

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie
Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا
الخلوية والجزيئية

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*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

*Etude des activités biologiques d'un champignon
comestible Algérien*

Présenté par : BENIDIR Karima
DERDOUR Ikram

Le 28/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme TENIOU S. (MAA – Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme GUENDOUZE A. (MCB – Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr MOKRANI E.H. (MCB – Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 – 2022**

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous exprimons toutes nos gratitudee à notre encadreur Madame **TENIOU Sourmia** (Maître assistant « A » à l'Université Frères Mentouri Constantine 1) pour sa compréhension, sa patience, ses orientations permanentes, ses encouragements et ses judicieux conseils dans la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de nos profonds respects.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de notre jury, Monsieur **MOKRANI El Hassen** (maitre de conférence « B » à l'Université Frères Mentouri Constantine 1) et Madame **GUENDOUZE Assia** (maitre de conférence « B » à l'Université Frères Mentouri Constantine 1) qui nous ont fait l'honneur d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements au Docteur **BENSOUICI Chawki**, Maitre de recherche classe « A » et chef de laboratoire d'Analyses et Contrôle de qualité au Centre de Recherche en Biotechnologie (**CRBt**) pour nous avoir accueilli et guidé durant toute la période de notre stage, ainsi que pour sa gentillesse, sa disponibilité, et ses conseils constructifs. Soyez assuré de nos profonds respects et de notre vive reconnaissance.

Nos remerciements s'adressent également à Madame **Derdour Mouna** et à tout le personnel et les doctorants que nous avons côtoyés au laboratoire d'analyse et contrôle de qualité au CRBt, pour leurs conseils, leur aide, leur générosité, leur gentillesse et leur sympathie. Soyez assuré de nos profondes gratitudee.

A mes collègues, **Elorfi Abderrahmane** pour m'avoir aidé, encouragé et épaulé moralement toute la période de la construction de ce mémoire. A **Hiba, Feriel et Madjeda**, merci pour tous les bons moments passés ensemble au laboratoire. A **Sabiha et Leïla**, merci du fond du cœur.

Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué et aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.



Dédicace

A mes très chers Parents Ali et Benchikh-elhocine Chems Elhouda

A mes Sœurs Nouha et Chehla

A mon Frère Abd-erracouf

*Et à tous ceux qui m'ont soutenu durant tout le chemin que j'ai dû passer
pour en arriver là où j'en suis aujourd'hui.*

Karima



Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers Parents qui ils trouvent ici toute ma gratitude

Pour leur soutien tout le long de mes études

A mes Sœurs Mouna et Imen et à mon Frère Mohamed Lamine

A ceux qui m'aiment, qui sont partis de ma vie.

Akram

Table des matières

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures	ii
Liste des abréviations	iv
Liste des abréviations	vi

Sommaire

Introduction	2
--------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre 01 : Etude bibliographique du champignon *Pleurotus eryngii*

1. Généralité.....	6
2. Le champignon <i>Pleurotus eryngii</i>	6
3. Description.....	7
4. Taxonomie et classification	8
5. Répartition géographique et mode de vie	8
6. Composition chimique du <i>Pleurotus eryngii</i>	10
7. Intérêts thérapeutiques	12

Chapitre 02 : Métabolites secondaires

I. Composés phénoliques	16
1. Définition	16
2. Biosynthèse	16
A. Voie de l'acide shikimique	17
B. Voie de l'acide malonique	17
3. Classes des polyphénols	17
3.1. Acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3 ; non flavonoïde)	17
3.2. flavonoïdes	18
3.2.1. Définition	18
3.2.2. Les différentes classes de flavonoïdes	19
3.2.2.1. Flavonols	19
3.2.2.2. Flavones	20
3.2.2.3. Isoflavones	20
3.2.2.4. Flavanones	20

3.2.2.5. Anthocyanidine	20
3.2.2.6. Flavan-3-ol (Flavanol)	21
3.2.2.7. Chalcone	21
3.2.2.8. Aurones	21
3.2.2.9. Flavanonol (dihydroflavonol)	21
3.3. Les tanins	22
3.4. Les coumarines	24
3.4.1. Les coumarines simples	24
3.4.2. Coumarines complexes	24
3.5. Stilbénoides	25
3.5.1. Les stilbènes	25
3.5.2. Bibenzyls	26
3.5.3. Phénanthrènes	26
3.6. Les anthocyanes (anthocyanosides ou anthocyanines)	26
3.7. Lignanes (C6-C3) ₂	27
3.8. Les saponosides	28
3.9. Les Quinones	28
II. Les alcaloïdes	29
1. Définition	29
2. Biosynthèse des alcaloïdes	29
3. Classification des alcaloïdes.....	29
3.1. Selon l'origine biosynthétique et la position de l'azote.....	29
3.1.1. Alcaloïdes vrais	30
3.1.2. Pseudo-alcaloïdes	30
3.1.3. Proto-alcaloïdes	31
3.2. Selon la structure moléculaire et leurs compositions chimiques.....	31
III. Les terpénoïdes	32
1. Définition	32
2. Classification des terpénoïdes	32
 Chapitre 03 : stress oxydatif, antioxydants	
I. Le stress oxydatif	36
1. Les principaux radicaux libres	37
1.1. Espèces réactives radicalaires	37
1.1.1. L'anion superoxyde O ₂ • ⁻	37
1.1.2. Radical hydroperoxyde HO ₂ •	37
1.1.3. Le radical hydroxyle OH•	38

1.1.4. Monoxyde d'azote NO•	38
1.1.5. Le radical peroxydinitrite ONOO-	38
1.1.6. Radicaux alkoxyde RO• et peroxyde ROO•	39
1.2. Espèces réactives non radicalaires	39
1.2.1. Le peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂	39
1.2.2. Acide hypochloreux HOCl	39
1.2.3. Oxygène singulet 1O ₂	40
2. Principaux dommages liés au stress oxydant	40
2.1. Oxydation des composés lipidiques	40
2.2. Oxydation des composés protéiques	40
2.3. Oxydation de l'ADN	41
II. Les Antioxydants	41
1. Les antioxydants enzymatiques	41
1.1. Superoxydes dismutases (SOD)	42
1.2. Les catalases	42
1.3. Les Glutathions peroxydases (GPx) et les la glutathion réductase (GR)	43
1.4. La thiorédoxine (Trx)	43
1.5. Peroxyrédoxine (Prx)	44
1.6. L'HO-1 ou HMOX-1	44
2. Les antioxydants non-enzymatiques	44
2.1. Systèmes antioxydants endogènes	45
2.1.1. Le GSH	45
2.1.2. L'acide α-lipoïque (AAL)	45
2.1.3. Acide urique	45
2.1.4. Bilirubine	45
2.2. Systèmes antioxydants exogènes	46
2.2.1. Les vitamines	46
2.2.2. Les caroténoïdes	46
2.2.3. Les oligoéléments	46
2.2.4. Les polyphénols	47
3. Antioxydants synthétiques	47

Partie expérimentale

Chapitre 01 : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal	50
---------------------	----

2. Extraction	51
2.1. Extraction solide-liquide « Macération »	51
2.2. Extraction liquide-liquide	51
2.3. Le rendement	53
3. Activités biologiques	53
3.1. Préparation des extraits	53
3.1.1. Préparation des solutions mère	53
3.1.2. Préparation des dilutions	53
3.2. Dosage des polyphénols totaux	54
3.3. Evaluation de l'activité antioxydante	54
3.3.1. Test de Piégeage du radical libre DPPH [•]	55
3.3.2. Test de piégeage du cation radical l'ABTS ^{•+}	56
3.3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)	58
3.3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² phénanthroline	59
3.3.5. Activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	60
3.4. Activité anti-enzymatique <i>in vitro</i>	61
3.4.1. Inhibition de l'uréase	61
4. Analyses statistiques	62

Chapitre 02 : Résultats et discussion

1. Le rendement	64
2. Dosage des polyphénols totaux	65
3. Evaluation de l'activité antioxydante	67
3.1. Test de Piégeage du radical libre DPPH [•]	67
3.2. Test de piégeage du cation radical l'ABTS ^{•+}	69
3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC).....	71
3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² phénanthroline	73
3.5. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	74
4. Activité anti-enzymatique <i>in vitro</i>	76
4.1. Inhibition de l'uréase	76
5. Conclusion	77

Conclusion et Respectives	79
--	----

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition nutritionnelle dans 100 g de <i>P. eryngii</i> frais cultivés.....	11
Tableau 02 : Acides aminés dans 100 g de <i>P. eryngii</i>	12
Tableau 03 : Différentes classes des terpènes selon le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène	33
Tableau 04 : Les rendements, le poids, l'aspect et la couleur des extraits obtenus avec différents solvants	64
Tableau 05 : Le contenu total en polyphénols des extraits bruts de <i>P. eryngii</i>	66
Tableau 06 : Pourcentage d'inhibition et valeurs des IC ₅₀ de l'activité d'inhibitrice du radical DPPH par les extraits de <i>P. eryngii</i> et les standards	68
Tableau 07 : Pourcentage d'inhibition et valeurs des IC ₅₀ de l'activité d'inhibitrice du radical ABTS par les extraits de <i>P. eryngii</i> et les standards	70
Tableau 08 : Absorbances et valeurs des A _{0,5} de l'activité réductrice du de CUPRAC par les extraits de <i>P. eryngii</i> et les standards	72
Tableau 09 : Absorbances et valeurs des A _{0,5} de l'activité réductrice du phénanthroline par les extraits de <i>P. eryngii</i> et les standards	73
Tableau 10 : Absorbances et valeurs des A _{0,5} de l'activité réductrice du FRAP par les extraits de <i>P. eryngii</i> et les standards	75

Liste des figures

Figure 01 : <i>Pleurotus eryngii</i>	7
Figure 02 : <i>Eryngium campestre</i> L. (Panicaud champêtre)	8
Figure 03 : Approximation de distribution du <i>Pleurotus eryngii</i> par pays, basée sur la bibliographie existante.	9
Figure 04 : Structures de base des acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3)	18
Figure 05 : Squelette de base des flavonoïdes	19
Figure 06 : Structures des principales classes des flavonoïdes	22
Figure 07 : Proanthocyanidine de type A (liaison C4→C8 et C2→O→C7)	23
Figure 08 : Procyanidine (B-1) : épicatechine - (4→8) - catéchine (liaison de type B)	23
Figure 09 : Structure de base des Coumarines	24
Figure 10 : Structure générale des stilbènes	25
Figure 11 : Structure d'un bibenzyl	26
Figure 12 : Structure d'un phénanthrène	26
Figure 13 : Structure de base des anthocyanes	27
Figure 14 : Structure des lignanes	27
Figure 15 : Structure de base des saponosides	28
Figure 16 : Structures des principales quinones	28
Figure 17 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes vrais	30
Figure 18 : Structures chimiques de quelques pseudo-alcaloïdes	30
Figure 19 : Structures chimiques de quelques proto-alcaloïdes	31
Figure 20 : Structure de la molécule d'isoprène	32
Figure 21 : <i>Pleurotus eryngii</i>	50
Figure 22 : (A) : champignon séché et conservé ; (B) : champignon sec broyé	50
Figure 23 : Schéma résumant les différentes étapes de l'extraction de <i>Pleurotus eryngii</i> ...	52
Figure 24 : Préparation des dilutions	53
Figure 25 : Transformation du radical DPPH• en DPPHH	55
Figure 26 : Formation du radical cation ABTS•+ à partir de l'ABTS	57
Figure 27 : Réduction du complexe néocuproïne / cuivre (II)	58
Figure 28 : Formation du complexe Fe+2-phénanthroline	59
Figure 29 : Mécanisme réactionnel du test FRAP	60
Figure 30 : Formation de NH ₃ et CO ₂ par l'hydrolyse de l'urée	61
Figure 31 : Les extraits bruts obtenus avec les différents solvants.....	64
Figure 32 : Histogramme représente le rendement d'extraction des différents solvants	64
Figure 33 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	65
Figure 34 : Plaque de dosage des polyphénols des cinq extraits de <i>Pleurotus eryngii</i>	66

Figure 35 : Histogramme représente les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Pleurotus eryngii</i>	66
Figure 36 : Les plaques de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits du <i>P. eryngii</i>	67
Figure 37 : Courbes de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits de champignon <i>P. eryngii</i>	68
Figure 38 : Les plaques de dosage de l'activité anti-radicalaire ABTS des extraits du <i>P. eryngii</i>	69
Figure 39 : Courbes de pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS en fonction des différentes concentrations des extraits de champignon <i>P. eryngii</i>	70
Figure 40 : Les plaques de dosage de l'activité réductrice de CUPRAC des extraits du <i>P. eryngii</i>	71
Figure 41 : Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des extraits obtenus par le test CUPRAC.....	72
Figure 42 : Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des extraits obtenus par le test phénanthroline	74
Figure 43 : Les plaques de dosage de l'activité réductrice de FRAP des extraits du <i>P. eryngii</i>	75
Figure 44 : Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des extraits obtenus par le test FRAP	75
Figure 45 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'uréase des extraits du <i>P. eryngii</i>	76

Listes des abréviations

A_{0.5}	Concentration indiquant 0,50 d'absorbance
AAL	Acide α -lipoïque
Abs	Absorbance
ABTS	Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
ADN	Acide déoxyribonucléique
BHA	Hydroxyanisole butylé
BHT	Hydroxytoluène butylé
CCM	Chromatographie sur couche mince
CUPRAC	Cupric Reducing Antioxidant Capacity
DCM	Dichlorométhane
Cm	Centimètre
DPPH	2,2-diphényl -1-picrylhydrazyle
e⁻	Electron
EAG	Équivalent de l'acide gallique.
EBuOH	Extrait de butanol
EDCM	Extrait de Dichlorométhane
EEtOAc	Extrait d'Acétate d'éthyle
EHX	Extrait d'hexane
EMeOH	Extrait de methanol
EOA	Spèces oxygénées activées
EROs	Espèce Réactive de l'Oxygène
EtOAc	Acétate d'éthyle
FCR	Folin-Ciocalteu
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GP	Gallate de propyle
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathion réductase
GSH	Glutathion
GSSG	Disulfure de Glutathion
HCl	Chlorure hydrogène
HO-1	Hème oxygénase-1
HX	Hexane
IC₅₀	Concentration inhibition à 50 %
IL-1β	Interleukine 1 beta
IL-6	Interleukine 6
LPS	Lipopolysaccharides
M	Mole

MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MDA	Malondialdéhyde
MeOH	Méthanol
mg	Milligramme
min	Minute
ml	Millilitre
mM	Milimole
MPO	Myéloperoxydase
n-BuOH	Butanol
NF-κB	Nuclear factor kappa B
nm	Manomètre
NO	Nitric oxide
NO•	Monoxyde d'azote
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
O₂•	Radical superoxydes
OH•	Radical hydroxyles
PAL	Phénylalanine Ammonia-Lyase
PEP	<i>Pleurotus eryngii</i> protein
PEP	Phospho-énol-pyruvique
PERP	<i>P. eryngii</i> Enzymatic Residue Polysaccharide
PPEP	Polyphénols de <i>Pleurotus eryngii</i>
RNS	Especies Reactives de l'azote
ROS	Especies réactives oxygénées
RO•	Radicaux alkoxy
SOD	Superoxydes dismutases
THBQ	Tert-butylhydroquinone
TLR	Toll-like receptor
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
UV	Ultra-violet
μg	Microgramme
μL	Microlitre
°C	Degré Celsius
%	Pourcentage

Liste des équations

Equation 01 : Rendement (R%)	53
Equation 02 : Pourcentage d'inhibition du DPPH	56
Equation 03 : Pourcentage d'inhibition d'ABTS	57
Equation 04 : Pourcentage d'inhibition de l'uréase	62

INTRODUCTION

L'usage des champignons à des fins thérapeutiques et rituelles religieuses est très ancien. Les champignons hallucinogènes étaient utilisés par les hommes préhistoriques, qui s'en servaient lors des cérémonies religieuses comme les images des personnages masqués sur les parois de la grotte du Tassili n'Ajjer (Algérie), des "chamans" avec de gros champignons jaillissant de leur corps (Annexe VII), pourraient être *les premières représentations de l'utilisation rituelle de champignons psychotropes producteurs de psilocybine*, datées de 9 500 à 7 000 av. J.-C. (www.atlasobscura.com).

Les champignons sauvages font partie de l'alimentation humaine normale et sont également largement consommés en raison de leurs propriétés organoleptiques, chimiques et nutritionnelles. Non seulement les fructifications, mais aussi leurs mycéliums ont été exploités pour le développement de médicaments naturels. Les industries pharmaceutiques utilisent les champignons pour produire de nouveaux médicaments car ils sont riches en métabolites secondaires qui peuvent être utilisés comme source de biothérapies. Les champignons sont riches en divers composés biologiquement actifs, nutritifs ou non, tels que des polysaccharides, notamment des β -glucanes, des peptides, des protéines, des terpénoïdes, des esters d'acides gras, des acides organiques, des stérols, des alcaloïdes et des composés phénoliques (Golak-Siwulska et al., 2018).


Le *Pleurotus eryngii* est connu comme un champignon comestible et médicinal qui possède une variété de molécules nutritives et bioactives. En particulier, il contient des quantités élevées de fibres alimentaires et de vitamines (Manzi, P et al., 2004). *P. eryngii* a une forte capacité à absorber les minéraux pour les incorporer dans des composés organiques (Baeza, E et al., 2002). En outre, *P. eryngii* synthétise diverses biomolécules qui ont des effets pharmacologiques, comme la lovastatine (Lochmann, D. et al., 2019), la pleurerine (Wang, H. et al., 2001) et la ribonucléase (Ng, T.B. et al., 2004). Ces rapports indiquent que *P. eryngii* peut être un matériau utile à développer comme aliment fonctionnel et médicament.

L'objectif de ce travail de mémoire était d'évaluer l'activité antioxydante par différentes méthodes du champignon comestible sauvage de nord-est d'Algérie "*Pleurotus eryngii*". Afin d'atteindre notre objectif, notre travail a été divisé en deux grandes parties : partie bibliographique et partie expérimentale.

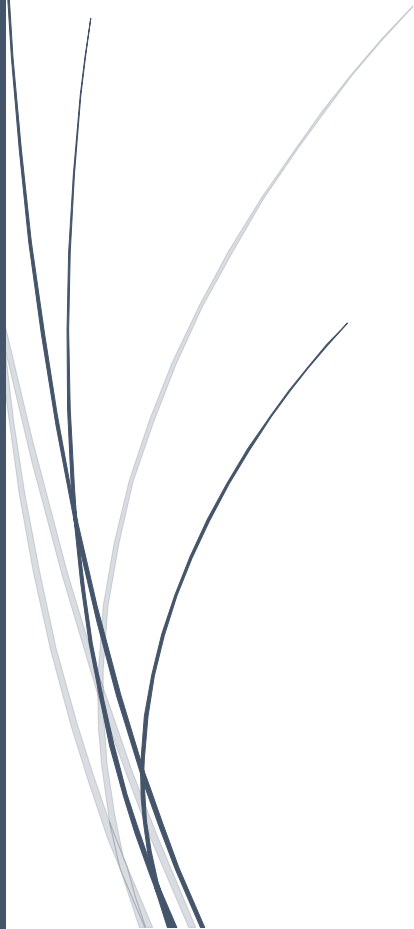
Dans la première partie, le premier chapitre présente une description de l'espèce étudiée, localisation et son mode de vie, composants chimique et intérêt thérapeutique. Le deuxième chapitre est consacré à l'étude bibliographique des métabolites secondaires et leur classification et le troisième chapitre est un aperçu sur le stress oxydatif et les antioxydants.

La deuxième partie est divisée en deux chapitres : dans le premier chapitre une approche méthodologique de la partie expérimentale a été présentée. Le deuxième chapitre regroupe tous les résultats obtenus dans cette étude et leurs interprétations.

Enfin, une conclusion générale qui englobe l'ensemble des résultats du notre travail.



Partie
Bibliographique



CHAPITRE 01 :

Etude bibliographique du champignon
Pleurotus eryngii

1. Généralité

Les Pleurotes (*pleurotus*) sont des champignons basidiomycètes saprophytes cellulolytiques, eucaryotes, thallophytes, non chlorophylliens, à corps généralement filamenteux (mycélium). Ce dernier est de couleur blanche et est septé. Il forme, en période de fructification, des sporophores ou carpophores appelés communément champignon (Maublanc, 1976 ; Monnier, 1997).

Les champignons *Pleurotus* sont des aliments à faible teneur en énergie, en matières grasses, en sodium et en cholestérol, tout en étant riches en protéines, en minéraux, en polysaccharides fonctionnels comme la chitine et les β -glucanes, et en vitamines hydrosolubles. En outre, ils contiennent des microconstituants bioactifs favorables à la santé comme l'ergostérol (provitamine D2), des acides phénoliques, l'acide aminé antioxydant ergothionéine et la lovastatine (Koutrotsios, G et al., 2018 ; Tsiantas, K. et al., 2021). Les espèces les plus courantes du genre *Pleurotus* sont : *P. ostreatus*, *P. djamor*, *P. citrinopileatus*, *P. eryngii*, *P. tuber-regium*, *P. pulmonarius*, *P. nebrodensis*, *P. cystidiosus*, *P. cornucopiae* et *P. sajor-caju* qui a récemment été classé dans les genres *Lentinus* (Gomes-Correa et al., 2016). Parmi ces espèces de *Pleurotus*, le *Pleurotus eryngii* (*P. eryngii*) est largement cultivé dans le monde entier et est considéré comme l'une des espèces les plus importantes sur le plan commercial dans le genre *Pleurotus* en raison de son excellent goût, de sa saveur et de sa longue durée de conservation (Valverde, M. E. et al., 2015).

2. Le champignon *Pleurotus eryngii*

Le *Pleurotus eryngii* est un champignon nutraceutique, connu sous le nom d'huître royale « King oyster mushroom » ou le pleurote de panicaut, est une espèce de champignon comestible du genre *Pleurotus* et de l'embranchement des Basidiomycota (Moore, R.T., 2013). L'un des champignons les plus préférés dans l'alimentation, largement cultivé commercialement et dont la demande mondiale est énorme, non seulement pour leurs propriétés culinaires et de sa valeur nutritionnelle élevée, mais aussi en raison de ses propriétés médicinales (Yu. E. J. et al., 2018 ; Dai, Y. et al., 2019).

Le *P. eryngii* est décrit comme une " espèce complexe " en raison des variations importantes de la morphologie, des isozymes et des caractéristiques génétiques entre les spécimens. Ces variations proviennent des différences géographiques et écologiques de leur

environnement (Stajić, M., et al., 2009). IL est composé de plusieurs variétés : var. *eryngii*, var. *ferulae*, var. *nebrodensis*, var. *elacoselini* et var. *thapsiae* (Dinesh, 2017).

Au cours de la dernière décennie, plusieurs études ont indiqué que *P. eryngii* pourrait avoir plusieurs fonctions biologiques (Sharma, A. et al., 2021), montrent que *Pleurotus eryngii* présente une variété d'activités biologiques, notamment antioxydantes, antihyperlipidémiques, antitumorales, immunorégulatrices et bactériostatiques (Zhang, B. et al., 2020 ; Zheng, H. et al., 2020 ; Xu, N. et al., 2017), antimicrobien (Adebayo et al., 2018), anti-inflammatoires, rénoprotecteurs, hypoglycémiques (Nie, Y. et al., 2019 ; Hu, Q. et al., 2019), anti-hypertensive (Khan & Tania, 2012).

3. Description

La description de *P. eryngii* selon Delmas (1989) et (Buyck, B. et Polese, J. M., 2014) est la suivante :

- **Chapeau** : 4 à 15 cm de diamètre, charnu, déprimé au centre, brun grisâtre à brun roussâtre pale ou plutôt foncé. Lisse, glabre ou avec quelques squames (Figure 1).
- **Lames** : Assez espacées, inégales, décurrentes, de couleur blanchâtre à crème, à arête brunissant avec l'âge, peu serrées. (Figure 01).
- **Stipe (Pied)** : 3-8 × 0,8-2 cm. Court et rigide, excentrique ou central, souvent courbé, de la même couleur que les lames (blanchâtre) (Figure 01).
- **Chair** : Tendre, blanche, douce, presque inodore.
- **Spores** : oblongues, 12-15 µm x 3-5 µm, avec pli aigu à la base, formant une sporée blanche.



Figure 01 : *pleurotus eryngii* (www.mycoleron.fr).

4. Taxonomie et classification

Le nom *Pleurotus* est d'origine grecque qui signifie emplacement latéral ou croissance de branche, la classification du Pleurote de panicaut selon **Singer (1986)**, **Delmas (1989)** et **Hibbett et al. (2014)** est la suivante :

Domaine : Eukarya
Règne : Fungi (Moore, R.T. 1980).
Sous-Règne : Dikarya (Hibbett, T.Y. James & Vilgalys, 2007).
Phylum : Basidiomycota (Moore, R.T. 1980).
Classe : Agaricomycètes
Sous-Classe : Agaricomycetidae
Ordre : Agaricales
Famille : Pleurotaceae (Kühner, 1980).
Genre : <i>Pleurotus</i> (Fr.) (P. Kumm., 1871).
Espèce : <i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quél., 1872

5. Répartition géographique et mode de vie

L'une des caractéristiques du *P. eryngii* sauvage est qu'il pousse en parasite de faiblesse sur les racines du chardon (genre *Eryngium*, famille des Apiacées) (figure 02), d'où son nom de *Pleurotus eryngii* (**Valverde, M. E. et al., 2015**), souvent, dans des sols calcaires, généralement des friches, des pâturages, des environnements rudéraux ou des prairies (**Pegler, 1999**).



Figure 02 : *Eryngium campestre* L. (Panicaut champêtre).

Son rôle parasitaire sur les racines ombellifères est facultatif car le champignon peut être cultivé et fructifier comme saprotrophe sur d'autres substrats lignocellulosiques. Comme tous les *Pleurotus*, le *P. eryngii* est un champignon de la pourriture blanche, étant donné sa capacité à dégrader la lignine, qui a été largement étudiée ces dernières années ; néanmoins, dans la nature, il n'y a pas de cas connus de fructification du champignon sauvage sur bois ou tout autre substrat autre que l'un de ses hôtes naturels (Galceran, 2013).

Pleurotus eryngii est très répandu en Asie centrale, en Afrique du Nord et en Europe du Sud. (Mau, J. et al., 1998). La distribution du *Pleurotus eryngii* se situe dans une large fourchette entre 30-50°N, du Maroc aux Pays-Bas, couvrant toute la Méditerranée à l'ouest, s'étendant à l'est par l'Asie jusqu'à la Chine et l'Inde (figure 03). (Hilber, O., 1982 ; Zervakis, G., Venturella, G. et al., 2001 ; Kawai, G., Babasaki, K. et al., 2008).



Figure 03 : Approximation de distribution du *Pleurotus eryngii* par pays, basée sur la bibliographie existante (Galceran, 2013).

Au niveau national, L'Algérie longe d'Est en Ouest la Méditerranée sur 1622 km. Sa position géographique et les conditions climatiques sont à l'origine de l'existence d'une diversité écosystémique importante. Pour la diversité fongique, malheureusement l'Algérie ne possède pas la liste officielle des espèces fongiques poussant dans son territoire, ni leurs appartenances taxonomiques, ni leurs intérêts culinaires et pharmacologiques, ni leurs dangers sur les populations mycophages, ni leurs localisations.

6. Composition chimique du *Pleurotus eryngii*

Pleurotus est l'une des espèces de champignons comestibles cultivées commercialement avec une grande demande mondiale (**Rathore, Prasad, & Sharma, 2017**) et ont été largement utilisées en raison de leur haute valeur nutritionnelle et de leurs propriétés médicinales. *Pleurotus eryngii* contient des niveaux élevés de polysaccharides, des glucides, des protéines, des cendres, et peu de lipides, les principaux acides gras sont l'acide palmitique, l'acide oléique, l'acide stéarique et l'acide linoléique. Et les principaux minéraux K, P, Mg, Ca, Fe et Zn (**Kalac, 2013 ; Cohen et al., 2014 ; Li, X. et al., 2015 ; Bach, F. et al., 2017**). Des composés phénoliques et flavonoïdes ayant des propriétés antioxydantes tels que l'acide p-coumarique, l'acide gentisique, l'acide chlorogénique, l'acide syringique, l'acide caféique quercétine, la rutine, le kaempférol, la catéchine, acide protocatéchuique, acide férulique, acide t-cinnamique, l'acide vanillique, l'acide gallique, la lutéoline, la naringénine, l'acide benzoïque, l'acide 4-hydroxybenzoïque, l'acide 2,5-dihydroxybenzoïque (**Li et Nagendra 2013, Gasecka et al. 2016**). Ils sont également une source importante de vitamines A, B1, B2, C, D et de niacine et leur appétence est due à leur saveur intense (**Tsai, S. Y., Huang, S. J. et al., 2009**).

Tableau 01 : Composition nutritionnelle dans 100 g de *P. eryngii* frais cultivés, (Galceran, 2013 ; Manzi, P. et al., 1999 ; Manzi, P. et al., 2004 ; Akyuz, M. et Kirbag, S., 2010a et 2010b).

