



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Université Frères Mentouri Constantine-1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire قسم الكيمياء الحيوية- البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

N° d'ordre :

Série :

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

---

**Intitulé : Etude mycochimique et évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* du champignon comestible *Cyclocybe sp* d'Algérie**

---

**Présenté par :**

**Soutenu le :** 22/06/2023

ACHOURI Zouaoui Amine

LAHNECHE Mohamed Adlene

**Devant le jury :**

**Président :** NECIB.Y

(Pr. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1)

**Encadreur :** TOUMI M.E.S

(MCB. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1)

**Examinatrice :** KLIBET.F

(MCB. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1)

**Année universitaire : 2022/2023**

Enfin nous y sommes, le dernier paragraphe de ce manuscrit après plusieurs jours de travail et de réflexion et quelques milliers de mots écrits.

Un travail scientifique obéit à un esprit de collegialité, ainsi c'est l'occasion pour remercier toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail. Par conséquent, il y a tellement de gens qu'on veut remercier qu'on a peur d'en oublier. Mais si tel était le cas, on s'excuse dès à présent...

Nous aimerions tout d'abord remercier les membres du jury pour avoir accepté de participer à l'évaluation de notre thèse de mémoire et cela nous honore et nous sommes très reconnaissant. Nos plus vifs remerciements vont tout naturellement à notre encadreur de mémoire, Dr. Toumi Mohammed Es-seddik.

Durant ces Mois, il a su créer un environnement de laboratoire favorable à la recherche. Son expérience, ses connaissances et sa grande culture scientifique ont suscité en nous l'esprit de curiosité. Il a toujours été présent et disponible pour nous aider dans des différentes démarches.

Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à tout le personnel du Centre National de Recherche en Biotechnologie (C.R.B.T) de Constantine. En l'occurrence, Mr. BENSOUICI Chawki, chef du Labo 5, Mr. SEMAILI Med-Amine. Sans oublier les ingénieurs : FAIZA, MEHDI, SARAH et toutes l'équipe du CRBT.

Nous remercions également tous les membres du laboratoire Génie Microbiologique et Application- Université Frères Mentouri Constantine 1.

Nous dédions ce mémoire à nos chers parents qui n'ont cessé de nous soutenir et de nous encourager pour l'accomplissement de ce travail. Une mention particulière à notre corps enseignant à leur tête notre encadreur qui par son abnégation et son accompagnement sans relâche a suscité en nous une grande motivation facteur fondamental quant à la réussite de notre parcours scientifique.

*Achouri Zouaoui Amine et Lahneche Mohamed Adlene.*

### Résumé :

Cette étude vise à promouvoir les vertus des champignons nutritionnels et médicaux en Algérie pour le champignon «*Cyclocybe sp*», en étudiant et caractérisant la mycochimie et en évaluant la capacité antioxydante et les activités biologiques de ses fruits. L'étude mycochimique a montré qu'il contenait des métabolites secondaires majeurs, tels que les polyphénols et les terpènes, ainsi que des alcaloïdes et des tanins.

Elle a examiné l'extraction de ces composés dans des solvants chimiques où nous avons utilisé deux types : l'eau et le méthanol (méthanol/eau : hydro-méthanol ; 80/20 v/v), et le méthanol.

L'essai visant à déterminer les concentrations de polyphénols et de flavonoïdes a montré que l'extrait méthanolique aqueux (Hydrométhanolique) contenait ces substances bioactives à une concentration de  $59,2 \pm 0,00321$   $\mu\text{g GAE/mg Ext}$  ;  $17,06 \pm 0,001$   $\mu\text{g RE/mg Ext}$  ; Elles ont également été estimées en extrait méthanolique à  $53,52 \pm 0,004932$   $\mu\text{g GAE/mg Ext}$  ;  $16,30 \pm 0,01967$   $\mu\text{g RE/mg Ext}$  successivement.

L'évaluation du potentiel antioxydant *in vitro* des extraits de DPPH •, ABTS •+, FRAP, a montré que les deux extraits ont une activité antioxydante remarquable, une meilleure activité a été exercée par l'extrait méthanolique (Ext-MeOH) avec des  $IC_{50}$  :  $493,53 \pm 10,50$   $\mu\text{g/ml}$  pour inhibition de 50% d'activité de radical DPPH ;  $168,03 \pm 23,95$   $\mu\text{g/ml}$  pour le piégeage de cation ABTS, et  $255,00 \pm 0,00$  pour une réduction de la moitié d'absorbance du fer ou FRAP.

**Mots clés:** Champignon comestible, *Cyclocybe sp* ; potentiel antioxydant ; activités biologiques *in vitro*.

## ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى تعزيز فضائل الفطريات الغذائية والطبية في الجزائر لفطر « *Cyclocybe sp* » من خلال دراسة والتوصيف الكيميائي النباتي وتقييم القدرة المضادة للأكسدة والأنشطة البيولوجية لأجسامه المثمرة. حيث بينت الدراسة الكيميائية احتواءه على المواد الأيضية الثانوية الرئيسية، مثل البوليفينولات و التربينات وأيضاً القلويدات و الاصبغ (tannins).

تطُرقت هذه الدراسة العملية على استخلاص هذه المركبات في المذيبات الكيميائية حيث استعملنا نوعين منها: الماء و الميثانول (Méthanol/Eau : hydro-méthanol ; 80/20 v/v) الميثانول.

بين اختبار تحديد تراكيز البوليفينول والفلافونويد أن مستخلص الميثانوليك المائي Hydrométhanolique يحتوي على هاتان المادتين النشطتين بيولوجياً بتركيز:  $59.2 \pm 0.00321$  ميكروغرام /GAE مغ Ext ؛  $17.06 \pm 0.001$  ميكروغرام /RE مغ Ext ؛ كما قدرت في مستخلص الميثانوليك ب  $53.52 \pm 0.004932$  ميكروغرام /GAE مغ Ext و  $16.30 \pm 0.01967$  ميكروغرام /RE مغ Ext بالترتيب.

ظهر تقييم إمكانات مضادات الأكسدة في المختبر للمستخلصات بالطرق اللونية •DPPH، •ABTS، •FRAP، أن جميع المستخلصات لها نشاط مضاد للأكسدة مهم للغاية، ولكن أقوى نشاط يُنسب إلى مستخلص الميثانوليك بتراكيز  $IC_{50} 493,53 \pm 10,50$  ميكروغرام / مل لتثبيط 50% للجذر الحر •DPPH و  $168,03 \pm 23,95$  ميكروغرام / مل بالنسبة لنشاط جذر •ABTS و تركيز  $255.0 \pm 0.00$  ميكروغرام /مل لتثبيط نشاط أكسدة الحديد •FRAP.

أكدت هذه الدراسة الفعالية الوقائية والعلاجية للفطر وقدمت أدلة بيولوجية قابلة للقياس لقوته المضادة للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:** الفطر الغذائي *Cyclocybe sp*، المستقبلات الثانوية الرئيسية، إمكانات مضادات الأكسدة، الأنشطة البيولوجية في المختبر.

**Abstract:**

This study aims to enhance the virtues of edible and medicinal mushrooms of Algeria especially « *Cyclocybe sp* » a mycochemical characterization and an evaluation of the antioxidant potential and the biological activities of fruiting. The mycochemical study made it possible to highlight the main secondary metabolites, in particular phenolic compounds, terpene, alcaloides and tannins.

The dosage of polyphenols and flavonoids shows that the Hydromethanolique extract has the highest contents for the two bioactive substances with  $59,21 \pm 0,00321 \mu\text{g GAE} / \text{mg Ext}$ ;  $17,06 \pm 0,001 \mu\text{g RE/mg Ext}$  respectively and ( $53,52 \pm 0,288 \mu\text{g GA/ mg Ext}$ ;  $16,30 \pm 0,01967 \mu\text{g RE} / \text{mg Ext}$ ) for methanolic extract.

The evaluation of the antioxidant potential in vitro of the extracts by colorimetric methods (DPPH•, ABTS •+, FRAP), showed that all the extracts had a very significant antioxidant activity, but the strongest activity is attributed to the methanolic extract (Ext-MeOH) with the DPPH • ( $493,53 \pm 10, 50 \mu\text{g/ml}$ ), ABTS•+ ( $168,03 \pm 23,95 \mu\text{g} / \text{ml}$ ) and ( $255,00 \pm 0,00 \mu\text{g} / \text{ml}$ ) for reduction of oxidation of ferrous (FRAP test).

This study confirmed the preventive and therapeutic efficacy of the fungus and provided measurable biological evidence of its antioxidant power.

**Keywords:** Edible mushroom, *Cyclocybe sp*; Secondaries metabolits, antioxidant potential; *in vitro* biological activities.

## Abréviations

---

<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	Persulfate d'ammonium
<b>ABTS</b>	Acide 2,2'- azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique
<b>AChE</b>	Acétylcholine estérase
<b>Al<sup>3+</sup></b>	Atome d'Aluminium
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Chlorure d'aluminium
<b>BHA</b>	Butyl HydroxyAnisole
<b>BHT</b>	Butyl Hydroxy Toluène
<b>BuChE</b>	Butyrylcholine estérase
<b>C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub></b>	Acétate de sodium
<b>CAPS</b>	Polysaccharide de <i>Cyclocybe Aegerita</i>
<b>DPPH</b>	2,2-Dephenyl-1-picrylhydrazyl
<b>EAG</b>	Equivalent en acide gallique
<b>ERN</b>	Espèces réactives de l'azote
<b>Ext-Hydro-MeOH)</b>	Extrait Hydrométhanolique
<b>Ext-MeOH</b>	Extrait Méthanolique
<b>FCR</b>	Réactif Folin-Ciocalteu
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure de fer

## Abréviations

---

<b>FRAP</b>	Ferric ion Reducing Antioxidant Power
<b>FT</b>	Flavonoïdes totaux
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Molécule d'eau
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acide sulfurique
<b>HCA</b>	Acide hydroxy cinnamique
<b>HCl</b>	Chlorure d'hydrogène
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration Inhibitrice à 50 %
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b>	Persulfate de potassium
<b>K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub></b>	Potassium ferricyanide
<b>LH</b>	Hydrogène d'une chaîne de lipides polyinsaturés
<b>LOO-</b>	Radical peroxyde
<b>LOOH</b>	Hydro-peroxydes
<b>MDA</b>	Malone dialdéhyde
<b>MeOH</b>	Alcool méthylique
<b>NH<sub>4</sub>OH</b>	Hydroxyde d'ammonium
<b>NOX</b>	NADPH oxydases
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène moléculaire



## Abréviations

---

<b>OH•</b>	Radical hydroxyle OH•
<b>PT</b>	Polyphénols totaux
<b>RE</b>	Equivalent de rutine
<b>ROS</b>	Espèces réactives à l'oxygène
<b>SE</b>	Sélénium
<b>TCA</b>	Acide trichloroacétique
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique.
<b>AGPI</b>	Acide gras poly-insaturés.
<b>COX</b>	Cyclooxygénase.
<b>ROS</b>	Reactive oxygen species.
<b>MycnoDB</b>	Mycology Data Base.
<b>ITS</b>	Internal Transcribed Spacer

Liste des figures

Figure	Légende	Page
1	Principales causes de la surproduction de radicaux libres (stress oxydatif), cibles cellulaires possibles et conditions associées au stress oxydatif.	5
2	Effets des espèces réactives de l'oxygène (ERO) sur les principaux constituants cellulaires.	7
3	Schéma des maladies induites par le stress oxydatif chez l'homme	11
4	Représente le champignon <i>Cyclocybe cylindracea</i> où connue sous le nom de Pholiote du peuplier.	14
5	Représentation du cycle de vie des champignons en milieu naturel	17
6	Champignon sauvage <i>Cyclocybe sp</i> collecté à Iben Ziad- Constantine (Photo personnelle prise en Février 2023).	19
7	Evaporation du solvant par un évaporateur rotatif (R-210 Bùchi).	20
8	Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec l'antioxydant, source Chimiactiv	26
9	Formation de l'ABTS <sup>++</sup> par transfert d'électron en présence de persulfate de potassium ou d'ammonium.	27
10	Le mécanisme de réaction du potassium ferricyanide [K <sub>3</sub> Fe (CN) <sub>6</sub> ] dans le test du pouvoir réducteur du Fe <sup>+3</sup> par un antioxydant.	29
11	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	36
12	Courbe d'étalonnage de la rutine.	37

Liste des figures

---

13	Activité anti-radicalaire (DPPH <sup>•</sup> ) : <b>a.</b> Des extraits de <i>Cyclocybe sp</i> ; <b>b.</b> Le $\alpha$ -tocophérol (standard).	40
14	Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> ; <b>a.</b> Extraits de <i>Cyclocybe sp</i> ; <b>b.</b> l' $\alpha$ - Tocophérol.	41
15	Activite du pouvoir réducteur de fer (FRAP) : a. Extraits de <i>Cyclocybe sp</i> ; b. le standard.	43

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
1	Classification taxonomique des <i>Agrocybes</i> .	16
2	Les compositions chimiques et propriétés médicinales de certains <i>Agrocybe</i> .	19
3	Résultats des saponosides (test de mousse).	22
4	Rendement des extraits de <i>Cyclocybe sp.</i>	31
5	Analyse qualitative par screening phytochimique des extraits de champignon.	33
6	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de <i>Cyclocybe sp.</i>	35
7	Activité antioxydante des extraits de champignon <i>Cyclocybe sp</i> et l' $\alpha$ -Tocophérol.	39
8	Activité antioxydante des extraits de champignon <i>Cyclocybe sp.</i>	42
9	Activité antioxydante de l' $\alpha$ -Tocophérol (4mg/ml).	42
10	Pouvoir réducteur des extraits de champignon <i>Cyclocybe sp.</i>	44
11	Pouvoir réducteur de l' $\alpha$ - Tocophérol (4mg/ml).	44

## Sommaire

Remerciements ..... i

Dédicaces..... ii

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

Chapitre 1 : Stress Oxydatif .....

1. Stress oxydatif ..... 4

1.1. Définition ..... 4

1.2. Radicaux libres, espèces réactives de l'oxygène (ROS).....4

1.3. Les différentes espèces réactives de l'oxygène ..... 5

1.4. Production des espèces réactives de l'oxygène (ROS)..... 6

1.5. Les cibles des espèces réactives de l'oxygène ..... 7

2. Les conséquences pathologiques du stress oxydatif et systèmes antioxydants  
..... 10

2.1 Les antioxydants exogènes/ naturels ..... 11

3. Le stress oxydatif et les champignons basidiomycètes ..... 12

Chapitre 2 : Les champignons <i>Agrocybes</i> et leurs bénéfices biologiques .....	13
1. Les champignons comestibles et médicinales <i>Agrocybes</i> .....	14
1.1. Description des <i>Agrocybes</i> ( <i>Cyclocybe</i> ) .....	15
1.2. Taxonomie.....	16
1.3. Habitat et distribution géographique .....	17
2. Cycle de vie des champignons .....	18
3. Propriétés nutritionnelles et médicinales des <i>Cyclocybes</i> .....	19

### ***Matériels et méthodes***

1. Récolte et préparation de la matière fongique.....	20
2. Extraction des métabolites secondaires.....	21
3. Calcul de rendement.....	21
4. Screening mycochimique des extraits fongiques .....	23
5. Analyse quantitative des composés phénoliques et flavonoides.....	23
5.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC).....	24
5.2. Dosage des flavonoides totaux (TF) .....	25
6. Etude <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante .....	25
6.1. Activité anti-radicalaire au DPPH • .....	27
6.2. Test de réduction du radical-cation ABTS •+.....	28
6.3. Test du pouvoir réducteur (FRAP).....	30

7. Analyse statistique.....	31
-----------------------------	----

### *Résultats et Discussion*

1. Rendement d'extraction .....	32
---------------------------------	----

2. Analyse qualitative des extraits.....	33
--	----

3. Analyse quantitative des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes totaux).....	35
--	----

4. Evaluation d'activité antioxydante in vitro.....	38
---	----

4.1. Activité anti-radicalaire Test de piégeage du DPPH •.....	39
--	----

4.2. Activité du piégeage du cation ABTS •+.....	41
--	----

4.3. Test pouvoir réducteur de fer (FRAP) .....	43
---	----

Conclusion et Perspectives.....	
---------------------------------	--

Références bibliographiques .....	
-----------------------------------	--

Annexes

Résumé





# Introduction

### Introduction

L'oxygène est un élément indispensable à la vie. Lorsque les cellules utilisent l'oxygène pour produire de l'énergie, des radicaux libres sont créés à la suite de la production d'ATP (adénosine triphosphate) par les mitochondries. Ces sous-produits sont généralement des espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que des espèces réactives de l'azote (RNS) qui résultent du processus d'oxydo-réduction cellulaire. Ces espèces jouent un double rôle, à la fois toxique et bénéfique. L'équilibre délicat entre leurs deux effets antagonistes est manifestement un aspect important de la vie (*Pham-Huy et al., 2008*).

À des niveaux faibles ou modérés, les ROS et les RNS exercent des effets bénéfiques sur les réponses cellulaires et la fonction immunitaire. À des concentrations élevées, ils génèrent un stress oxydatif, un processus délétère qui peut endommager toutes les structures cellulaires (*Young et al., 2001 ; Halliwell et al., 2015*).

Le stress oxydatif joue un rôle majeur dans le développement de maladies chroniques et dégénératives telles que le cancer, l'arthrite, le vieillissement, les troubles auto-immuns, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. Le corps humain dispose de plusieurs mécanismes pour contrer le stress oxydatif en produisant des antioxydants, qui sont soit produits naturellement in situ, soit apportés de l'extérieur par le biais d'aliments et/ou de suppléments (*Valko et al., 2006 ; Chatterjee et al., 2007*).

