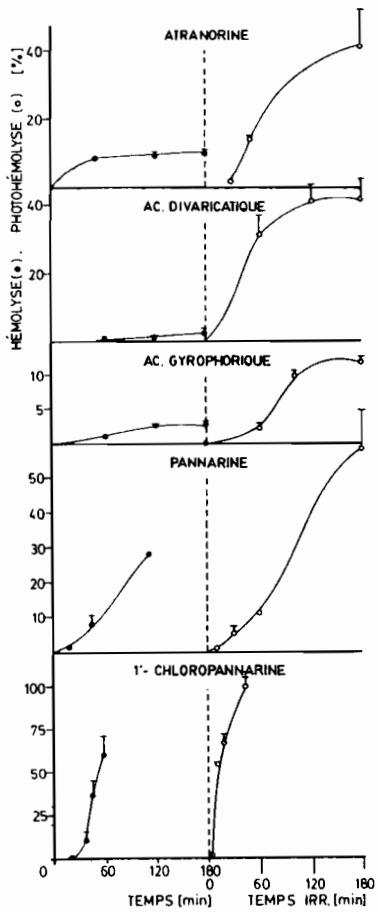


Figure 7 : Action hémolitique et photohémolitique des phénols lichéniques à 37°C.

Il est bien connu que les composés phénoliques d'origine naturelle ou synthétique protégent la membrane cellulaire des oxydations en piègeant les radicaux libres et les espèces actives d'oxygène (22). La capacité antioxydante des phénols lichéniques a été évaluée sur les tests d'autoxydation de ß-carotène (23) et d'autoxydation de l'homogenéisat de cerveau de rat (24) utilisant comme témoins respectivement le 2,6-di-t-butyl-4-méthyl-phénol et le propyl-galate. Les résultats du test au ß-carotène sont exprimés dans la Fig. 8.

Les métabolites montrent un effet antioxydant modéré ; la 1'-chloropannarine se révèle la plus active. L'action des métabolites est fonction de la concentration employée, comme l'illustre la Fig. 9 pour l'acide divariticatique et la 1'-chloropannarine qui produit la meilleure inhibition de l'autoxydation de l'homogénéisat de cerveau de rat à concentrations plus élévées.

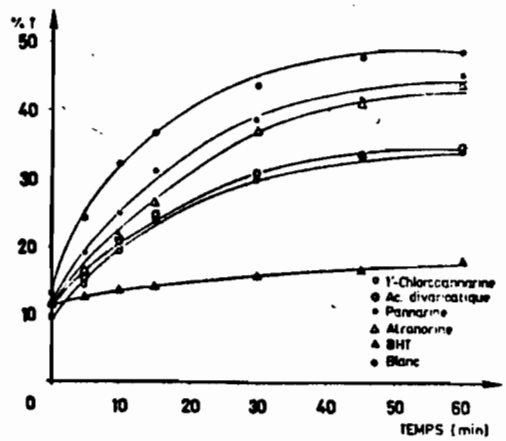


Figure 8 : Inhibition de l'autoxydation du ß carotène en ptrésence des phénols lichéniques (c=80mg/l)

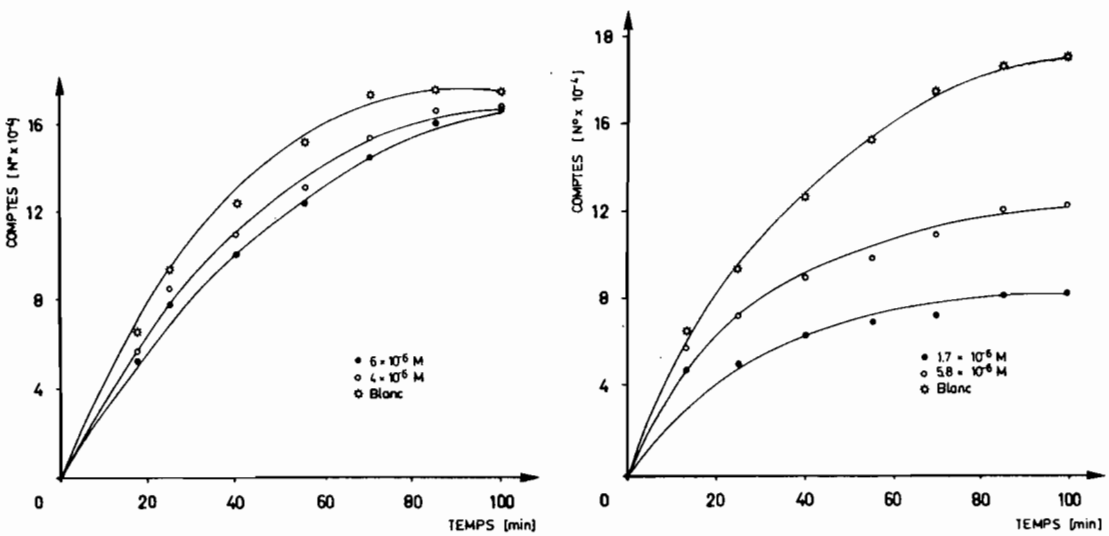


Figure 9 : Effet antioxydant de l'acide divaricatique (a) et de la 1'-chloropannarine (b) à deux concentrations

Conclusions:

Les phénols lichéniques ont des caractéristiques et des propriétés compatibles avec les filtres solaires. Ils présentent des similitudes structurales, une haute absorption des rayons UV, un temps de vie moyen des états excités court, une stabilité chimique et photochimique et une faible solubilité dans l'eau .