Composé nutritionnelle	Pour 100 g de <i>P. eryngii</i> frais
Eau (g)	86.6 - 91.5 / 88%
Protéines totales (g)	1.88 - 2.2
N total (g)	0.43 - 0.45 ± 0.01
Lipides (g)	0.8 ± 0.0
Carbohydrates (g)	9.6 ± 0.1
→ Fibres diététiques totales (g)	4.64 ± 0.58
→ Fibres diététiques solubles (g)	0.53 ± 0.19
→ Fibres diététiques insolubles (g)	4.11 ± 0.38
→ Bêta-glucanes (g)	0.41 ± 0.05
→ Chitine(g)	0.5 ± 0.1
Cendres (g)	
→ Na (mg)	0.76 - 1.2
→ K (mg)	4.2 - 6.5 ± 0.02
→ Mg (mg)	257.3 - 346.5 ± 20.9
→ Ca (mg)	12.0 - 16.0 ± 0.8
→ Fe (µg)	2.8 - 3.0 ± 0.1
→ Zn (µg)	501.7 - 1270.4
→ Mn (µg)	37.3 - 85.6
→ Cu (µg)	14.8 - 31.3
→ P (mg)	10.5 - 30.0
	68.0
Vitamine B1	0.1 (mg)
Vitamine B2	0.45 (mg)
Vitamine B3	4.2 (mg)
Vitamine C	3.0 (mg)

Tableau 02 : Teneur en acides aminés libres des échantillons de *P. eryngii* frais et séché (à l'air naturel et à température ambiante) (Rui-Lin Yang, et al., 2020).

Acides aminés	Frais (mg/g)	Séché (mg/g)
Alanine	6.44±0.36	5.29±0.32
Arginine	1.48±0.26	0.51±0.06
Acide aspartique	3.30±0.25	1.52±0.12
Cystéine	0.85±0.13	0.24±0.03
Acide glutamique	8.25±0.54	5.78±0.33
Glycine	2.12±0.15	1.71±0.21
Histidine	2.47±0.35	1.33±0.07
Isoleucine	2.55±0.24	1.89±0.6
Leucine	4.32±0.20	3.79±0.22
Lysine	5.33±0.52	4.94±0.15
Méthionine	0.74±0.10	0.58±0.06
Phénylalanine	4.96±0.36	4.13±0.20
Proline	2.93±0.31	1.82±0.08
Serine	1.93±0.26	1.75±0.35
Thréonine	3.32±0.31	2.82±0.09
Tryptophane	4.35±0.41	2.90±0.31
Tyrosine	2.98±0.21	2.54±0.36
Valine	0.74±0.11	0.06±0.01

7. Intérêts thérapeutiques

Les industries pharmaceutiques utilisent les champignons pour produire de nouveaux médicaments car ils sont riches en métabolites secondaires qui peuvent être utilisés comme source de biothérapies. Les champignons sont riches en divers composés biologiquement actifs nutritifs et non nutritifs tels que les polysaccharides, y compris les β -glucanes, les

peptides, les protéines, les terpénoïdes, les esters d'acides gras, les acides organiques, les stérols, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Golak-Siwulska, I. et al., 2018).

Les polysaccharides extraits de *P. eryngii* présentent divers effets pharmacologiques, tels que l'activité antitumorale, l'effet antioxydant, bifidogène et hépatoprotecteur (Wu et Chen, 2017), sont des immunomodulateurs (Rathore, Prasad, & Sharma, 2017), des inhibiteurs des cellules de mélanome murin (Biscaia et al., 2017), actifs pour soulager l'hyperlipidémie, pour prévenir le stress oxydatif et pour remédier aux lésions des tissus hépatiques et cardiaques (Ren et al., 2017).

Le PERP (*P. eryngii* Enzymatic Residue Polysaccharide) provenant des résidus de *P. eryngii* a montré des effets protecteurs potentiels sur le cerveau, le foie, les reins et la peau de souris vieillissantes induites par le D-galactose *in vitro* et des activités enzymatiques *in vivo*, de la peroxydation lipidique, des analyses et des observations histopathologiques (Zhang, C. et al., 2021).

L'activité antidépressive a été mesurée par des tests *in vitro* et *in vivo*, et l'activité était similaire à celle de la fluoxétine disponible dans le commerce, également connue sous le nom de Prozac. Notamment, l'extrait brut de *P. eryngii* a montré une fonction antidépressive élevée dans les tests *in vitro* et les tests sur les animaux. Ce résultat signifie que *P. eryngii* synthétise la tryptamine et ses dérivés, et qu'il est possible d'utiliser l'extrait lui-même pour soulager la dépression, évitant ainsi la toxicité de la tryptamine rencontrée lors de l'utilisation de sa forme purifiée. Il peut être possible de co-administrer des médicaments antidépresseurs pour augmenter l'activité de ces derniers (Park, Y.-S. et al., 2021).

La protéine de *P. eryngii*, PEP 1b, s'est avérée capable d'induire l'activation et la polarisation M1 des macrophages. Cette dernière est une étape essentielle de l'activation du système immunitaire chez les animaux, elle stimule la production d'oxyde nitrique (NO), d'IL-1 β , d'IL-6 et de TNF- α et régule la NO synthase inductible, favorise la translocation du NF- κ B du cytosol vers le noyau permettant l'induction de l'expression des gènes cibles et la production de NO (Qihui Hu, Hengjun Du et al., 2018). Récemment, Yan, J., Zhu, L., et al. (2019) ont rapporté les effets du mannogalactane sur les macrophages RAW264.7 et ont observé qu'il augmentait la phagocytose et la sécrétion de NO, TNF- α , IL-6 et IL-1 β . Les études mécanistes ont démontré qu'il activait les macrophages par les voies de signalisation MAPKs et NF- κ B via le récepteur TLR2.

L'extrait riche en polyphénols de *Pleurotus eryngii* (PPEP) possède des activités anti-inflammatoires pour inhiber la production de médiateurs inflammatoires, de NO et de ROS,

au moins via la suppression de la voie de signalisation NF- κ B dans les macrophages RAW264.7 induits par le LPS. Et activités anti-cancer du côlon par inhiber la croissance des cellules cancéreuses du côlon HCT116 en induisant l'apoptose cellulaire et l'arrêt du cycle cellulaire (**Qihui Hu ; Biao Yuan, et al., 2018**).

D'après une recherche très récente, le champignon *P. eryngii* peut activer le facteur Nrf2 (*Nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) qui est un facteur de transcription qui a un rôle de protecteur contre le stress oxydant en induisant des gènes antioxydants (**Teniou, S. et al., 2022**).

CHAPITRE 02 :

Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont naturellement biosynthétisés par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal. Ils possèdent des propriétés thérapeutiques qui sont utilisées en médecine humaine, ils peuvent être utilisés comme des matières premières pour les industries chimiques, etc. (**Guillaume & Charrouf, 2005 ; Hopkins, 2003**). Ils sont classés en plusieurs grands groupes, parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et les composés azotés dont les plus abondants sont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (**Krief, 2003**).

I. Composés phénoliques

1. Définition

Le terme « polyphénol » désigne l'ensemble des composés phénoliques des végétaux, qui concernent à la fois les mono-, di-, et polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (**Macheix et al., 2005**).

Les polyphénols sont des micronutriments abondants dans notre régime alimentaire et sont des constituants dans plusieurs fruits, légumes secs et boissons comme le thé. Ils sont essentiels à la physiologie des plantes, car ils sont impliqués dans diverses fonctions importantes (croissance, structure, défense, pigmentation, lignifications, etc.). Ces molécules sont classées dans plusieurs groupes en fonction du nombre d'anneaux phénoliques : les acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes et lignane, etc. (**Valavanidis & Vlachogianni, 2013 ; Yoon et al., 2013**).

2. Biosynthèse

La majorité des polyphénols est synthétisée par la voie phénylpropanoïdes, qui est responsable de la biosynthèse d'un grand nombre de composés chimiques avec une diversité structurelle considérable (**Valavanidis & Vlachogianni, 2013**).

Tout d'abord la biosynthèse se fait par deux voies principales qui sont : la voie de l'acide shikimique (la cyclogénèse) et la voie de l'acide malonique (acétate).

Noter bien qu'il y a des substances synthétisées par la voie shikimique, d'autres par la voie malonique, comme il y'a des substances d'origine mixte entre la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate.

A. Voie de l'acide shikimique

Cette voie commence d'abord par la condensation de l'acide phospho-énol-pyruvique (PEP) avec l'érythrose-4-phosphate pour former après plusieurs étapes l'acide chorismique. Ce dernier est considéré comme un précurseur pour les acides aminés aromatiques tels que :

- La phénylalanine qui est le substrat de la première enzyme de la voie des phénylpropanoïdes.
- La tyrosine qui est la base de la synthèse de certains alcaloïdes.

Le tryptophane qui est le précurseur de nombreux composés (auxines, alcaloïdes indoliques, camalexines...).

La phénylalanine sous l'action de la Phénylalanine Ammonia-Lyase (PAL) va former le premier phénylpropane qui est l'acide t-cinnamique. Deux étapes enzymatiques supplémentaires, catalysées par la Cinnamate 4-Hydroxylase (C4H) et la 4-coumarate CoA Ligase (4CL), permettent la biosynthèse du p-coumaroyl CoA, un composé central à partir duquel vont être synthétisées différentes familles de composés phénoliques (**Amelot, 2010 ; Macheix et al., 2005**).

B. Voie de l'acide malonique

C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques obtenues par condensation de groupements acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA sous l'action de l'acétyl-CoA carboxylase (**Akroum, 2011**).

3. Classes des polyphénols

3.1. Acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3 ; non flavonoïde)

Ils sont incolores et rares dans la nature. Deux classes d'acides phénoliques (figure 04) peuvent être distinguées : celles qui dérivent de l'acide benzoïque qui se trouvent sous forme

libres que combinées, à l'état d'esters ou d'hétérosides et celles dérivant de l'acide cinnamique qui sont souvent estérifiées (Akroum, 2011 ; Yoon et al., 2013).

Les fruits rouges, les radis noirs, les oignons et le thé sont des sources importantes d'acide hydroxy-benzoïque, et peuvent avoir des concentrations de plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de poids frais. Les myrtilles, les kiwis, les prunes, les cerises et les pommes contiennent 0,5 à 2 g / kg de poids frais (Manach et al., 2004).

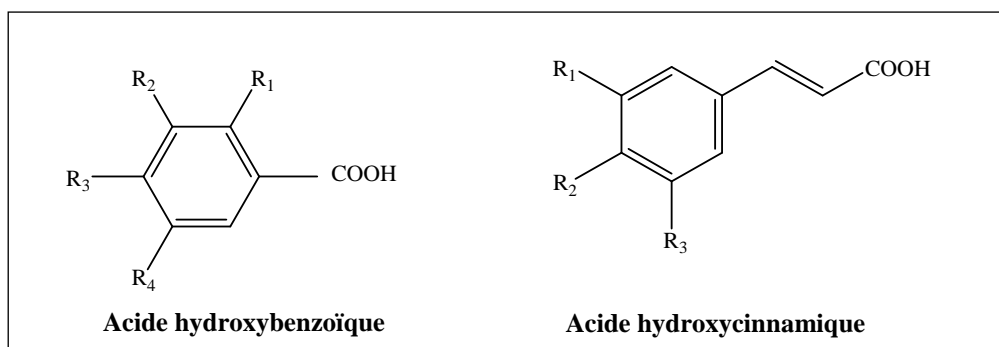


Figure 04 : structures de base des acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3) (Macheix et al., 2005).

3.2. Les flavonoïdes

3.2.1. Définition

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme les pigments quasiment universels des végétaux (Bruneton, 1999). La coloration leur permet d'attirer les insectes afin que ceux-ci se chargent de pollen. Ainsi, la reproduction de la plante sera assurée. Chez l'homme les propriétés des flavonoïdes assurent plusieurs activités biologiques, notamment : l'activité anti-oxydante, antivirale, anti-inflammatoire et anticancéreuse (Causse, 2004). Ils sont aussi capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires (Ghedira, 2005).

Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants dans notre alimentation et plus de 4000 composés ont pu être identifiés (D'Archivio et al., 2007). Ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits. Ils présentent une structure commune en C6-C3-C6. Deux cycles aromatiques (A et B) sont liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C) (figure 05) (Macheix et al., 2006). La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (Crozier et al., 2009).

De façon générale, on estime que seules les plantes possèdent la capacité de synthétiser ou de produire des flavonoïdes, alors que les animaux et les champignons n'en contiennent pas (**Ferreira et al., 2009**). Cependant, selon une étude Coréenne de 2008 et une autre réalisée en 2015 à l'université de Belgrade (Serbie) montrent la présence effective de certains flavonoïdes comme : la catéchine, la chryisine, l'hesperetine, la myricétine, et la naringénine dans plusieurs champignons (**Kim et al., 2008 ; Kozarski et al., 2015a**). La même année aussi, l'analyse de l'extrait méthanolique de *Cantharellus cibarius* a montré que les acides phénoliques étaient ses principaux composants antioxydants mais ils étaient suivis par les flavonoïdes (**Kozarski et al., 2015a**).

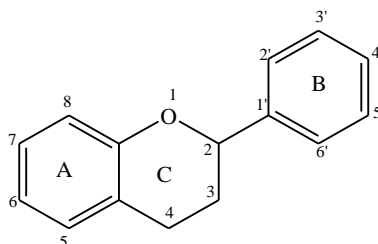


Figure 05 : Squelette de base des flavonoïdes (**Girotti-Chanu, 2006**).

3.2.2. Les différentes classes de flavonoïdes :

Plusieurs classes de flavonoïdes ont été proposées selon le chemin biosynthétique (**Bruneton, 1999**). Ils peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone (**Ghedira, 2005**).

Les six sous-classes communes de flavonoïdes sont les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, les anthocyanidines et les flavanols (**Manach et al., 2004 ; Farkas et al., 2004 ; Perez-Vizcaino & Duarte, 2010**).

3.2.2.1. Flavonols

Les flavonols (figure 06) sont des Co-pigments importants dans la couleur des fleurs et sont également essentiels à la croissance du tube pollinique. Le FLS catalyse la transformation de dihydroflavonol (ou flavanonol) en flavonol. Pour catalyser cette réaction le FLS nécessite le 2-oxoglutarate, l'ascorbate et les ions Fe^{2+} comme cofacteur (**Holton et al., 1993**).

3.2.2.2.Flavones

Les flavones (figure 06) sont synthétisées à partir des flavanones, à savoir l'introduction d'une double liaison entre C2 et C3 par abstraction de deux atomes d'hydrogène. Cette réaction est catalysée par les FNS II/ I, qui appartiennent à la superfamille des protéines du cytochrome P450 végétal, exactement à la sous-famille CYP93B (Martens & Mithöfer, 2005).

3.2.2.3.Isoflavones

Les isoflavones (figure 06) diffèrent des flavones par la position du cycle benzyle B qui est lié à la position 3 au lieu de la position 2 (Wang, H. & Murphy, 2002).

Les principales isoflavones qui existent sont la génistéine, la daïdzéine et la glycitéine. D'autre part, les isoflavones de l'alimentation existent sous quatre formes chimiques différentes : les aglycones, les glucosides, les acétylglucosides, les malonylglucosides (Vergne, 2007).

3.2.2.4.Flavanones

Les flavanones (figure 06) sont les premiers produits de la voie de synthèse des flavonoïdes. Elles sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2. La structure des flavanones est très réactive et donne lieu à des réactions d'hydroxylations, d'O-méthylations et de glycosylations (Chira et al., 2008).

3.2.2.5.Anthocyanidine

Les anthocyanidines (figure 06) comme tous les flavonoïdes ont deux cycles A et B, et un hétérocycle C ; mais leur caractéristique principale est que ce dernier est chargé positivement (Akroum, 2011). Ils sont synthétisés à partir des flavanonol. Ils sont responsables des couleurs rouges, bleues et violettes en fonction du pH du milieu. Ils sont largement présents dans le règne végétal, principalement sous formes de glycosides, Les anthocyanidines les plus courantes sont la pelargonidine, la cyanidine, la delphinidine, la péonidine et la malvidine, mais ces composés ne sont présents que sous forme de conjugués glycosylés, en appelant les anthocyanines (les hétérosides d'anthocyanidines) (Chira et al., 2008).

3.2.2.6. Flavan-3-ol (Flavanol)

Les flavan-3-ols (figure 06) possèdent deux atomes asymétriques en C2 et C3, à cause de ça il existe quatre stéréo-isomères : (+)-catéchine, (+)-épicatéchine, (-)-catéchine, (-)-épicatéchine. Le Premier et le quatrième sont les formes les plus répandues (**Chelghoum, 2015**).

3.2.2.7. Chalcone

Chalcone (figure 06) est dérivée du mot grec « chalcos », qui signifie « bronze », c'est la couleur de la plupart des chalcones naturelles (**Zhuang et al., 2017**). C'est une énone, constituée de deux cycles aromatiques (A et B) attachés par un système carbonyle α , β -insaturés. Elle est considérée comme un précurseur clé des flavonoïdes (**Raut et al., 2016**).

La chalcone est naturellement synthétisée par un grand nombre de plantes suivant la voie métabolique des phénylpropanoïdes. La phénylalanine est d'abord transformée en acide cinnamique, lui-même transformé en acide paracoumarique. Ce dernier réagit avec le coenzyme A pour former le 4-coumaroyl-CoA. La condensation du 4-coumaroyl-CoA avec trois molécules de malonylcoenzyme A, forme un second groupe phényle, c'est la formation du chalcone (**Dridi, 2015**). La chalcone peut ensuite être transformée par cyclisation interne en flavonoïde.

3.2.2.8. Aurones

Les aurones (du latin Aurum = or), ou benzalcoumaranones, sont des échafaudages qui confèrent la couleur dorée à certaines fleurs ornementales telles que les tournesols (**Alsayari et al., 2019**). Elles sont des flavonoïdes tricycliques comprenant un noyau benzofuranone et un groupe phényle liés par une double liaison carbone-carbone exocyclique (figure 06) (**Boucherle et al., 2017**).

3.2.2.9. Flavanonol (dihydroflavonol)

Le FHT catalyse la transformation du flavanone en flavanonol, ce dernier, est un intermédiaire important, dans la biosynthèse du flavonol et de l'anthocyanine (figure 06) (**Hinderer & Seitz, 1988**).

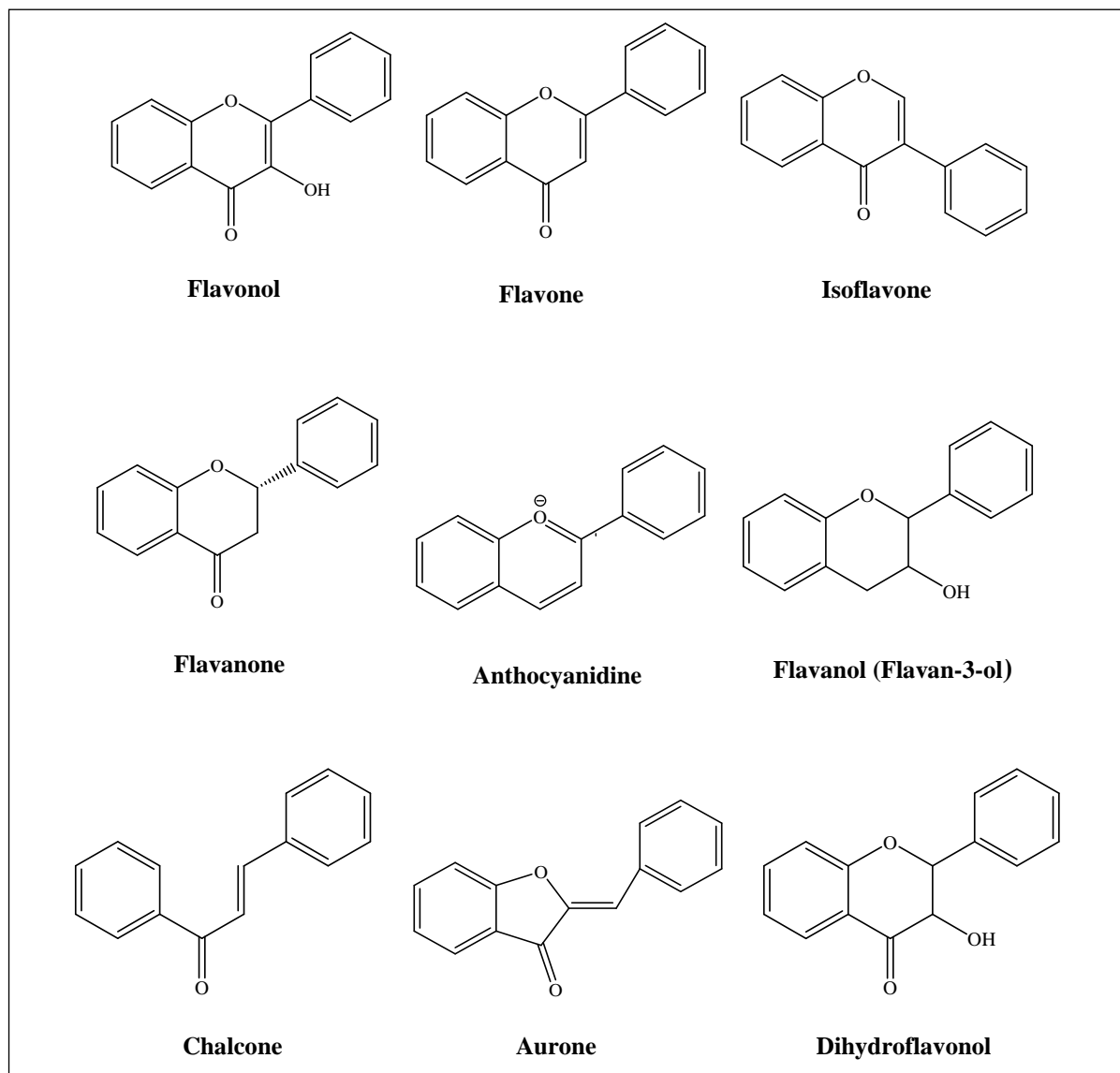


Figure 06 : Structures des principales classes des flavonoïdes.

3.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques d'origine végétale, largement répandus dans l'alimentation humaine (fruits, légumes, thé, dattes, ...) (**Hemingway, 1989 ; Muanda, 2010**). Ils sont très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones (**Konig et al, 1994**). Ils ont la propriété de se lier à des macromolécules et la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Atkinson et Hazleton, 1922 ; Haslam, 1996 ; Cowan, 1999**). En contact avec la salive, les tanins provoquent une sensation désagréable pour la bouche en développant un goût âpre et dissuasif (le goût astringent). Ce qui fait qu'ils sont considérés comme un moyen de défense vis-à-vis des

prédateurs (Foley et al., 1999). Les tannins ont plusieurs activités biologiques. Des études ont montré que des nombreux tannins présentent des propriétés antioxydants. Ces composés présentent une grande capacité de piégeage des radicaux libres et aussi dans l'inactivation des ions pro-oxydants (Bruneton,1999). D'autres tannins présentent une activité antiseptique importante. En effet, ils présentent des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales assez spectaculaires (Chung et al, 1998).

Ils sont divisés essentiellement en deux groupes, qui sont : les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (polymères de flavan-3-ols) et les tanins hydrolysables (esters des acides galliques et ellagique), (figures 7 et 8) (Hemingway, 1989 ; Zucker, 1983).

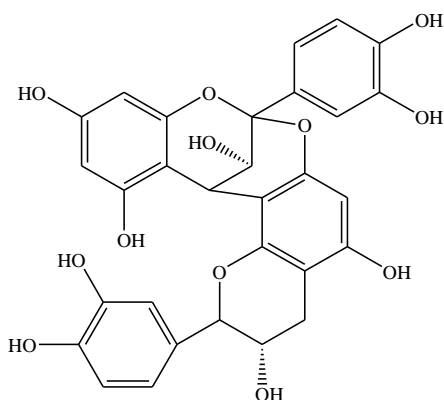


Figure 07 : Proanthocyanidine de type A (liaison C4→C8 et C2→O→C7) (Rira, 2019).

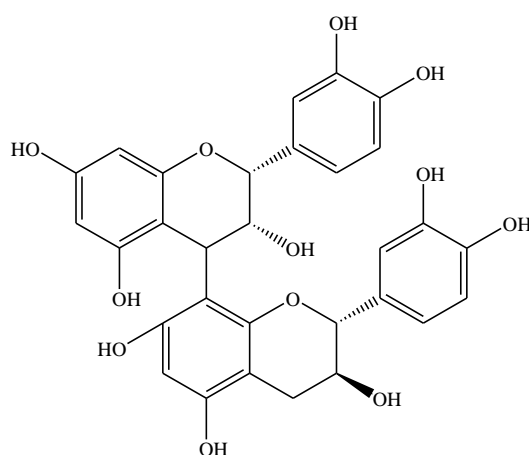


Figure 08 : Procyanidine (B-1) : épicatechine - (4→8) - catéchine (liaison de type B) (Malik, 2009).

3.4. Les coumarines

Le terme coumarine désigne la classe des composés phénoliques dérivés de la molécule, le 2H-1-benzopyran-2-one, ce composé dériverait de la cyclisation de l'acide cinnamique (**Wolf, S. J. et al, 1984**). La structure des coumarines est composée d'un groupe phényle fusionné avec un cycle pyrone carbonylé en position numéro deux (figure 09) (**Cao, D. et al., 2019**).

Les coumarines constituent un groupe de lactones, issues de la lactonisation de l'acide hydroxycinnamique (**Hopkins, 2003**). Ils existent souvent sous la forme d'un complexe inodore conjugué aux sucres et aux acides (**Egan et al., 1990**). Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin lorsqu'elles trouvent à l'état libre (**Cowan, 1999**).

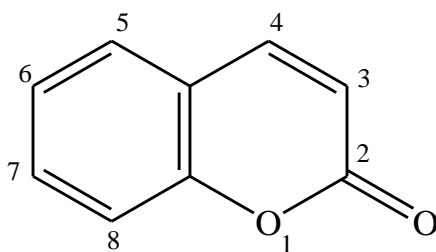


Figure 09 : Structure de base des Coumarines.

D'après la nature des substituants, plusieurs auteurs ont classé les coumarines en deux grands groupes : Coumarines simples et complexes. Le second groupe renferme un noyau furanne ou pyranne associé au noyau benzo α pyrone (**Floc'h et al., 2002 ; Smyth et al., 2009**).

3.4.1. Les coumarines simples

Les coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal et possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7 (**Harkati, 2011**). Elles peuvent être des dérivés hydroxylés, méthoxylés, alkylés, alcoxylés et glycosylés de la molécule mère. (**Lake, 1999**).

3.4.2. Coumarines complexes

On distingue deux grands groupes :

- **Les furocoumarines** ou (furanocoumarines) qui constituent une classe de molécules diversifiées chimiquement. Il existe deux types de furanocoumarines en fonction de la position du noyau furane sur l'hétérocycle coumarine. Les furanocoumarines linéaires

qui comprennent le psoralène et ses dérivés. Les furanocoumarines angulaires, comprennent l'angélicine et ses dérivés.

- **Les pyranocoumarines** sont des composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyranne avec la coumarine, soit dans le prolongement (forme linéaire) comme le xanthylétine ou latéralement (forme angulaire) comme la séséline et la visnadine (**Harkati, 2011**).

3.5. Stilbénoides

Les stilbénoides regroupent les composés qui possèdent deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane de deux carbones. Il y'a trois classes de stilbénoides : les stilbènes, les bibenzyls et les phénanthrènes (**Sahli, 2017**).

3.5.1. Les stilbènes

La structure de base des stilbènes (C₆-C₂-C₆) donne naissance à un grand nombre de composés qui vont différer par le nombre et les positions des fonctions hydroxyles sur les cycles phénoliques, la conjugaison avec des sucres et des groupements fonctionnels divers (méthyles, méthoxyles, etc.). Les stilbènes sont présents dans diverses sources alimentaires comme les raisins, les fruits rouges, les cacahouètes ou les rhubarbes (**Richard et al., 2014**).

Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux (**Crozier et al, 2006**). Ces composés existent sous deux formes (figure 10), la forme Cis (obtenue sous action de la chaleur) et la forme Trans (forme stable et bioactive) (**Mérillon et al, 1997**).

Cette molécule est principalement citée pour leurs bénéfiques sur la santé. Le resvératrol a fait l'objet de nombreuses études biomédicales notamment sur le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Ferrer, 2005**).

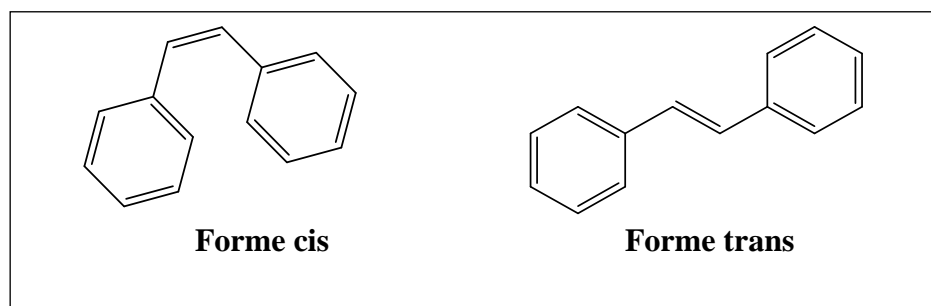


Figure 10 : Structure générale des stilbènes (**Bisson, 2012**).

3.5.2. Bibenzyls

Les bibenzyls (figure 11), rares chez les végétaux, sont caractéristiques des Hépatiques ou marchantiophytes (*Marchantia*, *Plagiochila*, etc.) (**Bruneton, J. 2009**).

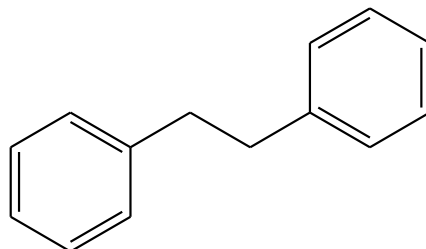


Figure 11 : Structure d'un bibenzyl.

3.5.3. Phénanthrènes

Les phénanthrènes sont formés par trois cycles benzéniques (Figure 12). Ils existent sous forme, monomérique, dimérique et trimérique. Ils se trouvent principalement dans la famille des Orchidaceae (dans les espèces *Dendrobium*, *Bulbophyllum*, *Eria*, etc.), quelques phénanthrènes ont été trouvés dans le genre *Hépatica*, et dans les familles : *Dioscoreaceae* et *Combretaceae*, etc. (**Kovács, A., et al., 2008**).