Lorsqu'ils sont produits en excès, les radicaux libres et les oxydants génèrent un phénomène appelé stress oxydatif, un processus délétère qui peut altérer gravement les membranes cellulaires et d'autres structures telles que les protéines, les lipides, les lipoprotéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN), (*Droge., 2002 ; Young et al., 2001*).

L'organisme dispose de plusieurs mécanismes pour contrer ces attaques en utilisant des enzymes de réparation de l'ADN et/ou des antioxydants (*Willcox et al., 2004 ; Halliwell., 2007*).

## Introduction

---

L'organisme dispose de plusieurs mécanismes pour contrer le stress oxydatif en produisant des antioxydants, soit naturellement générés in situ (antioxydants endogènes), soit apportés de l'extérieur par les aliments (antioxydants exogènes). Les antioxydants ont pour rôle de neutraliser l'excès de radicaux libres, de protéger les cellules contre leurs effets toxiques et de contribuer à la prévention des maladies (**Pham-Huy et al., 2008**).

Certains champignons comestibles communs, sont largement consommés dans la culture asiatique, possèdent une l'activité antioxydante qui est bien corrélée à leur teneur en phénolique totale (**Cheung et al., 2003**).

Les champignons médicinaux sont dotés de propriétés pharmacologiques et thérapeutiques intéressantes telles que l'effet antioxydant, l'inhibition de la croissance des microbes, réduction des processus inflammatoires, l'immunomodulation, l'effet antidiabétique, et hépato-protecteur, anticancéreux, antiallergique, antihyper-lipidémique et prébiotique (**Elkhateeb et al., 2020 ; Jeitler et al., 2020**). Ces activités sont attribuées à la présence de nombreux métabolites bioactifs dans le mycélium et les fructifications, dont l'effet biologique varie selon l'espèce fongique ainsi que la nature chimique de ces molécules (**Venturella et al., 2021**).

Les champignons sauvages comestibles sont depuis longtemps considérés comme faisant partie de l'alimentation humaine en raison de leurs vertus médicinales et nutritionnelles dans de nombreux pays d'Asie et d'Europe depuis l'Antiquité. Les champignons sont considérés comme une riche source de composés biologiquement actifs qui possèdent des propriétés antifongiques, antibactériennes, antioxydantes, hépatoprotectrices, immunomodulatrices et apoptogènes (**Mallick et al., 2016 ; Chatterjee et al., 2011**).

Ces résultats suggèrent que les champignons comestibles pourraient constituer une source potentielle d'antioxydants phénoliques. Toutefois, les études sur les antioxydants dérivés de champignons comestibles qui sont produits par des méthodes de culture naturelle, montrent que leurs effets bénéfiques sur la santé, notamment leurs propriétés antioxydantes, suscitent un vif intérêt de la part des chercheurs.

## Introduction

---

L'objectif de notre travail, est la bio évaluation du champignon sauvage « *Cyclocybe sp* » d'Algérie à travers une étude des propriétés nutritionnelles, activités antioxydants et thérapeutiques. Les objectifs spécifiques sont : Analyser de manière qualitative les composés phytochimiques, déterminer les substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes) et l'étude *in vitro* des activités antioxydants

Ce travail englobe deux parties, une présentation bibliographique et une partie expérimentale. La partie bibliographique renferme deux chapitres, le premier présente debrice quelques informations sur le stress oxydatif, le deuxième chapitre expose les propriétés biologiques sur l'espèce étudié « *Cyclocybe sp* », notamment l'activité antioxydante, plus que d'autres activités, avec l'exposition des travaux scientifiques réalisés à travers le monde.

La partie expérimentale présente le profil nutritionnel, le processus d'extraction utilisé, les tests d'analyse qualitative par screening phytochimique, quantification des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes) des différents extraits, évaluation des activités biologiques *in vitro* (activité antioxydante). La partie correspondant aux résultats et leurs discussions, représente la contribution la plus importante du mémoire. Il est organisé sous forme de parties, chacune expose les activités biologiques réalisées. Enfin une conclusion générale résume les contributions du travail et décrit les perspectives estimées.



# **Chapitre 1 : Stress Oxydatif**

### 1. Stress oxydatif

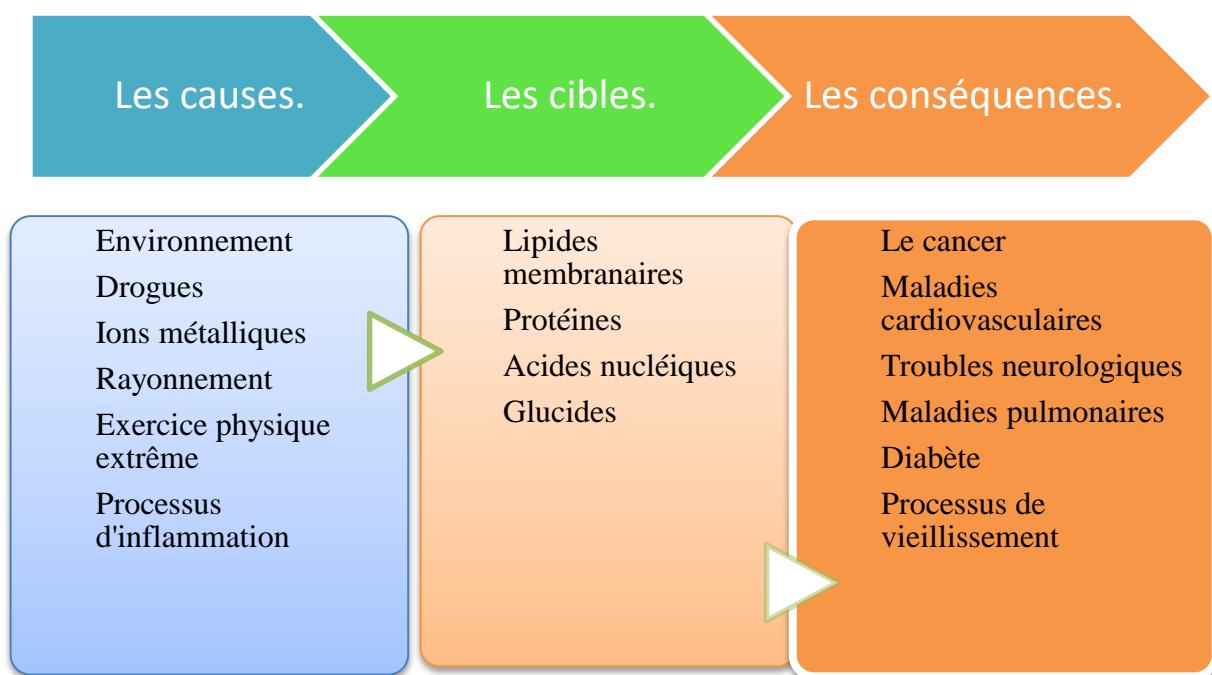
#### 1.1. Définition

Les radicaux libres sont produits dans le métabolisme naturel normal des cellules aérobies, principalement sous la forme d'espèces réactives à l'oxygène (ROS). Une fois produits, la plupart des radicaux libres sont neutralisés par les défenses antioxydantes cellulaires (enzymes et molécules non enzymatiques). Le maintien de l'équilibre entre la production de radicaux libres et les défenses antioxydantes est une condition essentielle au fonctionnement normal de l'organisme (*Volko et al., 2007*).

Les effets bénéfiques des ROS se produisent à des concentrations faibles ou modérées et impliquent des rôles physiologiques cellulaires de signalisation et de régulation (*Fang et al., 2002 ; Freidovich et al., 1999*). Néanmoins, l'équilibre entre la production de ROS et les défenses antioxydantes peut être rompu soit par la surproduction de ROS, soit par la perte des défenses antioxydantes de la cellule (*Machlin et Bendic., 1987*). Ce déséquilibre est connu sous le nom de stress oxydatif. Dans ce cas, l'excès de ROS peut oxyder et endommager les lipides cellulaires, les protéines et l'ADN, entraînant leur modification et inhibant leur fonction normale (*Volko et al., 2007 ; Fu et al., 1998 ; Rindour et al., 2005*).

#### 1.2. Radicaux libres, espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Un radical libre est défini comme tout atome ou molécule possédant des électrons non appariés dans l'orbite extérieure (*Gutteridhe et Halliwet et al., 2000*). Les radicaux libres sont généralement instables et très réactifs et ils dérivent de l'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) sont généralement connus sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants (*Miller et al., 1990*). En fait, malgré l'importance de l'O<sub>2</sub> pour la voie aérobie, il peut être toxique dans certaines conditions. Ce phénomène est appelé "paradoxe de l'oxygène" (*Gilbert., 2000*).



**Figure. 1.** Principales causes de la surproduction de radicaux libres (stress oxydatif), cibles cellulaires possibles et conditions associées au stress oxydatif.

### 1.3. Les différentes espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène ( $O_2^-$ ,  $OH^\bullet$ ,  $NO^\bullet$ ,  $ROO^\bullet$ ), mais également les composés non radicalaires ( $ROOH$ ,  $H_2O_2$ ,  $^1O_2$ ). Les radicaux libres qui dérivent de l' $O_2$  sont appelés « les espèces réactives de l'oxygène » (ROS) alors que les radicaux libres qui sont engendrés de la réaction de l'oxygène avec l'azote sont considérés comme une sous-classe des radicaux libres appelée « les espèces réactives de l'azote » (ERN) (Ifeanyi, 2018). Il existe d'autres espèces qui sont réactives mais ne sont pas des radicaux libres, qui peuvent être des précurseurs de radicaux (Ahmad *et al.*, 2017).



### 1.4. Production des espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) jouent un rôle essentiel dans les processus physiologiques en tant que molécules de signalisation cellulaire et dans la modulation de la transcription, contribuant ainsi à l'homéostasie cellulaire et tissulaire qui est très importante dans le fonctionnement. Les ROS interviennent également dans la régulation vasculaire, la neurotransmission par la production de NO, l'adhésion cellulaire et la réponse immunitaire (**Juan *et al.*, 2021; Di Meo et Venditti., 2020**). Les ERO représente le sous-produit naturel du métabolisme cellulaire aérobie, fournies majoritairement par la mitochondrie.

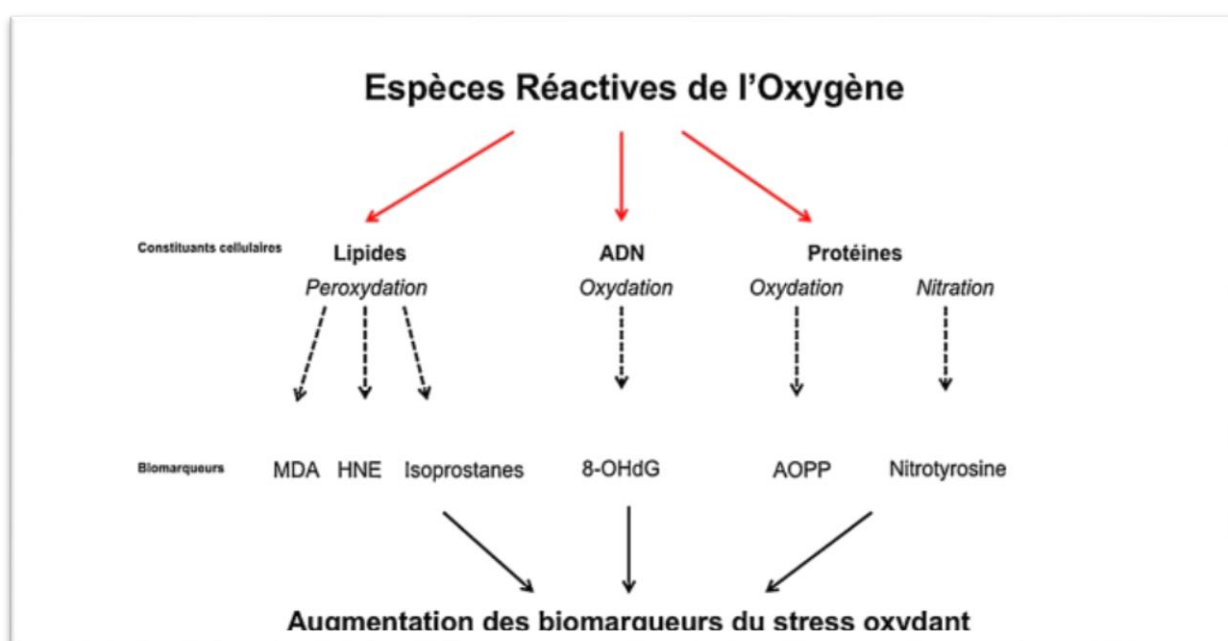
Les mitochondries sont la source la plus importante de ROS, mais elles sont aussi les premières cibles de ces radicaux car les ROS ont un accès facile aux lipides de la membrane, qui sont susceptibles d'être attaqués par les radicaux libres. Cette attaque est appelée peroxydation lipidique et favorise la production de différents types de ROS (**Mehrotra *et al.*, 1991**). La peroxydation des lipides commence généralement par l'extraction d'un atome d'hydrogène d'une chaîne de lipides polyinsaturés (LH), sous l'action d'espèces réactives telles que les HO<sup>-</sup>. Cela génère un radical lipidique très réactif qui peut réagir avec l'O<sub>2</sub> pour former un radical peroxyde (LOO<sup>-</sup>).

Les cellules endothéliales et inflammatoires ont la capacité de produire des ROS dans des conditions physiologiques et pathologiques. Bien qu'elles aient une capacité intrinsèque particulière à produire des ROS, elles ne peuvent pas atteindre la même quantité que les ROS mitochondriaux. Les ROS sont produits par une variété d'enzymes, notamment les NADPH oxydases (NOX), la xanthine oxydase, l'oxyde nitrique synthase et les constituants peroxysomiaux. Dans le réticulum endoplasmique, les oxydants sont libérés lors du repliement des protéines et de la formation des liaisons disulfures (**Nobari *et al.*, 2022 ; Juan *et al.*, 2021**).

Les réactions non enzymatiques impliquent que l'oxygène réagisse avec la matière organique, produisant ainsi des radicaux libres. La production de radicaux libres peut être endogène ou exogène. La voie endogène peut résulter de l'activation des cellules immunitaires, de l'inflammation, de l'infection, du cancer, de l'exercice excessif, du stress mental et du vieillissement, tandis que la voie exogène peut provenir de facteurs externes, tels que la pollution, le tabagisme, les drogues, etc. (**Nobari *et al.*, 2022**).

### 1.5. Les Cibles des espèces réactives de l'oxygène

En général, les effets nocifs des ROS dans la cellule comprennent des dommages sur l'ADN ou l'ARN ; la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés (tels que les phospholipides membranaires). Polyinsaturés (tels que les phospholipides membranaires) ; et l'oxydation des protéines, (**Figure. 2**). Ils causent des dommages irréversibles à l'ADN, aux lipides et aux enzymes présents dans le cytosol de la cellule, car ils oxydent et modifient les composants cellulaires et les empêchent de remplir leurs fonctions initiales (**Yan et Zaher., 2019 ; Ito et al., 2019 ; Hawkins et Davies., 2019**).



**Figure. 2.** Effets des espèces réactives de l'oxygène (ERO) sur les principaux constituants cellulaires. MDA : malondialdéhyde ; HNE : 4-hydroxynonénale ; 8-OHdG : 8-hydroxydesoxyguanosine ; AOPP : produits avancés de l'oxydation des protéines (**Yzydorczyk et al., 2015**).

- Les acides nucléiques

Les altérations de l'ADN sont principalement causées par le radical hydroxyle  $\text{OH}\cdot$ , qui induit des mutations dans les bases puriques et pyrimidiques ainsi que dans les protéines de la chromatine, affectant la stabilité du génome et la dynamique de l'expression des gènes. Ce type de dommages oxydatifs à l'ADN est fortement corrélé aux conditions physiologiques telles que la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement. Les lipides et les protéines sont également affectés par les ROS, qui peuvent causer la peroxydation lipidique et la carbonylation des protéines, respectivement. Ces types de dommages oxydatifs ont également été associés au vieillissement et à diverses pathologies (**Assi., 2017**).

- Les lipides

La peroxydation des lipides peut altérer les membranes cellulaires en perturbant leur fluidité et leur perméabilité, ce qui peut affecter négativement la fonction des protéines liées à la membrane, telles que les récepteurs et les enzymes. La fluidité des membranes est importante pour l'activité cellulaire, et les lipides peuvent se mouvoir de différentes manières au sein de la membrane, notamment par rotation, diffusion latérale et flip flop. La composition en acides gras des lipides membranaires est également importante, car plus les chaînes carbonées des acides gras sont courtes et insaturées, plus la membrane est fluide (**Khan et al., 2018**).

Le radical hydroxyle  $\text{OH}\cdot$  a la capacité d'enlever un atome d'hydrogène d'un acide gras formant le radical peroxyde ( $\text{LOO}\cdot$ ) qui lui-même peut arracher un autre hydrogène à une autre molécule lipidique donnant des hydro-peroxydes ( $\text{LOOH}$ ) qui pourront être neutralisés et réduits ou bien il va s'oxyder et former des aldéhydes toxiques comme le Malonalaldéhyde (MDA) ou l'hydroxy-néonatale qui causera des dégâts physiopathologiques comme la plaque d'athéromes après la formation des LDL oxydées (**Nimse et Pal, 2015**).

- Les protéines et les enzymes

Les ERO peuvent attaquer les molécules de protéines principalement sur trois sites, y compris le squelette des peptides, les groupes de chaînes latérales d'acides aminés aliphatiques et les groupes de chaînes latérales d'acides aminés aromatiques. Les protéines sont principalement attaquées par les  $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{RO}\cdot$  et les radicaux réactifs à l'azote, causant des dommages. Le peroxyde d'hydrogène et les radicaux superoxydes ont des effets faibles sur les protéines, à l'exception des protéines contenant des groupes SH. Au cours du processus d'oxydation des protéines, le groupe de carbone central du squelette peptidique peut être converti en radicaux alkylperoxy et alcoxy par réduction à un électron, abstraction d'hydrogène et addition d'oxygène de radicaux libres (Sanchez, M. (1994). *Implication des radicaux libres dans l'efficacité et la toxicité des agents anticancéreux*. [Thèse de doctorat, l'Université Joseph FOURIER- GRENOBLE 1]).