L'effet hémolytique n'est pas négligeable; il est au contraire très fort pour les depsidones chlorées. Mais cet effet, ce qui peut paraître paradoxal, pourrait être diminué par leur propriété antioxydante, bien que moderée.

De tout cela on déduit que les subtances lichéniques pourraient protéger la peau des mauvaises radiations et de processus oxydatives.

Project UV 7/90 DICYT, Universidad de Valparaíso.

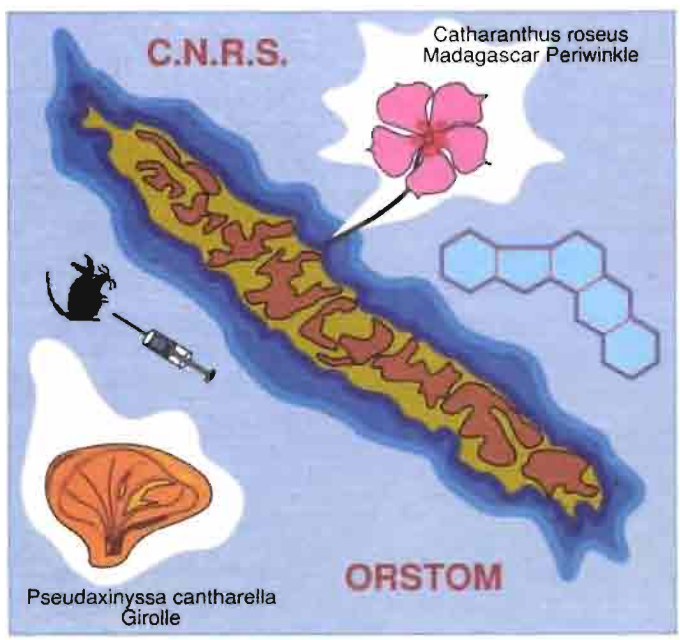
Bibliographie

1. Greiter F. and Gschnaitt F. , *Photochem. Photobiol.* **39**, 861-873 (1984)
2. Mallo I. and Carreras E., *Piel* **2**, 226-230 (1987)
3. Cavallo J. and De Leo V. A., *Dermatologic Clinics* **1**, 181-187 (1986)
4. Waren P., *Cosmetic and Toiletries* **94**, 29-31 (1979)
5. Shaath N., *J. Soc. Cosmet. Chem.* **82**, 197-207 (1987)
6. Shaath N., *Cosmetic and Toiletries* **102**, 21-39 (1987)
7. Culberson Ch. F., *Chemical and Botanical Guide to Lichen Products*, Univ. of North Carolina
9. Press, Chapel Hill (1969)
8. Elix, J. A. , A. A. Whilton and M. V. Sargent, *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* **45**, 103-234 (1984)
9. Lawrey, J. D., *Bryologist* **89**, lll-l22 (1986)
10. RundelP. W., *Bryologist* **72**, 40-44 (1969)
11. Quilhot W., Leighton G., Flores E., Fernandez E., Peña W. and Guzman G., *Acta Farm. Bonaerense* **6**, 15-22 (1987)
12. Quilhot W. and Guzman G., *Rev. Latinonamer. Quim.*, **19**, 19-22 (1988)
13. Quilhot W., Sagredo M. G., Camplans E., HidalgoM. E., Peña W., Fernandez E and Piovano M., *Ser. Cient. INACH* **41**, 91-97 (1991)
14. Rao D.N. and Le Blanc F., *Bryologist* **68**, 2843-289 (1965)
15. Takani M. and Takahashi K., *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 2772-2777 (1985)
16. Hidalgo M.E., Lissi E.A., Fernandez E and Quilhot W., *J. Photochem. Photobiol.* (in press), (1991)
17. Nagakoa S., Hiroto M., Sumitami M. and Yoshiare K., *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 4220-4226 (1983)
18. Thune P., *Contact Dermatitis* **3**, 267-272(1977)
19. Thune P., *Contact Dermatitis* **6**, 81-88 (1980)
20. Wenersten G., *Acta Dermatovener.* **59**, 197-202 (1979)
21. Khan G. and Fleischaker B., *J. Investigative Dermatol.* **56**, 85-90 (1971)
22. Larson R.A., *Phytochemistry* **27**, 969-978 (1988)
23. Miller, H., *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **91**, 842-855 (1971)
24. Lissi E.A., Cáceres T. and Videla L. A., *J. of Free Radicals in. Biol. and Med.* **2**, 63-69 (1986)
25. Shaath N., *Cosmetic ant Toiletries* **102**, 69-81 (1987)

Troisième Symposium sur les substances naturelles d'intérêt biologique de la région Pacifique-Asie

Nouméa, Nouvelle-Calédonie, 26-30 Août 1991

ACTES



Editeurs : Cécile DEBITUS, Philippe AMADE,
Dominique LAURENT, Jean-Pierre COSSON