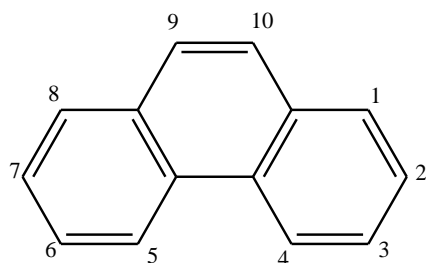


Figure 12 : Structure d'un phénanthrène.

3.6. Les anthocyanes (anthocyanosides ou anthocyanines)

Les anthocyanines sont des flavonoïdes porteurs d'une charge sur l'oxygène de l'hétérocycles C. La structure de base des anthocyanines (figure 13) est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3 (**Ribereau G P, 1968**). Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule.

Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (**Harbone J B, 1967 ; Brouillard R, 1986**). Elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau (**Harbone J B et al., 1988**).

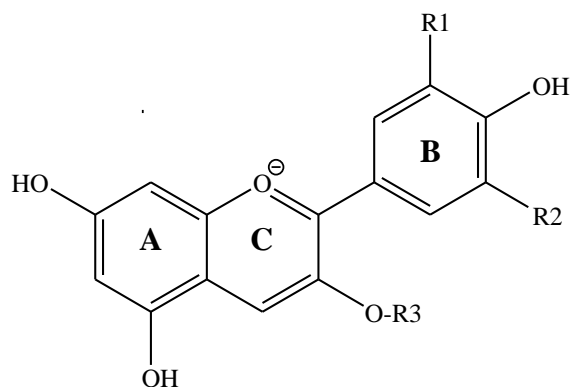


Figure 13 : structure de base des anthocyanes.

3.7. Lignanes (C6-C3)₂

Ce sont des composés phénoliques bioactifs, non-nutritifs, non caloriques, on les trouve en plus forte concentration dans le lin et les graines de sésame et en faibles concentrations dans les fruits et les légumes (**Peterson et al, 2010**). Les lignanes sont formés par la dimérisation oxydative de deux unités de phénylpropane (figure 14). Les lignanes sont métabolisés par la flore colique libérant de l'entérodiol et de l'entérolactone ; ils sont ainsi considérés comme des phytoestrogènes (**Thompson et al., 1991 ; Adlercreutz et al., 1997**).

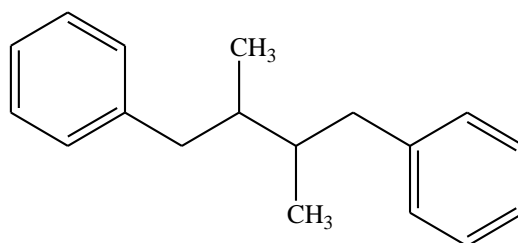


Figure 14 : structure des lignanes

3.8. Les saponosides

Les saponosides (figure 15) constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives. La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques. Les saponosides peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine : saponosides à génine stéroïdiques et saponosides à génine triterpéniques (**Bruneton, 1999**).

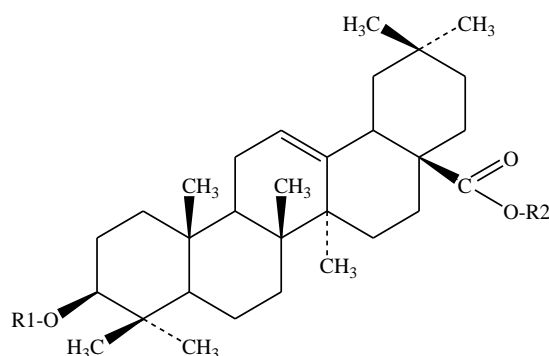


Figure 15 : structure de base des saponosides.

3.9. Les Quinones

Les quinones sont des noyaux aromatiques avec deux substitutions cétones (figure 16). Ces composés, étant colorés, sont responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et les végétaux coupés ou lésés. En plus de fournir une source de radicaux libres stables, les quinones sont connus pour se complexer de manière irréversible avec les nucléophiles des acides aminés dans les protéines (**Arif et al., 2009**).

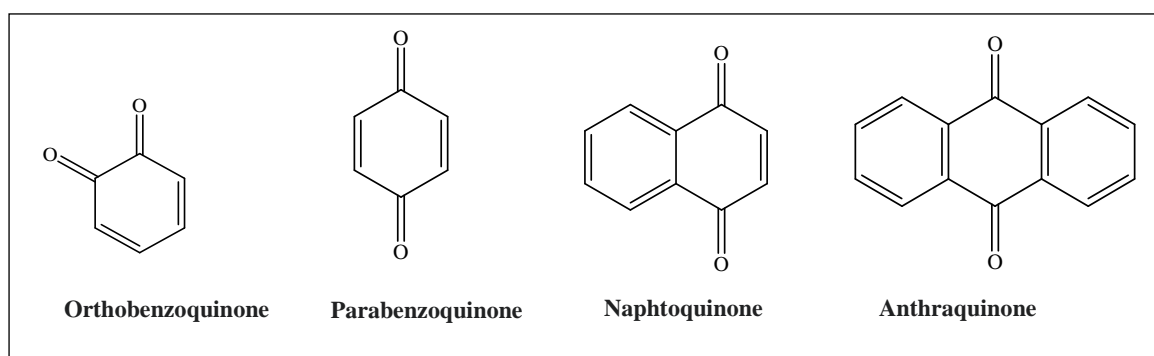


Figure 16 : structures des principales quinones.

II. Les alcaloïdes

1. Définition

Au début du 19^{ème} siècle, W. Meisner a introduit le terme alcaloïde pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, rappelant les alcalins. Ce terme tire son origine de l'arabe al kaly, et du grec eidos signifiant respectivement soude et aspect (**Bruneton, 2009**).

Les alcaloïdes sont définis comme un groupe de composés organiques naturels provenant essentiellement des plantes, de distribution restreinte, contenant un ou plusieurs atomes d'azote dans leur structure chimique avec un caractère basique de degré plus ou moins fort et forment du sel avec des acides (**Hesse, 2002 ; Bribi, 2018**). Et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga, 2011**). Il possède une activité pharmacologique à faible dose cependant à forte dose sont des composés toxiques (**Bruneton, 2015**).

2. Biosynthèse des alcaloïdes

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, principalement dérivés d'acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine, le tryptophane (**Harborne et Herbert, 1995 ; Dewick, 2001 ; Bhat et al., 2005**) et la phénylalanine (**Ziegler et Facchini, 2008**). Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (**Nacoulma, 2012**).

3. Classification des alcaloïdes

La classification des alcaloïdes est basée sur plusieurs critères, à savoir l'origine biologique, la voie de biosynthèse, la structure moléculaire, la taxonomie, la nature chimique ou les propriétés spectroscopiques (**Hesse, 2002 ; Bribi, 2018**).

3.1. Selon l'origine biosynthétique et la position de l'azote

On distingue trois classes d'alcaloïdes (**Dehak K., 2013 ; Beddou F., 2015**) :

3.1.1. Alcaloïdes vrais

Sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé et comporte un atome d'azote dans un système hétérocyclique (figure 17) (**Bruneton, 1999**). Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (**Badiaga, 2011**).

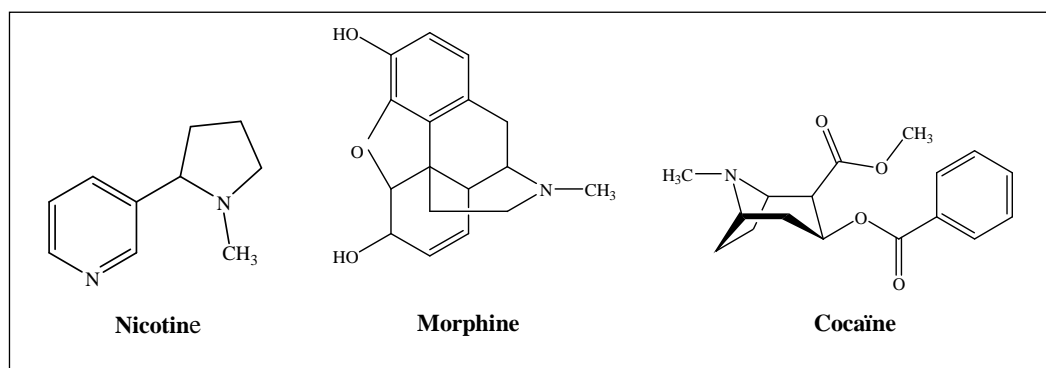


Figure 17 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes vrais.

3.1.2. Pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes (figure 18) représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés (**Bruneton, 1999**). Ils sont dérivés des précurseurs ou des postcurseurs des acides aminés. Ils peuvent aussi résulter de l'amination et réactions de transamination des différentes voies reliées à précurseurs ou postcurseurs d'acides aminés (**Dewick, 2002**).

Ces alcaloïdes peuvent également être dérivés de précurseurs non aminoacides des dérivés du métabolisme d'acétate et de phénylalanine ou des terpénoïdes, ainsi que des alcaloïdes stéroïdiens (**Dewick, 2002 ; Tadeusz, 2007 ; Bruneton, 2009**).

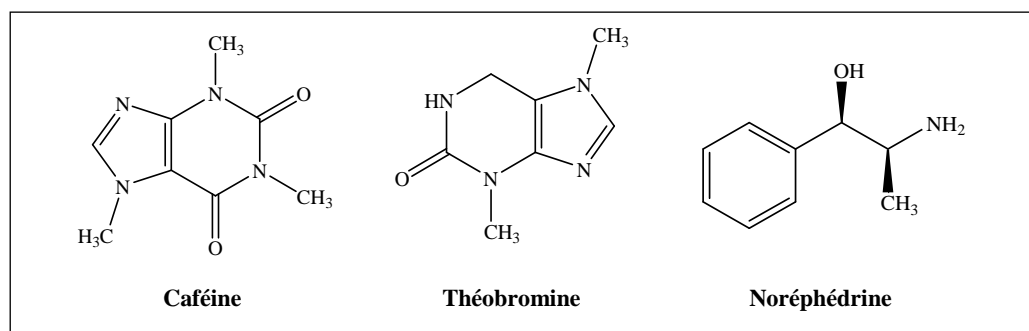


Figure 18 : Structures chimiques de quelques pseudo-alcaloïdes.

3.1.3. Proto-alcaloïdes

Ils sont souvent appelés « amines biologiques ». Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, il est extra-cycle (figure 19), ils ont un caractère basique et sont élaborés à partir d'acide aminé et sont soluble dans l'eau (**Bruneton, 2009 ; Badiaga, 2011**).

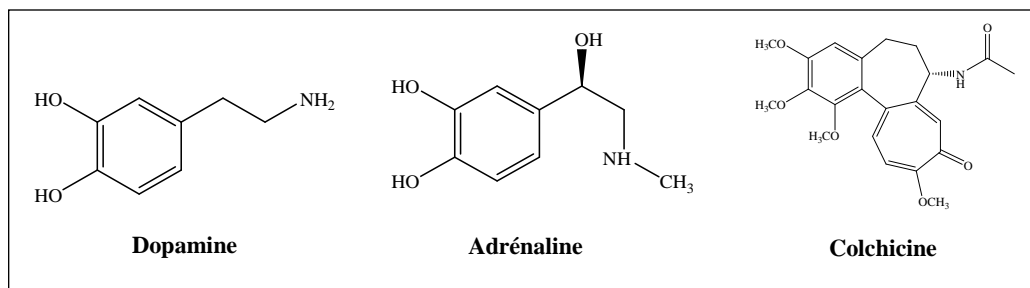


Figure 19 : Structures chimiques de quelques proto-alcaloïdes.

3.2. Selon la structure moléculaire et leurs compositions chimiques

On distingue cinq grandes classes, dont chacune est divisée en plusieurs sous familles (**Hesse, 2002**) :

- Les alcaloïdes hétérocycliques.
- Les alcaloïdes portant un atome d'azote exocyclique.
- Les alcaloïdes de type putrescine, spermidine et spermine.
- Les alcaloïdes peptidiques.
- Les alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens.

La classe des alcaloïdes hétérocycliques représente la grande majorité des alcaloïdes. Celle-ci est divisée en plusieurs familles suivant le motif hétérocyclique qui la compose (pyrrolidine, indole, pipéridine, tropane, quinoléines, imidazole, isoquinoline, etc.) et elle est divisée de nouveau suivant leur origine végétale ou animale (**Hesse, 2002**).

III. Les terpénoïdes

1. Définition

Les terpènes, ou les isoprénoïdes sont des métabolites secondaires volatiles dérivent d'un précurseur isoprénique à cinq carbonés (figure 20) (Sell, 2010). Ils constituent la famille de produits naturels la plus vaste et la plus diversifiée sur le plan structurel et fonctionnel (Bohlmann & Keeling, 2008). Ces composés sont majoritairement d'origine végétale. Ils sont synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même par les animaux (Benaissa O., 2011).

Ils sont des hydrocarbures naturels généralement lipophiles de structure cyclique ou non, résultant de la combinaison de plusieurs unités d'isoprènes, la formule brute des terpènes est $(C_5H_8)_n$ dont le n est le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (Hopkins, 2003 ; Paduch et al., 2007 ; Nait Achour, 2012). Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire (acyclique) ou bien former des cycles (Koné, 2018).

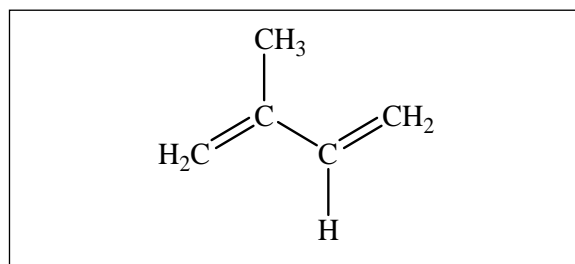


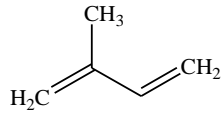
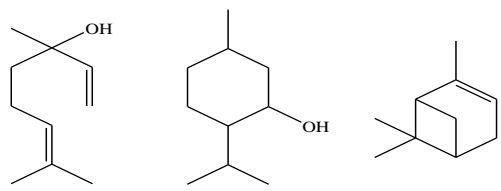
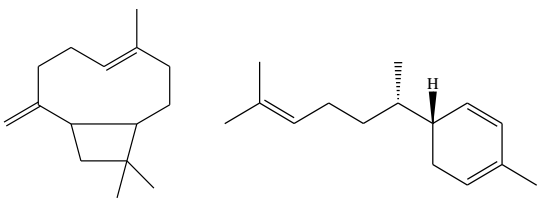
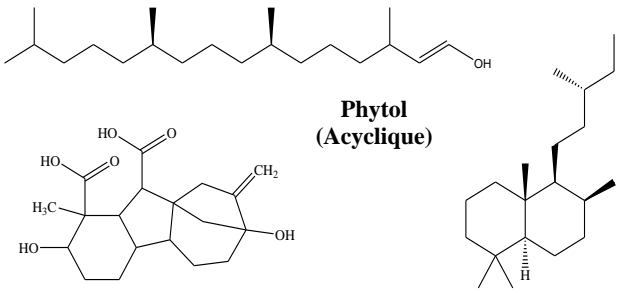
Figure 20 : Structure de la molécule d'isoprène (Mebarki, 2010).

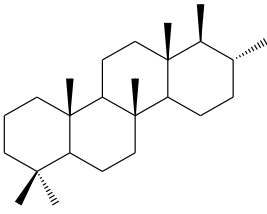
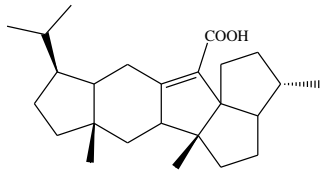
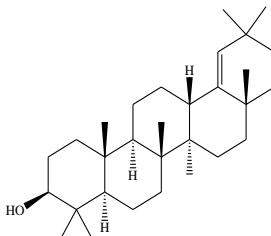
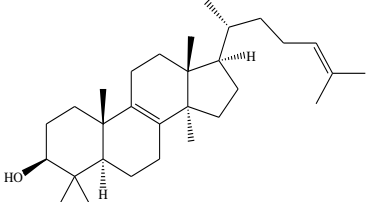
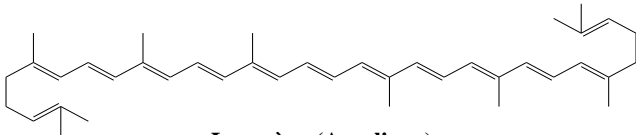
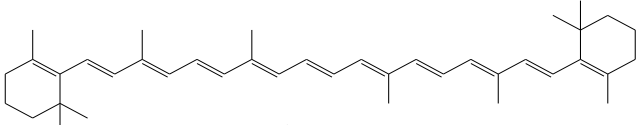
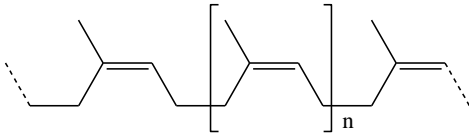
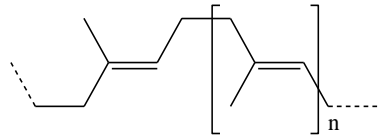
2. Classification des terpènes

La classification des terpénoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène, ce qui donne des : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes comme indiqué sur le tableau (03) (Singh, 2007).

Les terpénoïdes peuvent également être classés selon le nombre de structures cycliques qu'ils contiennent (cyclique, monocyclique, bicyclique) et l'arrangement des cycles (Benabdelkader, 2012).

Tableau 03 : Différentes classes des terpènes selon le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène.

Classe	Nombre d'isoprène	Formule brute	Exemple
Hémiterpènes	1	C_5H_8	 <p>Isoprène (acyclique)</p>
Monoterpènes	2	$C_{10}H_{16}$	 <p>Linalol (Acyclique) Menthol (Monocyclique) α-pinène (bicyclique)</p>
Sesquiterpènes	3	$C_{15}H_{24}$	 <p>β-Caryophyllene (bicyclique) Zingiberene (monocyclique)</p>
Diterpènes	4	$C_{20}H_{32}$	 <p>Phytol (Acyclique)</p> <p>Gibbérelline (Tétracyclique) Labdanes (Bicyclique)</p>

<p>Sesterpènes</p>	<p>5</p>	<p>$C_{25}H_{40}$</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Scalarane (Tétracyclique)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Retigerane (Pentacyclique)</p> </div> </div>
<p>Triterpènes</p>	<p>6</p>	<p>$C_{30}H_{48}$</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Germanicol (Pentacyclique)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Lanosterol (Tétracyclique)</p> </div> </div>
<p>Tétraterpènes</p>	<p>8</p>	<p>$C_{40}H_{64}$</p>	<div style="display: flex; justify-content: center; align-items: center;"> <div style="text-align: center; margin-bottom: 20px;">  <p>Lycopène (Acyclique)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>β-carotène (Cyclique)</p> </div> </div>
<p>Polyterpènes</p>	<p>> 8</p>	<p>$(C_5H_8)_n$</p>	<div style="display: flex; justify-content: center; align-items: center;"> <div style="text-align: center; margin-bottom: 20px;">  <p>Caoutchouc (Cis-1,4-polyisoprène)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Gutta-percha (Trans-1,4-polyisoprène)</p> </div> </div>

CHAPITRE 03 :

Stress oxydatif, Antioxydants

Stress oxydatif, antioxydants

En condition physiologique, l'oxygène, élément indispensable à la vie, produit en permanence au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées activées (EOA) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire. Ces EOA, dont font partie les radicaux libres, sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose...) (**Pincemail, 2004**). Lorsque les radicaux libres sont produits en faible quantité, ils ont un effet bénéfique pour les cellules. En effet, ils sont des médiateurs de réactions énergétiques ou de défense au niveau cellulaire. Cependant, lorsqu'ils sont surproduits, celles-ci deviennent incapables de réguler le stress oxydatif induit et vont induire des dommages cellulaires conséquents (**Harrison, Griendling, 2003, Hazout, Menezo et al., 2008**). Pour se protéger contre l'effet toxique de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production des EOA. Ces systèmes sont composés d'antioxydants (le groupe des vitamines A, C et E), d'oligo-éléments, des polyphénols et de protéines qui empêcheront le fer de déclencher une production d'EOA.

Dans les systèmes biologiques, le phénomène d'oxydation correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induite soit par production excessive d'espèces hautement réactives principalement les radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante (**Haleng et al., 2007 ; Robertson, 2004**). Afin de maintenir l'homéostasie redox de la cellule, il existe de nombreux systèmes de défense antioxydante endogènes ou exogènes, enzymatiques ou non enzymatiques (**Rezaie et al., 2007**).

I. Le stress oxydatif

Le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (**Pincemail, 2004**).

Les dommages liés à un stress oxydant se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN (**Cooke et al., 2003 ; Marnett, 2000**), des protéines (**Davies, 2003**), ou la peroxydation des lipides. Il a également été montré que le stress oxydant jouait un rôle central dans l'initiation, la progression et la malignité de nombreux cancers (**Grek et al., 2010**).

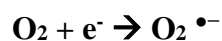
1. Les principaux radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules à base d'oxygène ou d'azote. Ils sont créés à la suite d'une réaction d'oxydation normale. Lorsqu'un radical libre interagit avec une autre molécule, un nouveau radical libre est créé. Les réactions d'oxydations ont souvent lieu à l'intérieur de la membrane cellulaire ou dans les régions avoisinantes et peuvent endommager les parois intérieures des cellules. Certains radicaux libres ciblent les mitochondries à l'intérieur des cellules et entravent leur capacité à produire de l'énergie. D'autres radicaux libres ciblent l'ADN (Bechan et al., 2014)

1.1. Espèces réactives radicalaires

1.1.1. L'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$

Principalement généré à partir de la réduction du dioxygène (O_2) par addition d'un électron au niveau mitochondrial.



Il n'a pas la capacité de traverser les membranes lipidiques et sa réaction est spontanée et s'effectue principalement en milieu aérobie, proche de la membrane interne mitochondriale de la chaîne respiratoire. Cet anion qualifié comme primaire est à l'origine de la formation d'autres radicaux libres dit secondaires tels que H_2O_2 ou OH^\bullet , plus délétères pour l'organisme (Hawkins, Madesh et al., 2007).

1.1.2. Radical hydroperoxyde HO_2^\bullet

Le radical hydroperoxyde, également appelé le radical perhydroxyle, il s'agit de l'acide conjugué de l'anion superoxyde obtenu après protonation de ce dernier (Gardès-Albert, M. 2006).



Il est plus réactif que le précédent, en l'absence de SOD, l' HO_2^\bullet participe à la dismutation non catalysée d' $O_2^{\bullet -}$ (Migdal & Serres, 2011). En outre l' HO_2^\bullet initie la peroxydation des acides gras par deux voies parallèles :

- ❖ L'une est indépendante de l'hydroperoxyde d'acide gras (ROOH).

- ❖ L'autre est dépendante de ROOH : un transfert direct ou indirect d'atomes d'hydrogène entre ROOH et HO₂• pour produire des ROO• qui propagent la peroxydation (**Aikens & Dix, 1991**).

1.1.3. Le radical hydroxyle OH•

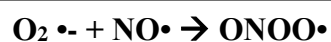
Le radical hydroxyle OH• est issu de la réaction de Fenton, avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde. Il apparaît comme le radical le plus instable mais est le plus réactive de toutes les espèces dérivées de l'oxygène. En effet, OH• peut réagir avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant à sa proximité tels que l'ADN, les protéines ou encore les lipides entraînant ainsi de multiples dommages cellulaires (**Cadet, Delatour et al., 1999 ; Valko, Leibfritz, 2007**).

1.1.4. Monoxyde d'azote NO•

C'est un radical libre ayant la capacité de traverser les membranes biologiques et d'aller agir en tant qu'agent protecteur vasodilatateur au niveau de l'endothélium. Malgré ses effets bénéfiques en condition physiologique, il peut s'avérer être néfaste en état de stress oxydatif lorsqu'il interagit avec O₂•⁻ pour former du peroxynitrite ONOO•. En effet, lorsque NO• est produit en excès, cela induit des dérégulations au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale et la production croissante d'autres ROS et RNS (**Tengan and Moraes 2017**).

1.1.5. Le radical peroxynitrite ONOO-

C'est produit à partir de la réaction entre O₂•⁻ et NO•. Ce radical est responsable de dommages irréversibles causés au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides via un phénomène d'oxydation ou via la génération de radicaux libres très réactifs (**Beaudeau, Peynet et al., 2006**).



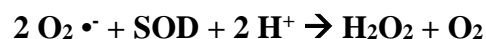
1.1.6. Radicaux alkoxyle RO• et peroxyde ROO•-

Ce sont des formes radicalaires dites secondaires formées par l'action oxydante des radicaux primaires ($O_2 \bullet^-$, H_2O_2 , ...) sur les composés biochimiques cellulaires tels que les acides gras polyinsaturés, les glucides, les protéines, etc. Ces radicaux sont moins réactifs mais ils sont à l'origine des processus de réactions radicalaires en chaîne et, en particulier la peroxydation des membranes cellulaires (Lacolley et al., 2008).

1.2. Espèces réactives non radicalaires

1.2.1. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Produit à partir du $O_2 \bullet^-$ via une réaction catalysée par la superoxyde dismutase (SOD). Le H_2O_2 n'est pas un radical libre mais il est extrêmement réactif, plus stable que les autres ROS et possède un fort pouvoir oxydant. Il est capable de traverser les membranes biologiques et peut agir à une grande distance de son lieu de production.

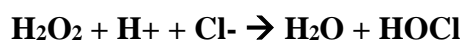


H_2O_2 induit la formation de molécule d'eau via la réaction catalysée par la catalase ou la glutathion peroxydase (GPx). De plus, le H_2O_2 peut se décomposer en présence d'ions ferreux (Fe^{2+}) en un ion OH^- et un radical hydroxyle ($OH\bullet$), selon la réaction de Fenton (Valko, Leibfritz et al., 2007).



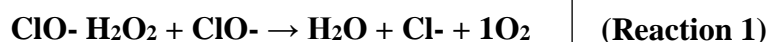
1.2.2. Acide hypochloreux HOCl

L'un des précurseurs moléculaires les plus importants des radicaux libres dans l'organisme. C'est un oxydant fort de courte durée. Il est produit dans le corps humain par la famille des peroxydases de l'hème mammifère, principalement par la myéloperoxydase (MPO) qui est sécrétée par les neutrophiles et les monocytes au cours de l'inflammation. La MPO catalyse la transformation de l' H_2O_2 et d'ion chlorure en HOCl et l'eau selon la réaction suivante :



1.2.3. Oxygène singulet $1O_2$

C'est une forme « excitée » d'oxygène moléculaire, très instable, extrêmement réactif, avec une durée de vie très limitée (**Démarchez, 2012**). Il est un agent majeur généré à partir de plusieurs sources et par de nombreux types de cellules, en particulier par les granulocytes et les neutrophiles. La NADPH-oxydase membranaire génère des anions superoxydes qui se transforment en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier peut réagir avec (reaction 1) ou Peroxynitrite (reaction 2) pour former le $1O_2$ non radicalaire (**Sorg, 2004 ; Stief, 2003**).



2. Principaux dommages liés au stress oxydant

2.1. Oxydation des composés lipidiques

Les lipides membranaires sont les cibles privilégiées des attaques oxydatives. Les membranes sont plus particulièrement visées par le radical hydroxyle capable d'arracher un atome d'hydrogène pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Le radical peroxyde peut, quant à lui, libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde (MDA) (**Kruidenier et al., 2002 ; Thérond et al., 2005**). Ainsi un unique évènement oxydatif peut altérer de nombreuses molécules lipidiques dans les membranes ce qui réduira leur fluidité, ainsi que l'activité des protéines transmembranaires (**Kruidenier et al., 2002 ; Valko et al., 2006**).

2.2. Oxydation des composés protéiques

Les protéines sont les constituants cellulaires les plus abondants, et sont par voie de conséquence des cibles importantes de l'oxydation. L'oxydation des protéines peut induire des réticulations inter- et intra-protéines. De plus, la nitration des protéines sur les fonctions tyrosine peut induire de sévères modifications de fonction. En effet, la tyrosine est un acide aminé particulièrement impliqué dans les voies de signalisation. Ainsi, une oxydation d'une protéine peut avoir un effet sur sa fonction propre, mais peut également avoir des

répercussions sur l'ensemble de la régulation cellulaire (**Kruidenier et al., 2002 ; Valko et al., 2006**).

2.3. Oxydation de l'ADN

Les molécules d'ADN nucléaires et mitochondriales peuvent également être attaquées par l'oxydation. Les altérations les plus communes sont l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques et du squelette désoxyribose provoquant le clivage des brins et des mutations génétiques (**Valko et al., 2006**). Ces altérations de la molécule d'ADN peuvent conduire soit à l'arrêt de l'induction de la transcription ou de la transduction des voies de signalisation, soit à des erreurs de réplication, ou soit à une instabilité génomique et l'ensemble est associé au phénomène de carcinogenèse (**Valko et al., 2006**).

II. Les Antioxydants

Pour faire face et détruire les radicaux libres produits en excès, les cellules possèdent des défenses antioxydantes de différentes natures. Ces protections sont assurées à la fois par des composés naturels endogènes ou apportés par l'alimentation, et par des enzymes spécifiques se comportant comme des piègeurs de radicaux libres (**Belanger et al., 2006**).

Les antioxydants sont des agents réducteurs bioactifs qui peuvent prévenir les dommages causés par les espèces réactives oxygénées (ROS), y compris les radicaux anioniques superoxydes, l'hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet, retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, les DNA et les carbohydrates (**Sudip et al., 2015**).