Les radicaux libres centrés sur l'oxygène ou le peroxyde d'azote sont des oxydants puissants vis-à-vis des lipides, des protéines et de l'ADN. Les produits formés pour chaque biomolécule sont complexes et nombreux, et certains sont devenus des marqueurs du stress oxydant, tels que le Malon dialdéhyde et les isoprostanes pour les lipides, les protéines carbonylées pour les protéines et la 8-oxo-guanine ou 8-oxo-désoxyguanosine pour l'ADN (Sanchez, M. (1994). *Implication des radicaux libres dans l'efficacité et la toxicité des agents anticancéreux*. [Thèse de doctorat, l'Université Joseph FOURIER- GRENOBLE 1]).

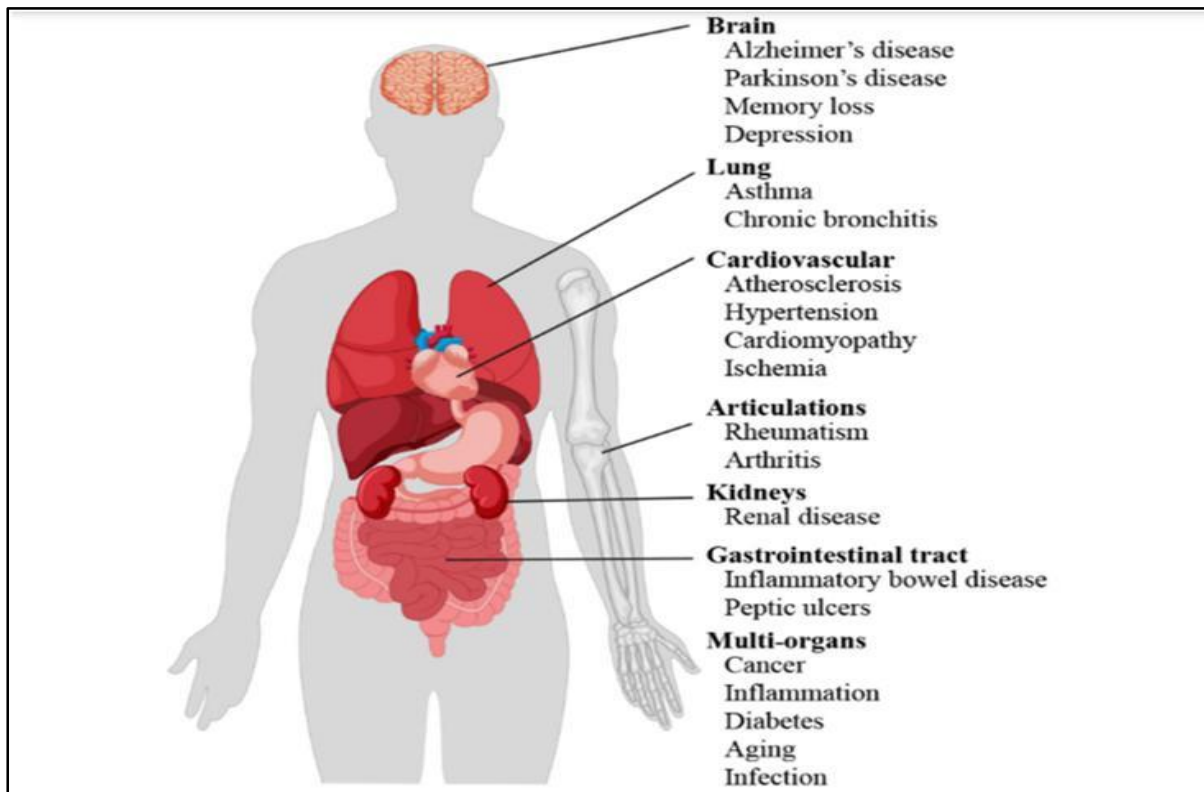
L'oxydation peut entraîner le clivage du squelette peptidique ou la formation de dérivés protéiques réticulés. Les groupes de la chaîne latérale des acides aminés aliphatiques sont sensibles à l'oxydation directe pour former des composés carbonyles. Parallèlement, les groupes de la chaîne latérale des acides aminés aromatiques sont attaqués par des radicaux libres pour générer des produits de réaction qui peuvent être convertis en dérivés aromatiques et en radicaux libres aromatiques par hydrogénation et couplage. Les produits de l'oxydation des protéines peuvent être complexes et nombreux, tels que la formation de liaisons disulfures qui peuvent conduire à une réticulation des protéines, ou la modification de la chaîne latérale de certains acides aminés constitutifs des protéines (Domínguez et al., 2021).

### 1.6. Les conséquences pathologiques du stress oxydatif et systèmes antioxydants

Les données de la littérature confirment le rôle clé du stress oxydatif dans l'étiologie de différentes pathologies, notamment le syndrome métabolique, l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires, le cancer, les troubles cardiovasculaires, les troubles neuro dégénératifs, le diabète, les maladies rénales, les maladies gastro-intestinales et hépatiques (**Figure. 3**). Un déficit de la neutralisation d'ROS par le système de défense antioxydant de l'organisme conduit à des états pathologiques (*Vona et al., 2021*).

Les antioxydants endogènes peuvent agir de différentes manières pour protéger l'organisme contre les radicaux libres. Ils peuvent bloquer la formation de radicaux, les neutraliser en s'oxydant eux-mêmes, ou retarder les réactions d'oxydation d'autres molécules. Certains antioxydants agissent également comme des chélateurs de métaux, transformant les pro-oxydants métalliques en des formes chimiques plus stables.

Les antioxydants ont été classés en trois catégories par : les antioxydants primaires, secondaires et tertiaires, en fonction de leur mécanisme d'action. Les antioxydants primaires inhibent la formation d'oxydants, les antioxydants secondaires fonctionnent comme des piègeurs des ROS, et les antioxydants tertiaires agissent comme des agents de conservation. Les antioxydants sont actuellement classés comme enzymatiques ou non-enzymatiques. Les antioxydants endogènes sont produits par l'organisme et peuvent être enzymatiques ou non-enzymatiques. Les antioxydants exogènes proviennent de l'environnement extérieur et peuvent être trouvés dans les aliments, tels que les fruits et légumes riches en vitamines et polyphénols, le chocolat, certains mollusques, et le thé vert. Les antioxydants exogènes et endogènes interagissent pour optimiser la protection contre les dommages cellulaires dus aux radicaux (*Vona et al., 2021*). Tous les organismes vivants sont dotés de système de défenses endogènes capables de capter et d'éliminer les ROS. Cependant, ces défenses sont insuffisantes pour leurs éliminations totales et prévenir complètement les dommages oxydatifs des cellules, tissus et organes (*Ishibashi., 2013*).



**Figure. 3.** Schéma des maladies induites par le stress oxydatif chez l'homme (Vona et al., 2021)

### 1.7. Les antioxydants exogènes/naturels

Les antioxydants d'origine externe ont suscité un intérêt croissant pour prévenir ou réduire le stress oxydatif. En effet, plusieurs études épidémiologiques ont montré l'effet protecteur potentiel de l'utilisation d'aliments contenant des antioxydants sur les troubles liés au stress oxydatif. Les antioxydants interagissent avec les radicaux libres, les stabilisent et les neutralisent, les rendant ainsi inoffensifs (Kyro *et al.*, 2013).

Les antioxydants naturels tels que les flavonoïdes, les tanins et les polyphénols agissent comme des donateurs des électrons aux radicaux intermédiaires et jouent un rôle dans l'inhibition de la peroxydation lipidique. Par exemple, la vitamine E, en particulier sa forme active l' $\alpha$ -tocophérol, protège les cellules de la peroxydation lipidique et contribue à la prévention des pathologies chroniques associées au stress oxydatif (Azlina *et al.*, 2018)

Actuellement, les composés antioxydants des champignons sont devenus une source importante pour les industries médicales et alimentaires, et fournissent des produits bioactifs naturels, remplaçant ainsi les antioxydants synthétiques (**Abdelshafy *et al.*, 2021**).

### 1.8. Le stress oxydatif et les champignons basidiomycètes

Les antioxydants sont généralement utilisés pour réduire ou éliminer les radicaux libres. Les antioxydants présents dans les aliments et les pharmaceutiques sont utilisés pour la protection contre la dégradation oxydative et la pathologie causée par le stress oxydatif (**Gulcin., 2020**).

Les champignons contiennent des quantités importantes d'antioxydants, notamment des composés phénoliques, du glutathion, des polysaccharides, des caroténoïdes, des vitamines, des minéraux et des sulfates, caroténoïdes, des vitamines, des minéraux et de l'ergothionéine, un acide aminé contenant du soufre (**Dogan., 2018 ; Dogan *et al.*, 2018**). En outre, les champignons médicinaux présentent des propriétés antitumorales, immunomodulatrices, antioxydantes et antihypercholestérolémiques, antioxydants, antihypercholestérolémiques, antiviraux, antibactériens, antiparasitaires, antifongiques, détoxifiants, des effets de piégeage des radicaux, ainsi que des effets cardiovasculaires, hépato protecteurs et anti-inflammatoires, cardiovasculaires, hépato protectrices et antidiabétiques (**Wasser.,2011**).

Actuellement, les composés antioxydants des champignons sont devenus une source importante pour les industries médicales et alimentaires, et fournissent des produits bioactifs naturels, remplaçant ainsi les antioxydants synthétiques (**Abdelshafy *et al.*, 2021**).

**Chapitre 2 : Les  
champignons *Agrocybes* et  
leurs bénéfices biologiques**



### 1. Les champignons comestibles et médicinales *Agrocybes*

Depuis des millénaires, les champignons comestibles et médicinaux constituent un régime alimentaire courant pour l'humanité en raison de leur importance nutritionnelle et de leurs bienfaits thérapeutiques (**Patel et al., 2012 ; Liuzzi et al., 2023**). Ils représentent une source riche en hydrates de carbone, acides aminés, protéines, acides gras, vitamines, minéraux et des métabolites secondaires tels que les : polyphénols, tannins, terpènes et alcaloïdes qui contrôlent et améliorent de multiples fonctions du corps humain afin de maintenir une bonne santé, en réduisant l'apparition de plusieurs maladies chroniques.

Les activités biologiques et thérapeutiques sont variables selon le type d'espèce et la composition en métabolites secondaires. Parmi 140.000 champignons vivants dans la terre, Il existe plus de 3000 champignons ayant une richesse en biosubstances d'intérêt bénéfique pour l'homme (**Podkowa et al., 2021, Wasser., 2002**).

Une famille des basidiomycètes représente une source nutritionnelle importante, caractérisée par leurs propriétés médicinales attirantes, elle est connue par nomenclature taxonomique sous l'appellation des *Strophariaceae* ou **Strophariacées**, elle regroupe plusieurs genres.

Les champignons *Agrocybe* (*Cyclocybe*) sont des espèces saprobiques dans la famille des **Strophariacées**, caractérisée par une taille petite ou moyenne, qui poussent dans l'herbe, les copeaux de bois, le fumier, le paillis de jardin ou dans les bois, soit en milieu terrestre, soit à partir de bois mort, ils ont des empreintes de spores brunes. Certaines espèces comme *Agrocybe aegerita*, *Agrocybe praecox*, produisent en forte teneur quelques métabolites comme les alcaloïdes et nutriments (**Gargano et al., 2017**),

Ces Métabolites extraits des mycéliums ou de fruits de ces basidiomycètes ont des propriétés bénéfiques pour la santé, y compris les propriétés anticancéreuses, l'activité anti-hypertensive, la protection contre : les dommages de l'ADN, les troubles cardiovasculaires, les maladies neuro-dégénératifs et l'amélioration de système immunitaire. A l'addition, ces champignons exercent des activités importantes comme l'inhibition de la production des radicaux libres d'oxygène (espèces réactives d'oxygène ROS) qui fait l'objectif des recherches actuelles dans la remédiation du stress oxydatif dans le corps humain par des produits naturels.

## Chapitre 2 : Les champignons *Agrocybes* et leurs bénéfices biologiques

L'immense rôle des composants nutritionnels et des molécules bioactives des champignons comestibles dans la corrélation avec les problèmes de santé est devenu une tâche brûlante dans la thérapie pharmaceutique moderne (**Das et Prakash, 2022**).

### 1.1. Description des *Agrocybes* (*Cyclocybes*)

Les champignons *Agrocybes* ou *Cyclocybes* de la famille des **Strophariaceae** (Strophariacées) sont des espèces saprobiques de taille petite à moyenne, qui poussent dans l'herbe, les copeaux de bois, le fumier, le paillis de jardin ou dans les bois, soit en milieu terrestre, soit à partir de bois mort, ils ont des empreintes de spores brunes. Ils possèdent des chapeaux convexes ou en forme de cloche ou presque plats. Dans certain région, les mois de mai et juin sont propices pour la plupart des espèces d'*Agrocybe*. Ils possèdent des chapeaux convexes ou en forme de cloche ou presque plats. Dans certain région, les mois de mai et juin sont propices pour la plupart des espèces source Base de données mycologiques (**MycnoDB**) Consulté le : 10/03/2023 sur site web : <https://www.mycodb.fr/fiche.php?genre=Cyclocybe&espece=cylindracea &numphoto=2&source=list&filter=&numfiche=2233>.



**Figure. 4.** Représente le champignon *Cyclocybe cylindracea* où connue sous le nom de Pholiote du peuplier. Source Base de données mycologiques (**MycnoDB**) Consulté le : 10/03/2023 sur site web : <https://www.mycodb.fr/fiche.php?genre=Cyclocybe&espece=cylindracea &numphoto=2&source=list&filter=&numfiche=2233>.

### 1.2. Taxonomie

L'identification des *Agrocybe* repose souvent sur l'examen microscopique. L'observation des spores, leurs dimensions, et la taille des pores à l'une des extrémités de la spore ; parfois l'observation des cystides est également importante. Le cas de l'espèce *Cyclocybe erebia* et *Cyclocybe cylindracea* (AKA *cylindrica* et *aegerita*) étaient considérés comme des espèces d'*Agrocybe*, car ces champignons partagent de nombreuses caractéristiques morphologiques. Les recherches de **Vizzini et al, 2014** démontrent que *erebia* et *cylindracea* ne sont en fait pas très proches des espèces d'*Agrocybe*, selon les concepts phylogénétiques des espèces. Consulté ce site web le 10/03/2023 : <https://www.mushroomexpert.com/agrocybe.html>

Leur identification macroscopique repose sur plusieurs caractères qui comprennent les dimensions générales, la présence ou l'absence d'un voile partiel (laissant des restes sur le bord du chapeau, ou un anneau sur la tige), et des informations sur l'endroit où les champignons ont poussé : dans l'herbe, dans des copeaux de bois, dans les bois, ou en milieu urbain. L'observation microscopique des spores, leurs dimensions, et la taille des pores à l'une des extrémités de la spore. Parfois l'observation des cystides est également importante. En raison de leurs ressemblances, les chercheurs ont (**Vizzini, Angelini & Ercole, 2014**) démontré que l'approche d'identification moléculaire, selon les concepts phylogénétiques des espèces est une méthode appréciable dans l'identification des espèces en reposant sur les marqueurs moléculaires (ITS, NucLSU, NucSSU) portés sur le gène ribosomal (**Toumi M.E et al, 2021, Kebaili F.F et al,2022**) .

**Tableau. 1.** Classification taxonomique des *Agrocybes*

Classification	
<b>Règne</b>	Fungi
<b>Division</b>	Basidiomycota
<b>Sous-division</b>	Agaricomycotina
<b>Classe</b>	Agaricomycetes
<b>Sous-classe</b>	Agaricomycetidae
<b>Ordre</b>	Agaricales
<b>Clade</b>	Agaricoïde
<b>Famille</b>	Strophariaceae

### 1.3. Habitat et distribution géographique

La plupart des autres champignons semblent savoir où se trouvent les champs, mais le champignon des peupliers est un peu rebelle et fructifie sur des souches de peupliers morts. Malgré son nom commun, ce champignon est également présent sur le sol dans les bois humides et les taillis. Peu fréquent dans le sud de la Grande-Bretagne et de l'Irlande, le Poplar Fieldcap est plus commun dans les parties centrales et méridionales de l'Europe continentale. L'un des endroits les plus propices à la découverte du Poplar Fieldcap en Grande-Bretagne est le paillis de copeaux de bois. Ce champignon qui pourrit le bois (il provoque la pourriture blanche) est cultivé depuis l'époque des Grecs et des Romains (*Site web*). Les *Agrocybes* sont principalement distribués dans les zones où l'humidité relative est élevée, principalement en Asie, en Europe et en Amérique du Nord (Lau., 2001).