Ce système de défense repose sur deux mécanismes distincts ; les enzymes et les molécules antioxydants (non-enzymatiques) qui neutralisent les EROs de plusieurs manières : d'inhiber directement la production des EROs, de limiter la propagation ou de détruire les EROs (**Sies et Jones, 2007**).

1. Les antioxydants enzymatiques

Les systèmes antioxydants sont responsables du maintien d'un niveau non cytotoxique des ROS. Parmi la première ligne de défense de l'organisme pour lutter contre les ROS, nous

retrouvons la SOD, la catalase, la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR) et l'hème oxygénase-1 (HO-1) (**Kayama, Raaz, 2015**).

1.1. Superoxydes dismutases (SOD)

La SOD est une enzyme antioxydante primaire essentielle qui réagit en défense de l'organisme contre les produits toxiques du métabolisme cellulaire. Elle est capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Son rôle est de transformer dans les mitochondries, les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogène, ce dernier, étant beaucoup moins réactif (**Moumen et al., 1997**).

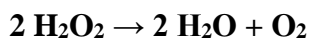
La superoxyde dismutase inactive l'ion superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène. L' H_2O_2 qui vient d'être formé par la SOD est catabolisé par deux enzymes : la catalase et la glutathion peroxydases (**Menvielle-bourg, 2005**).

Ces enzymes sont présentes dans presque toutes les cellules aérobies et dans les fluides extracellulaires. On distingue 3 isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et leur cofacteur métallique : une forme cytosolique et nucléaire associée au cuivre et au zinc (Cu/ZnSOD, ou SOD1), une forme mitochondriale associée au manganèse (MnSOD ou SOD2) et une forme extracellulaire (EcSOD ou SOD3) (**Mates 2000, Zelko, Mariani et al., 2002**).



1.2. Les catalases

Elle se compose de quatre sous-unités tétraédriques identiques contenant chacune un groupe d'hème. La catalase agit en catalysant la conversion de H_2O_2 en H_2O et en O_2 , à la suite de la dismutation de l' $\text{O}_2\cdot^-$ par la SOD. Elle est largement exprimée dans les peroxysomes mais est également présente dans le cytosol. Malgré le fait que la catalase ne soit pas indispensable pour certains types cellulaires en situation physiologique, elle joue un rôle important dans l'acquisition de la tolérance au stress oxydatif chez la réponse adaptative cellulaire (**Hunt, Sim et al., 1998, Sena, Pereira et al., 2013**).



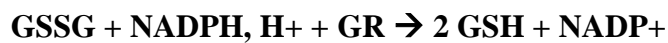
1.3. Les Glutathions peroxydases (GPx) et les la glutathion réductase (GR)

Les GPx sont une famille d'enzymes antioxydantes majoritairement présentes dans les mitochondries puis en moins grande quantité dans le cytosol et le milieu extracellulaire (**Ghisolfi-Marque, Boyer et al., 1996**). Ce sont des enzymes à sélénium ayant la propriété de catalyser la réduction des hydroperoxydes et du peroxyde d'hydrogène par le glutathion réduit car il assure la stabilisation des groupements thiols de la membrane cellulaire (**Saka et al., 2011**). Elles se composent de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium sous forme de sélélocystéine. On distingue plusieurs isoformes de GPx dont la forme la plus abondante qui est la GPx-1. La GPx agit comme la catalase pour réduire le H₂O₂ en H₂O par l'intermédiaire du glutathion réduit (GSH) (**Ceriello, dello Russo et al., 1996**).



Les glutathions peroxydases permettent également de limiter la propagation des réactions radicalaires en chaîne, en réduisant les peroxydes instables en acides gras hydroxylés (**Souchard et al., 2002**).

À la suite des réactions catalysées par la GPx, une molécule de glutathion oxydée est formée (GSSG). Pour régénérer la production de glutathion (GSH), la cellule fait appel à la glutathion réductase (GR) qui va réduire les ponts disulfures et former ainsi du GSH et du NADP⁺, grâce à son activité d'oxydoréductase dépendante des NADPH exprimées dans les mitochondries et le cytosol. De ce fait, l'action de la GR est indispensable pour le maintien de la quantité de GSH (**Mates, Perez-Gomez et al., 1999**).



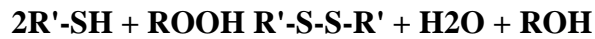
1.4. La thiorédoxine (Trx)

Le système des Trx agit parallèlement à celui du glutathion. Elle a une structure proche de celle de la glutathion réductase. Elle consomme aussi du NADPH dans son fonctionnement. Elle joue un rôle protecteur contre une grande variété du stress oxydatif grâce à ses propriétés de capture des radicaux libres (**Reichheld et al., 2005**). Sachant qu'elle porte dans son site actif une paire de résidus cystéine, elle piège les ROS et réduit fortement

leur pont disulfure. En plus de capter les ROS, la Trx possède une propriété anti-inflammatoire (Sena, Pereira, 2013).

1.5. Peroxyrédoxine (Prx)

C'est une peroxydase à base de cystéine qui non seulement protège les cellules contre les dommages oxydatifs par les peroxydes, mais joue également un rôle important dans la signalisation cellulaire médiée par H₂O₂ chez les eucaryotes. Elle subit des cycles d'oxydations peroxydodépendantes et de réductions thiolodépendantes au cours de leur activité catalytique (Monteiro et al., 2007) :



1.6. L'HO⁻¹ ou HMOX⁻¹

C'est une oxydoréductase impliquée dans la dégradation de l'hème libre et de la formation de monoxyde de carbone, de biliverdine et de bilirubine qui sont des composés antioxydants. On en distingue deux isoformes : HO⁻¹ et HO⁻².

HO⁻² est constitutive et est retrouvée de manière ubiquitaire dans les cellules endothéliales alors que HO⁻¹ est induite en réponse au stress oxydatif. HO⁻¹ est capable de détoxifier l'hème et inhiber la libération du fer responsable d'une production marquée de ROS. Durant la réaction, la biliverdine est transformée en bilirubine via l'action de la biliverdine réductase. Par ailleurs, le fer libéré est pris en charge par la ferritine. Les composés antioxydants montrent également des propriétés anti-inflammatoires en inhibant l'action de cytokines pro-inflammatoires sécrétées et les dommages associés (Sena, Pereira, 2013, Xueyan, Shupeng et al., 2019).

2. Les antioxydants non-enzymatiques

Le système antioxydant non-enzymatique englobe des composés de nature endogène, ou exogène apportés par l'alimentation. Ces molécules jouent un rôle important dans la détoxification des ROS grâce à leur propriété antioxydante.

2.1. Systèmes antioxydants endogènes

2.1.1. Le GSH

C'est un antioxydant puissant formé à partir de l'association de glycine, de cystéine et de glutamate. Ce tripeptide est exprimé sous deux formes : sa forme oxydée GSSG et sa forme réduite GSH. Il participe à la réaction catalysée par la GPx et apparaît comme un antioxydant important dans la régulation du statut redox. Par ailleurs, le ratio GSH/GSSG est utilisé comme marqueur du stress oxydatif dans de nombreuses études. En effet, de manière proportionnelle, plus le flux de H₂O₂ est significatif, plus le GSH est consommé et plus le GSSG augmente (**Mates, Perez-Gomez, 1999, Biswas, Chida et al., 2006**). Il est également capable de régénérer les antioxydants les plus importants, l'acide ascorbique et la vitamine E pour les ramener à leurs formes actives (**Valko, M., et al., 2006**).

2.1.2. L'acide α -lipoïque (AAL)

C'est un antioxydant lipo- et hydrosoluble permettant de détoxifier les radicaux libres dans divers compartiments cellulaires. Il a été démontré que l'AAL est capable d'empêcher l'augmentation du cholestérol plasmatique et l'apparition de lésions athéromateuses causées par le diabète. De plus, il participe à la récupération des cellules β pancréatiques productrices d'insuline (**Yi and Maeda 2006**).

2.1.3. Acide urique

Il s'agit d'un déchet résultant du catabolisme des purines. Une seule enzyme, la xanthine oxydoréductase, est capable de le produire. Cet acide aux pH sanguins est sous forme anionique, urate (**Becker, 1993**). L'acide urique est un antioxydant hydrosoluble fonctionne en inhibant l'oxydation catalysée par le fer de l'acide ascorbique en formant des complexes avec le fer et en piégeant les ROS tels que l'acide hypochloreux et les radicaux hydroxyles (**Deaton & Marlin, 2003**).

2.1.4. Bilirubine

La bilirubine est un pigment biliaire, un produit terminal de dégradation de l'hème. Généralement elle est considérée comme un déchet liposoluble potentiellement cytotoxique qui doit être excrété (**Stocker et al., 1987**). Concernant sa fonction antioxydante, ce composé

est capable de piéger l'oxygène singulet et les radicaux peroxy. Ainsi elle est le principal protecteur de l'albumine et des acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Neužil & Stocker, 1993**).

2.2. Systèmes antioxydants exogènes

2.2.1. Les vitamines

Ce sont des substances organiques apportées par l'alimentation nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme et essentielles dans la neutralisation des ROS. Les vitamines C (acide ascorbique) et E (α -tocophérol) sont des antioxydants particulièrement actifs. Comme l'organisme n'est pas capable de synthétiser ces vitamines, un apport d'origine alimentaire est requis. Les vitamines sont retrouvées essentiellement dans les fruits et les légumes pour la vitamine C et dans les huiles végétales, les noix et autres céréales pour la vitamine E. La consommation journalière des vitamines C et E est d'environ 90 mg/jour et 12 mg/jour, respectivement (**Scalbert and Williamson 2000**). De plus, une étude réalisée chez des patients atteints de néphropathie diabétique a démontré la capacité de ces deux vitamines antioxydantes à réduire considérablement les taux d'excrétion urinaire d'albumine et d'HbA1c (**Kuchake and Dr 2011**).

2.2.2. Les caroténoïdes

Ce sont des tétraterpénoïdes précurseurs de la vitamine A et en particulier du β -carotène. Ce sont des pigments de couleur jaune-orangée présents dans les fruits et les légumes, et leur consommation journalière est estimée à 5 mg/jour (**Scalbert and Williamson 2000**). Le β -carotène agit grâce à sa longue chaîne carbonée riche en doubles liaisons en piégeant les molécules d'oxygène singulet formées par les radiations solaires (**Stahl and Sies 2012**). De structure lipophile, ces antioxydants ciblent principalement les lipides oxydés.

2.2.3. Les oligoéléments

Ce sont des petits minéraux nécessaires à l'organisme en petite quantité. Les oligoéléments tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont les cofacteurs indispensables à l'activité des enzymes antioxydantes endogènes

impliquées dans la détoxification des ROS produits lors d'un stress oxydatif (**Mates 2000**). Ces éléments n'ont aucune action antioxydante en soi mais ils sont requis pour l'activité de certaines enzymes antioxydante (glutathion peroxydase, thioredoxine réductase...) (**Higuchi, 2014**).

2.2.4. Les polyphénols

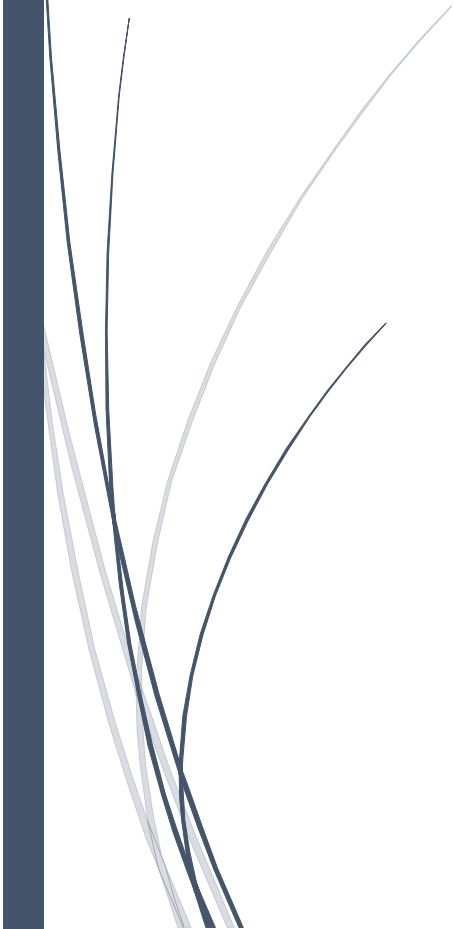
Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants (**Sökmen et al,2012 ; Apak et al, 2007**). Ils peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène, leurs structures leur confèrent une activité antioxydante aussi importante. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production de radicaux libres. Cependant, les composés phénoliques peuvent agir comme des prooxydants (**Tsao,2010 ; Pereira et al, 2009**). Ils sont capables de piéger des radicaux libres, notamment H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$ et $1O_2$ (**Vertuani et al., 2004**).

3. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants de synthèse les plus connus sont les composés phénoliques tels que Hydroxyanisole butylé (BHA), Hydroxytoluène butylé (BHT), tert-butylhydroquinone (THBQ) et Gallate de propyle (GP) (**Suhaj, 2006 ; Tadhani et al., 2007**).

La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) et superoxydes (O_2^{\bullet}) (**Rice-Evans et al., 1995 ; Burda et Oleszek, 2001 ; Antolovich et al., 2002 ; Bartosz, 2003**).

Partie Expérimentale



CHAPITRE 01 :

Matériels et méthodes

Notre travail a été réalisé au sein de laboratoire d'analyses et contrôle de qualité, Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) Ali Mendjli - Constantine.

1. Matériel végétal

Dans ce travail, l'étude a été portée sur l'espèce « *Pleurotus eryngii* » (figure 21), un champignon comestible qui a été identifié par Mr LOUNIS YOUSEF KHODJA, maître assistant « A » : laboratoire de mycologie de biotechnologie et de l'activité microbienne, département de biologie appliquée FSNV. Université des Frères Mentouri Constantine 1.



Figure 21 : *Pleurotus eryngii* sauvage.

Les champignons utilisés dans cette étude ont été récoltés en septembre et octobre 2019 à Oued Athmania, Wilaya de Mila, au Nord-Est d'Algérie. Ils ont été nettoyés, puis laissés sécher dans un endroit sec et aéré. Une fois séchés, ils ont été conservés à température ambiante et à l'abri de l'humidité (figure 22 : A).

Notre échantillon de *Pleurotus eryngii* sec a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (figure 22 : B).

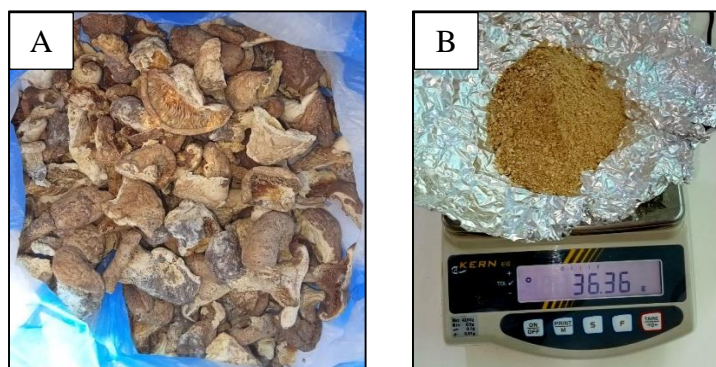


Figure 22 : (A) : champignon séché et conservé et (B) : broyage du champignon.

2. Extraction

2.1. Extraction solide-liquide « Macération »

La macération est une méthode d'extraction populaire et peu coûteuse. Elle consiste à laisser un matériel végétal dans un solvant, dans le but d'extraire les molécules solubles. Cette méthode a plusieurs avantages : utilisation de mélange de solvants, contrôle de la température d'extraction et maintien des molécules thermosensibles. La macération nécessite des étapes de filtration et d'évaporation qui sont plus ou moins longues (Azmir et al., 2013).

36 g de la poudre du champignon a été macéré dans 250 ml d'hexane (HX) sous agitation à température ambiante dans un endroit obscur pendant 48 heures dans le but d'extraire les molécules lipidiques. Le mélange a été filtré sur papier filtre Whatman (0,5) par filtration sous vide. La solution filtrée a été évaporé à sec sous pression réduite à 45°C à l'aide d'un évaporateur-rotatif (Annexe I). Le marc récupéré a été macéré dans 250 ml de méthanol (MeOH) et avec les mêmes conditions pendant 24 heures. Puis évaporé à sec sous pression réduite à 45°C. Les extrait obtenus d'hexane (EHX) et méthanolique (EMeOH) ont été conservé dans des eppendorfs à 4 °C jusqu'à leur utilisation.

2.2. Extraction liquide-liquide

A la suite de l'extraction solide-liquide, le reste de l'extrait méthanolique sec dans le ballon a été dilué dans un volume de 250 ml d'eau distillée pour créer la phase aqueuse hydrométhanolique, puis soumise à une série de procédés d'extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter en utilisant des solvants organiques de différentes polarités (polarité croissante) : Dichlorométhane (DCM), Acétate d'éthyle (EtOAc) et n-Butanol (n-BuOH) en commençant par le solvant le moins polaire. Dans une ampoule à décanter, un volume de 150 mL de dichlorométhane (phase organique) a été mélangé avec la phase aqueuse, puis agité énergétiquement avec dégazage régulier afin de libérer l'excès de pression et laisser reposer pour décantation aux moins 15 minutes jusqu'à atteindre l'équilibre de partage et l'obtention de deux phases bien séparées (la phase aqueuse se situe dans la partie supérieure de l'ampoule, et la phase organique (dichlorométhane) de densité plus haute, se situe dans la partie inférieure. L'opération est répétée pour chaque solvant sous les mêmes conditions. Les trois phases organiques séparées ont été récupérés, évaporés sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur-rotatif et pesés pour déterminer leurs rendements. Les extraits obtenu (EDCM ; EEtOAc ; EBuOH) ont été conservés dans des eppendorfs à 4 °C jusqu'à leurs utilisations. Les différentes étapes d'extraction sont présentées dans la figure (23) suivante :

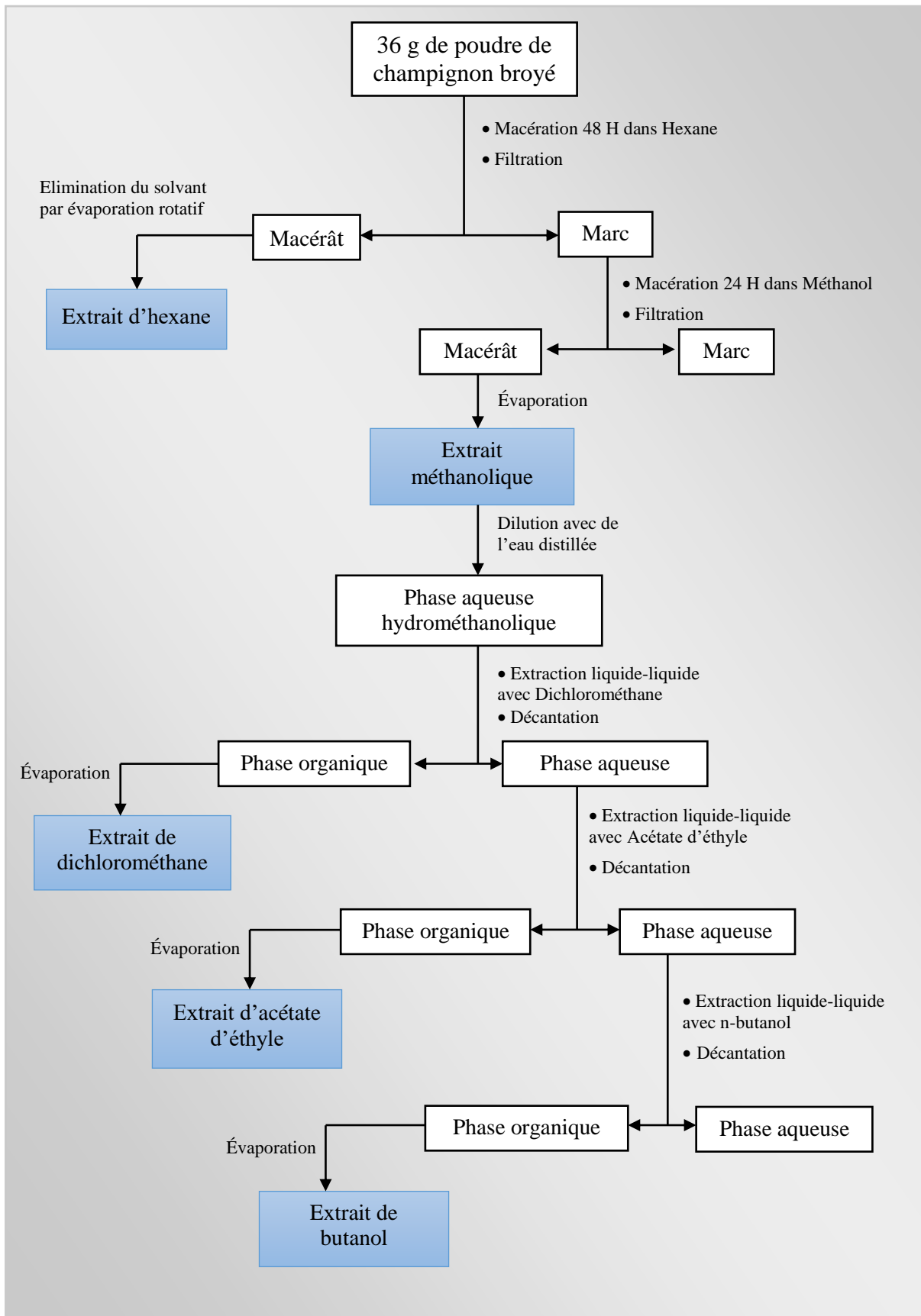


Figure 23 : Schéma résumant les différentes étapes de l'extraction de *Pleurotus eryngii*.

2.3. Le rendement R (%)

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule donnée par (Abe et al., 2010) :

$$R (\%) = 100 M_{\text{extrait}} / M_{\text{échantillon}}$$

Equation 01 : Rendement (R%).

Où : R : est le rendement en % ;

M_{extrait} : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg ;

$M_{\text{échantillon}}$: est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

3. Activités biologiques

3.1. Préparation des extraits

3.1.1. Préparation des solutions mère

Les extraits sont préparés à 4 mg/ml, 4 mg d'extrait brut ont été ré-solubilisés dans 1 ml du méthanol, mis à l'ultrason (Annexe I) pendant 15 minutes, afin d'avoir une solution homogène.

3.1.2. Préparation des dilutions

Les tests des activités antioxydantes et des activités enzymatiques sont effectuées sur une microplaque de 96 puits utilisant différentes concentrations d'échantillon. Pour cela, une série de 7 dilutions ($1, \frac{1}{2}, \frac{1}{4}, \frac{1}{8}, \frac{1}{16}, \frac{1}{32}, \frac{1}{64}$) a été réalisée dans des eppendorfs par transfert d'un volume de 500 μ l de chaque concentration dans un eppendorf contenant 500 μ l du méthanol, en commençant par la solution mère avec une concentration initiale 4 mg/ml (Figure 24).

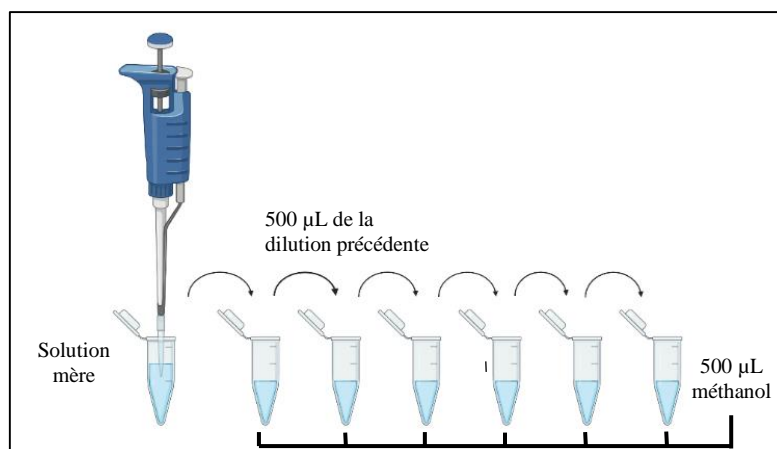


Figure 24 : Préparation des dilutions

3.2. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par **Muller et al. (2010)** avec quelques modifications. Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune, est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange (complexe) d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

Les extraits sont dilués à une concentration de 1 mg/mL (Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 mL de méthanol). Dans une plaque à 96 puits, 20 μ l d'extrait ont été distribués en triplicata, puis 100 μ l de réactif de Folin dilué (1 : 9) (1 ml de solution FCR concentré est diluée dans 9 mL d'eau distillée) et 75 μ l de bicarbonate de sodium 7.5 % (une quantité de 7.5 g de Na_2CO_3 est dissouts dans 100 ml d'eau distillée) ont été ajoutés. Après 2 heures d'incubation à l'obscurité et à température ambiante (23 ± 2 °C), l'absorbance est mesurée à 765 nm à l'aide d'un lecteur de plaques à 96 puits automatisé PerkinElmer. Un blanc (contrôle négatif) est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé : Méthanol.

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits ont été déterminés à partir de la courbe standard de l'acide gallique (Annexe IV). Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) (**Wong SP et al., 2006**).

3.3. Evaluation de l'activité antioxydante

La capacité antioxydante des molécules peut être évaluée *in vivo* ou *in vitro* sur le vivant organisme, à l'aide des tests qui imitent les phénomènes physiologiques, pour évaluer l'activité antioxydante dans l'extrait naturel, différentes méthodes ont été développées, ces méthodes impliquent des mélanges d'espèces oxydantes, telles que les radicaux ou les complexes métalliques oxydés avec un échantillon qui contient antioxydants qui peuvent inhiber la genèse des radicaux. Ces antioxydants peuvent procéder selon deux mécanismes majeurs soit par transfert d'atomes d'hydrogène soit par transfert d'électrons (**Prior et al., 2005**).

Ces techniques sont différentes les unes des autres par les réactifs utilisés, les conditions d'application, leurs protocoles ainsi le mécanisme d'action par lequel l'extrait ou la molécule testée se manifeste dans le milieu (Madi, 2018).

3.3.1. Test de Piégeage du radical libre DPPH•

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) est un radical azoté organique stable, en solution il a une couleur violette en raison de l'électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisés dans l'étude visant à déterminer la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Popovici et al., 2010). Le DPPH a été suggéré la première fois en 1950 comme un produit naturel donneur de proton plus tard, le test a été quantifié pour déterminer le potentiel antioxydant des composés phénoliques individuels et de la nourriture ainsi que des échantillons d'intérêt biologique (Roginsky et Lissi, 2005).

Cette méthode a été décrite pour la première fois par Blois (1958), est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•). Ce dernier en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH) est réduit à la forme d'hydrazine (DPPH-H non radicalaire) en acceptant un atome d'hydrogène et se décolore donc en jaune pale (Contreras-Guzman et Strong, 1982) (Figure 25). Cette transformation peut être suivie par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm (Molyneux, 2004). Le degré de décoloration indique le potentiel de l'extrait antioxydant (Santoyo et al., 2006 ; Speroni et al., 2011).

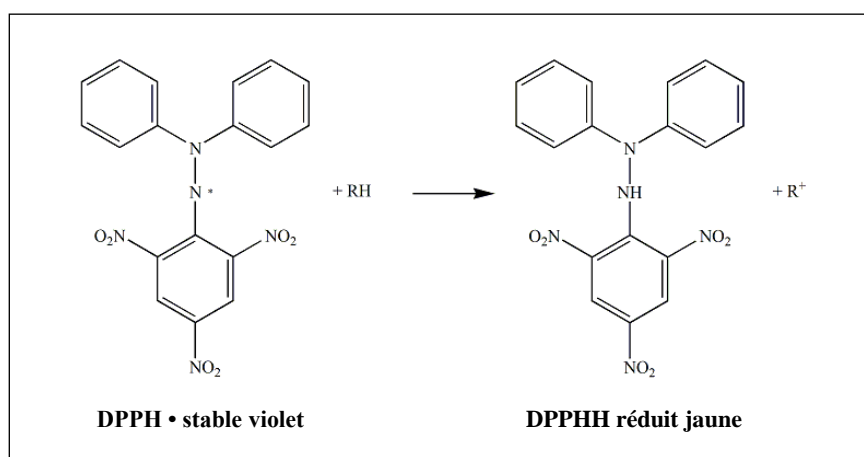


Figure 25 : Transformation du radical DPPH• en DPPHH (Gülçin, 2012).

L'évaluation de l'activité antioxydante au DPPH a été réalisée selon le protocole décrit par Blois (1958). Brièvement, 40 µl de chaque extrait à différentes concentrations puis 160 µl de solution DPPH (6 mg de DPPH dans un volume de 100 mL de méthanol ; l'absorbance est ajustée à 0.700 ± 0.020 à 517 nm avant l'usage). Le témoin (Contrôle négatif) est préparé de la même manière mais avec 40 µl de méthanol. L'absorption de la solution de DPPH est mesurée à 517 nm en utilisant un lecteur de microplaque à 96 puits (Annexe I).

Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH• sont calculés selon l'équation de (Khoudali et al., 2014) :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Équation 02 : Pourcentage d'inhibition du DPPH.

- Où :
- Abs contrôle : est l'absorbance de la réaction sans extrait.
 - Abs extrait : est l'absorbance de la réaction après avoir ajouté l'extrait.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; le α -tocophérol, BHA (hydroxyanisole butylé) et BHT (hydroxytoluène butylé) (Annexe IV), dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

3.3.2. Test de piégeage du cation radical l'ABTS •⁺

L'ABTS•⁺ (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) est un radical libre stable. Il est très utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des mélanges complexes ou bien des composés purs. Ce radical est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron (Rice-Evans et Miller, 1994 ; Rice-Evans et al., 1995).

L'activité ABTS a été introduite par Miller et al., (1993), et déterminée par Re et al., (1999). Cette méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS•⁺. Ce dernier est un radical cationique obtenu par oxydation de l'ABTS incolore, avec du persulfate de potassium (K₂S₂O₈) par transfert d'électrons, donnant une solution colorée en vert-bleue. L'addition d'un composé antioxydant (donneur de H•) engendre la réduction du radical ABTS•⁺ en ABTS⁺ (Figure 26), entraînant une décoloration

et une diminution de l'absorption (**Re et al., 1999**). La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à la longueur d'onde à 734 nm (**Re et al., 1999**). Plus l'absorbance finale est faible, plus l'antioxydant est efficace (**Schlesier et al., 2002**).

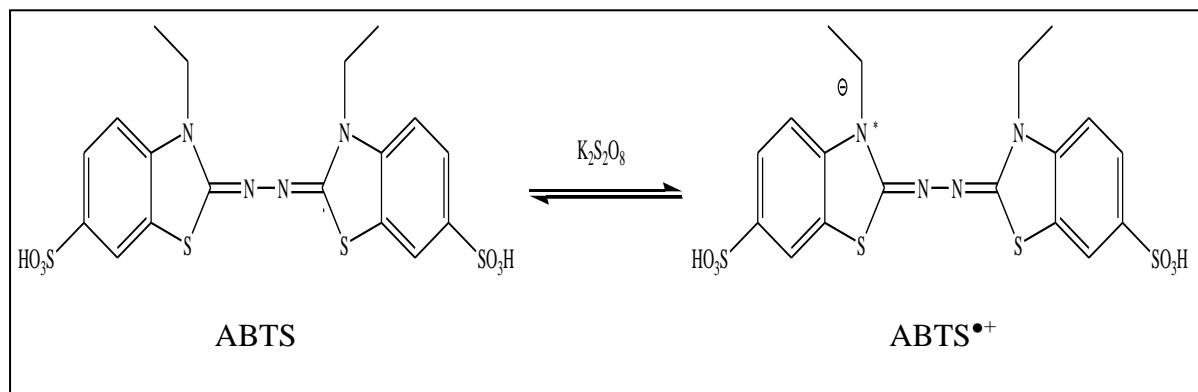


Figure 26 : Formation du radical cation ABTS^{•+} à partir de l'ABTS (**Sarr et al., 2015**).

Le test de décoloration des cations de radicaux libres de l'acide 2,2'-azinobis- (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est effectué en utilisant la méthode de **Re et al. (1999)** avec de légères modifications.

Le radical ABTS^{•+} est produit par oxydation de 7 mM de la solution d'ABTS (19,2 mg d'ABTS dans 5 ml H₂O) et 2.5 mM de persulfate de potassium (3,3 mg (K₂S₂O₈) dans 5 ml H₂O) pendant 12-16 heures dans l'obscurité à température ambiante. La solution obtenue est diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,708 ± 0,025 à 734 nm.

Après 16 heures (une nuit), 160 µl de cette solution ont été ajoutés à 40 µl des différentes concentrations de chaque échantillon déposé déjà en triplicata sur une microplaque à 96 puits (200 µl). L'absorbance a été mesurée à 734 nm. Le témoin (Contrôle négatif) est préparé de la même manière mais avec 40 µl de méthanol.

La capacité de piéger l'ABTS^{•+} est calculée par la formule suivante :

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \% \text{ Inhibition} = \left[\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

Equation 03 : Pourcentage d'inhibition d'ABTS.

Où : Abs Contrôle : Absorbance de la réaction témoin contenant l'ABTS^{•+}.

Abs Extrait : Absorbance de la réaction contenant de l'extrait.

3.3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

C'est une méthode développée par **Apak et al., (2004)**, basée sur le transfert d'électrons (**Özyürek et al., 2011**). Le test CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) mesure la capacité de réduire les ions cuivre présents dans le complexe néocuproïne-cuivre (II). Ce dernier est formé grâce à la capacité chélatrice du néocuproïne (Nc) des ions Cu^{2+} fournis par le chlorure de cuivre (CuCl_2). La réduction de Cu^{2+} en Cu^{1+} par la présence d'un antioxydant conduit au développement d'une couleur jaune-orange (Figure 27) présentant un maximum d'absorbance à la longueur d'onde de 450 nm et dont l'intensité est proportionnelle au niveau de la réduction (**Apak et al., 2004**).

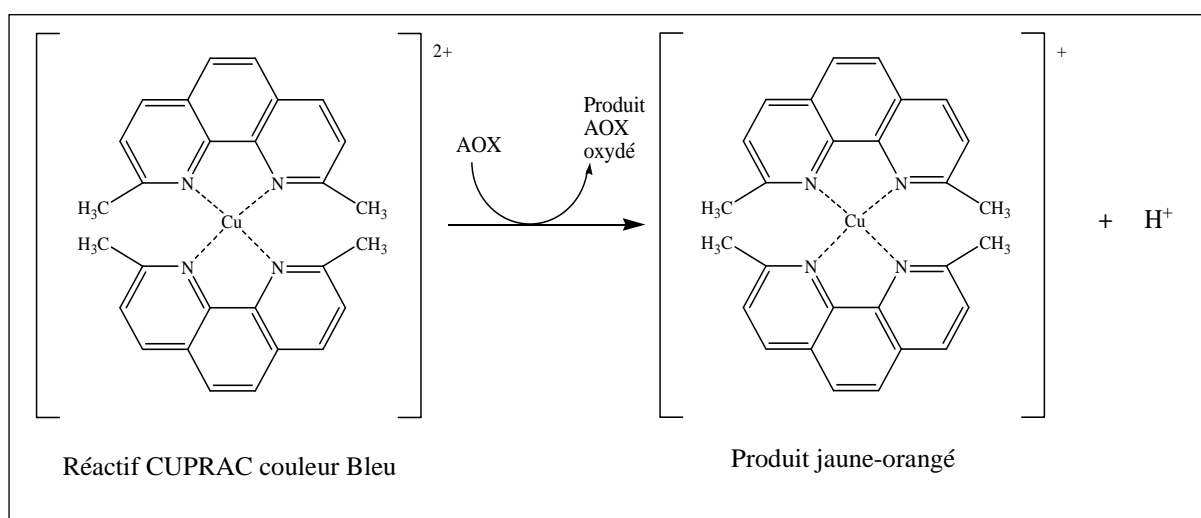


Figure 27 : Réduction du complexe néocuproïne / cuivre (II) (**Özyürek et al 2011**).

La capacité antioxydante de réduction cuprique des extraits a été déterminée Selon la méthode d'Apak (**Apak et al., 2004**).

Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 40 μl de nos extraits à différentes concentrations a été mélangé avec 60 μl du tampon acétate d'ammonium 1M (1,927 g de ACNH_4 dans 25 ml H_2O ; $\text{pH}=7$), 50 μl d'une solution de neocuproïne 7,5 mM (0,039 g de Neocupronin dans 25 ml MeOH) et 50 μl de CuCl_2 10 mM (0,042625 g de Cu Cl_2 , H_2O_2 dans 25 ml H_2O). Le témoin (Contrôle négatif) est préparé de la même manière mais avec 40 μl de méthanol. Après une heure d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 450 nm. Les résultats obtenus permettent de calculer la ($A_{0,5}$) qui représente la concentration de l'extrait qui correspond à une absorbance égale à 0,5 obtenue à l'aide de la courbe de régression linéaire.

3.3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2 phénanthroline

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydlowska-Czerniaka (2008)**. Elle est basée sur la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} ion en présence d'un antioxydant. L'ion Fe^{2+} formé réagit avec l'ortho-phénanthroline pour donner un complexe rouge-orange nommé Féroïen (Figure 28). Le complexe rouge Fe(II)-phénanthroline (Phen) est largement utilisé dans la méthode spectrophotométrique classique pour la détermination du fer (**Szydlowska-Czerniak et al., 2008**). Ce complexe est soluble à pH basique et peut être mesuré à une absorbance de 510 nm (**Adhikamsetty et al., 2008**).

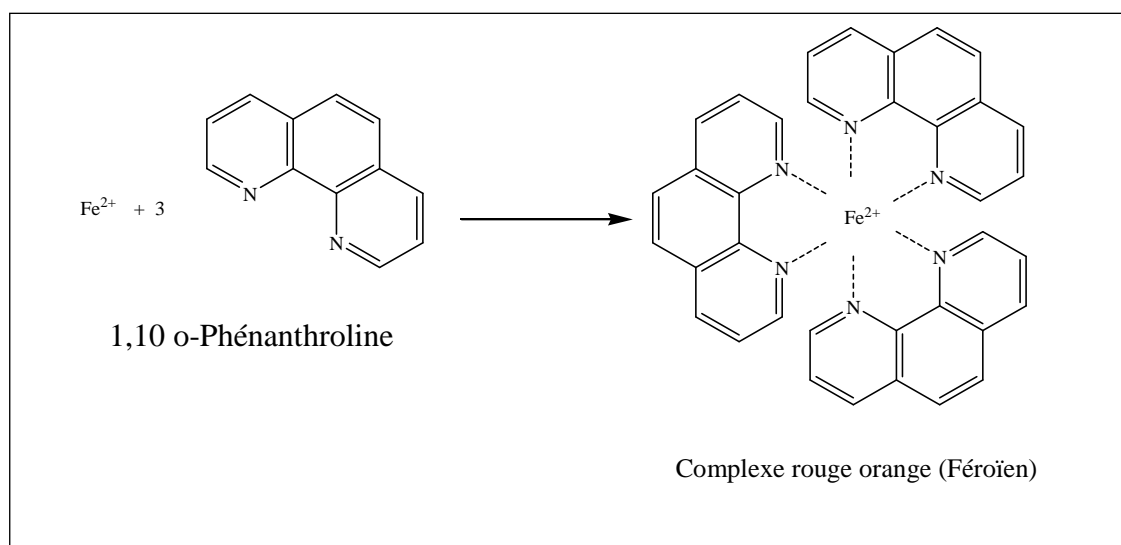


Figure 28 : Formation du complexe Fe+2-phénanthroline (**Apak et al., 2007**).

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de **Szydlowska-Czerniaka (2008)**.

Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 10 μl de nos extraits à différentes concentrations déposées en triplicata, 50 μl de FeCl_3 0.2% (0.02 g de FeCl_3 dans 10 ml de H_2O), puis 30 μl d'une solution méthanolique de phénanthroline 0.5% (0.05 g de 1,10-Phénanthroline dans 10 ml de MeOH) et 110 μl de méthanol sont ajoutés. Après incubation à l'obscurité pendant 20 minutes à 30°C, l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Le témoin (Contrôle négatif) est préparé de la même manière mais avec 10 μl de méthanol. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standard (Annexe IV).

3.3.5. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

L'activité FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est déterminée en utilisant la technique d'**Oyaizu (1986)**. Cette méthode est basée sur la réaction chimique de la réduction du fer ferrique Fe^{3+} présent dans le complexe ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux Fe^{2+} par les antioxydants présents dans l'extrait végétal et la formation de ferrocyanure de potassium ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), (Figure 29) (**Oyaizu 1986 ; Pellegrini et al., 2003 ; Khadhri et al., 2013**). Ce pouvoir réducteur peut servir comme un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance (**Wang et al., 2008**).

La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleue verte du fer ferreux (Fe^{2+}). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à 700 nm (**Karagözler et al., 2008**).

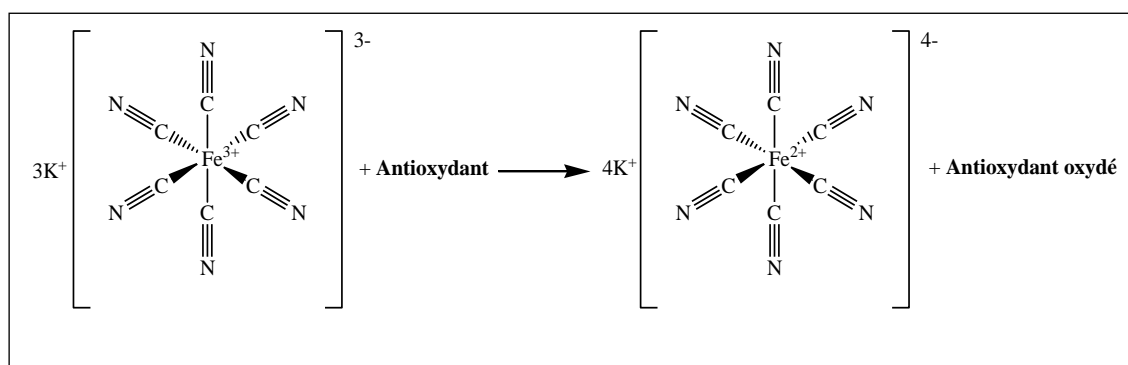


Figure 29 : Mécanisme réactionnel du test FRAP (Gülçin, 2012).

Le protocole expérimental suivi est celui de **Oyaizu, M. (1986)**. Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 10 μl de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 40 μl de tampon phosphate 100 mM (pH 6.6) (Annexe VI) et 50 μl de ferricyanure de potassium à 1% (1 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dans 100 ml H_2O). Le mélange est incubé à 50 $^\circ\text{C}$ pendant 20 min. Ensuite, un volume de 50 μl d'acide trichloroacétique 10% (1 g de TCA dans 10 ml H_2O) afin d'arrêter la réaction. Et enfin, 40 μl d'eau et 10 μl de 0.1% FeCl_3 (0,1 g de FeCl_3 dans 100 ml H_2O). Le témoin (Contrôle négatif) est préparé de la même manière mais avec 10 μl de méthanol. L'absorbance est ensuite mesurée à 700 nm.

Les résultats obtenus permettent de calculer la ($A_{0,5}$) qui représente la concentration de l'extrait qui correspond à une absorbance égale à 0,5 obtenue à l'aide de la courbe de régression linéaire.

3.4. Activité anti-enzymatique *in vitro*

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui jouent un rôle important dans les réactions biochimiques nécessaires pour la croissance, la maturation et la reproduction des êtres vivants. Leur quantification par mesure de l'activité catalytique dans les échantillons biologiques est importante dans divers domaines (Glatz, 2006).

3.4.1. Inhibition de l'uréase

L'uréase (EC 3.5.1.5 ; urée amidohydrolase) est une enzyme contenant un métal (nickel dans son centre actif) qui catalyse l'hydrolyse de l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac (figure 30). La production d'ammoniac a été mesurée par la méthode de l'indophénol et utilisée pour déterminer l'activité inhibitrice de l'uréase (Dixon N.E. et al., 1975 ; Mobley H et al., 1989 ; Karplus PA et al., 1997 ; Menteşe, M.Y. et al., 2013).

Chez l'homme, l'uréase provoque des infections des voies gastro-intestinales et urinaires, le cancer de l'estomac et l'ulcère gastroduodéal, l'encéphalopathie hépatique et le coma hépatique (Collins CM et al., 1993 ; Montecucco C et al., 2001 ; Hanif M et al., 2012). La recherche des inhibiteurs de l'uréase est une cible importante dans le contrôle des infections causées par les bactéries productrices d'uréase. Ces inhibiteurs jouent un rôle important dans le contrôle des micro-organismes uréolytiques, et aident également à explorer et à comprendre de nouveaux aspects du mécanisme d'action des uréases (El-Zahabi et al., 2019).

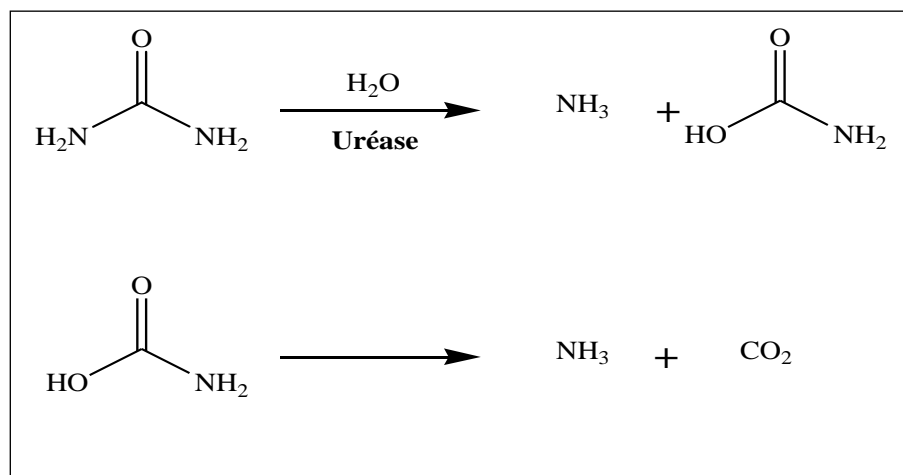


Figure 30 : Formation de NH₃ et CO₂ par l'hydrolyse de l'urée (Taha, M., et al., 2018).

L'évaluation de la capacité des extraits à inhiber l'uréase a été déterminée selon la méthode de **Muhammad Taha (2018)** avec des modifications. Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 10 µl de nos extraits à différentes concentrations déposées en triplicata, 25 µl de l'Uréase (1 mg enzyme dans 1 ml tampon), 50 µl Urée (0,2553 g Urée dans 25 ml tampon PH=8,2), 45 µl de réactif phénol (Annexe II), 70 µl de réactif basique (Annexe II). Le témoin (Contrôle négatif) est préparé de la même manière mais avec 10 µl de méthanol. Le mélange est incubé à 37 °C pendant 50 min. La quantité d'ammoniac libéré a été évaluée en mesurant le bleu indophénol formé dans la réaction de Berthelot durant l'incubation en suivant les changements d'absorbance à 630 nm. La thiourée (Annexe IV) a été utilisée comme inhibiteur standard de l'uréase.

Les résultats sont donnés sous la forme d'une valeur de IC₅₀. Le pourcentage d'inhibition de l'uréase est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Equation 04 : Pourcentage d'inhibition de l'uréase.

Abs contrôle : l'activité de l'enzyme sans extrait

Abs échantillon : l'activité de l'enzyme avec l'extrait

4. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne ± SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de IC₅₀ (Concentration d'inhibition à 50%) et de A_{0.5} (la concentration indiquant 0.50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir des deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)] pour la IC₅₀ et [Absorbance = f (concentrations)] pour la A_{0.5} en utilisant les programmes Excel 2016.

CHAPITRE 02 :

Résultats et Discussion

1. Rendement

L'extraction de *Pleurotus eryngii* a été réalisée par une première macération dans l'hexane puis une deuxième macération par le méthanol. Ensuite trois solvants de polarité croissante (Dichlorométhane, Acétate d'éthyle, n-Butanol) ont été utilisés pour l'extraction liquide-liquide. L'utilisation de solvants à polarités différentes permet de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. La couleur, l'aspect ainsi que le poids et le rendement d'extraction obtenu pour chaque solvant a été calculé et les valeurs sont représentés dans le tableau (04) et les figures (31 et 32) :

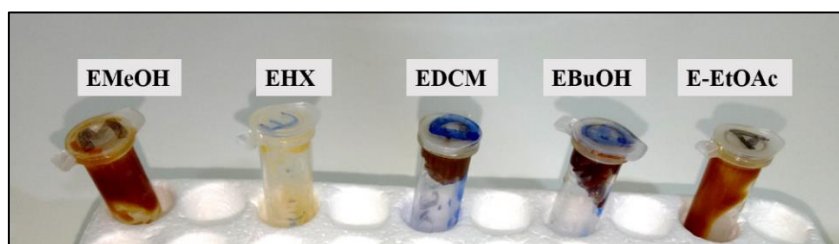


Figure 31 : Les extraits bruts obtenus avec les différents solvants.

Tableau 04 : Les rendements, le poids, l'aspect et la couleur des extraits obtenus avec différents solvants.

Matériel végétale	Extraits	Poids d'extraits (g)	Rendement %	Aspect	Couleur
36 g	EHX	0.82	2.27	Pâteux av	Blanc jaunâtre
	EMeOH	2.62	7.28	Pâteux	Marron
	EDCM	0.3268	0.90	Pâteux	Marron foncé
	EEtOAc	0.1676	0.46	Visqueux	Marron clair
	EBuOH	0.5214	1.45	Pâteux	Marron foncé

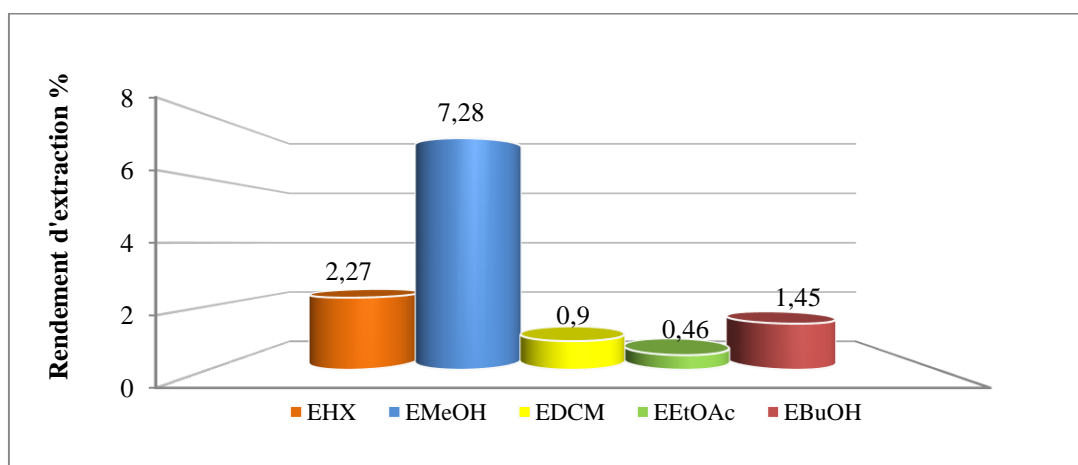


Figure 32 : Histogramme représente le rendement d'extraction des différents solvants.

D'après les résultats, on constate que le rendement de l'extrait méthanolique est le plus élevé avec une valeur de 7.28 %, suivi par l'extrait d'hexane 2.27 %, l'extrait butanolique 1.45 % et l'extrait de dichlorométhane 0.9 %, et enfin l'extrait d'éthyle d'acétate qui présente un faible rendement 0.46 %.

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la littérature. Le rendement n'est que relatif. (Vuong et al., 2013). Les méthodes d'extraction dépendent aussi bien du matériel fongique que les molécules recherchées. L'extraction est influencée généralement par la méthode choisie en fonction des composés phytochimiques à étudier. D'autres facteurs, comme le pH, la température, le rapport quantité de matière au volume du solvant, les intervalles de temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles, jouent également un rôle important dans cette procédure (Mansour-djaalab H., 2014 ; Masoko et al., 2008).

2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux dans les extraits du *P. eryngii* a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Folin-ciocalteu (FCR) en utilisant l'acide gallique comme phénol standard. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique ($y = 0,0034x + 0,1044$) avec $R^2 = 0,9972$ (figure 33).

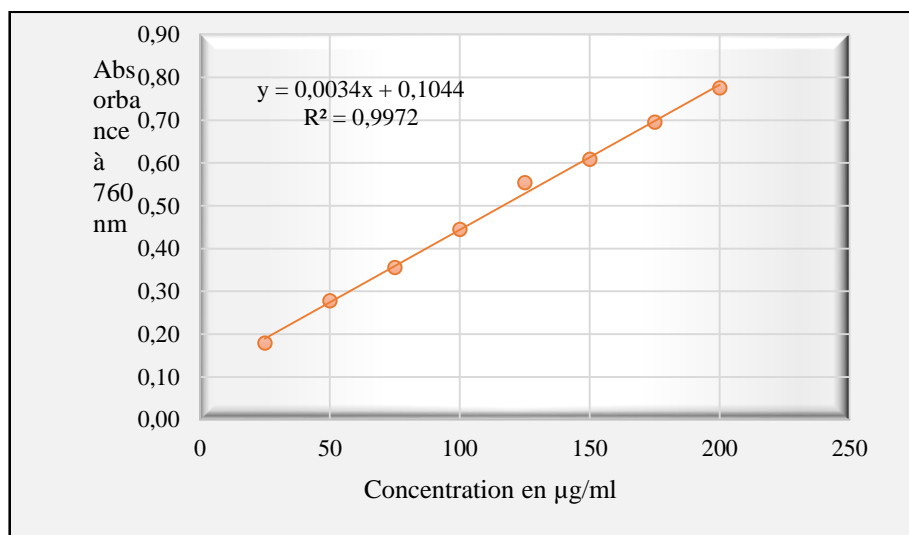


Figure 33 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les résultats du dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux sont présentés dans le tableau (05) et les figures (34 et 35).

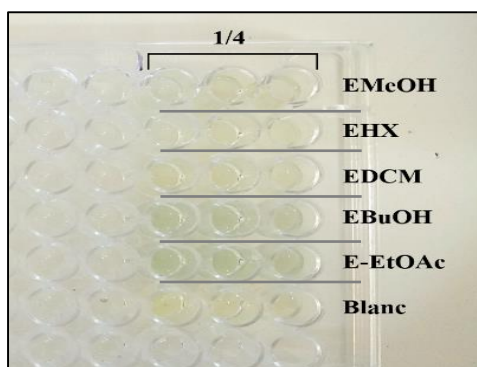


Figure 34 : Plaque de dosage des polyphénols des cinq extraits de *Pleurotus eryngii*.

Tableau 05 : Le contenu total en polyphénols des extraits bruts de *P. eryngii*.

Extraits	EMeOH	EHX	EDCM	EBuOH	EEtOAc
Total phenolic compounds content (μg EAG/mg d'extrait)	NA	22.13 ± 1.67	6.15 ± 1.35	14.68 ± 1.11	48.90 ± 4.95

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec \pm l'écartype.

EAG : équivalents d'acide gallique

NA : non absorbance

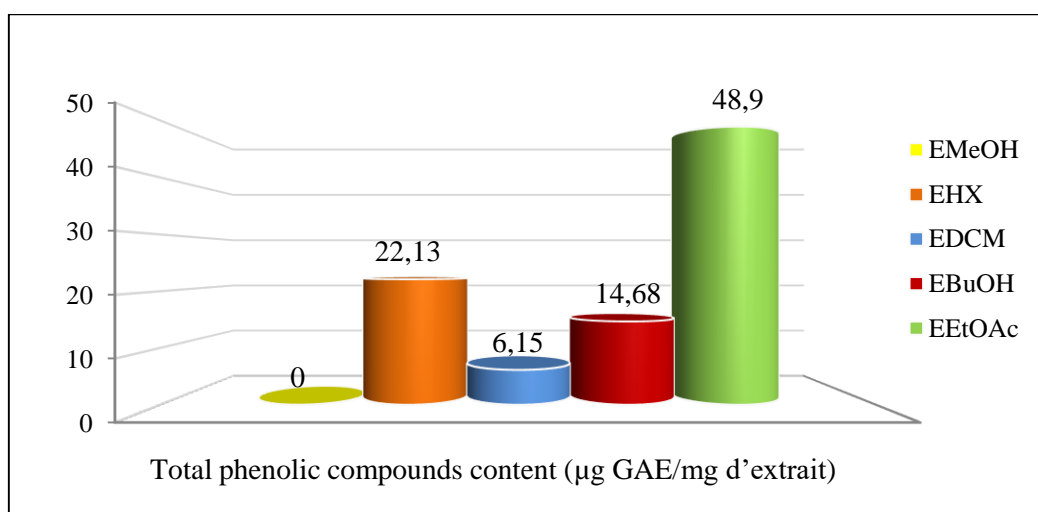


Figure 35 : Histogramme représente les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de *Pleurotus eryngii*.

Le dosage quantitatif des phénols totaux des différents extraits du *P. eryngii* a révélé que l'extrait d'acétate d'éthyle renferment une teneur plus élevée en phénols totaux par rapport aux autres extraits avec une valeur de 48.90 ± 4.95 μg EAG/mg d'extrait, suivi par l'extrait d'hexane avec une teneur notable 22.13 ± 1.67 μg EAG/mg d'extrait, l'extrait butanolique et l'extrait de dichlorométhane 14.68 ± 1.11 ; 6.15 ± 1.35 μg EAG/mg d'extrait respectivement. Cependant l'extrait méthanolique, il n'a présenté aucune valeur.

La différence de la teneur en polyphénols des extraits bruts résulte de la différence de polarité des solvants organiques, le temps et la température d'extraction, le rapport solide-liquide d'extraction ainsi que la nature chimique et les caractéristiques physiques des échantillons (Dai et Mumper, 2010). D'après Bruneton et al., (1999) et Macheix et al., (2005), ces composés sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et peu solubles dans les solvants organiques apolaires. Ce qui peut justifier nos résultats, le solvant qui a donné la teneur la plus élevée est l'EEtOAc, qu'il a une polarité plus élevée.

Les composés phénoliques sont très connus pour leur réactivité avec le Folin. Ce dernier est souvent utilisé pour doser les polyphénols totaux des aliments, des extraits de champignons et de plantes. Cependant, le terme polyphénols totaux semble être incorrect, car le réactif de Folin est capable aussi de réagir avec d'autres molécules, notamment : les composés azotés, les thiols, les vitamines, les glucides et les bases de nucléotides (Everette et al., 2010 ; Morel et al., 2018). En réalité, il mesure la capacité antioxydante totale de l'échantillon étudié (Everette et al., 2010).