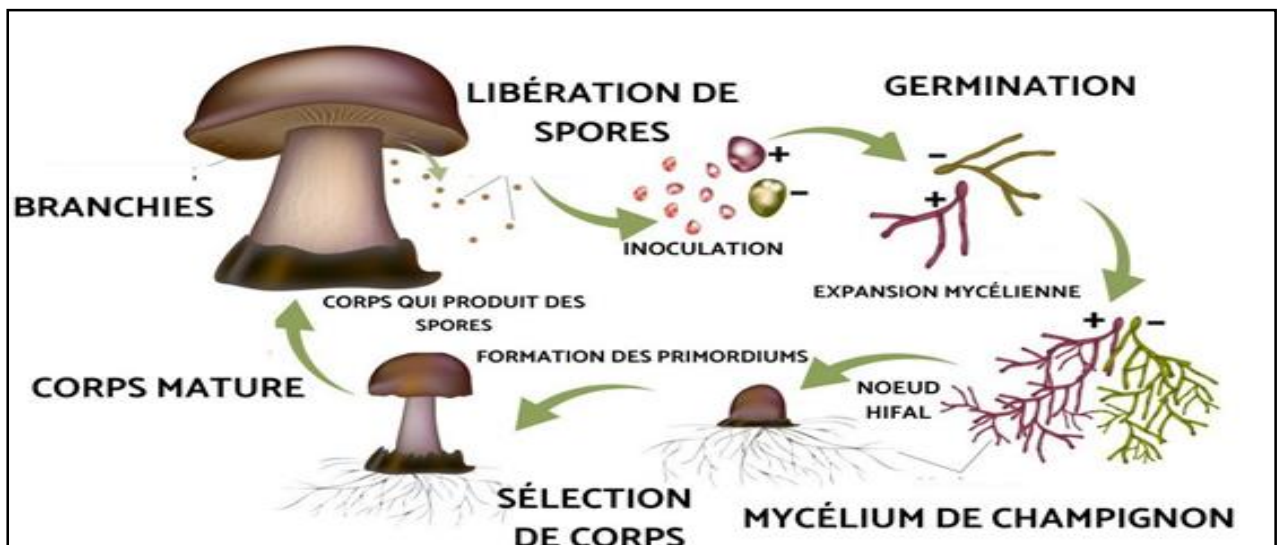
Consulté ses sites web le 10/03/2023 : <https://www.first-nature.com/fungi/cyclocybe-cylindracea.php> ; [https://species.nbnatlas.org/species/NHMSYS0001474231#tab\\_records](https://species.nbnatlas.org/species/NHMSYS0001474231#tab_records) [View](#).

## 2. Cycle de vie des champignons

D'après le mycologue **Peter, 2005**, les champignons manquent la caractéristique principale des végétaux : Privés de chlorophylle, dépourvus de racines, de feuilles et de tiges, ils ont longtemps intrigué les scientifiques, qui les classent aujourd'hui dans un règne à part, distinct de celui des plantes ou des animaux : le règne fongique. Ils doivent donc assurer leur alimentation à partir d'autres organismes, en absorbant les substances nutritives du matériel organique dans lequel ils vivent. D'un point de vue microscopique le mycélium représente l'ensemble du réseau d'hyphes d'un même champignon, que l'on retrouve sous terre.

Les champignons forestiers que l'on peut observer sur le sol sont en réalité la fructification du champignon, le carpophore (ou sporophore) contenant les spores prêtes à être disséminées dans l'environnement. Chaque cellule de l'hyphe peut contenir un noyau (monocaryotique), deux noyaux (dicaryotique) ou même plusieurs, ce qui les distingue des cellules animales et végétales (**Ripert, 2013**).

Dans la nature, les champignons se multiplient en produisant des millions et des millions de spores. Lorsqu'un de ces spores atterrit dans un milieu favorable, il germe et se ramifie pour former un mycélium. Lorsque deux mycéliums compatibles sexuellement se rencontrent, ils fusionnent pour former un mycélium secondaire capable de produire des fructifications (**Figure. 5**), (**Peter, 2005**).



**Figure. 5.** Représentation du cycle de vie des champignons en milieu naturel (**Peter, 2005**).

Image Source <https://www.projetecolo.com/la-reproduction-des-champignons-489.html>.

### 3. Propriétés nutritionnelles et médicinales des *Cyclocybes*

Les champignons ont contribué à développement d'ingrédients actifs de base importance dans le domaine de la chimie pharmaceutique en tant que source en substances bioactives ainsi que des outils important pour la santé humaine et animale grace à leurs qualités en nutriments et leurs applications comme des produits nutraceutiques. Les *Cyclocybes* présentent une source riche en éléments nutritionnels et en métabolites secondaires caractérisées par leurs potentiels biologiques importants. Ici nous avons donné un exemple sur l'espece *Cyclocybe aegerita* pour montrer quelques propriétés nutritionnelles et thérapeutiques.

Les analyses nutritionnelles reveles que ces champignons produisent en forte teneur en glucides, protéines, acides gras insaturés et les comme chez l'espece *Cyclocybe aegerita* de la Serbie qu'elle a les concentrationns suivantes en : glucides 84,51 g/100 g MS, cendre et proteins avec 6,69 g/100 g MS and 6,68 g/100 g MS, respectivement ; l'acide linoléique est l'acide gras insaturé le plus dominant avec un pourcentage de 78,40% (**Petrović et al., 2015**)

**Petrović J., et al., 2015** ont montré que ce champignon produit les 4 iso formes de la vitamine E (Tocophérol) : avec une concentration supérieure en l'isomforme  $\gamma$ - tocophérol 86,08  $\mu\text{g}/100 \text{ g MS}$ , suivi par  $\beta$ - tocophérol,  $\delta$ -tocophérol et  $\alpha$ -tocophérol (8,80  $\mu\text{g}/100 \text{ g MS}$ , 3,40  $\mu\text{g}/100 \text{ g MS}$  and 2,10  $\mu\text{g}/100 \text{ g MS}$ , respectivement).

Une autre recherche récente fournie par **Chen et al., 2023**, a montré les teneurs suivantes en élément nutritionnels essentiels chez *Agrocybe cylindracea* de la chine : 14,09–27,24 g/100 g MS en protéines, 25,27–34,17 g/100 g MS en fibres alimentaires non solubles, 0,49–3,19 g/100 g MS en fibres solubles et 1,69–3,45 g/100 g Ms en lipides. Dix-sept acides aminés sont détectés ouu l'acide glutamique est le plus abondant avec 18,24–46,78 g/100 g MS.

La composition chimique et propriétés médicinales de certains *Agrocybes* ont resumé dans le **tableau. 2.**

## Chapitre 2 : Les champignons *Agrocybes* et leurs bénéfices biologiques

La **Tableau. 2.** Les compositions chimiques et propriétés médicinales de certains *Agrocybe*.

Espece	Activités biologiques	Concentration (ug/ml)	Métabolites secondaires	Concentration (ug /g)
<i>Pleurotus ostreatus</i> ( <i>Bains et Tripathi., 2017</i> )	DPPH·+	41.3±0.25	Poly-phenol	53.3±0.93
	R-libre H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	27.13±0.06	Flavonoid	13.02±0.12
	R-libre NO <sub>2</sub>	35.1±0.264	B-carotene	8.384±0.42
			Lycopene	6.57±0.49
<i>Macrocybe</i> sp ( <i>Bains et Tripathi., 2017</i> )	DPPH·+	21.06±0.2	Poly-phenol	22.46±1.87
	R-libre H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	18.42±0.04	Flavonoid	6.24±0.11
	R-libre NO <sub>2</sub>	22.23±0.15	B-carotene	0.979±0.42
			Lycopene	1.75±0.51
<i>Pleurotus floridanus</i> ( <i>Bains et Tripathi., 2017</i> )	DPPH·+	44.4±0.06	Poly-Phenol	17.36±0.40
	R-libre H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	28.23±0.05	Flavonoid	15.2±1.13
	R-libre NO <sub>2</sub>	39.46±0.15	B-carotene	12.42±0.42
			Lycopene	17.36±0.40
<i>Agrocybe pediades</i> ( <i>Acharya et al., 2017</i> )	DPPH·+	1.03 ± 0.04	PolyPhenol	2.9 ± 0.62
	ABTS·+	0.02807 ± 0.0	Flavonoid	3.8 ± 0.66
			B-carotene	0.01359 ±0.002
			Lycopene	0.0098869±0.003

# Matériels et Méthodes



### 1. Récolte et préparation de la matière fongique :

La collecte du champignon *Cyclocybe sp* ou *Agrocybe sp* a été effectuée durant le mois de février 2023 au niveau de la ville de Iben Ziad –Constantine (**figure. 6**), il croit sur les troncs des arbres et bois morts, un lavage et la coupure en des petits morceaux sont appliqués suivis par un séchage à l'obscurité sous l'influence d'une température de 40°C, les fragments séchés ont broyé à la suite pour donner une poudre fine serve à l'utilisation dans l'extraction des métabolites secondaires.

L'identification taxonomique de l'espèce a été effectuée dans un laboratoire Genies microbiologiques et applications par Dr. Toumi Mohammed Es-seddik par approche macroscopique.



**Figure. 6.** Champignon sauvage *Cyclocybe sp* collecté à Iben Ziad- Constantine (Photo personnelle prise en Février 2023).

### 2. Extraction des métabolites bruts

Afin d'extraire les molécules d'intérêt (polaires et apolaires) de la matière fongique, deux extractions (solide/liquide) ont été réalisées selon la méthode de **Baatouche *et al.*, (2019)**, une agitation de 24 heures pendant 3 jours à température ambiante.

Une première extraction a été effectuée par la macération de la poudre fongique dans un système solvant constitué de deux solvants de polarité différents (un mélange hydro-alcoolique H<sub>2</sub>O/ MeOH; 20:80 ; V/V), et une deuxième extraction a été réalisée par la macération de la poudre fongique dans le méthanol absolu.

Les résidus sont récupérés après séchage à une pression réduite avec une température de 40°C dans un évaporateur rotatif (R-210 Büchi).



**Figure. 7.** Evaporation du solvant par un évaporateur rotatif (R-210 Büchi).

### 3. Calcul de rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait obtenu, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la matière fongique utilisée dans l'extraction. Les rendements de notre champignon en extrait sec ont été déterminés par le calcul du rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = (\text{PE} / \text{PM}) \times 100$$

**Rdt** : rendement d'extraction

**PE** : poids de l'extrait sec après évaporation du solvant

**PM** : poids sec de la matière fongique initiale.

### 4. Screening mycochimique des extraits fongiques

Afin de détecter la présence des métabolites secondaires qui sont des molécules bioactives appartenant à différentes classes chimiques, un screening mycochimique a été réalisé sur les extraits obtenus selon le protocole de Cavé (1993), les tests préliminaires comprennent des tests colorimétriques, de solubilité et de précipitation pour mettre en évidence la présence des grands groupes de métabolites secondaires.

- Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, un volume de 2 ml de chaque extrait est mélangé avec 0,5 ml de HCl concentré et 0,5g de tournure de magnésium. Après 3 minutes, une coloration rose/rouge apparaît indiquant la présence des flavonoïdes (Cavé., 1993).

- Les tanins

La présence des tanins est révélée par l'ajout de quelques gouttes d'une solution de FeCl<sub>3</sub> (1%) à 1ml de chaque extrait. Ce test est différentiel, il donne deux types de coloration selon la nature des tanins existant dans l'extrait.

L'apparition d'une coloration bleu-noire indique la présence des tanins galliques par contre la coloration verte/ bleue prouve la présence des tanins catéchiques.

## Matériel et Méthodes

---

- Les anthocyanes

L'identification de la présence des anthocyanes est réalisée par l'ajoutant de 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et 5ml d'ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH) à 2 ml de chaque extrait. L'apparition d'une coloration rose/ rouge ou bien bleue violacée indique la présence des anthocyanes.

- Les alcaloïdes

Un mélange de 5 ml de chaque extrait et 1ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilué (1/2), dans deux tubes sont préparés en utilisant deux réactifs différents, l'un est le réactif de Mayer et l'autre est le réactif de Wagner. L'apparition d'une turbidité/ précipité après 15 min indique la présence des alcaloïdes.

- Les saponosides (test de la mousse)

La détection des saponosides a été réalisée en diluant 2/10 chaque extrait avec l'eau distillée, le mélange est mis à ébullition pendant 30 min, tous les tubes sont fortement agités en position horizontale pendant 15 secondes. La variation de la hauteur de la mousse nous indique la qualité du test (**tableau. 3**).

**Tableau. 3.** Résultats des saponosides (test de mousse).

Résultat	Pas de mousse	Mousse < 1 cm	Mousse de 1-2 cm	Mousse > 2 cm
Indication	négatif	faiblement positif	positif	très positif

- Les composés réducteurs

Un volume de 1ml de chaque extrait a été mis dans un tube avec 1ml d'eau distillée. Ensuite, Vingt gouttes de la liqueur de Fehling sont ajoutées, puis le tout est chauffé. La formation d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

### 5. Analyse quantitative des composés phénoliques et flavonoïdes

#### 5.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC)

- Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé suivant la méthode de **(Singleton et Rossi, 1965)** en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. Le réactif FCR, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique est réduit lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde de tungstène et molybdène ; la coloration bleu produite est proportionnelle à la teneur en polyphénols totaux présents dans les échantillons et possède une absorbance maximum dans un intervalle de lumière de 750-765 nm.

- Manipulation

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **(Singleton et Ross, 1965)** en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes en verre, chaque extrait (1mg/ml) est ajouté à 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1/10ml). Ensuite, 500µl de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5 %, m/v : 7.5 g dans 100 d'eau distillée) sont ajoutés pour rendre le milieu plus alcalin et pour catalyser la réaction d'oxydoréduction.

Le mélange est ensuite incubé à température ambiante pendant 30 minutes. L'intensité de la coloration bleue produite a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 7315 Advanced UV/Visible une la longueur d'onde 765 nm.

La quantification des polyphénols totaux a été faite à partir d'une des courbes d'étalonnages réalisée par l'acide gallique (standard) à différentes concentrations (10, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 et 200 µg/ml) dans les mêmes conditions que les extraits et les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg GAE/mg).

### 5.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TF)

- Principe

Les flavonoïdes totaux (TF) ont dosé selon le protocole décrit de Zhishen et *al.*, 1999 et Kim et *al.*, 2003, avec quelques modifications.

La méthode repose sur un dosage directe par le chlorure d'aluminium, en effet les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de réagir avec le chlorure d'aluminium, et permettent de donner un complexe jaunâtre par chélation de l'ion  $Al^{3+}$ ; la coloration jaunâtre produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait.

- Manipulation

Dans un tube à hémolyse en verre, un volume de 900  $\mu$ l d'extrait (1mg/ml) ou d'étalon, ou d'eau distillée pour le témoin ont été ajoutés à 50  $\mu$ l d'acétate de sodium ( $C_2H_3NaO_2$ ) à 5%. Après 5 minutes, 50  $\mu$ l d' $AlCl_3$  à 10% ont été additionnés, ensuite le milieu est mélangé vigoureusement. Après une incubation de 40 min à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 415 nm.

Un blanc échantillon est préparé par un volume de 900  $\mu$ l d'eau, 50  $\mu$ l d'acétate de sodium ( $C_2H_3NaO_2$ ) à 5 % et 50  $\mu$ l d' $AlCl_3$  à 10 % ont été additionnés.

Les TFC dans chaque extrait sont calculées en se référant à l'équation de la régression de la gamme d'étalonnage, établie avec un étalon la Rutine à différentes concentrations (31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500  $\mu$ g/ml) et dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de Rutine par milligramme d'extrait ( $\mu$ g RE/mg d'extrait).

### 6. Etude *in vitro* de l'Activité antioxydante

Le potentiel antioxydant des différents extraits de *Cyclocybe sp* est testée par trois méthodes : l'activité anti-radicalaire du DPPH<sup>•</sup>, l'activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>, le test du pouvoir réducteur de fer (FRAP), l'activité antioxydante par la méthode de Phenantroline. En nous comparons avec une molécule de référence : l' $\alpha$ -tocophérol.

La plupart des méthodes appliquées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits organiques sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. La réalisation de ces tests est effectuée au niveau de laboratoire de biochimie et immunologie du centre national de biotechnologie (CRBT)-Constantine.

#### 6.1. Activité anti-radicalaire au DPPH<sup>•</sup>

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des extraits de *Cyclocybe sp*, nous avons utilisé le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

- Principe

L'activité anti-radicalaire au DPPH<sup>•</sup> représente l'un des essais plus employés pour révéler le potentiel antioxydant des molécules naturelles (**Bastos *et al.*, 2007**). Le composé chimique 2,2-Déphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) est un radical libre stable, possède un électron non apparié porté sur un atome d'azote N<sup>•</sup> (**Liang et Kitts, 2014**).

En présence d'un antioxydant, le radical DPPH<sup>•</sup> est réduit en diphényl-picrylhydrazine (DPPH, H), le spectre d'absorption est diminué et la décoloration résultante est stœchiométrique en ce qui concerne le nombre d'électrons captés (**Bastos *et al.*, 2007**) (**figure. 8**). Cette réaction se déroule dans une température ambiante et à l'obscurité, afin d'éviter tout risque de dégradation des molécules thermosensibles et photosensibles. L'absorbance est mesurée à 517 nm.

- Mode opératoire

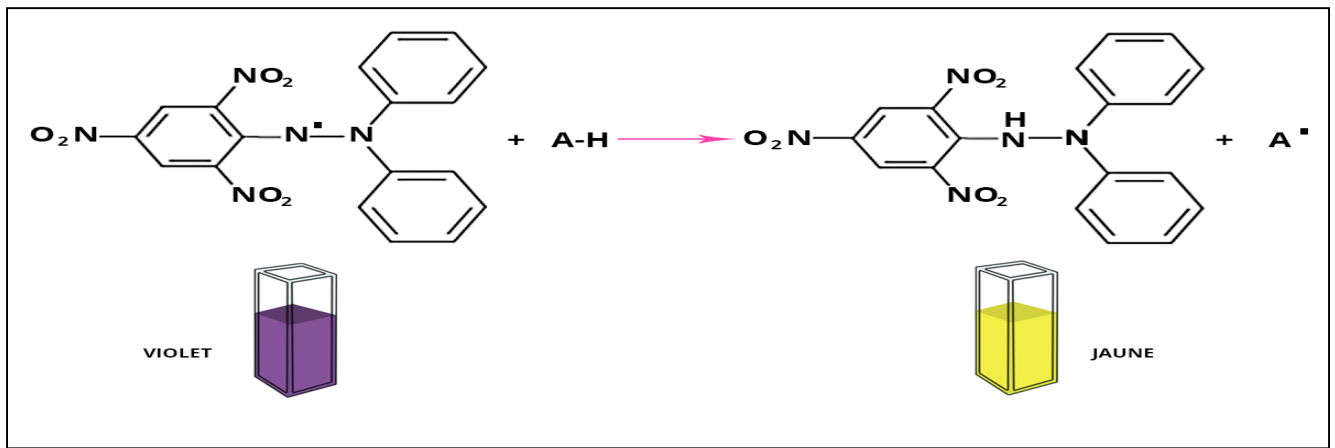
Le test est réalisé selon la méthode décrite par (**Blois, 1958**) et (**Tel *et al.*, 2012**) avec quelques modifications. Dans une microplaque à 96 puits, à l'aide d'une micropipette 40  $\mu$ L de différentes

## Matériel et Méthodes

concentrations de chaque extrait ont été déposés dans les puits, après 160  $\mu$ L de solution méthanolique de DPPH (0,2 mM) fraîchement préparée ont été ajoutés.