3. Evaluation de l'activité antioxydante

3.1. Test de Piégeage du radical libre DPPH•

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits est réalisée par le test DPPH, qui est considéré comme un radical libre relativement stable. La décoloration de DPPH est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à réduire ce radical. Le pouvoir antioxydant est déterminé de façon à ce qu'une quantité de l'extrait d'une concentration bien déterminée neutralise 50% du radical. IC₅₀ représente la concentration équivalente à 50% de DPPH perdu. Les résultats sont présentés dans la figure (36) et le tableau (06) ci-dessous :

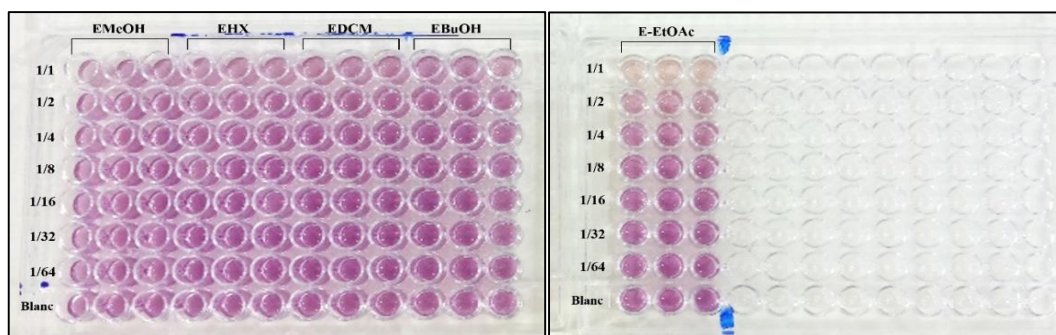


Figure 36 : Les plaques de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits du *P. eryngii*.

Tableau 06 : Pourcentage d'inhibition et valeurs des IC₅₀ de l'activité d'inhibitrice du radical DPPH par les extraits de *P. eryngii* et les standards.

Concentration (µg/ml)	% d'inhibition							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
EMeOH	4.55±0.27	6.65± 0.27	7.52±0.53	8.69±0.30	7.64±0.52	14.64±0.80	32.19±0.53	ND
EHX	2.80± 0.20	3.85± 0.44	5.48±0.90	7.41±1.14	9.62±1.14	22.39±0.83	33.35±1.06	ND
EDCM	NA	NA	0.17±0.36	1.40±0.90	5.77±0.20	10.96±0.17	17.84±0.36	ND
EBuOH	1.63± 0.10	3.44± 0.30	4.26±0.20	6.01±0.53	9.15±1.02	12.54±0.30	23.85±0.56	ND
EEtOAc	NA	NA	NA	2.97±0.44	15.63±0.61	24.20±0.81	52.07±1.21	>200
BHA	76.55± 0.48	79.89± 0.26	81.73±0.10	84.18±0.10	87.13±0.17	89.36±0.19	90.14±0.00	6.14±0.41
BHT	49.09± 0.76	72.63± 2.06	88.73±0.89	94.00±0.31	94.97±0.08	95.38±0.41	95.02±0.23	12.99±0.41
α-Tocopherol	37.21±1.82	81.53±1.51	89.23±0.12	89.38±0.19	89.45±0.22	89.99±0.23	89.52±0.33	13.02±5.17

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.
NA : non absorbance, ND : non déterminé.

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des d'extraits et des standards (Figure 37)

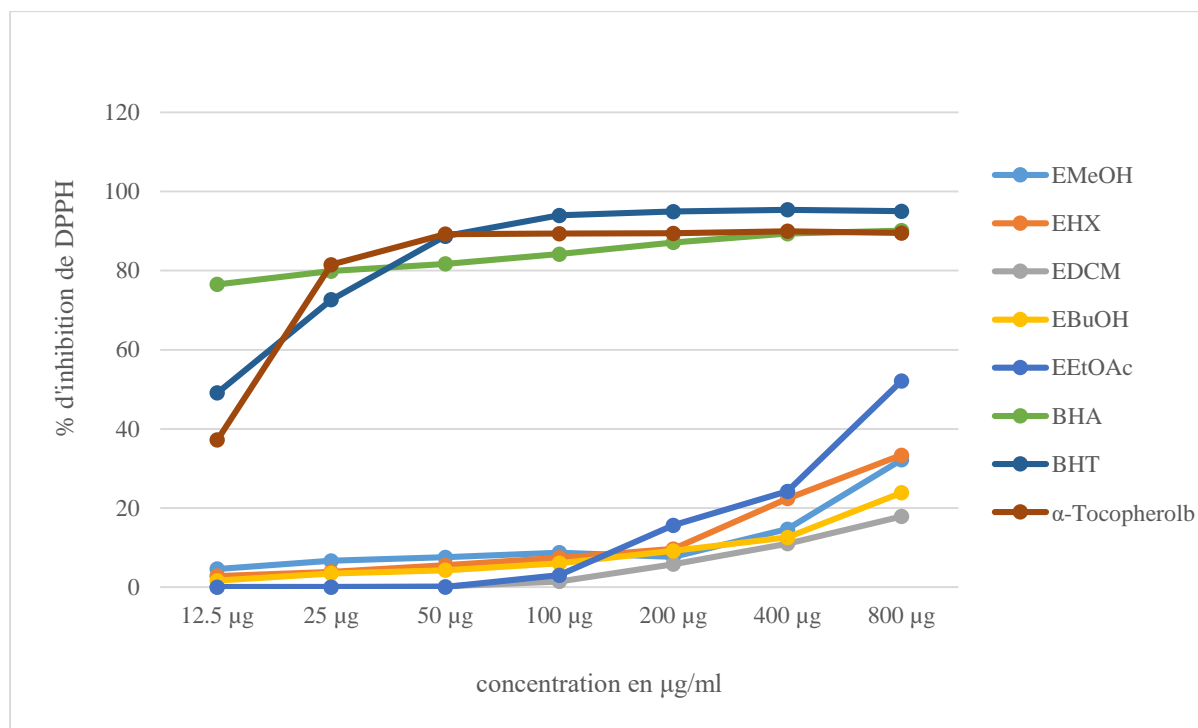


Figure 37 : Courbes de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits de champignon *P. eryngii*.

Les résultats obtenus montrent que la capacité d'inhibition du radical DPPH est dose dépendante vis-à-vis du DPPH, c'est-à-dire le piégeage des radicaux libres DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits et par conséquent l'augmentation de l'activité anti-radicalaire.

En comparant le pourcentage d'inhibition des standards : le BHA, BHT et α -tocophérol et nos extraits : EMeOH, EHX, EDCM et EBUOH on trouve que ces derniers sont inactifs, dont le pouvoir anti-radicalaire n'atteint même pas 50%, sauf pour l'extrait d'acétate d'éthyle (EEtOAc) présente une très faible capacité à piéger le radical DPPH. Ces résultats peuvent être expliqués par l'absence des molécules responsables de l'activité anti-radicalaire comme les polyphénols et les flavonoïdes (Li et Nagendra 2013, Gasecka et al. 2016).

3.2. Test de piégeage du cation radical l'ABTS \bullet^+

Le test ABTS est basé sur la génération d'un ABTS \bullet^+ bleu/vert qui peut être réduit par des antioxydants (Floegel et al., 2011) et la décoloration reflète la capacité d'un antioxydant à donner des électrons ou des atomes d'hydrogène pour désactiver les espèces radicalaires (Xiao et al., 2016). La décoloration du radical ABTS a été déterminée par le pourcentage d'inhibition du cation radicalaire ABTS \bullet^+ en fonction de la concentration des différents extraits. Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS et les résultats donnés par le lecteur des plaques sont illustrés dans la (figure 38) et le tableau (07) ci-dessous :

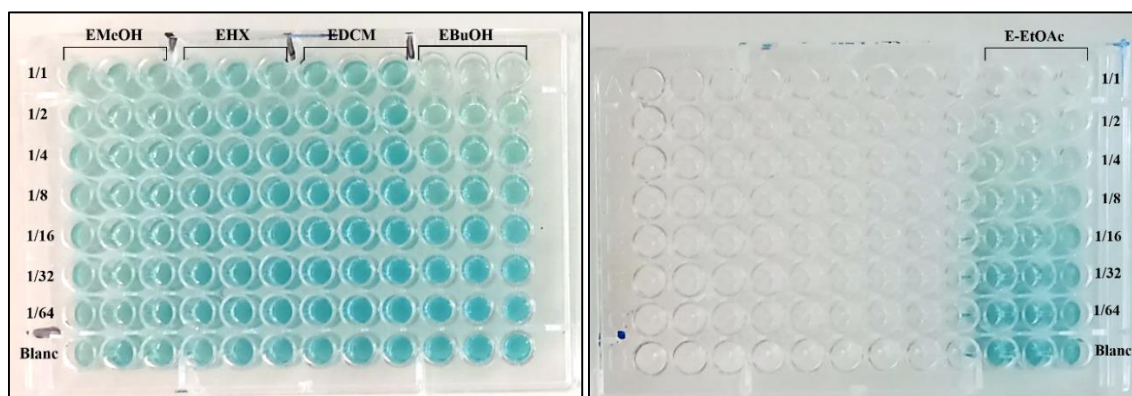


Figure 38 : Les plaques de dosage de l'activité anti-radicalaire ABTS des extraits du *P. eryngii*.

Tableau 07 : Pourcentage d'inhibition et valeurs des IC₅₀ de l'activité d'inhibitrice du radical ABTS par les extraits de *P. eryngii* et les standards.

Concentration (µg/ml)	% d'inhibition							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
EMeOH	2.00±0.92	8.91±1.96	14.53±0.47	18.40±0.93	21.39±0.80	26.19±0.82	30.11±2.78	ND
EHX	NA	NA	4.01±1.14	5.41±0.89	7.47±0.15	12.16±1.53	16.60±2.68	ND
EDCM	2.10±0.10	4.79±1.73	7.47±1.32	11.03±2.31	8.50±1.87	11.18±2.94	15.26±2.40	ND
EBuOH	8.24±1.88	11.65±1.52	15.67±2.53	24.28±2.10	27.84±1.40	43.16±0.47	63.38±1.03	>200
EEtOAc	15.77±2.15	26.97±0.71	38.57±2.13	52.03±0.67	58.38±1.78	72.46±0.46	81.59±1.32	99.51±13.33
BHT	69.21±0.40	78.23±1.34	88.12±1.28	88.76±3.07	90.85±1.74	90.95±0.51	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	92.83±1.42	94.68±0.42	94.95±0.90	95.32±0.25	95.59±0.47	95.83±0.15	95.86±0.10	1.81±0.10

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.
NA : non absorbance, ND : non déterminé.

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des d'extraits et des standards BHT et BHA (Figure 39)

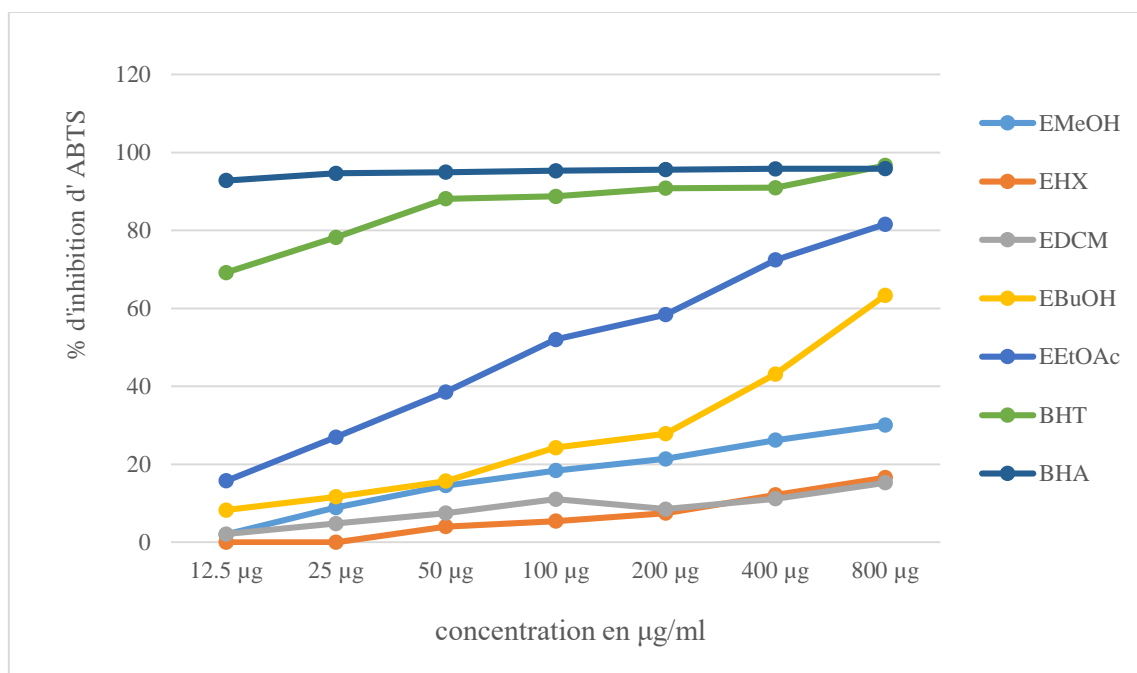


Figure 39 : Courbes de pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS en fonction des différentes concentrations des extraits de champignon *P. eryngii*.

D'après la figure (39) des pourcentages d'inhibitions, nous observons que le taux d'inhibition augmente en fonction de l'augmentation de la concentration des extraits. A

concentration 800 µg/ml, les résultats montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle représente une activité antiradicalaire avec un pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport aux autres extraits (81.59±1.32 %) avec un IC₅₀ (99.51±13.33 µg/ml), en comparant avec les standards BHT (96.68±0.39 %), IC₅₀ (1,29± 0,30 µg/ml), et BHA (95.86±0.10 %), IC₅₀ (1,81±0,10 µg/ml), suivi par l'extrait butanolique avec un pourcentage d'inhibition moyen (63.38±1.03 %). Les extraits méthanolique, d'hexane et dichlorométhane présentent les plus faibles pourcentages d'inhibition par rapport aux standards.

Les résultats ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait butanolique ont donné une faible activité inhibitrice du radical ABTS comparativement aux standards, alors que les autres extraits ont été inactifs vis-à-vis ce test.

3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Le Test de Capacité de Réduction du Cuivre Antioxydant (CUPRAC) est une méthode de mesure du potentiel antioxydant utilisé pour une grande variété de polyphénols, incluant les acides phénoliques, hydroxyl cinnamiques, flavonoïdes, caroténoïdes, anthocyanes, ainsi que les thiols et antioxydants synthétiques, les vitamines C et E (Özyürek et al., 2011). Dans l'essai CUPRAC, les résultats sont représentés par A_{0,5} correspondant à la concentration par rapport à l'absorbance 0.5 dans le tableau (08) et la figure (40) :

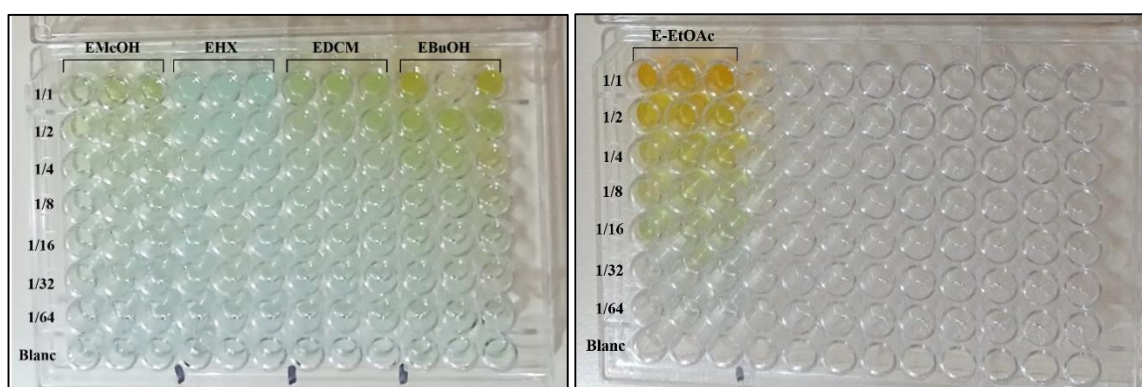


Figure 40 : Les plaques de dosage de l'activité réductrice de CUPRAC des extraits du *P. eryngii*.

Tableau 08 : Absorbances et valeurs des $A_{0.5}$ de l'activité réductrice du de CUPRAC par les extraits de *P. eryngii* et les standards.

Concentration (µg/ml)	Absorbances (nm)							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	$A_{0.50}$ (µg/mL)
EMeOH	0.07±0.01	0.08±0.01	0.10±0.01	0.12±0.02	0.17±0.03	0.25±0.03	0.29±0.05	ND
EHX	0.12±0.01	0.20±0.01	0.27±0.00	0.36±0.01	0.52±0.01	0.65±0.00	0.84±0.03	>200
EDCM	0.07±0.01	0.13±0.01	0.21±0.01	0.29±0.01	0.48±0.02	0.73±0.01	1.09±0.02	>200
EBuOH	0.09±0.00	0.11±0.00	0.17±0.01	0.26±0.01	0.39±0.01	0.70±0.01	1.07±0.07	>200
EEtOAc	0.15±0.02	0.15±0.06	0.31±0.02	0.45±0.04	0.76±0.07	1.47±0.13	2.65±0.11	114.83±3.38
BHA	1.12±0.05	1.95±0.31	3.14±0.46	3.58±0.42	3.35±0.20	3.77±0.19	3.92±0.13	5.35±0.71
BHT	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec \pm l'écartype.
NA : non absorbance, ND : non déterminé.

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe des absorbances en fonction des concentrations des d'extraits et des standards (figure 41)

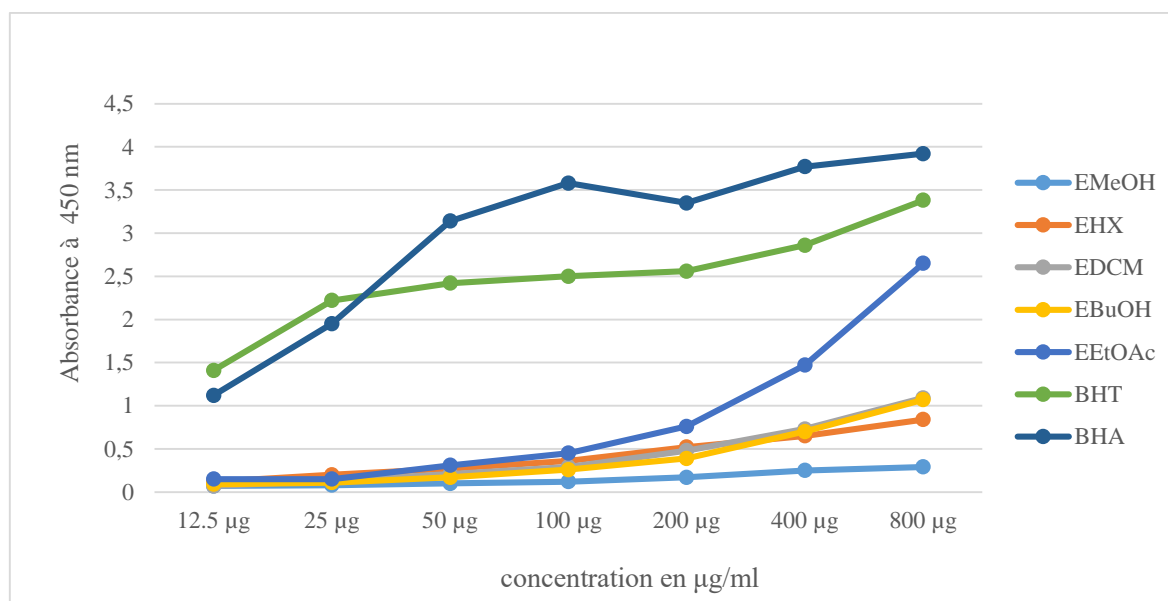


Figure 41 : Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des extraits obtenus par le test CUPRAC.

D'après les résultats présentés dans la Figure 41, nous observons que l'absorbance augmente en fonction de l'augmentation de la concentration des extraits. A une concentration 800 µg/ml on observe que l'extrait d'acétate d'éthyle possède une activité inhibitrice du complexe cuivre-néocuproïne avec une absorbance élevée (2.65 ± 0.11 nm) par rapport aux

autres extraits mais inférieure à celle des standards, BHA (3.92 ± 0.13 nm) et BHT (3.38 ± 0.13 nm), suivi par l'extrait dichlorométhane (1.09 ± 0.02 nm), butanolique (1.07 ± 0.07 nm) puis l'extrait d'hexane (0.84 ± 0.03 nm). L'extrait méthanolique présente l'activité inhibitrice la plus faible (0.29 ± 0.05 nm).

L'extrait d'acétate d'éthyle présent une faible activité réductrice du cuivre ($A_{0.5} = 114.83 \pm 3.38$ µg/ml) par rapport à celle des standards BHA (5.35 ± 0.71 µg/ml) et BHT (8.97 ± 3.94 µg/ml) mais élevée par rapport aux autres extraits. Cependant, les extraits d'hexane, dichlorométhane et butanolique présentent des très faibles activités réductrices du complexe cuivre-néocuproïne avec des $A_{0.5} > 200$ µg/ml. Alors que l'extrait méthanolique est inactif dont le pouvoir réducteur n'atteint même pas 50%.

3.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺ phénanthroline

Ce test se base sur une réaction d'oxydoréduction, les ions Fe³⁺ associés au phénanthroline vont être réduits en présence d'un antioxydant en fer ferreux donnant un complexe Fe²⁺-phénanthroline de couleur rouge orange. Cette réduction est déterminée par la mesure des valeurs de $A_{0.5}$ des extraits et de celles des standards. La réduction du fer par la méthode phénanthroline pour les extraits est représenté dans le tableau (09) et la figure (42).

Tableau 09 : Absorbances et valeurs des $A_{0.5}$ de l'activité réductrice du phénanthroline par les extraits de *P. eryngii* et les standards.

Concentration (µg/ml)	Absorbances (nm)							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	$A_{0.5}$ µg/mL
Extraits								
EMeOH	0.23±0.01	0.24±0.04	0.22±0.02	0.23±0.01	0.24±0.01	0.25±0.04	0.29±0.04	ND
EHX	0.23±0.01	0.20±0.02	0.21±0.02	0.22±0.01	0.28±0.02	0.29±0.01	0.39±0.03	ND
EDCM	0.23±0.01	0.22±0.01	0.21±0.01	0.21±0.01	0.23±0.01	0.27±0.01	0.39±0.03	ND
EBuOH	0.22±0.02	0.24±0.02	0.24±0.02	0.23±0.01	0.24±0.01	0.30±0.03	0.37±0.01	ND
EEtOAc	0.24±0.01	0.28±0.01	0.30±0.00	0.31±0.00	0.35±0.01	0.37±0.01	0.60±0.01	151.39±2.37
Standards								
Concentration (µg/ml)	0.78125 µg	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	$A_{0.5}$ µg/mL
BHA	0.49±0.01	0.59±0.01	0.73±0.02	0.93±0.01	1.25±0.04	2.10±0.05	4.89±0.06	0.93±0.07
BHT	0.47±0.01	0.47±0.01	0.53±0.03	1.23±0.02	1.84±0.01	3.48±0.03	4.84±0.01	2.24±0.17

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.
NA : non absorbance, ND : non déterminé.

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe des absorbances en fonction des concentrations des extraits (figure 42).

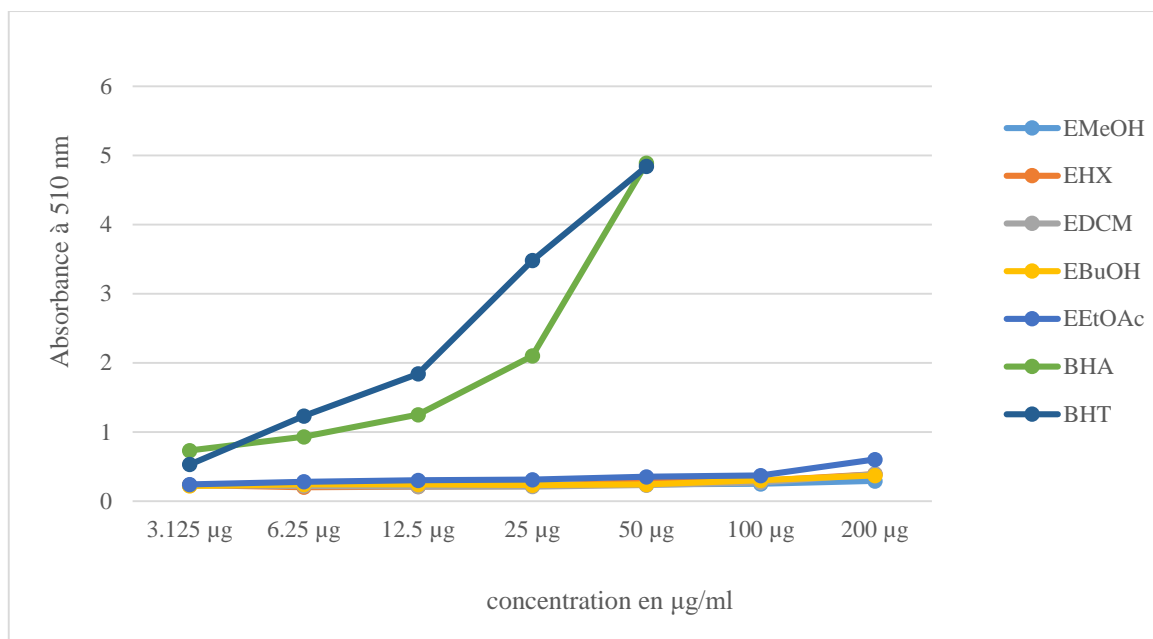


Figure 42 : Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des extraits obtenus par le test phénanthroline.

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits sont incapables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} – phénanthroline, en comparant les résultats avec les standards, sauf l'extrait d'acétate d'éthyle révèle une faible capacité réductrice avec $A_{0,5}=151.39\pm 2.37$ µg/ml, ce pouvoir réducteur reste très faible par rapport à celui des standards BHA et BHT, $A_{0,50}=0,93\pm 0,07$ et $2,24\pm 0,17$ µg/ml, respectivement.

3.5. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test FRAP a été réalisé sur les différents extraits du champignon *P. eryngii*. Il est basé sur la réduction des ions Fe^{3+} du ferricyanure en Fe^{2+} pour donner le ferrocyanure avec l'apparition d'une couleur bleu-vert. L'activité du pouvoir réducteur FRAP est évaluée en mesurant les valeurs de $A_{0,5}$ ainsi que par comparaison des extraits avec les standards. Les résultats de la réduction du fer par la méthode FRAP pour les extraits sont présentés dans le tableau (10) et la figure (43) :

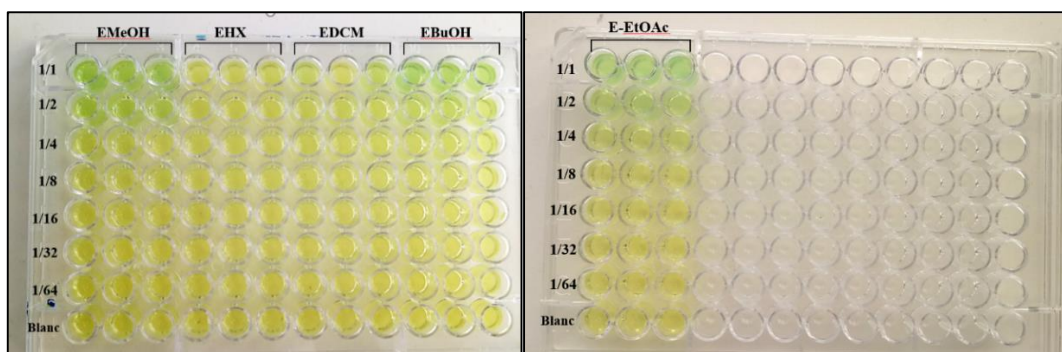


Figure 43 : Les plaques de dosage de l'activité réductrice de FRAP des extraits du *P. eryngii*.

Tableau 10 : Absorbances et valeurs des $A_{0.5}$ de l'activité réductrice du FRAP par les extraits de *P. eryngii* et les standards.

Concentration (µg/ml)	Absorbance in reducing power assay (nm)							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	$A_{0.5}$ µg/mL
EMeOH	0.05±0.00	0.05±0.00	0.05±0.00	0.06±0.00	0.07±0.02	0.13±0.01	0.18±0,03	ND
EHX	0.05±0.00	0.05±0.01	0.07±0.02	0.08±0.01	0.12±0.00	0.21±0.02	0.28±0,02	ND
EDCM	0.05±0.00	0.05±0.00	0.06±0.00	0.08±0.01	0.12±0.01	0.18±0.02	0.31±0,04	ND
EBuOH	0.06±0.01	0.06±0.00	0.06±0.00	0.08±0.01	0.10±0.02	0.16±0.02	0.31±0,01	ND
EEtOAc	0.05±0.00	0.05±0.01	0.06±0.01	0.09±0.00	0.15±0.01	0.24±0.02	0.51±0,00	198.09±3.10
acide Ascorbique	0.35±0.05	0.46±0.03	0.84±0.12	0.93±0.30	1.18±0.34	1.37±0.20	1.44±0,21	6.77±1.15
α-Tocopherol	0.11±0.00	0.16±0.00	0.21±0.03	0.35±0.03	0.73±0.03	1.37±0.08	1.81±0,09	34.93±2.38

Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) avec ± l'écartype.
 NA : non absorbance, ND : non déterminé.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes relatives pour chaque extrait (Figure 44).