Après 30 min d'incubation à température ambiante à l'abri, la variation de coloration a été suivie par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits Multimode EnSpire ; Perkin Elmer, Waltham, MA.

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC<sub>50</sub>, ce paramètre est défini comme étant la concentration de l'antioxydant qui réduit 50% de l'activité de DPPH.



**Figure. 8.** Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec l'antioxydant, source Chimiaactiv : <http://chimiaactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>. Consulté le 25/05/2023.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> moyennes ont été déterminées par les régressions linéaires des trois essais séparés, où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage de réduction (d'inhibition) du radical DPPH, qui est calculé par la formule suivante :

$$I \% = \frac{(\text{Abs Control négatif} - \text{Abs Echantillon})}{\text{Abs Control}}$$

**I %** : Pourcentage de l'activité anti radicalaire ; **Abs Echantillon** : Absorbance de l'échantillon ; **Abs Control négatif** : Absorbance du control négatif.

Le contrôle négatif est composé de la solution de DPPH dans le méthanol seul, et le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l' $\alpha$ -tocophérol. La concentration des extraits était de l'ordre 15,625 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 et 1000  $\mu$ g/ml. Le standard était à l'ordre de 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200 ; 400 et 800  $\mu$ g/ml.

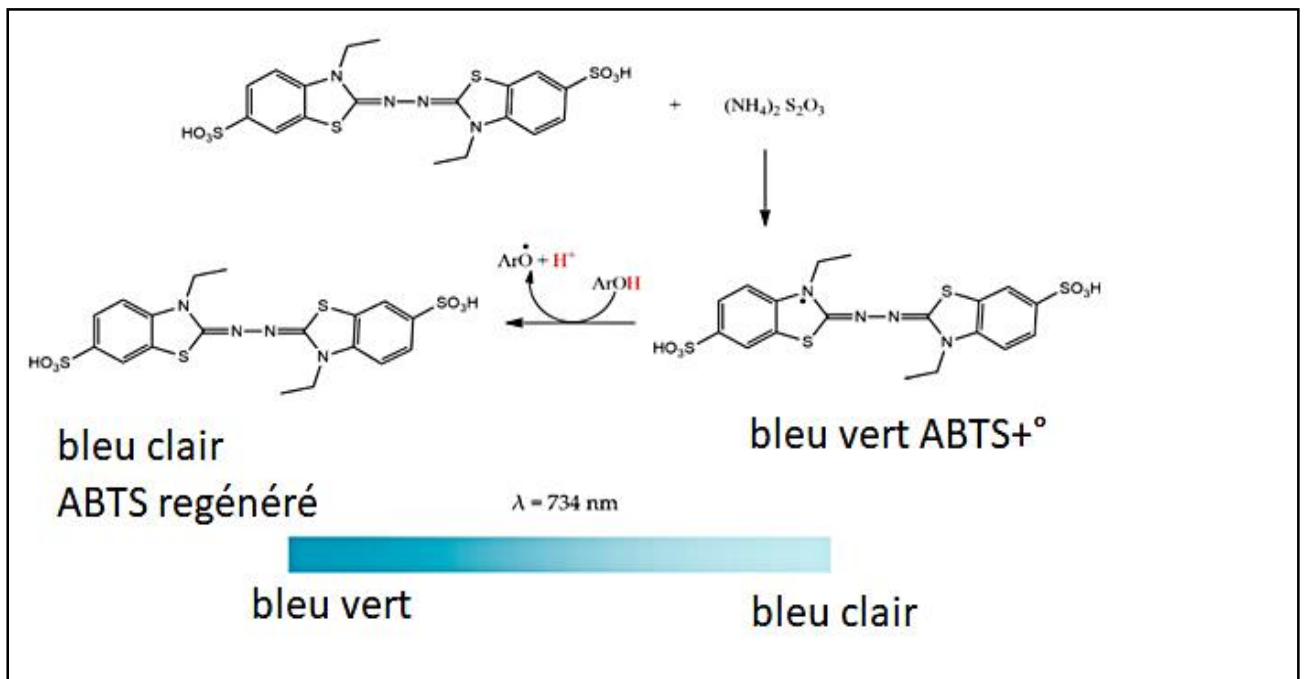


### 6.2. Test de réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup>

Le test de réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup> est largement utilisée dans les études d'évaluation d'activité antioxydante grâce à leurs caractéristiques, telles que : la facilité à manipuler, la stabilité du radical dans différents gammes de pH, un potentiel redox faible, une bonne solubilité dans l'eau et dans les solvants organiques, l'efficacité de la méthode pour les composés de nature lipophile et hydrophile (Bibi Sadeer *et al.*, 2020 ; Akar et Arslan Burnaz., 2020).

- Principe

Le radical ABTS<sup>•+</sup> est formé en une seule réaction issue de l'oxydation de l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) avec persulfate d'ammonium ou de potassium ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ou K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, respectivement) avant l'ajout de l'antioxydant (Figure. 9). C'est un test appliqué pour déduire la capacité totale de piégeage des radicaux. Ainsi que, les valeurs d'activité des substances dans la méthode sont définies sur la base de la réduction de couleur de ABTS<sup>•+</sup> par les composés antioxydants.



**Figure.9.** Formation de l'ABTS<sup>•+</sup> par transfert d'électron en présence de persulfate de potassium ou d'ammonium. La molécule antioxydante (ArOH) réduit le radical formé en donnant un H<sup>+</sup> (Bibi Sadeer *et al.*, 2020).

## Matériel et Méthodes

---

- Mode opératoire

L'activité ABTS est déterminée selon le protocole de **Re et al., 1999**, modifié légèrement. Le radical ABTS<sup>•+</sup> est résulté après une oxydation de l'ABTS (19,2 mg dans 5 ml H<sub>2</sub>O), par le persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (3,3 mg dans 5 ml H<sub>2</sub>O). Le mélange est conservé pendant 16 heures à 4°C à l'obscurité. La solution est diluée avec de l'eau distillée pour parvenir leur absorbance à 0,7±0,02 à λ 734 nm.

Un volume 160µL d'ABTS<sup>•+</sup> est ajoutée dans une microplaque à 96 puits à 40µL de différentes concentrations d'extraits fongiques ; un contrôle négatif est préparé selon le même protocole en remplaçant l'échantillon par le méthanol. Après une incubation à température ambiante et dans l'obscurité 10 minutes, l'Abs a été mesurée à 734 nm.

L'activité ABTS<sup>•+</sup> a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$$I\% = [(Abs_{\text{Control négatif}} - Abs_{\text{Echantillon}}) / Abs_{\text{Control négatif}}] \times 100$$

**I%** : Pourcentage d'inhibition de l'ABTS<sup>•+</sup> ; **Abs Echantillon**: Absorbance de l'échantillon ; **Abs Control négatif**: Absorbance du control négatif ; Le contrôle négatif est composé du même volume de la solution d'ABTS avec le méthanol qui remplace le volume des extraits a testé.

### 6.3. Test du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test du pouvoir réducteur (FRAP « ferric ion reducing antioxidant power») est simple, rapide, rentable. (**Zhong et Shahidi., 2015**). Au premier temps, Il a été utilisé pour évaluer le pouvoir réducteur du plasma, après, il sera appliqué pour déterminer l'activité antioxydante dans d'autres fluides biologiques, aliments et des extraits de plantes.

- Principe

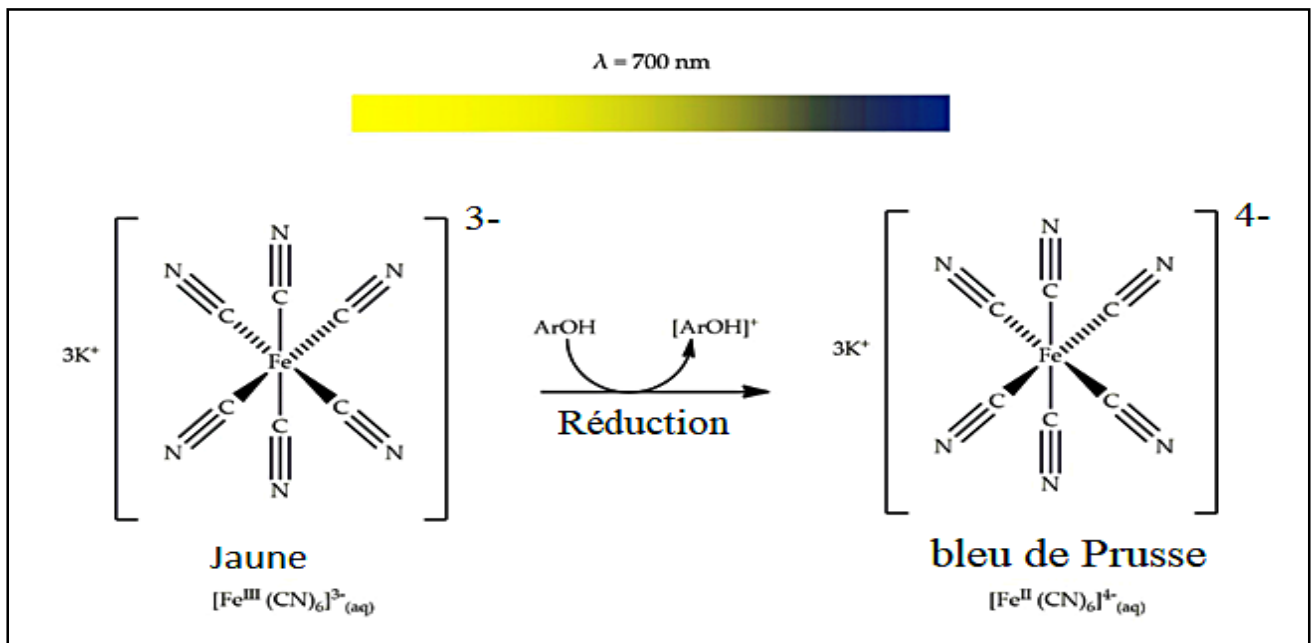
Le test au potassium ferricyanide K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub> est un autre type de la méthode FRAP basée sur la réduction du Fe(III) en Fe(II). Il peut être utilisé pour mesurer le pouvoir réducteur des antioxydants. De différents complexes colorés peuvent former lors de la réaction entre l'échantillon d'intérêt avec le potassium ferricyanide-Fe (III). Où la coloration de jaune vers bleu de Prusse (bleu-vert). La couleur du chromogène produit dans ce dosage dépend de l'échantillon testé. Le mécanisme de la réaction et le changement de couleur sont montrés dans la (**figure. 10**). (**Bibi Sadeer et al., 2020**).

## Matériel et Méthodes

- Mode opératoire

L'expérimentation est réalisée selon la méthode d'Oyaizu., (1986). Le milieu réactionnel est composé de 10  $\mu\text{l}$  de l'extrait, 40 $\mu\text{l}$  du tampon phosphate à pH 6,6 et 50 $\mu\text{l}$  de potassium ferricyanide  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (1%).

L'ensemble est incubé à 50°C pendant 20 min. Ensuite 50 $\mu\text{l}$  de l'acide trichloroacétique (TCA), 40 $\mu\text{l}$  H<sub>2</sub>O distillée et 10  $\mu\text{l}$  chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) sont ajoutés. Les Abs sont mesurées à une longueur d'onde  $\lambda$  700 nm. L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle à l'augmentation du pouvoir réducteur.



**Figure. 10.** Le mécanisme de réaction du potassium ferricyanide  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$  dans le test du pouvoir réducteur du  $\text{Fe}^{+3}$  par un antioxydant (Bibi Sadeer *et al.*, 2020).

### 7. Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée par le logiciel Graph Pad Prism (version 8). Les résultats obtenus à partir des expériences réalisées *in vitro* ont été exprimés en moyenne  $\pm$  SD, à  $p < 0.05$ .

## Résultats et Discussion

### 1. Rendement d'extraction

L'extraction est un moyen qui aboutit au transfert des molécules chimiques d'un milieu solide ou liquide en les entraînant d'une phase à une autre pour laquelle elles ont une plus grande affinité (**Genthon., 2015**).

Les rendements d'extraction sont présentés dans le (**tableau. 4**). Une variabilité peut être observée dans le rendement entre les deux extraits. En général, l'extrait Hydro méthanolique (Ext-Hydro-MeOH) a donné plus de rendement 6,57% supérieur que celui de l'extrait méthanolique (Ext-MeOH) 3,08%.

**Tableau. 4.** Rendement des extraits de *Cyclocybe sp.*

Extrait	Ext-Hydro-MeOH	Ext-MeOH
Rendement (%)	6,57	3,08

Les différents rendements illustrés dans le (**tableau. 4**) ont proche avec les résultats de (**Lo., 2005**). Cette équipe de recherche en chine trouvent que la valeur du rendement de l'extrait aqueux 6,03% du poids sec de champignon *Cyclocybe Aegerita*.

Les chercheurs **Maja et al., 2013**, Ont déclaré une valeur de 13,31% après utilisation d'une extraction avec du MeOH à 50%, correspond à 250g d'extrait *C. Aegerita*. Le chercheur (**Sylvie et al., 2021**), déclare dans son étude une valeur de 2,10% et 34,79% respectivement après utilisation d'une extraction par de l'éthanol et de l'eau assisté par une température en dessous de 35°C en exerçant une sonication pendant 90 minutes.

**Acharya et al, 2017**, ont trouvé la présence de différents métabolites secondaires après l'analyse de l'extrait MeOH du champignon *Agrocybe pediades* par la technique de fluorescence, après le traitement par les réactifs utilisés dans le criblage chimique.

## Résultats et Discussion

---

La variation des rendements d'extraction est attribuée aux polarités des différents composés de chaque extrait (**Ennajar et al., 2009**). Les différentes méthodes d'extraction, le temps et la température de l'extraction, le stade de la récolte ainsi que la taille des champignons, le rapport du solvant d'extraction et de l'échantillon et enfin la nature des solvants utilisés, sont à l'origine de la différence constatée entre nos valeurs et celles des autres études (**de Melo Macoris et al., 2017 ; Čilerdžić et al., 2019 ; Khatua et al., 2019**).

Ces facteurs peuvent varier considérablement d'un échantillon à l'autre, ce qui rend difficile la comparaison avec les résultats des autres études. (**Ayouni et al., 2016 ; Dane et al., 2016 ; Arunika et al., 2015 ; Medini et al., 2013**).

L'extraction est influencée en général par le choix de la méthode en fonction des biomolécules faisant l'objet de notre étude. En effet, plusieurs paramètres jouant un rôle primordial durant cette opération clé à savoir : le rapport quantité de matière au volume du solvant (ou rapport solide/solvant), le type et la concentration du solvant, le pH, la température, les intervalles de temps, le nombre des cycles et les étapes d'extractions réalisées individuellement (**Mansour-djaalab., 2014 ; Masoko et al., 2008 ; Abd Razak et al., 2020**).

### 2. Analyse qualitative

Les propriétés bio-thérapeutiques des produits naturels tels que les plantes, les herbes médicinales et même les champignons ont été attribuées à la présence de phytoconstituants, en particulier des composés phénolique, des flavonoïdes et les alcaloïdes (**Kaewpiboon et al., 2012**). Les résultats de l'identification des métabolites secondaires des extraits de notre champignon ont été rassemblés dans le (**tableau. 5**).

Le screening mycochimique a révélé l'absence des flavonoïdes et les composés réducteurs dans les deux extraits méthanolique et hydro-méthanolique, alors que les anthocyanes, les tanins et les alcaloïdes ont été présentés dans les deux extraits (Hydro-MeOH et MeOH), tandis que les saponosides ont été trouvés uniquement dans l'extrait méthanolique.

## Résultats et Discussion

**Tableau. 5.** Analyse qualitative par screening phytochimique des extraits de champignon.

Constituant/ Extraits	Ext-Hydro-MeOH	Ext-MeOH
Flavonoïdes	-	-
Tanins	++	++
Anthocyanes	+++	++
Alcaloïdes		
• Test de Mayer	+++	+
• Test de Wagner	+++	+
Composés réducteurs	-	-
Saponosides	-	+

Les signes (+++), (++) , (+) expriment le niveau élevé, modéré et faible de la présence des substances chimiques, par contre le signe (-) indique l'absence ou la non détection de ces composés

Le criblage mycochimique des extraits testés a révélé la présence d'alcaloïdes, les anthocyanes et les tanins. Les saponosides avec une faible teneur dans l'Ext-MeOH. Ces biomolécules possèdent un ou plusieurs pouvoirs thérapeutiques pour l'homme. En effet, notre étude révèle l'existence des tanins dans les deux échantillons analysés. Les deux extraits ne contiennent pas les flavonoïdes la raison auxquelles la coloration n'a été pas changée lors d'ajout d'HCL et la tournure de magnésium. Nos résultats dans l'ensemble sont en concordance à ceux rapportés par **Mensah, F. (2021)** qu'elle a évalué la composition des métabolites secondaires chez 8 champignons sauvages croissent à Ghana.

Ces biomolécules peuvent assurer des fonctions métaboliques essentielles pour le champignon, et interviennent dans leur protection contre les prédateurs. Les métabolites secondaires chez les champignons varient sous l'influence de plusieurs facteurs : génétiques et environnementaux, ainsi que les techniques d'extraction, le solvant, taille de poudre, les conditions et la durée de stockage de l'échantillon (*Tan et al. 2013*).