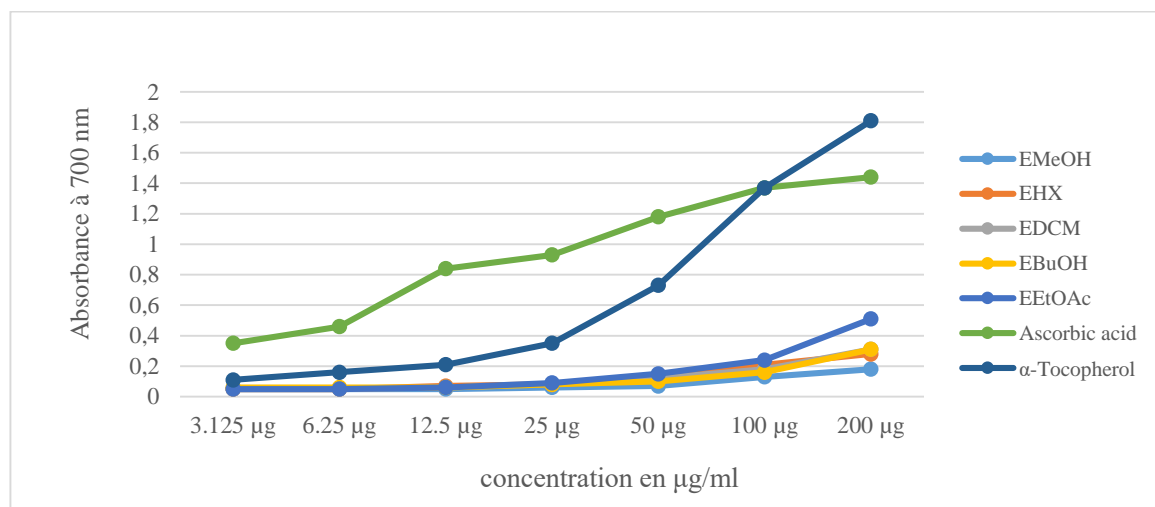


Figure 44 : Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des extraits obtenus par le test FRAP.

L'analyse statistique des résultats manifeste une relation proportionnelle entre les absorbances et leurs concentrations. Plus l'absorbance est élevée, plus le pouvoir réducteur est important. A une concentration de 200 mg/mL, on observe que l'extrait d'acétate d'éthyle possède une activité réductrice élevée par rapport à celle des autres extraits avec une absorbance ($0.51 \pm 0,00$ nm), mais reste très faible par rapport aux standards : acide Ascorbique ($1.44 \pm 0,21$ nm) α -tocophérol ($1.81 \pm 0,09$ nm).

A partir de ces résultats, on constate que l'extrait d'acétate d'éthyle a une capacité réductrice des ions Fe^{3+} très faible avec $A_{0.5} = 198.09 \pm 3.10$ comparativement à celle des standards, l'acide ascorbique avec $A_{0.5} = 6,77 \pm 1,15$ $\mu\text{g/ml}$ et l'alpha-tocophérol avec $A_{0.5} = 34,93 \pm 2,38$ $\mu\text{g/ml}$. Les autres extraits sont inactifs.

4. Activité anti-enzymatique *in vitro*

L'activité inhibitrice des extraits de *P. eryngii* est évaluée contre l'uréase

4.1. Inhibition de l'uréase

Dans la présente étude, l'activité inhibitrice des extraits de *P. eryngii* est évaluée contre l'uréase en mesurant la production d'ammoniac selon la méthode de l'indophenol. Cette méthode est basée sur la réaction de Berthelot, la molécule d'ammoniac se fixe sur une molécule de phénol en présence du chlore formant un complexe de type indophénol qui donne une coloration bleue. Une faible intensité indique un effet inhibiteur important.

L'absence de l'activité est observée par la persistance de la couleur bleue en présence des différentes concentrations des extraits comme montrés dans la figure (45). Ce qui nous amène à conclure que les extraits sont inactifs contre cette enzyme.

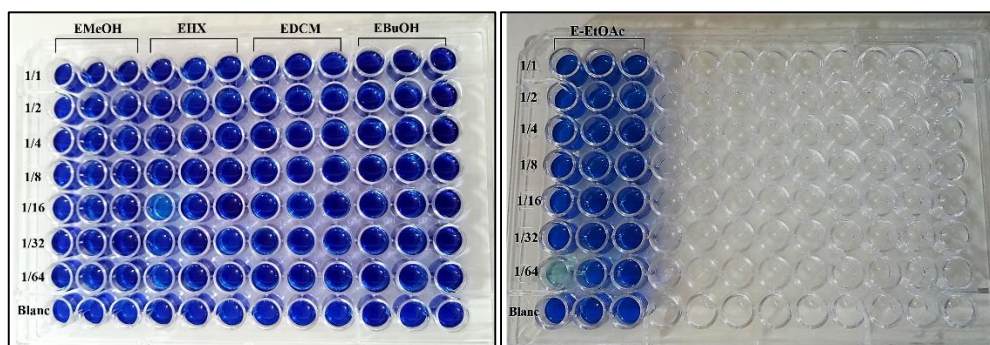


Figure 45 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'uréase des extraits du *P. eryngii*.

5. Conclusion

D'après les résultats des tests d'activités anti-oxydantes sur les différents extraits du champignon *Pleurotus eryngii*, on peut conclure que ce dernier contient de très faible quantité des molécules ayant des d'activités anti-oxydantes, comme par exemple polyphénols et les flavonoïdes, et ces résultats sont convenable avec les résultats du dosage des polyphénols qui ont montré que ce champignon a une faible quantité de ce type de molécules. Nos résultats sont en parfait accord avec les résultats de **Teniou et al, 2022**.

Conclusion et Perspectives

Aujourd'hui, les aliments fonctionnels suscitent un grand intérêt car, en plus de fournir les avantages nutritionnels de base, ils ont un impact positif sur la santé humaine. Les champignons sont aussi actuellement considérés comme des aliments fonctionnels en raison de leur capacité naturelle à accumuler différents types de substances qui permettent d'améliorer leurs propriétés bénéfiques pour la santé et peuvent compléter l'alimentation humaine. Le champignon *Pleurotus eryngii* peuvent être utilisés comme matière première pour la production de compléments alimentaires et pour l'industrie pharmaceutique. La consommation des corps fruités de *P. eryngii* fournit une large gamme de nutriments majeurs et mineurs, et peut donc être traitée comme un aliment fonctionnel pour combattre diverses maladies de carence et la malnutrition.

Pour ces valeurs nutritionnelles nous avons choisit de travailler sur ce champignon comestible sauvage du nord-est d'Algérie (oued athmania), dont nous avons réalisé un dosage des polyphénols totaux et évaluer son activité antioxydante.

Une extraction solide-liquide et liquide-liquide a été effectuée sur 36 g du champignon, en utilisant 5 solvants de différentes polarités, dont nous avons obtenus les rendements suivants pour chaque extrait : méthanolique 7.28 %, d'hexane 2.27 %, butanolique 1.45 %, dichlorométhane 0.9 %, et l'extrait d'éthyle d'acétate qui présente un faible rendement 0.46 %.

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a montré que l'extraits acétate d'éthyle est le plus riche en ces composés par rapport aux autres extraits.

L'évaluation du pouvoir anti-radicalaire et pouvoir réducteur des extraits par les méthodes : DPPH, ABTS, CUPRAC, Phénanthroline et FRAP a montré que tous les extraits sont dénués de l'activité antioxydante sauf l'extrait d'acétate d'éthyle qui a manifesté une activité faible dans tous les tests. Ceci donne l'impression que ces extraits contiennent de très faible quantité des des composés actifs capables de réduire les radicaux libres même à des fortes concentrations.

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude n'est qu'un petit pas dans la recherche de molécules bioactives de *Pleurotus eryngii* ainsi plusieurs perspectives se

présentent à la fin de ce travail pour une future application expérimentale sur les extraits de ce champignon :

- L'utilisation d'autres méthodes d'extraction et d'analyse chimique ;
- La quantification et la caractérisation des métabolites secondaires ;
- L'évaluation d'autres activités biologiques telles que les activités antifongique, antimicrobiennes, antivirales, analgésiques et anti-carcinogènes...

Références

A

- Abe E, Delye SG, Alvarez JC. (2010). Liquid-liquid extraction: theory, applications and difficulties. *Annales de Toxicologie Analytique*, Vol. 22, n° 2, p 51-59.
- Adebayo, E. A., Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Escudero, H., Meneses, M. E., Bonilla, M., (2018). Comparative study of antioxidant and antibacterial properties of the edible mushrooms *Pleurotus levis*, *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* and *P. tuber-regium*. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(5), 1316–1330.
- Adhikamsetty, R.K., Gollapalli, N.R., and Jonnalagadda, S.B. (2008). Complexation kinetics of Fe²⁺ with 1,10-phenanthroline forming ferriin in acidic solutions. *International Journal of Chemical Kinetics*, 40(8), 515-523.
- Adlercreutz, H., Mazur, W. Phyto-oestrogens and Western diseases. *Annales Medicales*, 1997, vol. 29, pp. 95-120.
- Aikens, J., & Dix, T. A. (1991). Peroxy radical (HOO.) initiated lipid peroxidation. The role of fatty acid hydroperoxides. *Journal of Biological Chemistry*, 266(23), 15091-15098.
- Akroum, S. (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.
- AKYUZ, M. et KIRBAG, S. (2010a): Effect of various agro-residues on nutritive value of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel. var. *ferulae* Lanzi. *Tarim Bilimleri Dergisi* 16 (2): 83-88 (Abstract).
- AKYUZ, M. et KIRBAG, S. (2010b): Element contents of *Pleurotuseryngii* (DC. ex Fr.) Quel. var. *eryngii* grown on some various agro-wastes. *Ekoloji* (74): 10-14 (Abstract).
- Alsayari, A., Muhsinah, A. B., Hassan, M. Z., Ahsan, M. J., Alshehri, J. A., & Begum, N. (2019). Aurone: A biologically attractive scaffold as anticancer agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 166, 417-431.
- Amelot, N. (2010). Couplage entre signalisation calcique et modulation du transcriptome en réponse à la cryptogéine chez des cellules de tabac. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Antolovich M, Prenzler D, Patsalides E, McDonald, S Robards. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, Vol. 127, p183-198.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K., and Özyurt, D. (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 12, 1496-1547.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 7970-7981.
- Arif, T., Bhosale, J.D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, S., Dabur, R. Natural products-antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian Natural Product Research*, 2009, vol. 11, pp. 626 - 638.
- Atkinson, E., Hazleton, E. O. A Qualitative Tannin Test. *Biochemical Journal*, 1922, vol. 16, pp. 516-527.

- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng* 117, 426-436.

B

- Bach, F., Helm, C.V., Bellettini, M.B., Maciel, G.M., & Haminiuk, C.W.I. (2017). Edible mushrooms: a potential source of essential amino acids, glucans and minerals. *International Journal of Food Science and Technology*, 52 (11), 2382-2392.
- Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctora, Universit de bamako, p10.
- Baeza, E.; Dessay, C.; Wacrenier, N.; Marche, G.; Listrat, A. Effect of selection for improved body weight and composition on muscle and meat characteristics in Muscovy duck. *Br. Poult. Sci.* **2002**, 43, 560–568.
- Bartosz G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments Toxicol*, Vol. 9, p 5-21.
- Beaudeau, J. L., J. Peynet, D. Bonnefont-Rousselot, P. Therond, J. Delattre and A. Legrand (2006). "[Cellular sources of reactive oxygen and nitrogen species. Roles in signal transcription pathways]." *Ann Pharm Fr* 64(6): 373-381.
- Bechan S, Shweta S, Nikhat J. 2014. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. *Bio med research international*.
- Becker, B. F. (1993). Towards the physiological function of uric acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(6), 615-631.
- Beddou F., 2015: Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid.Tlemcen. Algerie.
- Belanger, M., Dewailly, E., Berthiaume, L., Noel, M., Bergeron, J., Mirault, M. Dietary contaminants and oxidative stress in induit of nunavik. *Metabolism*, 2006, vol. 55, pp. 989- 995.
- Benabdelkader, T., 2012. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de doctorat en Biologie et écophysiologie végétale
- Benaissa O., 2011 : Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*, Thèse Doctorat, université Mentouri. Constantine. P : 63
- Bhat, S.V& Nagasampagi, B.A. (2005). Sivakumar, M. *Chemistry of Natural Products*. Narosa, New Delhi, India.

- Biscaia, S.M.P., Carbonero, E.R., Bellan, D.L., Borges, B.S., Costa, C.R., Rossi, G.R., Gonçalves, J.P., Melo, C.M., Lívero, F.A.R., Ruthes, A.C., Zotz, R., Silva, E.V., Oliveira, C.C., Acco, A., Nader, H.B., Chammas, R., Iacomini, M., Franco, C.R.C., & Trindade, E.S. (2017). Safe therapeutics of murine melanoma model using a novel antineoplastic, the partially methylated mannogalactan from *Pleurotus eryngii*. *Carbohydrate Polymers*, 178 (15), 95-104.
- Bisson, J. (2012). Développements méthodologiques en chromatographie de partage : Application aux stilbénoides [These de doctorat, Bordeaux 2].
- Biswas, S., A. S. Chida and I. Rahman (2006). "Redox modifications of protein-thiols: emerging roles in cell signaling." *Biochem Pharmacol* 71(5): 551-564.
- Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.
- Bohlmann, J., & Keeling, C. I. (2008). Terpenoid biomaterials. *The Plant Journal*, 54(4), 656-669.
- Boucherle, B., Peuchmaur, M., Boumendjel, A., & Haudecoeur, R. (2017). Occurrences, biosynthesis and properties of auronones as high-end evolutionary products. *Phytochemistry*, 142, 92-111.
- Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of alkaloids : A review. *Asian Journal of Botany*, 1(1), 1–6.
- Brouillard R, 1986. The flavonoids *Advances. Research science*: 525-538 p.
- Bruneton, J. *Pharmacognosie, Phytochimie - Plantes médicinales- Techniques et documentations*, 3ème Edition, Lavoisier, (1999), 1120 pages.
- Bruneton, J. (2009). Menthe in: *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 4e éd., Tec & Doc, Paris (pp. 631-638).
- Bruneton, J . (2015). *Eléments de phytochimie et de pharmacognosie*, .5e éd. Éditions Technique et Documentation. Lavoisier, Paris, pp 1147- 1148.
- Burda S, Oleszek W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric.Food Chem*, Vol.49, n° 6, p 2774-2779.
- Buyck, B. et Polese, J. M. 2014. *Le petit traité rustica : Des champignons*. Rusticaédition. 139p.

C

- Cadet, J., T. Delatour, T. Douki, D. Gasparutto, J.-P. Pouget, J.-L. Ravanat and S. Sauvaigo (1999). "Hydroxyl radicals and DNA base damage." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 424(1): 9-21.
- Cao, D., Liu, Z., Verwilst, P., Koo, S., Jangjili, P., Kim J.S. and Lin, W. Coumarin-Based Small-Molecule Fluorescent Chemosensors. (2019). *Chem. Rev.* 119, 18, 10403–10519.
- Causse, C. (2004). *Les secrets de santé des antioxydants : Plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants*. Alpen Editions s.a.m.

- Ceriello, A., P. dello Russo, P. Amstad and P. Cerutti (1996). "High glucose induces antioxidant enzymes in human endothelial cells in culture. Evidence linking hyperglycemia and oxidative stress." *Diabetes* 45(4): 471-477.
- CHELGHOUM, F. (2015). Extraction de la catéchine à partir du thé vert et étude de son activité antioxydante [PhD Thesis].
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissède, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75–82.
- Chung, K.T., Wei, C.I., Johnson, M.G. (1998). Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends Food Sci.* (9) : 168-175.
- Cohen, N., Cohen, J., Asatiani, MD., Varshney, V.K., Yu, H.T., Yang, Y.C., Li, Y.H., Mau, J.L., & Wasser, SP. (2014). Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal higher Basidiomycetes mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16 (3), 273-291.
- Collins CM, D’Orazio SE. *Mol Microbiol.* 1993;9:907–913.
- Contreras-Guzmán, E. S., & Strong III, F. C. (1982). Determination of tocopherols (vitamin E) by reduction of cupric ion. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 65, 1215- 1226
- Cooke, M., Evans, M., Dizdaroglu, M., Lunec, J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal*, 2003, vol. 17, pp. 1195-1214.
- Cowan, M.M. *Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical and Microbiological Research*, 1999, vol. 12, pp. 564- 582.
- Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.* Edt Blackwell Publishing Ltd. (2006).
- Crozier, A., Jaganath I.B., Clifford, M.N. *Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. Natural Product Rep*, 2009, vol. 26, pp. 1001-1043.

D

- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R et al. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annals Ist Super Sanita*, 2007, vol. 43, pp. 348-361.
- Dai, J. and Mumper, R.J. (2010) *Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties.* *Molecules*, 15, 7313-7352.
- Dai, Y.; Sun, L.; Yin, X.; Gao, M.; Zhao, Y.; Jia, P.; Yuan, X.; Fu, Y.; Li, Y. *Pleurotus eryngii Genomes Reveal Evolution and Adaptation to the Gobi Desert Environment.* *Front. Microbiol.* 2019, 10, 2024.
- Davies, M. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2003, vol. 305, pp. 761-770.

- Deaton, C. M., & Marlin, D. J. (2003). Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(3), 278-291.
- Dehak K., 2013 : Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles. Université Kasdi Merbah. Ouargla.
- Delmas J., 1989. Les champignons et leur culture. Culture actuelle et potentielle des champignons supérieurs. La Maison Rustique, 940.
- Démarchez, M. (2012, juin 16). Le stress oxydant cutané.
- Dewick P. M. (2002) *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. Second Edition. Chichester – New York: John Wiley et Sons Ltd, 507p.
- Dinesh, C., Yang-chang Wu., Hsin Sheng Tasy (2017). *Medicinal Plants and Fungi*. Edition Springer, taichung taiwan, pp50-51.
- Dixon N.E., Gazzola C., Blakeley R.L., Zerner B. Jack-Bean Urease (Ec 3.5.1.5) - Metalloenzyme - Simple Biological Role for Nickel. *J. Am. Chem. Soc.* 1975 ; 97 : 4131–4133.
- Dridi, D. (2015). Synthèse de dérivés coumariniques d'intérêts biologiques et antioxydants [PhD Thesis]. Université de Lorraine.

E

- Egan, D., O'kenney, R., Moran, E., Cox, D., Prosser, E., Thornes, R. D. *The Pharmacology, Metabolism, Analysis, and Applications of Coumarin and Coumarin-Related Compounds*. (1990), drug metabolism review, 22(5) : 503-529.
- El-Zahabi, H. S., Abdulwahab, H. G., Edrees, M. M., & Hegab, A. M. (2019). Utility of anthranilic acid and diethylacetylenedicarboxylate for the synthesis of nitrogenous organo/organometallic compounds as urease inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 352(7), 1800314.
- Everette JD, Bryant QM, Green AM, Abbey YA, Wangila GW. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58(14):8139–8144.

F

- Farkas O, Jakus J, Heberger K. Quantitative structure–antioxidant activity relationships of flavonoid compounds. *Molecules*. 2004 ;9(12) :1079—1088.
- Ferreira ICFR, Barros L, Abreu RMV. Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*. 2009; 16:1543—1560.
- Ferrer, P., Asensi, M., Segarra, R., Ortega, A., Benlloch, M., Obrador, E., Varea, M. T., Asensio, G., Jorda, L., Estrela, J. M. Association between pterostilbene and quercetin inhibits metastatic activity of B16 melanoma. *Neoplasia*, 2005, vol. 7, pp. 37-47.

- Floc'h F., Mauger F. and Desmurs J. R. (2002). Coumarin in plants and fruits. *Perfumer and flavorist*, 27 (2), 32-36
- Floegel A., Kim D.-O., Chung S.-J., Koo S.I., Chun O.K., 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J. Food Compos. Anal.*, 24, 1043-1048.
- Foley WJ, Iason GR, McArthur C. Rôle of plant secondary metabolites in the nutritional ecology of mammalian herbivores - how far have we come in 25 years? In: *Nutritional ecology of herbivores: Proceedings of the 5th International Symposium on the Nutrition of Herbivores*. In: Jung, H-JG, Fahey, GC, editors, American Society of Animal Science. Savoy, 1999. 130-209 p.

G

- Galceran J. M. L., 2013. *Cultiuextensiu de la gírgola de panical (Pleurotuseryngii (D.C. : Fr.) Quél.)*. Tesi doctoral Espanya de Creative Commons, 308.
- Gardès-Albert, M. (2006). [Physico-chemical aspects of reactive oxygen species]. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 64(6), 365-372.
- Gasecka, M., Mleczek, M., Siwulski, M., Niedzielski, P., Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. *Eur Food Res Technol* (2016) 242:723–732.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162–169.
- Ghisolfi-Marque, A., M.-J. Boyer, B. Vellas, J.-P. Thouvenot, J.-L. Albarède and J. Ghisolfi (1996). "Activité anti-oxydante, lipoperoxydation et vieillissement chez l'homme." *Nutrition Clinique et Métabolisme* 10(3) : 151-160.
- Girotti - Chanu, C. Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *mirotea de bilis*. Thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon, 2006, pp. 136.
- Glatz, Z. (2006). Determination of enzymatic activity by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*. 841, 23-37.
- Golak-Siwulska, I., Kałuzewicz, A., Spizewski, T., Siwulski, M., & Sobieralski, K. (2018). Bioactive compounds and medicinal properties of Oyster mushrooms (*Pleurotus sp.*). *Folia Horticulturae*, 30(2), 191–201.
- Gomez-Correa, R.C., Brugnari, T., Bratch, A., Peralta, R. M., Ferreira, I. C. F. R., 2016. Biotechnological: nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus spp.* (oyster mushroom) related with its chemical composition: a review on the past decade finding. *Trends Food Sci. Technol.* 50, 103-117.
- Grek, C.L., Tew, K.D. Redox metabolism and malignancy. *Current Opinion in Pharmacology*, 2010, vol. 10, pp. 362-368.
- Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, 14(6), 509-516 (1).

- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345-391.

H

- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J., Charlier, C., Chapelle, J. Oxidative stress. *Revue Medicale de Liège*, 2007, vol. 62, pp. 628-638.
- Hanif M, Saleem M, Hussain MT, et al. *J Braz Chem Soc.* 2012;23:854–860.
- Harbone J B, 1967. Comparative biochemistry of the flavonoides. Academic press. New York, 1-130 p.
- Harbone J B, Grayer R J, 1988. The flavonoids, *Advances. Research science*: 1-20 p.
- Harborne, J. B., & Herbert B. (1995). *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Bristol: Taylor & Francis
- Harkati, B. (2011). Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : *Scorzonera Undulata*. Thèse de doctorat Université Mentouri Constantine.
- Harrison, D., K. K. Griendling, U. Landmesser, B. Hornig and H. Drexler (2003). "Role of oxidative stress in atherosclerosis." *Am J Cardiol* 91(3a): 7a-11a.
- Haslam, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs : possible modes of action. *Journal of Natural Products*, 1996, vol. 59, pp. 205- 215.
- Hawkins, B. J., M. Madesh, C. J. Kirkpatrick and A. B. Fisher (2007). "Superoxide flux in endothelial cells via the chloride channel-3 mediates intracellular signaling." *Mol Biol Cell* 18(6): 2002-2012.
- Hazout, A., Y. Menezes, P. Madelenat, C. Yazbeck, J. Selva and P. Cohen-Bacrie (2008). "[Causes and clinical implications of sperm DNA damages]." *Gynecol Obstet Fertil* 36(11): 1109-1117.
- Hemingway RW. Structural variations in proanthocyanidins and their derivatives. In *Chemistry and significance of condensed tannins*. Springer, Boston, MA. 1989. 83-107 p
- Hesse, M. (2002). *Alkaloids : Nature's Curse Or Blessing?* John Wiley & Sons.
- Hibbett, D. D., R. Bauer, M. Binder, A.J. Giachini, K. Hosaka, A. Justo, E. Larsson, K.H. Larsson, J.D. Lawrey, O. Miettinen, L. Nagy, R.H. Nilsson, M. Weiss, and R.G. Thorn. 2014. Agaricomycetes. Pp. 373-429 In: *The Mycota*, vol. VII, Second Ed., Part A. *Systematics and Evolution* (D. J. McLaughlin and J. W. Spatafora, eds.). Springer Verlag
- Higuchi, M. (2014). Chapter 15—Antioxidant Properties of Wheat Bran against Oxidative Stress. In R. R. Watson, V. R. Preedy, & S. Zibadi (Éds.), *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health* (p. 181-199).
- HILBER, O. (1982). Die Gattung *Pleurotus* (Fr.) Kummer unter besonderer Berücksichtigung des *Pleurotus eryngii* Formenkomplexes. Ed. Cramer J., Vaduz.
- Hinderer, W., & Seitz, H. U. (1988). Flavonoids. In *Phytochemicals in Plant Cell Cultures* (p. 23-48)

- Holton, T. A., Brugliera, F., & Tanaka, Y. (1993). Cloning and expression of flavonol synthase from *Petunia hybrida*. *The Plant Journal*, 4(6), 1003-1010.
- Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, pp 280.
- Hu, Q., Yuan, B., Wu, X., Du, H., Gu, M., Han, Y., Xiao, H. (2019). Dietary Intake of *Pleurotus eryngii* Ameliorated Dextran Sulfate sodium-induced Colitis in Mice. *Molecular Nutrition & Food Research*. 1801265.
- Hunt, C. R., J. E. Sim, S. J. Sullivan, T. Featherstone, W. Golden, C. Von Kapp-Herr, R. A. Hock, R. A. Gomez, A. J. Parsian and D. R. Spitz (1998). "Genomic instability and catalase gene amplification induced by chronic exposure to oxidative stress." *Cancer Res* 58(17): 3986-3992.

K

- Kalac, P.A. (2013). Review of chemical composition and nutritional value of wildgrowing and cultivated mushrooms *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 209-218.
- Karagözler A, Erdag B, CalmazEmek Y. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, Vol. 111, n°2, p400- 407.
- Karplus PA, Pearson MA, Hausinger RP. *Acc Chem Res*. 1997; 30: 330–337.
- Kawai, G., Babasaki, K., Neda, H. (2008): Taxonomic position of a chinese pleurotus "Bai-Ling-Gu": it belongs to *Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quel. and evolved independently in China. *Mycoscience* 49 (1): 75-87.
- Kayama, Y., U. Raaz, A. Jagger, M. Adam, I. Schellinger, M. Sakamoto, H. Suzuki, K. Toyama, J. Spin and P. Tsao (2015). "Diabetic Cardiovascular Disease Induced by Oxidative Stress." *International journal of molecular sciences* 16: 25234-25263.
- Khadhri, A., Mokni, E.R and Smiti, S. (2013). Composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu : *Atractylis gummifera*. *Sci Nat*. 39:44-52.
- Khan, M. A., & Tania, M. (2012). Nutritional and medicinal importance of *Pleurotus* mushrooms: An overview. *Food Reviews International*, 28(3), 313–329.
- Khoudali, S., Benmessaoud, D., Essaqui, A., Zertoubi, M., & Azzi, M. (2014). Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5(3) : 887-898.
- Kim M, Seguin P, Ahn J, Kim J, Chun S, Kim E, Seo S, Kang E, Kim S, Park Y, Ro H, Chung I. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008 ; 56 :7265—7270.
- Koné, K. P. F. O. (2018). Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes

- antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique Felix Houphoët Boigny-Yamoussoukro, 239p.
- König, M., Seholz, E., Hartmann, R., Lehmann, W., Rimpler, H. (1994). Ellagitannins and complex tannins from *Quercus patrae* bark. *Journal of Natural Product*. 57: 1411-15.
 - Koutrotsios, G.; Kalogeropoulos, N.; Kaliora, A.C.; Zervakis, G.I. Toward an increased functionality in oyster (*Pleurotus*) mushrooms produced on grape marc or olive mill wastes serving as sources of bioactive compounds. *J. Agric. Food Chem.* 2018, 66, 5971–5983.
 - Kovacs, A., Vasas, A., Hohmann, J. Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry* 69 (2008) 1084–1110.
 - Kozarski M, Klaus A, Vunduk J, Zizak Z, Niksic M, Jakovljevic D, Vrvic MM, Van Griensven LJLD. Nutraceutical properties of the methanolic extract of edible mushroom *Cantharellus cibarius* (Fries): Primary mechanisms. *Food & Function*. 2015a ; 6(6):1875—1886.
 - Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées [PhD Thesis]. Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
 - Kruidenier, L., Verspaget H.W. Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous? *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2002, vol. 16, pp. 1997-2015.
 - Kuchake, V. and C. D. Dr (2011). "Evaluation of protective effect of antioxidant vitamins in patients with diabetic nephropathy." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 4: 52-54.

L

- Lacolley, patrick, Babuty, D., Boulanger, chantal, & Ghaleh, bijan. (2008). *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux*. John Libbey Eurotext.
- Lake B.G. (1999) .Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: relevance for human risk assessment. *Food And Chemical Toxicology*, 37(4), 423-53
- Li, S. and Nagendra, P. Shah. Effects of Various Heat Treatments on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of *Pleurotus eryngii* Extracts. 2013. *Journal of Food Science* 78, 8 : 1122-1129.
- Li, X., Feng, T., Zhou, F., Zhou, S., Liu, Y., Li, W., Ye, R., & Yang, Y. (2015). Effects of drying methods on the tasty compounds of *Pleurotus eryngii*. *Food Chemistry*, 166, 358-364.
- Lochmann, D.; Richardson, T. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. In *Antidepressants: From Biogenic Amines to New Mechanisms of Action*; Macaluso, M., Preskorn, S.H., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2019; pp. 135–144.