## Résultats et Discussion

---

L'efficacité de l'extraction d'un composé chimique par les solvants organiques dépend des caractéristiques physico-chimiques de ce composé comme la solubilité, polarité, (**Verdiana et al. 2018 ; Kebaili F.F., 2022**). Les solvants à forte polarité permettent d'extraire les alcaloïdes, les composés phénoliques, les caroténoïdes, les tannins, sucres, les acides aminés, polysaccharides ; par contre, les solvants semi polaires ont capable de ressortir les terpènes et les alcaloïdes, les glycines ; les solvants apolaire (non-polaire) permettent d'utiliser dans l'extraction des composés chimiques comme les lipides et les molécules volatiles (huiles essentiels) (**Harborne J.B., 2006**).

Les tanins sont tenus comme bons remèdes dans le traitement des maladies respiratoires et contre la toux. Par voie interne, les tanins exercent une activité anti-diarrhéique. Ils possèdent une activité antioxydante importante grâce à leurs propriétés structurales et chimiques, ce sont des très bons pièges a radicaux libres et ils inhibent la formation de radicaux superoxydes (**Bediaga, 2011**). Les alcaloïdes occupent une place très importante parmi les métabolites secondaires. Ces composées possèdent un large panel de propriétés médicinales. Certains alcaloïdes sont antimicrobiennes (**Kakatum et al., 2012**) et employés pour traiter certains cancers. Certains saponosides possèdent une activité expectorante, une activité anti-inflammatoire. De plus, ils possèdent également des propriétés édulcorantes, largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire.



### 3. Analyse quantitative des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes totaux)

Afin de lutter contre le stress oxydatif, l'apport des antioxydants dans les aliments ou les compléments est indispensable. Les champignons représentent une source importante des antioxydants (Das *et al.*, 2020), en raison de leur teneur élevée en composés phénoliques et en flavonoïdes (Boonsong *et al.*, 2016 ; Sánchez., 2017), ils se caractérisent par un pouvoir antioxydant plus élevée que celui trouvée dans les fruits et les légumes, grâce à leurs capacités à produire des biomolécules de nature chimique diverse (Sánchez., 2017).

Notre champignon est connu pour être l'un des champignons médicinaux et nutritionnels les plus importants, qui offre de nombreux avantages pour la santé, et il est utilisé depuis longtemps pour améliorer la santé de l'être humain.

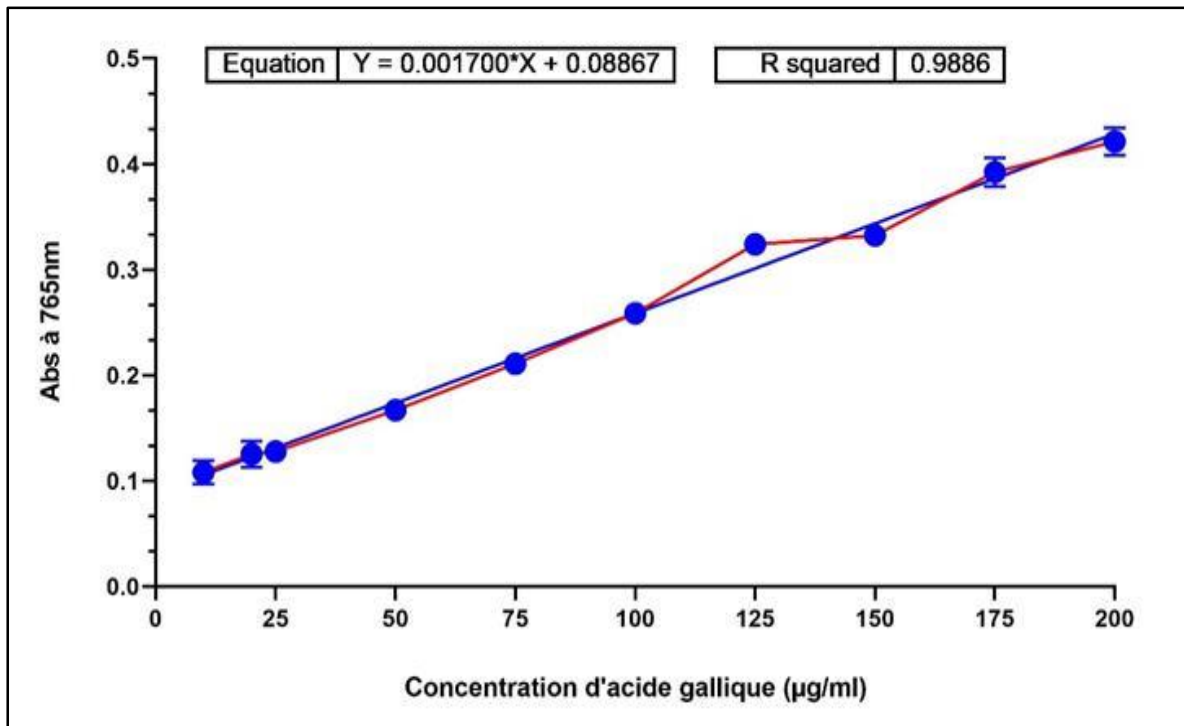
La teneur en TPC des extraits du champignon est représentée dans le (tableau. 6) ; Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g GAE/mg d'extrait}$ ), en utilisant l'équation de la régression linéaire des courbes d'étalonnage tracée à partir de l'acide gallique (Figure. 11). La teneur en flavonoïdes totaux (FT) des extraits, et aussi exposé dans le (tableau. 6) ; Les résultats sont exprimées en microgrammes équivalent de rutine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g RE/mg d'extrait}$ ), en utilisant l'équation de la régression linéaire des courbes d'étalonnage tracée à parti de la rutine. (Figure. 12).

**Tableau. 6.** Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de *Cyclocybe sp.*

Extraits	Polyphénols totaux (PT)	Flavonoïdes totaux (FT)
	$\mu\text{g GAE/mg Ext}$	$\mu\text{g RE/mg Ext}$
Ext-Hydro-MeOH	59,21 $\pm$ 0,0032	17,06 $\pm$ 0,001
Ext-MeOH	53,52 $\pm$ 0,0049	16,30 $\pm$ 0,0196

Les résultats sont exprimés en moyennes $\pm$ écart-type (Moy $\pm$ SD).

## Résultats et Discussion

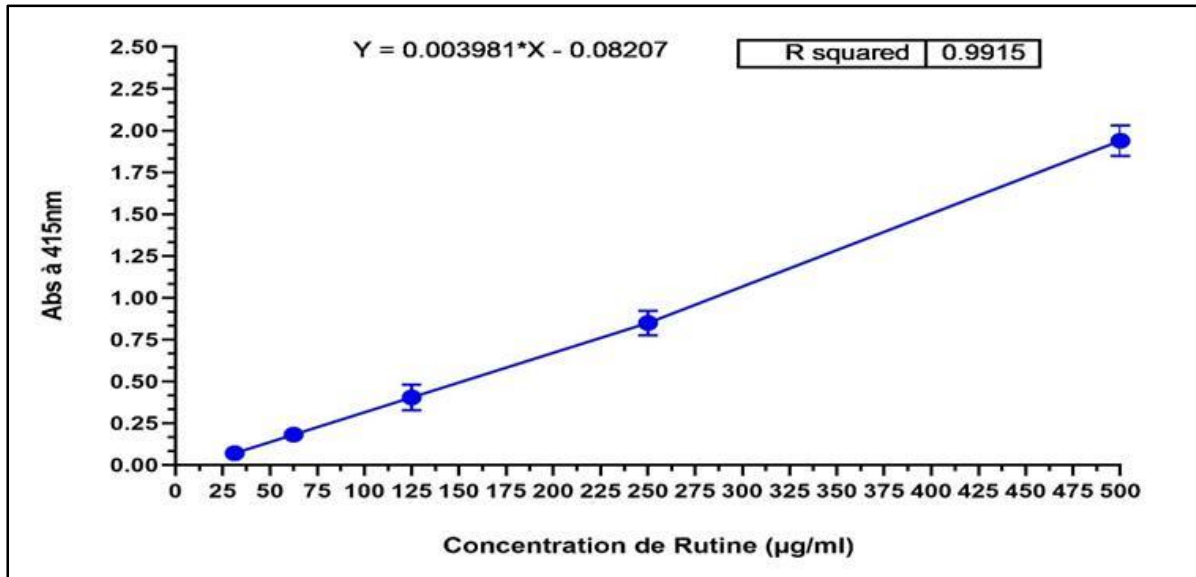


**Figure. 11.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les teneurs en polyphénols totaux des deux extraits varient entre 53,52 et 59,21 µg GAE/mg Ext. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'ext-Hydro-MeOH, avec un taux de  $59,21 \pm 0,0032$  µg GAE/mg Ext, par rapport à l'ext-MeOH, où nous enregistrons une teneur de  $53,52 \pm 0,0049$  µg GAE/mg Ext. D'après ces résultats, on déduit que le contenu phénolique dans les extraits examinés, dépend de la polarité du solvant utilisé pour l'extraction.

Les résultats présentés dans le Tableau montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différents extraits. L'extrait Hydro-méthanolique a une concentration en flavonoïdes de  $17,06 \pm 0,001$  µg RE/mg Ext, suivi par l'extrait méthanolique qui renferme des teneurs de  $16,30 \pm 0,0196$  µg RE/mg Ext.

## Résultats et Discussion



**Figure. 12.** Courbe d'étalonnage de la rutine.

Ces résultats montrent qu'une faible richesse en polyphénols et en flavonoïdes chez le champignon étudié. Nous avons remarqué que ces résultats obtenus ont accordé avec ceux menés dans le screening mycochimique, où les tests appliqués révèlent une absence presque totale de ces classes chimiques.

Pour le dosage des polyphénols totaux, le FCR a été utilisé. L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif qui est de couleur jaune. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique de couleur jaune et virant au bleu lorsqu'il est réduit par les phénols.

La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 765 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques. En effet, le réactif de Folin-Ciocalteu réagit également avec certains composés azotés, thiols, vitamines, bases nucléotidiques et hydrates de carbone (Everette *et al.*, 2010).

Le contenu des PT de nos extraits, sont nettement supérieures aux résultats rapportés par (Alkan *et al.*, 2020) qu'ils ont trouvé une teneur de  $10,53 \pm 0,13$  mg GAE/g d'extrait dans l'extrait méthanolique *C. cylindracea* collecté à Konya en Turquie. Et aussi sont supérieurs aux celles signalées par Landingin *et al.*, 2021 ; où la teneur des PT de l'extrait éthanolique de l'espèce exotique *C. cylindracea* est de 41,08 mg GAE/g Ext. De plus ; le chercheur Armin *et al.*, 2020, ont remarqué une concentration en PT de  $6,5 \pm 0,6$  mg GAE/g matière sèche chez *C. cylindracea* de la Croatie.

## Résultats et Discussion

---

Concernant les teneurs des FT des extraits étudiés de *Cyclocybe sp* d'Algérie, elles sont plutôt supérieures aux celles présentés dans l'extrait méthanolique de *C. aegerita* a été estimée de  $3,8 \pm 0,66$  µg d'équivalent quercétine/mg d'extrait (**Krishnendu et al., 2017**).

En général, la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes dans les champignons indique qu'ils sont une source de ces composés chimiques qu'ils présentent des propriétés antioxydantes et jouent un rôle préventif vis-à-vis des pathologies humaines.

Plusieurs études ont démontré que la composition chimique des molécules bioactives et le potentiel antioxydant dépendent fortement de facteurs génétiques, de l'espèce de champignon, de l'environnement et de l'habitat (origine géographique), de la phase du cycle de vie (mycélium, fructification mûr ou jeune), du type de solvant, de la méthode de traitement et de la dose d'extrait examiné (**Yildiz et al., 2015 ; Pinto et al., 2013 ; Vaz et al., 2011 ; Barros et al., 2007 a ; Barros et al., 2007 b ; Ramírez-Anguiano et al., 2007 ; Murcia et al., 2002 ; Kebaili F.F., 2022**).

La nature du solvant a un impact significatif sur le processus d'extraction et définit la composition chimique de l'extrait du fait que les différents composés phénoliques ont des polarités différentes (**Shah et al., 2018 ; Veljović et al., 2017**). Ainsi, les conditions d'extraction sont systématiquement ajustées pour obtenir un extrait présentant l'effet bioactif souhaité (**Kebaili, 2022**).

#### 4. Evaluation d'activité antioxydante *in vitro*

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des molécules produites par les cellules lors du métabolisme cellulaire, mais également lors de processus de stress biotiques ou abiotiques, déséquilibres redox, interventions ou synthèses d'hormones, développement, mort cellulaire programmée. Les ERO peuvent être produites par des enzymes telles que les NADPH Oxydases qui sont responsables de l'augmentation soudaine de l'oxydation en réponse à une attaque pathogène. Ils peuvent être toxiques pour les tissus et les organes en raison de leur pouvoir pro-oxydant élevé et sont associées à diverses maladies humaines telles que le cancer, l'athérosclérose et le diabète (**Kim et al., 2021 ; Kebaili, 2022**).

## Résultats et Discussion

Les cellules sont normalement capables de se défendre contre les dommages causés par les ERO à l'aide d'enzymes de type superoxyde dismutase, catalase. Les antioxydants naturels sont des piègeurs d'ERO qui protègent les tissus et les organes du stress oxydatif (**Kim et al., 2021**), mais lors d'un déficit dans ces systèmes de défense, la cellule peut atteindre des anomalies graves et sévères, qui développent ensuite des maladies dangereuses.

Dans la présente recherche, nous avons procédé à l'évaluation de la capacité antioxydante en utilisant diverses méthodes, à savoir l'activité anti-radicalaire au DPPH, l'activité de piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>, le test du pouvoir réducteur (FRAP), ont été utilisées pour évaluer les propriétés antioxydantes des extraits (Ext-Hydro-MeOH et Ext-MeOH) du champignon *Cyclocybe sp.* Tous les extraits ont présenté des activités antioxydantes à effet dose-dépendante. Le **tableau. 7.** montre les valeurs IC<sub>50</sub> et A<sub>0,5</sub> des extraits et de standard α-Tocophérol.

**Tableau. 7.** Activité antioxydante des extraits de champignon *Cyclocybe sp* et l' α-Tocophérol.

Extraits (µg/ml)	DPPH	ABTS <sup>•+</sup>	FRAP
	IC <sub>50</sub> µg/mL		µg/mL [A <sub>0,5</sub> ]
Ext-Hydro MeOH	582,67±19,48	275,42±23,26	< 250 (490,80±137,57)
Ext-MeOH	493,53±10,50	168,03±23,95	255,00±0,00
α-Tocophérol (4mg/ml)	13,03±1,28	7,58±0,44	34,93±2,38

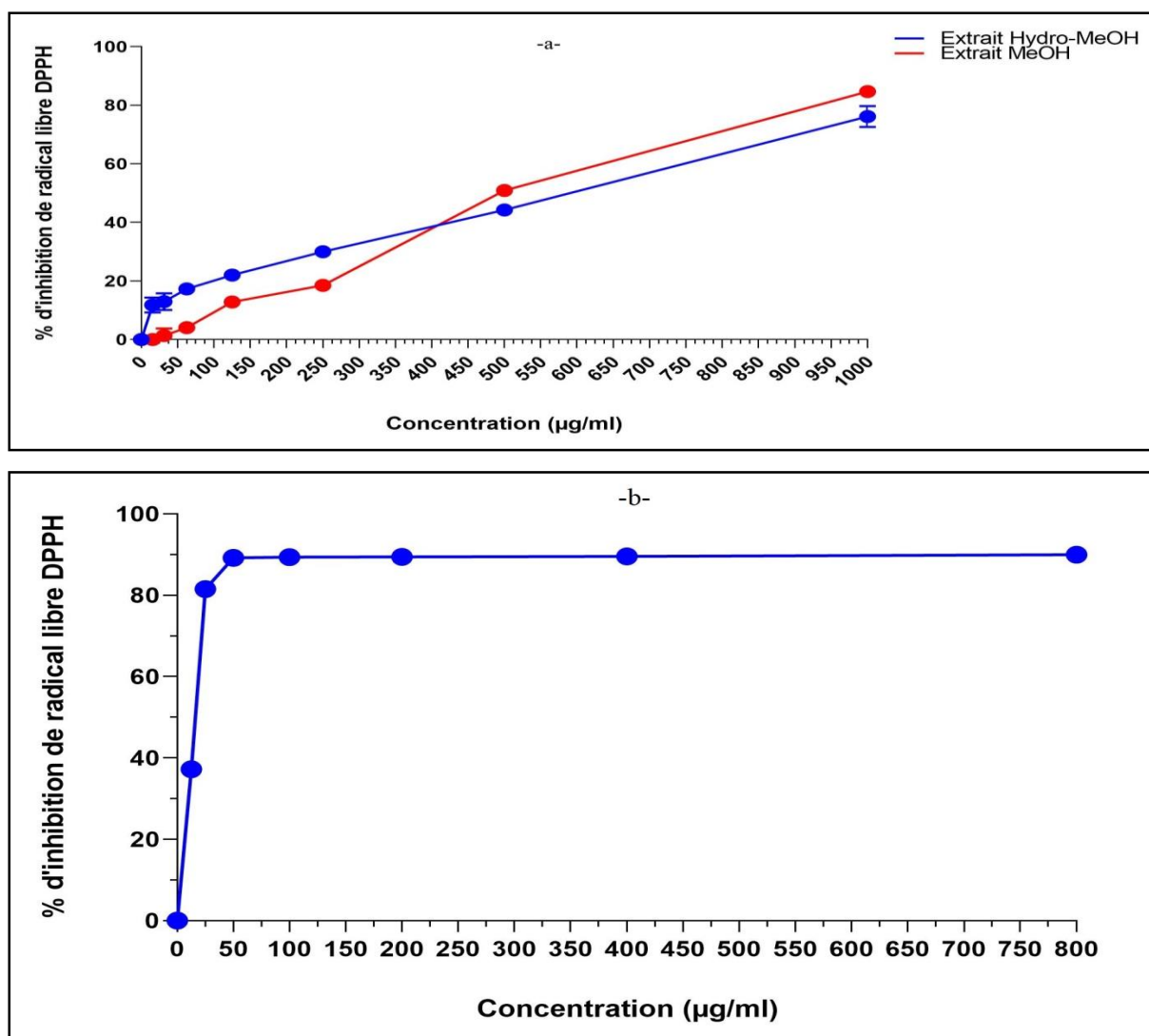
IC<sub>50</sub>: la concentration des pourcentages d'inhibition de 50% et A<sub>0,50</sub>: dans le test de frap on cherche la concentration qui réduit la moitié (1/2) d'absorbance du réactif, L'IC<sub>50</sub> et A<sub>0,50</sub> ont été calculées par analyse de régression linéaire et exprimées en moyenne±écart-type «Moy±SD».

## Résultats et Discussion

### 4.1. Activité anti-radicalaire Test de piégeage du DPPH\*

Les résultats de l'évaluation de l'activité anti radicalaire au DPPH\* sont représentés par les pourcentages d'inhibition de chaque concentration (**figure. 13**) et (**tableau. 8**), ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (IC<sub>50</sub>) (**tableau. 8**).

L'Ext-MeOH a présenté une meilleure activité anti radicalaire (IC<sub>50</sub> : 493,53±10.50 µg/ml) avec une inhibition qui variait de 1,38 à 84,65% pour les concentrations d'extrait de 15,62 à 1000µg/ml (**figure. 13**), l'Ext-Hydro MeOH exerce aussi une inhibition de radical DPPH à IC<sub>50</sub> : 582,67±19,48 µg/ml ; par rapport à celle de l'α-Tocophérol (IC<sub>50</sub> : 13,03±1,28), nos extraits ont un pouvoir inhibiteur très faible (**tableau. 8**) et (**tableau. 9**).



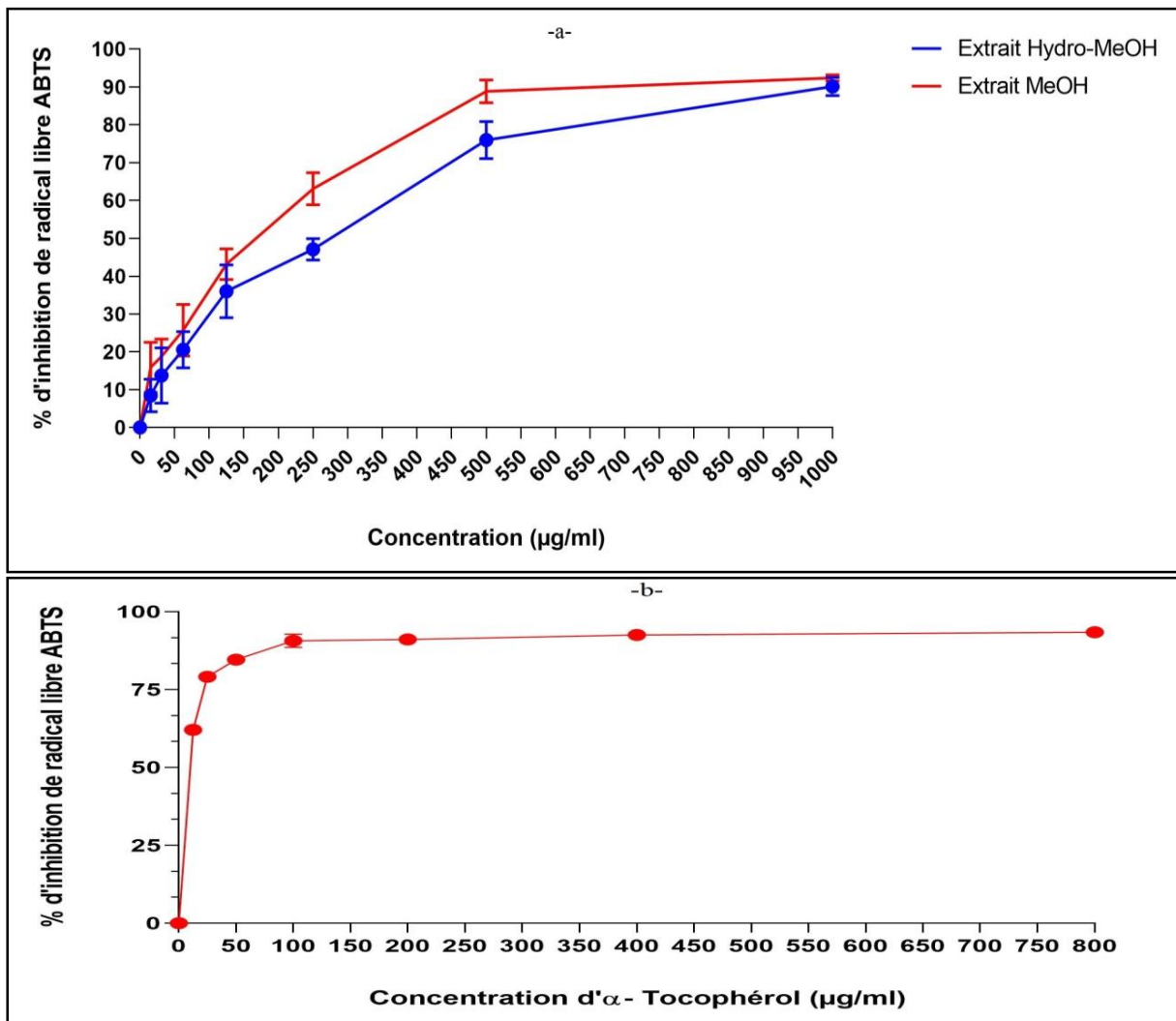
**Figure. 13.** Activité anti-radicalaire (DPPH\*) : **a.** Des extraits de *Cyclocybe sp* ; **b.** Le α-tocophérol (standard).

## Résultats et Discussion

### 4.2. Activité du piégeage du cation ABTS<sup>•+</sup>

Les données obtenues de l'activité du piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> sont représentés dans la (**figure. 14**) et le (**tableau. 8**), après le calcul des pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de IC<sub>50</sub>.

L'analyse statistique de ces résultats a montré une activité antioxydante très importante, L'Ext-MeOH a donner une meilleure activité avec une IC<sub>50</sub>=168,03±23,95 µg/ml et une inhibition qui variait de 16,68 à 92,44% pour les concentrations d'extrait de 15,62 à 1000 µg/ml, une activité très proche à celle de l'Ext-Hydro-MeOH : IC<sub>50</sub> égale à 275,42±23,26 µg/ml), ces deux extraits ont tjrs une réduction d'ABTS<sup>•+</sup> très faible que celle de l'α-Tocophérol, qui a une IC<sub>50</sub>: 7,58±0,44 µg/ml, (**tableau. 8**) et (**tableau. 9**).



**Figure. 14.** Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup> ; **a.** Extraits de *Cyclocybe sp* ; **b.** l'α- Tocophérol.

## Résultats et Discussion

**Tableau. 8.** Activité antioxydante des extraits de champignon *Cyclocybe sp.*

% d'inhibition de radical libre DPPH								
Extraits (µg/ml)	15.625	31.25	62.5	125	250	500	1000	IC <sub>50</sub>
Hydro-MeOH	11,79±2,55	12,97±2,89	17,30±0,00	22,04±0,36	29,98±0,27	44,25±0,09	76,09±3,58	582,67±19,48
	ABTS							
	8,50±4,30	13,76±7,29	20,55±4,76	36,02±7,03	47,07±2,86	75,95±4,89	90,11±2,39	275,42±23,26
MeOH	% d'inhibition de radical libre DPPH							
	NI	1,38±2,40	4,06±0,36	12,82±0,54	18,54±0,00	50,9±1,43	84,65±1,17	493,53±10,50
	ABTS							
	16,68±6,57	19,55±4,59	26,38±6,73	43,69±3,99	63,40±4,22	88,95±2,99	92,44±0,77	168,03±23,95

**Tableau. 9.** Activité antioxydante de l'  $\alpha$  -Tocophérol (4mg/ml).

Concentration (µg/ml)	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC <sub>50</sub> µg/mL
$\alpha$ -Tocophérol	% Inhibition de DPPH							
	37,24±1,82	81,53±1,46	89,22±0,17	89,38±0,38	89,45±0,35	89,53±0,41	89,99±0,56	13.03±1.28
	% Inhibition d'ABTS							
	62,07±1,08	79,14±1,26	84,60±0,86	90,69±2,12	91,10±0,87	92,51±0,68	93,44±0,41	7.58±0.44

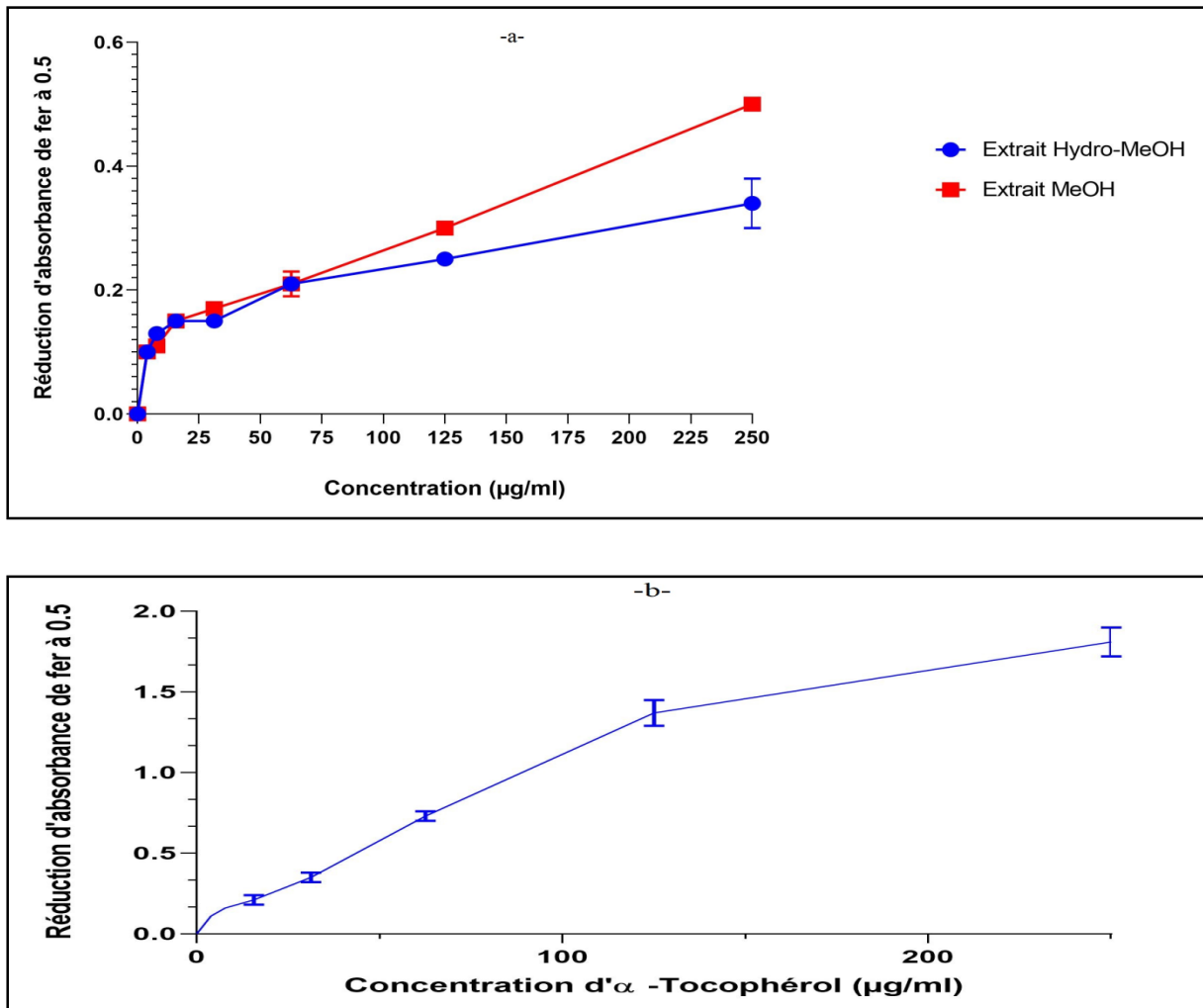


## Résultats et Discussion

### 4.3. Test pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Les données obtenues de l'activité antioxydante par le test du pouvoir réducteur de fer (FRAP) sont représentés dans la (**figure. 15**) et le (**tableau. 10**). Les résultats sont exprimés en fonction de la variation de l'absorbance du radical par rapport la variation des concentrations.

L'Ext-MeOH a donné une activité réductrice de la moitié de l'absorbances  $A_{0.5}$  du fer a été remarquée pour une concentration de  $255,00 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$ , par contre une activité inhibitrice faible a été remarque avec l'Ext-Hydro MeOH, la mielleure activité est observée chez le standard  $\alpha$ -Tocophérol avec une concentration de  $34,93 \pm 2,38$  (**tableau. 10**) et (**tableau. 11**).



**Figure. 15.** Activite du pouvoir réducteur de fer FRAP : a. Extraits de *Cyclocybe sp* ; b. le standard.

## Résultats et Discussion

**Tableau. 10.** Pouvoir réducteur des extraits de champignon *Cyclocybe sp.*

Extraits (µg/ml)	FRAP (Abs 0.5)							A <sub>0.5</sub> (µg/ml)
	3,90625	7,8125	15,625	31,25	62,5	125	250	
<b>Hydro-MeOH</b>	0,10±0,01	0,13±0,00	0,15±0,01	0,15±0,01	0,21±0,01	0,25±0,00	0,34±0,04	<250 490,80±137,57
<b>MeOH</b>	0,10±0,00	0,11±0,00	0,15±0,01	0,17±0,01	0,21±0,02	0,30±0,00	0,50±0,00	255,00±0,00

**Tableau. 11.** Pouvoir réducteur de l' α- Tocophérol (4mg/ml).

α- Tocophérol								
Concentration (µg/ml)	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	A <sub>0.5</sub> µg/mL
	<b>FRAP (A<sub>0.5</sub>)</b>							
Abs à 700 nm	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

## Résultats et Discussion

---

Nos résultats d'activité de piégeage du radical libre DPPH des deux extraits sont supérieurs que ceux rapportés par (**Lo et Cheung., 2005**), qui ont déclaré une activité anti-radicalaire contre le DPPH<sup>•</sup> avec une IC<sub>50</sub> de 0,378 mg/ml remarqué chez l'extrait MeOH de l'espèce *Agrocybe aegerita* var. alba cultivé en Chine et une activité anti radicalaire contre l'ABTS égale à 0,096 ±0,004 mM Trolox/mg Ext (exprimé en mM de trolox par mg d'extrait).

L'étude de **Gasecka et al., 2016**, montre un résultat similaire que nous chez l'espèce *Cyclocybe Aegerita* cultivée après l'addition du Sélénium (Se) à différente concentration dans le milieu de culture, avec IC<sub>50</sub>= 0,82 mg/ml en absence du Se et une IC<sub>50</sub>= 0,62 mg/ml en présence de 0,6 mM du sélénium. Ils ont prouvé que les propriétés antioxydants de ce champignon comestible peuvent s'améliorer en présence des micronutriments.

Nos résultats obtenus de l'extrait méthanolique sont très importants par comparaison avec ceux menés par **Petrović et al., 2015**, où l'activité de l'extrait méthanolique de *Cyclocybe Aegerita* contre le radical libre DPPH est caractérisée par IC<sub>50</sub> de 7,23±0,18mg/ml.

La capacité de piégeage ABTS de l'extrait d'acétate d'éthyle du champignon *Agaricus blazei murill* qui partage la même division que notre champignon *Cyclocybe sp* et font partie des basidiomycètes (**Wei et al., 2019**) a été mesurée à quatre concentrations, allant de 62,5 à 500 µg/ml. L'extrait d'acétate d'éthyle a montré une activité de piégeage exceptionnelle avec une valeur d'inhibition de l'ABTS de IC<sub>50</sub>= 90,89±1,27 % correspond à une concentration de 500 µg/ml.

Nos résultats d'activité chélatrice des métaux (FRAP) sont hautement significatifs par rapport à ceux rapportés par : **kiran et al., 2019**, qui ont déclaré une capacité de chélation chez l' Ext-MeOH de *C. aegerita* cultivée en Inde à une concentration de 12 mg/ml ; et de **KARTAL et al., 2021**, qui ont trouvé une activité chélatrice chez l'espèce *Agrocybe praecox* de turquie à une IC<sub>50</sub> de 5,74 ± 0,09 mg/mL. L'Ext-MeOH obtenu excerce une excellente chélation de fer contrairement avec celui fourni pas **JH et al., 2002**, qui un pouvoir réducteur à une concentration de 2 mg/ml.

## Résultats et Discussion

---

Nos résultats révèlent que le contenu des composés phénoliques dans le champignon étudié est éminent ce qui signifie que ces molécules phytochimiques sont probablement responsables des activités antioxydantes mentionnées dans cette étude. Plusieurs chercheurs ont apporté qu'un contenu phénolique total élevé, augmente le potentiel antioxydant (**Tamrakar *et al.*, 2016 ; Saltarelli *et al.*, 2015 ; Kozarski *et al.*, 2012 ; Yegenoglu *et al.*, 2011 ; Oke et Aslim., 2010**) et qu'une corrélation positive existe entre le contenu des composés phénoliques et l'activité antioxydante (**Yegenoglu *et al.*, 2011**).

Les résultats obtenus montrent une faible activité antioxydante contre les deux radicaux libres (DPPH et ABTS), ceux-ci peut s'interpréter par la faible teneur en molécules antioxydantes comme nous avons révélés dans le screening des composés phénoliques et des flavonoïdes.