M

- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Sarni-Manchado, P. Composés phénoliques dans la plante Structure, biosynthèse, répartition et rôles. Les polyphénols en agroalimentaire. Paris, Lavoisier, 2006, pp. 1-28.
- Madi, A., 2018. Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*. Thèse de doctorat Biotechnologie Végétale.
- Malik, M. G. (2009). Vers la Synthèse Totale d'Ellagitannins C-arylglucosidiques Une Approche Biomimétique Visant la Vescaline [PhD Thesis, Université Bordeaux 1].
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- Mansour-Djaalab H. Evaluation chimique et activité antidermatophyte de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de doctorat en sciences, Université de Constantine 1, Algérie, 2014. 161 p.
- Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V., I Pizzoferrato, L. (1999): Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study. *Food Chemistry* 65:477-482.
- Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A., I Pizzoferrato, L. (2004): Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry* 84:201-206.
- Martens, S., & Mithöfer, A. (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*, 66(20), 2399-2407.
- Marnett, L. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 2000, vol. 21, pp. 361-370.
- Masoko P, Mokgotho MP, Mbazima VG, Mampuru LJ. Biological activity of *Typha capensis* (Typhaceae) from Limpopo Province (South Africa). *African Journal of Biotechnology*. 2008;20: 3743—3748.
- Mates, J. M. (2000). "Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology." *Toxicology* 153(1-3) : 83-104.
- Mates, J. M., C. Perez-Gomez and I. Nunez de Castro (1999). "Antioxidant enzymes and human diseases." *Clin Biochem* 32(8): 595-603.
- Mau, J. Lin, Y. P., Chen, P. T., Wu, Y. H., et Peng, J. T. (1998). Flavor compounds in king oyster mushrooms *pleurotus erynjii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4587-4591.
- Maublanc A., 1976. Les champignons comestibles et vénéneux, 6eme Edition, Le Chevalier ; 107p.
- Mentşe, M.Y.; Bayrak, H.; Uygun, Y.; Mermer, A.; Ulker, S.; Karaoglu, S.A.; Demirbas, N. Microwave Assisted Synthesis of Some Hybrid Molecules Derived from Norfloxacin and Investigation of their Biological Activities. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2013, 67, 230–242.

- Menvielle-bourg, F. J. (2005). Original article Superoxide Dismutase (SOD), a Powerful Antioxidant, is now available Orally.
- Mérillon J.M., Fauconneau B., Waffo Teguo P., Barrier L., Vercauteren J and Huguet F. (1997). Antioxidant activity of the stilbene Astringin, newly extracted from *Vitis vinifera* cell cultures. *Clinical chemistry*. 43: 1092-1093.
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- Miller, N.J., Diplock, A.T., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*.84:407- 412.
- Mobley H, Hausinger R. *Microbiol Rev*. 1989;53:85–108.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26, 211- 219.
- Monnier G. & Courtecuisse R., 1997. Guide de poche des champignons. Delachaux et Nieste, 88p.
- Montecucco C, Rappuoli R. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2:457–466.
- Monteiro, G., Horta, B. B., Pimenta, D. C., Augusto, O., & Netto, L. E. S. (2007). Reduction of 1-Cys peroxiredoxins by ascorbate changes the thiol-specific antioxidant paradigm, revealing another function of vitamin C. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(12), 4886-4891.
- Moore, R.T. Taxonomic Proposals for the Classification of Marine Yeasts and Other Yeast-like fungi including the Smuts [1980]. *AGRIS* 2013, 23, 361–373
- Morel S, Arnould S, Vitou M, Boudard F, Guzman C, Poucheret P, Fons F, Rapior S. Antiproliferative and antioxidant activities of wild Boletales mushrooms from France. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2018;20(1):13—29.
- Moumen, R., Nouvelot, A., Duval, D., Lechevalier, B., Viader, F. Plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurological Sciences*, 1997, vol. 151, pp. 35-39.
- Muanda FN. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, France. 2010. 294 p.
- Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992–999.

N

-
- Nacoulma, A.P. (2012). Reprogrammation métabolique induite dans les tissus hyperplasiques formés chez le tabac infecté par *Rhodococcus fascians*: aspects fondamentaux et applications potentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles Europe. Belgique.

- Nait Achour, K. (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de Tizi ousou. Mémoire de magister en biologie, Université de Mouloud Mameri Tizi Ouzou.
- Neužil, J., & Stocker, R. (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Letters*, 331(3), 281-284. Kuchake, V. and C. D. Dr (2011). "Evaluation of protective effect of antioxidant vitamins in patients with diabetic nephropathy." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 4: 52-54.
- Nie, Y., Zhang, P., Deng, C., Xu, L., Yu, M., Yang, W., Zhao, R., Li, B. Effects of *Pleurotus eryngii* (mushroom) powder and soluble polysaccharide addition on the rheological and microstructural properties of dough. *Food Sci Nutr.* (2019) ; 7: 2113–2122.
- Ng, T.B.; Wang, H.X. A novel ribonuclease from fruiting bodies of the common edible mushroom *Pleurotus eryngii*. *Peptides* **2004**, 25, 1365–1368.

O

- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.
- Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Celik, S. E., Baki, S., Yıldız, L., Karaman, Ş., & Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical methods*, 3(11), 2439–2453.

P

- Paduch, R., Kandefer-Szerszeń, M., Trytek, M., & Fiedurek, J. (2007). Terpenes : Substances useful in human healthcare. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 55(5), 315.
- Park, Y.-S.; Jang, S.; Lee, H.; Kang, S.; Seo, H.; Yeon, S.; Lee, D.; Yun, C.-W. Identification of the Antidepressant Function of the Edible Mushroom *Pleurotus eryngii*. *J. Fungi* 2021, 7, 190.
- Pegler D, 1999. Easy edible Mushroom guide. Arum Press Ltd, London, pp132- 137.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., and Brighenti, F. (2003). Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different *In Vitro* Assays. *Journal of Nutrition*. 133, 2812-2819.
- Pereira, D., Valentão, P., Pereira, J., Andrade, P., 2009. Phenolics: From chemistry to biology. *Molecular Diversity Preservation International*
- Perez-Vizcaino F, Duarte J. Flavonols and cardiovascular disease. *Molecular Aspects of Medicine*. 2010 ;31(6) :478—494.

- Peterson, J., Dwyer, J., Adlercreutz, H., Scalbert, A., Jacques, P. & McCullough, M. L. (2010). Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction. *Nutr. Rev.* 68(10):571–603.
- Pincemail, J. Comment évaluer votre état de stress oxydant ? *Journal de Santé*, 2004, pp. 2-4.
- Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food. Chem.*, 53: 4290-302.

Q

- Qiuhui Hu, Biao Yuan, Hang Xiao, Liyan Zhao, Xian Wu, Kanyasiri Rakariyatham, Lei Zhong, Yanhui Han, Benard Muinde Kimatu and Wenjian Yang. Polyphenols-rich extract from *Pleurotus eryngii* with growth inhibitory of HCT116 colon cancer cells and anti-inflammatory function in RAW264.7 cells. *Food Funct.*, 2018, 9, 1601–1611
- Qiuhui Hu, Hengjun Du, Gaoxing Ma, Fei Pei, Ning Ma, a Biao Yuan, Paul A. Nakatac and Wenjian Yang. Purification, identification and functional characterization of an immunomodulatory protein from *Pleurotus eryngii*. 2018. *Food Funct*, 9, 3764–3775.

R

- Rathore, H., Prasad, S., & Sharma, S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. *Pharma Nutrition*, 5 (2) : 35-46.
- Raut, N. A., Dhore, P. W., Saoji, S. D., & Kokare, D. M. (2016). Chapter 9—Selected Bioactive Natural Products for Diabetes Mellitus. In Atta-ur-Rahman (Éd.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 48, p. 287-322).
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.
- Reichheld, J., Meyer, E., Khafif, M., Bonnard, G., Meyer, Y. AtNTRB is the major mitochondrial thioredoxin reductase in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters*, 2005, vol. 579, pp. 337-342.
- Ren, Z., Li, J., Xu, N., Zhang, J., Song, X., Wang, X., Gao, Z., Jing, H., Li, S., Zhang, C., Liu, M., Zhao, H., & Jia, L. (2017). Anti-hyperlipidemic and antioxidant effects of alkali-extractable mycelia polysaccharides by *Pleurotus eryngii* var. *tuolensis*. *Carbohydrate Polymer*, 175, 282-292.

- Rezaie, A., Parker, R and Abdollahi, M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? *Digestive Diseases and Sciences*, 2007, vol. 52, pp. 2015-2021.
- Ribereau G P, 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p. 1
- Rice-Evans, C. and Miller, N.J. (1994) Total Antioxidant Status in Plasma and Body Fluids. *Methods in Enzymology*, 234, 279-293.
- Rice-Evans, C.A. and Miller, N.J. (1995) Antioxidant—The Case for Fruit and Vegetables in the Diet. *British Food Journal*, 97, 35-40.
- Richard, T., Temsamani, H., Delaunay, J.-C., Krisa, S., & Mérillon, J.-M. (2014). Stilbènes : De la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 173-180.
- Rira, M. (2019). Les tanins hydrolysables et condensés : Une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical [Phdthesis, Université Clermont Auvergne].
- Robertson, R. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet B cells in diabetes. *Journal of Biological chemistry*, 2004, vol. 279, pp. 42361- 43254.
- Rui-Lin Yang, Qin Li & Qing-Ping Hu. Physicochemical properties, microstructures, nutritional components, and free amino acids of *Pleurotus eryngii* as affected by different drying methods (2020). *Scientific Reports*, 10:121

S

- Sahli, R. (2017). Etude phytochimique de quelques plantes extrémophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques [Phdthesis, Université du Droit et de la Santé - Lille II].
- Saka Saad, Bahi Ahlem, Aouacheri Wassila. L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats-*Ann Toxicol Anal. (Française de Toxicologie Analytique)*, 2011; 23 (3): 139-145.
- Santoyo, S., Lloria, R., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F., Reglero, G., 2006. Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. *European Food Research and Technology* 222, 565.
- Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndiaye, B., & Diop, Y. M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263–1269.
- Scalbert, A. and Williamson G. (2000). "Dietary intake and bioavailability of polyphenols." *J Nutr* 130(8S Suppl): 2073S-2085S.
- Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., and Bitsch, R. (2002). Assessment of Antioxidant Activity by Using Different *In Vitro* Methods. *Free Radical Research*, 36, 177-187.

- Sell C. (2010). Chemistry of Essential Oils. Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. Hüsnü C. B. K. et Gerhard B. New York : USA, Taylor & Francis: pp121–150.
- Sena, C. M., A. M. Pereira and R. Seica (2013). "Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease." *Biochim Biophys Acta* 1832(12): 2216-2231.
- Sharma, A., Sharma, A., & Tripathi, A. (2021). Biological activities of *Pleurotus* spp. polysaccharides: A review. *Journal of Food Biochemistry*, 45(6), Article e13748.
- Sies H, Jones D. Oxidative Stress. In: Fink G. Encyclopedia of stress. Elsevier, San Diego. 2007; 45–48.
- Singer R., 1986. The Agaricales in modern taxonomy. 4th E. pp 174-179. Koeltz Scientific Books, Germany.
- Singh V., Ambia L. K., Kaul V. K., Acharya R. « Effect of plant density and multiple harvesting on productivity and quality of scented geranium ». *Indian Perfum.* 2007. Vol. 51, n°1, p. 42.
- Singleton V.L and Rossi J.A.J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58.
- Smyth T., Ramachandran, V.N. and Smyth W.F. (2009). A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33 (5), 421-426.
- Sokmen, B., Onar, C., Yusufoglu, A., Yanardag, R. 2012. Antielastase, antiurease and antioxydant activities of some 3, 13-monohydroxy eicosanoic acid isomers. *J. Serb. Chem. Soc.* 77 (10), 1353-1361
- Sorg, O. (2004). Oxidative stress: A theoretical model or a biological reality? *Comptes Rendus Biologies*, 327(7), 649-662.
- Souchard, J., Arnal, J., Rochette, L. Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. *Techniques en biologie*, 2002, vol. 23, pp. 245 - 257.
- Speroni, E., Cervellati, R., Dall'Acqua, S., Guerra, M.C., Greco, E., Govoni, P., Innocenti, G., 2011. Gastroprotective effect and antioxidant properties of different *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Journal of Medicinal Food* 14, 499-504.
- Stahl, W. and H. Sies (2012). "β-Carotene and other carotenoids in protection from sunlight." *Am J Clin Nutr* 96(5): 1179s-1184s.
- Stajić, M., Vukojević, J., and Duletić-Lausević, S., "Biology of *Pleurotus eryngii* and role in biotechnological processes: a review," *Critical Reviews in Biotechnology*, vol. 29, no. 1, pp. 55–66, 2009.
- Stief, T. W. (2003). The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Medical Hypotheses*, 60(4), 567-572.
- Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, A., Glazer, A., & Ames, B. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235(4792), 1043-1046.
- Sudip P, Sakib H, Tanvir M, Aminul I, Rizwana A, Istiyak A, Moumoni S, Siew H G and Ibrahim K. (2015). Antioxidant Properties of Citrus macroptera Fruit and Its invivo Effects on the Liver, Kidney and Pancreas in Wistar Rats. *International Journal of Pharmacology*, vol .11, n°8, p899-909.
- Suhaj M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Comp. Anal.* Vol.19, p 531–537.

- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., and Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76, 899-905.

T

- Tadeusz. A. (2007). Alkaloids - Secrets of Life, Alkaloid Chemistry, Biological significance, Applications and Ecological Role, Elsevier, pp6-12
- Tadhani MB, Patel VH, Subhash R. (2007). *In vitro* antioxidant activities of *Steviarebaudiana* leaves and callus. *J. Food Comp. Anal*, Vol.20, p 323-329.
- Taha, Muhammad, Ullah, H., Laode Muhammad Ramadhan Al Muqarrabun , Muhammad Naseem Khan , Fazal Rahim , Norizan Ahmat , Muhammad Tariq Javid , Muhammad Ali , Khalid Mohammed Khan, Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular modeling studies, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 26 (2018) 152–160.
- Tengan, C. H. and C. T. Moraes (2017). "NO control of mitochondrial function in normal and transformed cells." *Biochim Biophys Acta Bioenerg* 1858(8): 573-581.
- Teniou Soumia, Bensegueni Abderrahmane, Brooks M. Hybertson, Bifeng Gao, Swapan K. Bose, Joe M. McCord, Benoît Chovelon, Chawki Bensouici, Ahc`ene Boumendjel, Isabelle Hininger-Favier. Biodriven investigation of the wild edible mushroom *Pleurotus eryngii* revealing unique properties as functional food. *Journal of Functional Foods* 89 (2022) 104965.
- Thérond, P., and Blache, D. Cibles lipidiques des radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote - Effets biologiques des produits d'oxydation du cholestérol et des phospholipides. Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier, 2005, pp. 113-146.
- Thompson, L.U., Robb, P Serraino, M., et al. Mammalian lignan production from various foods. *Nutrition and Cancer*, 1991, vol. 16, pp. 43-52.
- Tsai, S. Y., Huang, S. J., Lo, S. H., Wu, T. P., Lian, P. Y., and Mau, J. L. (2009): Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. *Food Chemistry* 113 (2): 578-584.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), pp. 1231-1246.
- Tsiantas, K.; Tsiaka, T.; Koutrotsios, G.; Siapi, E.; Zervakis, G.I.; Kalogeropoulos, N.; Zoumpoulakis, P. On the identification and quantification of ergothioneine and lovastatin in various mushroom species: Assets and challenges of different analytical approaches. *Molecules* 2021, 26, 1832.

V

- Valavanidis, A., & Vlachogianni, T. (2013). Chapter 8 - Plant Polyphenols: Recent Advances in Epidemiological Research and Other Studies on Cancer Prevention. In Attar-Rahman (Éd.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 39, p. 269-295).
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. Cronin, M. Mazur and J. Telser (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease." *Int J Biochem Cell Biol* 39(1): 44- 84.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemical Biological Interaction*, 2006, vol. 160, pp. 1-40.
- Valverde, M. E., Hernandez-Perez, T., Paredes-Lopez, O. (2015). Edible mushrooms: Improving human health and promoting quality life. *International Journal of Microbiology*, 2015, Article 376387
- Vergne, S. (2007). Les isoflavones de soja : Leur biodisponibilité chez l'Homme et leurs effets sur la différenciation d'une lignée ostéoblastique humaine [PhD Thesis]. Bordeaux1.
- Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, 10(14), 1677-1694.
- Vuong, Q. V., Hirun, S., Roach, P. D., Bowyer, M. C., Phillips, P. A., & Scarlett, C. J. (2013). Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. *Journal of herbal medicine*, 3(3), 104–111.

W

- Wang, H., & Murphy, P. A. (2002, mai 1). Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods (world). American Chemical Society.
- Wang, H.; Ng, T.B. Pleureryn, a Novel Protease from Fresh Fruiting Bodies of the Edible Mushroom *Pleurotus eryngii*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, 289, 750–755.
- Wang J, Ho L, Zhao W, Ono K, Rosensweig C, Chen L. (2008). "Grapederivedpolyphenolics prevent Abeta oligomerization and attenuate cognitive deterioration in a mouse model of Alzheimer's disease". *Journale. Neurosci*, Vol.28, p 6388-6392.
- Wolf S. J., Denford K. E. *Biochem. Syst. Ecol.*, 12, 183 (1984).
- Wong S.P., Leong L.P. & William J.H. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry* 99 (4) : 775 -783.
- Wu, S., & Chen, L. (2017). Preparation and antioxidant activities of oligosaccharides derived from *Pleurotus eryngii* polysaccharides. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41 (4), e13007.

X

- Xiao, J., Capanoglu, E., Jassbi, A.R., Miron, A., (2016). Advance on the flavonoid C-glycosides and health benefits. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 56, 1, 29-45.
- Xu, N.; Ren, Z.; Zhang, J.; Song, X.; Gao, Z.; Jing, H.; Li, S.; Wang, S.; Jia, L. Antioxidant and anti-hyperlipidemic effects of mycelia zinc polysaccharides by *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017, 95, 204–214.
- Xueyan, Z., S. Shupeng, S. Jie, Z. Mingyi and H. Qingnan (2019). "Functional Immunoregulation by Heme Oxygenase 1 in Juvenile Autoimmune Diseases." *Current Gene Therapy* 19(2): 110-116.

Y

- Yan, J., Zhu, L., Qu, Y., et al. (2019). Analyses of active antioxidant polysaccharides from four edible mushrooms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 945–956.
- Yi, X. and N. Maeda (2006). " α -Lipoic Acid Prevents the Increase in Atherosclerosis Induced by Diabetes in Apolipoprotein E-Deficient Mice Fed High-Fat/Low-Cholesterol Diet." *Diabetes* 55(8): 2238-2244.
- Yoon, C.-H., Chung, S.-J., Lee, S.-W., Park, Y.-B., Lee, S.-K., & Park, M.-C. (2013). L'acide gallique, acide polyphénolique naturel, induit l'apoptose et inhibe l'expression des gènes proinflammatoires dans les synoviocytes fibroblastiques de polyarthrite rhumatoïde. *Revue du Rhumatisme*, 80(3), 271-278.
- Yu, E. J., Han, S. R., Kim, K. H., Park, B. R., Lim, K. O., & Oh, T. J. (2018). Antibacterial and antioxidant activity of *pleurotus eryngii* extracts. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 9(12), 2206– 2213.

Z

- Zelko, I. N., T. J. Mariani and R. J. Folz (2002). "Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression." *Free Radic Biol Med* 33(3): 337-349.
- ZERVAKIS, G., VENTURELLA, G., PAPAPOULOU, K. (2001): Genetic polymorphism and taxonomic infrastructure of the *Pleurotus eryngii* species complex as 297 determined by RAPD analysis, isozyme profiles and ecomorphological characters. *Microbiology Reading* 147 (11): 3183-3194.

Références

- Zhang, B.; Li, Y.; Zhang, F.; Linhardt, R.J.; Zeng, G.; Zhang, A. Extraction, structure and bioactivities of the polysaccharides from *Pleurotus eryngii*: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020, 150, 1342–1347.
- Zhang, C., Xinling Song., Weijun Cui., Qihang Yang., (2021). Antioxidant and anti-ageing effects of enzymatic polysaccharide from *Pleurotus eryngii* residue. *International Journal of Biological Macromolecules.* 173, Pages 341-350.
- Zheng, H.; Chen, J.; Weng, M.; Ahmad, I.; Zhou, C. Structural characterization and bioactivities of a polysaccharide from the stalk residue of *Pleurotus eryngii*. *Food Sci. Technol.* 2020, 40, 235–241.
- Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C., & Miao, Z. (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical Reviews*, 117(12), 7762-7810.
- Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008). Alkaloid biosynthesis: Metabolism and trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 735–769.
- Zucker WV. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. *The American Naturalist.* 1983 ;121(3) :335—365.

<https://www.atlasobscura.com/articles/psychedelic-mushroom-algeria>

Annexes

Annexe I : matériels et instruments utilisés

1. Matériels du laboratoire

Ampoule à décanter, ballons, béchers, éprouvettes, erlenmeyers, flacons, micropipettes de volumes différents, microplaques, portoirs, spatules, tubes eppendorf, verres de montre.

2. Instruments



Agitateur magnétique MSH - 20D
WISD



Bain Ultrason, Elma S70H, Elmasonic,
Elma Schmidbauer GmbH, Germany



Balance analytique ABJ 320-4NM
KERN



Etuve (Memmert).



Evaporateur rotatif (BUCHI, R215, Switzerland)



Lecteur microplaque (Perkin Elmer Enspire, Singapore)



pH mètre (METTLER TOLEDO)



Ampoule à décanter



Pompe à filtration sous vide

Annexe II : Réactifs

Réactifs	Compositions	Quantités
DPPH[•]	DPPH	6 mg
	Méthanol	100 ml
ABTS^{•+} (7 mM)	ABTS	19,2 mg
	H ₂ O	5 ml
	Persulfate de sodium	5 ml
Néocuproïne	Néocuproïne	0,039 g
	Méthanol	25 ml
Phénantroline (0.5%)	1,10- Phénanthroline monohydraté	0,05 g
	Méthanol	q.s.p 10 ml
Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois	FCR concentré (2M)	1 ml
	H ₂ O	9 ml
Réactif phénolique	Phenol	2 g
	Na ₂ [Fe(CN) ₅ NO], 2H ₂ O	25 mg
	H ₂ O	25 ml
Réactif basique	NaOH	0.7125 g
	H ₂ O	25 ml
	NaOCl	1.175 ml
	H ₂ O	25 ml

Annexe III : Solutions enzymatiques et substrats

Solutions	Compositions	Quantités
Uréase	Uréase	1 mg
	Tampon pH 8.2	1 mL
Urée	Urée	0.2553 g
	Tampon pH 8.2	25 mL

Annexe IV : Les standards

standards	Compositions	Quantités
Acide gallique	Acide gallique	0,5 mg
	Méthanol	5 ml
BHA	BHA	0,5 mg
	Méthanol	1 ml
BHT	BHT	0,5 mg
	Méthanol	1 ml
Acide ascorbique	Acide Ascorbique	4 mg
	Méthanol	1 ml
α-Tocophérol	α -Tocophérol	4 mg
	Méthanol	1 ml
Thiourée	Thiourée	4 mg
	Méthanol	1 ml

Annexe V : Solutions chimiques

Solutions chimiques	Compositions	Quantités
Carbonate de sodium anhydre (7,5%)	Na ₂ CO ₃	7,5 g
	H ₂ O	100 ml
Acétate d'ammonium (pH 7)	ACNH ₄	1,927 g
	H ₂ O	25 ml
Chlorure de cuivre II dihydraté	CuCl ₂ , 2H ₂ O	0,042625 g
	H ₂ O	25 ml

Ferricyanide de potassium (1%)	$K_3Fe(CN)_6$	1 g
	H_2O	100 ml
Acide trichloracétique (10%)	TCA	1 g
	H_2O	q.s.p 10 ml
Chlorure de fer III anhydre (0.1%)	$FeCl_3$	0,1 g
	H_2O	q.s.p 100 ml
Chlorure de fer III anhydre (0.2%)	$FeCl_3$	0,02g
	H_2O	q.s.p 10 ml
Persulfate de sodium	$K_2S_2O_8$ (2.45 mM)	3,3 mg
	H_2O	5 ml
Solution acide	$NaH_2PO_4, 2H_2O$	1.56 g
	H_2O	100 ml
Solution basique	$Na_2HPO_4, 2H_2O$	8.89 g
	H_2O	500 ml

Annexe VI :

Tampon phosphate de sodium	Compositions	Quantités
pH 6,6	NaH_2PO_4	62,5 ml
	Na_2HPO_4	37,5 ml
pH 7	NaH_2PO_4	39 ml
	Na_2HPO_4	61 ml
pH 8	NaH_2PO_4	5,3 ml
	Na_2HPO_4	94,5 ml

Annexe VII : Images des chamans des champignons de Tassili n-Ajjer (Sud de l'Algérie).



Résumés

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la recherche sur la valeur thérapeutique d'une source naturelle : *Pleurotus eryngii* appelé Pleurote du panicaut. Un champignon comestible du nord-est d'Algérie qui est connu pour ses propriétés thérapeutiques, dont l'objectif principal de ce travail est l'évaluation des activités antioxydante et la recherche des polyphénols totaux. Les résultats du dosage des composés phénoliques de ces extraits montrent que la teneur en polyphénols la plus importante est obtenue par l'extrait d'acétate d'éthyle (EEtOAc) avec un taux de $(48.90 \pm 4.95 \mu\text{g EAG/ mg d'extrait})$. L'activité antioxydante des différents extraits EMeOH, EHX, EDCM, EBUOH et EEtOAc a été évaluée *in vitro* par des méthodes de DPPH, ABTS, CUPRAC, Phénanthroline, FRAP. Seulement l'extrait d'acétate d'éthyle a manifesté une capacité antioxydante dans tous les tests d'évaluation du pouvoir antioxydant mais reste faible comparativement à celles des molécules de référence utilisées, on peut considérer que l'existence des polyphénols dans l'extrait d'acétate d'éthyle est responsable de l'activité antioxydante observée.

Mots-clefs : *Pleurotus eryngii*, polyphénols, antioxydants, activité antioxydante, activité anti-enzymatique.

Abstract

This study is part of the research on the therapeutic value of a natural source: *Pleurotus eryngii* called king oyster mushroom. An edible mushroom from the north-east of Algeria which is known for its therapeutic properties, for which the main objective is the evaluation of the antioxidant activities and the research of total polyphenols. The results of the determination of phenolic compounds of these extracts show that the highest content of polyphenols is obtained by the ethyl acetate extract (EEtOAc) with a rate of $(48.90 \pm 4.95 \mu\text{g EAG}/\text{mg extract})$. The antioxidant activity of the different extracts EMeOH, EHX, EDCM, EBUOH and EEtOAc was evaluated *in vitro* by DPPH, ABTS, CUPRAC, Phenanthroline, FRAP methods. Only the ethyl acetate extract showed antioxidant capacity in all the tests of antioxidant power evaluation but remains weak compared to those of the reference molecules used, it can be considered that the existence of polyphenols in the ethyl acetate extract is responsible for the antioxidant activity observed.

Key words: *Pleurotus eryngii*, polyphenols, antioxydants, antioxidant activity, anti-enzymatic activity.

ملخص

تندرج هذه الدراسة في إطار البحث عن القيمة العلاجية لمصادر طبيعية : *Pleurotus eryngii* ويسمى أيضا king oyster mushroom و هو فطر صالح للاكل من شمال شرق الجزائر معروف بخصائصه العلاجية. حيث ان الهدف الأساسي من هذا العمل هو تقييم بعض النشاطات المضادة للأكسدة والبحث عن عديدات البوليفينول.

تظهر نتائج معايرة مجموع البوليفينول أن أعلى محتوى من مادة البوليفينول تم الحصول عليه من مستخلص أسنتات الإيثيل بمعدل (4.95 ± 48.90 ميكروغرام / ملغ من المستخلص). وقد تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المستخلصات *in vitro* بواسطة تحليل DPPH، ABTS، CUPRAC، phénanthroline، FRAP. فقط خلاصة أسنتات الإيثيل أظهرت قدرة مضادة للأكسدة في جميع إختبارات تقييم طاقة مضادات الأكسدة و لكنها تبقى ضعيفة مقارنة بالجزيئات المرجعية المستخدمة، يمكن إعتبار وجود عديد الفينولات في خلاصة اسيتات الإيثيل هو المسؤول عن النشاط الملاحظ لمكافحة الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Pleurotus eryngii*، عديدات البوليفينول، مضادات الأكسدة، نشاط مضاد الأكسدة، نشاط مثبت الإنزيم.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BENIDIR Karima
DERDOUR Ikram

Etudes des activités biologiques d'un champignon comestible Algérien

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la recherche sur la valeur thérapeutique d'une source naturelle : *Pleurotus eryngii* appelé Pleurote du panicaut, un champignon comestible du nord-est d'Algérie qui est connu pour ses propriétés thérapeutiques, dont l'objectif principal de ce travail est l'évaluation des activités antioxydante et la recherche des polyphénols totaux. Les résultats du dosage des composés phénoliques de ces extraits montrent que la teneur en polyphénols la plus importante est obtenue par l'extrait d'acétate d'éthyle (EEtOAc) avec un taux de $(48.90 \pm 4.95 \mu\text{g EAG}/\text{mg d'extrait})$. L'activité antioxydante des différents extraits EMeOH, EHX, EDCM, EBUOH et EEtOAc a été évaluée *in vitro* par des méthodes de DPPH, ABTS, CUPRAC, Phénanthroline, FRAP. Seulement l'extrait d'acétate d'éthyle a manifesté une capacité antioxydante dans tous les tests d'évaluation du pouvoir antioxydant mais reste faible comparativement à celles des molécules de référence utilisées, on peut considérer que l'existence des polyphénols dans l'extrait d'acétate d'éthyle est responsable de l'activité antioxydante observé.

Mots-clefs : *Pleurotus eryngii*, polyphénols, antioxydants, activité antioxydante, activité anti-enzymatique.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée

Encadreur : Mme TENIOU S. (MAA – Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 : Mme GUENDOUZE A. (MCB – Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 2 : Mr MOKRANI E.H. (MCB – Université Frères Mentouri, Constantine 1).