De diverses techniques ont été développées pour mesurer la capacité antioxydante des échantillons biologiques, y compris les extraits de plantes et les échantillons alimentaires (**Bibi Sadeer *et al.*, 2020**). Les actions de piégeage de l'ABTS<sup>+</sup> et du DPPH ont été démontrées comme ayant de multiples voies antioxydantes impliquées (**Xie *et al.*, 2018**).

Généralement, l'action des composés phénoliques dans la capacité de piégeage des radicaux libres est liée à leur possession de nombreux groupes hydroxyles phénoliques qui participent à l'activité antioxydante en transférant des protons aux radicaux et produisent des radicaux phénoxydes qui stabilisent les produits (**Çayan *et al.*, 2020 ; Shah *et al.*, 2018 ; Kebaili F.F., 2022**).

Les propriétés antioxydants des composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la conservation des produits alimentaires, interviennent dans les mécanismes de défense antioxydant des systèmes biologiques et accélèrent l'activité de piégeage des radicaux libres et de chélation des ions métalliques pro-oxydants (**Çayan *et al.*, 2020**).

En général, nos extraits exercent une activité antioxydante de manière dose-dépendante, cette activité peut être liée nos seulement aux polyphénols et flavonoïdes, mais aussi avec les autres métabolites secondaires (tannins, terpènes et alcaloïdes), car nous avons remarqué une faible présence des PT et FT. Ces résultats représentent des données préliminaires, pour mieux caractériser la propriété antioxydante de *Cyclocybe sp* d'Algérie, cette recherche nécessite une amélioration via l'application de nouvelles méthodes d'évaluation d'activité

## Résultats et Discussion

---

antioxydante *in vitro* et *in vivo*, et la détermination de la composition chimique de leurs métabolites.

## **Conclusion et Perspectives**

## Conclusion générale

---

### Conclusion générale

La présente étude comprend de plusieurs résultats originaux sur quelques propriétés biologiques chez un champignon comestible *Cyclocybe sp* d'Algérie de la famille des Strophariacées, ou nous avons appliqué de différentes méthodes et techniques pour réaliser les objectifs déduits.

Les biomolécules d'intérêt ont subi une extraction solide liquide, suivie par une identification de la composition chimique, ou nous avons appliqué un screening mycochimique des extraits obtenus (Hydrométhanolique et Méthanolique). Ce dernier permet de révéler la nature de ces molécules, dont nous avons mis en évidence quelques classes de molécules dotées de pouvoir antioxydant et qui ont été révélées par des réactifs spécifiques.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes montre que les deux extraits méthanolique et Hydrométhanolique ont des teneurs supérieures par rapport à celles des autres espèces ( $53,52 \pm 0,0049$  ug GAE/mg et  $16,30 \pm 0,0196$  ug RE/mg d'extrait) et ( $59,21 \pm 0,0032$  ug GAE/mg et  $17,06 \pm 0,001$  ug RE/mg d'extrait) respectivement.

Nous avons évalué le potentiel antioxydant des 2 extraits par différentes techniques, notamment l'activité anti radicalaire au DPPH, l'activité de piégeage du cation radical ABTS, le test du pouvoir réducteur de fer (FRAP), et l'activité antioxydante par la méthode de phénantroline, les deux extraits avaient une activité potentielle pas forte par rapport au standard mais un pouvoir antioxydant mieux que les autres espèces du même genre.

Selon les résultats de screening les activités biologiques des antioxydants sont liées à la nature des composés chimiques présentés dans les deux extraits méthanolique et hydrométhanolique : les tanins, les anthocyanes, les saponosides et les alcaloïdes qui sont identifiés par les différents tests du screening. Dans l'ensemble, on peut conclure que le champignon étudié représente une source importante aux propriétés biologiques multifonctionnelles, qui peuvent être utilisées comme complément alimentaire et/ou ingrédient cosmétique et pharmaceutique.

## Perspectives

- Des travaux supplémentaires sont nécessaires pour étudier les principaux composants actifs d'extraits responsable de cette activité biologique ainsi que les différents mécanismes d'action impliqués.
- Lancer des études approfondies sur des modèles animales pour mieux évaluer les potentiels des extraits à inhiber la production des radicaux libres au niveau cellulaire (*in vivo*).
- Evaluer le pouvoir du champignon à induire d'autres activités biologiques comme l'activité antidiabétique, l'activité anti-inflammatoire, l'activité anti obésité, etc....

Il est également très intéressant de :

- Compléter l'étude de profil nutritionnel et réaliser la quantification des oligo-éléments on se basant surtout sur ceux doté d'un pouvoir antioxydant et faire quantifier d'autres vitamines.
- Effectuer des analyses instrumentales détaillées LC/MS et GC/MS pour mieux caractériser les substances bioactifs de ce champignon dans les différents extraits.



## Références bibliographiques

A

- Abd Razak, D. L., Jamaluddin, A., Abd Rashid, N. Y., Sani, N. A., & Abdul Manan, M. (2020). Assessment of Cosmeceutical Potentials of Selected Mushroom Fruitbody Extracts Through Evaluation of Antioxidant, Anti-Hyaluronidase and Anti-Tyrosinase Activity. *J*, 3(3), 329-342.
- Abdel-Shafy, E. A. (2021). Antioxidant status in pesticides-exposed agricultural workers. In *Toxicology* (pp. 43-51). Academic Press.
- Acharya, K., Ghosh, S., & Saha, T. (2017). Physicochemical characterization and antioxidant property of powdered basidiocarp of wild *Lentinus sajor-caju*. *Int J ChemTech Res*, 10(1), 126-1327.
- Acharya, K., Sikder, R., & Dutta, A. K. (2017). Physiochemical characterization and antioxidant activity of methanol extract from an edible mushroom *Agrocybe pediades*. *Int J ChemTech Res*, 10(3), 204-211.
- Ahmad, K. A., Yuan Yuan, D., Nawaz, W., Ze, H., Zhuo, C. X., Talal, B., & Qilong, D. (2017). Antioxidant therapy for management of oxidative stress induced hypertension. *Free radical research*, 51(4), 428-438.
- Akar, Z., & Arslan Burnaz, N. (2020). Can an abts antioxidant test be performed without a spectrophotometer? *Cumhuriyet Science Journal*, 41(1), 185-192.
- Alkan, S., Uysal, A., Kasik, G., Vlaisavljevic, S., Berežni, S., & Zengin, G. (2020). Chemical characterization, antioxidant, enzyme inhibition and antimutagenic properties of eight mushroom species: A comparative study. *Journal of Fungi*, 6(3), 166
- Arunika, S., & Palash, M. (2015). Antioxidant potential of *Fraxinus floribunda* bark extracted through various aqueous processing. *Free Radicals and Antioxidants*, 5(1), 06-12.

## Références bibliographiques

---

- Assi, M. (2017). The differential role of reactive oxygen species in early and late stages of cancer. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 313(6), R646-R653.
- Ayouni, K., Berboucha-Rahmani, M., Kim, H. K., Atmani, D., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2016). Metabolomic tool to identify antioxidant compounds of *Fraxinus angustifolia* leaf and stem bark extracts. *Industrial Crops and Products*, 88, 65-77.
- Azlina, M. F., Qodriyah, M. S., & Kamisah, Y. (2018). Tocopherol and tocotrienol: therapeutic potential in animal models of stress. *Current Drug Targets*, 19(12), 1456-1462.

### B

- Baatouche, S., Cheriet, T., Sarri, D., Mekkiou, R., Boumaza, O., Benayache, S., ... & Seghiri, R. (2019). *Centaurea microcarpa* Coss. & Dur. (Asteraceae) extracts: New cyanogenic glucoside and other constituents. *Natural product research*, 33(21), 3070-3076.
- Badiaga, M. (2011). *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- Bains, A., & Tripathi, A. (2016). Antibacterial activity and phyto-chemical screening of wild edible mushroom *Pleurotus ostreatus* collected from Himachal Pradesh. *International Journal*, 4(4), 467-474.
- BAINS, A., & TRIPATHI, A. (2017). Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory properties of aqueous extract of wild mushrooms collected from Himachal Pradesh. *EVALUATION*, 10(3).
- Barros, L., Baptista, P., & Ferreira, I. C. (2007). Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food and chemical Toxicology*, 45(9), 1731-1737.

## Références bibliographiques

---

- Barros, L., Baptista, P., Correia, D. M., Sá Morais, J., & Ferreira, I. C. (2007). Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12), 4781-4788.
- Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A., Cunha, I. B., Carvalho, P. O., & Eberlin, M. N. (2007). Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Molecules*, 12(3), 423-432.
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709.
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Bokossa, I. Y., Montcho, F. L., Dossou-Yovo, P., Codjia, J. C., & Mamadou, F. (2012). *Technique De Production Des Semences De Champignons Comestibles: Cas De Volvariella Volvacea Et Marasmiellus Inoderma*. *Annales des Sciences Agronomiques*, 16(1), 13-24.
- Boonsong, S., Klaypradit, W., & Wilaipun, P. (2016). Antioxidant activities of extracts from five edible mushrooms using different extractants. *Agriculture and Natural Resources*, 50(2), 89-97.

C

- Cavé, A. (1993). Pharmacognosy, Phytochemistry, medicinal plants. 2nd Ed. Tec. Et Doc Ed lavoisier, Paris. pp. 274-285.
- Çayan, F., Deveci, E., Tel-Çayan, G., & Duru, M. E. (2020). Identification and quantification of phenolic acid compounds of twenty-six mushrooms by HPLC-DAD. *Journal of Food Measurement and Characterization* 14(3), 1690–1698.
- Chatterjee, M., Saluja, R., Kanneganti, S., Chinta, S., & Dikshit, M. (2007). Biochemical and molecular evaluation of neutrophil NOS in spontaneously hypertensive rats. *Cellular and Molecular Biology*, 53(1), 84-93.
- Chatterjee, S., Biswas, G., Basu, S. K., & Acharya, K. (2011). Antineoplastic effect of mushrooms: a review. *Australian Journal of Crop Science*, 5(7), 904-911.
- Chen, Lisha, et al. "Study on nutritional components evaluation and origin differences of *Agrocybe cylindracea* from different regions." *eFood* 4.2 (2023): e81.
- Cheung, L. M., Cheung, P. C., & Ooi, V. E. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food chemistry*, 81(2), 249-255.
- Cheung, L. M., Cheung, P. C., & Ooi, V. E. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food chemistry*, 81(2), 249-255.
- Čilerdžić, J., Galić, M., Vukojević, J., & Stajic, M. (2019). *Pleurotus ostreatus* and *Laetiporus sulphureus* (Agaricomycetes): possible agents against Alzheimer and Parkinson diseases. *International journal of medicinal mushrooms*, 21(3).

**D**

- Daira, N. E. H., Maazi, M. C., & Chefrou, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85(1), 276-290.
- Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., & Delpino-Rius, A. (2016). Phytochemical Analysis of Methanolic Extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 41(6), 2147-2158.
- Das, B., De, B., Chetree, R., & Mandal, S. C. (2020). Medicinal aspect of mushrooms: A view point. In *Herbal Medicine in India* (pp. 509-532). Springer, Singapore.
- Das, S., & Prakash, B. (2022). Edible mushrooms: nutritional composition and medicinal benefits for improvement in quality life. In *Research and technological advances in food science* (pp. 269-300). Academic Press.
- de Melo Macoris, J. D., Brugnari, T., Boer, C. G., Contato, A. G., Peralta, R. M., & de Souza, C. G. M. (2017). Antioxidant Properties and Antimicrobial Potential of Aqueous Extract of *Basidioma* from *Lentinusedodes* (Berk.) Sing.(Shiitake). *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6(9), 3757-3767.
- Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020.
- Diallo, I. (2019). *Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de Lentinulaedodes (Shiitake) sous différentes conditions de culture* (Doctoral dissertation, Université Montpellier).
- Dogan, A., Dalar, A., Sadullahoglu, C., Battal, A., Uzun, Y., Celik, I., & Demirel, K. (2018). Investigation of the protective effects of horse mushroom (*Agaricus arvensis* Schaeff.) against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Molecular biology reports*, 45, 787-797.

## Références bibliographiques

---

- Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P. E., Zhang, W., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., ... & Lorenzo, J. M. (2021). Protein oxidation in muscle foods: A comprehensive review. *Antioxidants*, 11(1), 60.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

### E

- Elkhateeb, W. A. (2020). What medicinal mushroom can do. *Chem Res J*, 5(1), 106-118.
- El-Maradny, Y. A., El-Fakharany, E. M., Abu-Serie, M. M., Hashish, M. H., & Selim, H. S. (2021). Lectins purified from medicinal and edible mushrooms: Insights into their antiviral activity against pathogenic viruses. *International journal of biological macromolecules*, 179, 239-258.
- Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., & Romdhane, M. (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L.(Cupressaceae). *Journal of food science*, 74(7), 364-371.
- Everette, J. D., Bryant, Q. M., Green, A. M., Abbey, Y. A., Wangila, G. W., & Walker, R. B. (2010). Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(14), 8139-8144.

### F

- Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
- Frankel, E. N. (1993). In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends in Food Science & Technology*, 4(7), 220-225.
- Fu, S.; Davies, M.J.; Stocker, R.; Dean, R.T. Evidence for roles of radicals in protein oxidation in advanced human atherosclerotic plaque. *Biochem. J.*, 1998, 333, 519-525.

## Références bibliographiques

---

### G

- Gargano ML, van Griensven LJLD, Isikhuemhen OS, et al. Medicinal mushrooms: valuable biological resources of high exploitation potential. *Plant Biosyst Int J Deal with All Asp Plant Biol.* 2017
- Gąsecka, M., Mleczek, M., Siwulski, M., & Niedzielski, P. (2016). Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. *European Food Research and Technology*, 242, 723-732.
- Genthon, L. (2015). Etude et identification des composés cytotoxiques issus d'un champignon de la forêt boréale québécoise. Thèse du Diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Nantes, France., 74 p.
- Gilbert, D.L. Fifty years of radical ideas. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2000, 899, 1-14.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gutteridge, J.M.; Halliwell, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2000, 899, 136-147.

### H

- Halliwell, B. (1995). Antioxidant characterization: methodology and mechanism. *Biochemical pharmacology*, 49(10), 1341-1348.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical society transactions*, 35(5), 1147-1150.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Harborne JB. 2006. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB, Bandung. [Indonesian].



## Références bibliographiques

---

- Hawkins, C. L., & Davies, M. J. (2019). Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *Journal of Biological Chemistry*, 294(51), 19683-19708.

### I

- Ifeanyi, O. E. (2018). A review on free radicals and antioxidants. *Int. J. Curr. Res. Med. Sci*, 4(2), 123-133.
- Ishibashi, T., McGuire, T. P., Watanabe, N., Tsuchiya, N., & Elsworth, D. (2013). Permeability evolution in carbonate fractures: Competing roles of confining stress and fluid pH. *Water Resources Research*, 49(5), 2828-2842.
- Ito, F., Sono, Y., & Ito, T. (2019). Measurement and clinical significance of lipid peroxidation as a biomarker of oxidative stress: oxidative stress in diabetes, atherosclerosis, and chronic inflammation. *Antioxidants*, 8(3), 72.

### J

- Jeitler, M., Michalsen, A., Frings, D., Hübner, M., Fischer, M., Koppold-Liebscher, D. A., & Kessler, C. S. (2020). Significance of medicinal mushrooms in integrative oncology: A narrative review. *Frontiers in pharmacology*, 11, 580656.
- Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4642.

### K

- Kakatum, N., Jaiarree, N., Makchucit, S., & Itharat, A. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of Thai medicinal plants in Sahasthara remedy for muscle pain treatment. *Journal of the Medical Association of Thailand= Chotmaihetthangphaet*, 95, S120-6.

## Références bibliographiques

---

- Karaman, M., Stahl, M., Vulić, J., Vesić, M., & Čanadanović-Brunet, J. (2014). Wild-growing lignicolous mushroom species as sources of novel agents with antioxidative and antibacterial potentials. *International journal of food sciences and nutrition*, 65(3), 311-319.
- Kartal, D. İ., Şayak, O., & İsmail, A. C. A. R. (2022). Investigation of Antioxidant Activities of *Agrocybe praecox* Fungus. *Mantar Dergisi*, 13(1), 37-43.
- Kebaili, F.F. Bioévaluation du champignon sauvage *Ganoderma lucidum* d'Algérie : Etude des propriétés nutritionnelles et activités antioxydantes et thérapeutiques. (2022). Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri- Constantine 1.
- Khan, H., Amin, S., Kamal, M. A., & Patel, S. (2018). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 860-870.
- Khatua, S., Ghosh, S., & Acharya, K. (2019). Antioxidant properties and metabolites profiling of polyphenol-rich fraction from a folk mushroom, *Macrocybelobayensis*, using different extractant. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 564-571.
- Kim, D. O., Jeong, S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food chemistry*, 81(3), 321-326.
- Kim, G. J., Park, S., Kim, E., Kwon, H., Park, H. J., Nam, J. W., & Choi, H. (2021). Antioxidant, Pancreatic Lipase Inhibitory, and Tyrosinase Inhibitory Activities of Extracts of the Invasive Plant *Spartina anglica* (Cord-Grass). *Antioxidants*, 10(2), 242.
- Koutrotsios, G., Mountzouris, K. C., Chatzipavlidis, I., & Zervakis, G. I. (2014). Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi—assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food chemistry*, 161, 127-135.
- Kozarski, M., Klaus, A., Nikšić, M., Vrvić, M. M., Todorović, N., Jakovljević, D., & Van Griensven, L. J. (2012). Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*,

## Références bibliographiques

---

Ganoderma lucidum, Lentinu sedodes and Trametes versicolor. *Journal of food composition and analysis*, 26(1-2), 144-153.

- Kyrø, C., Skeie, G., Loft, S., Landberg, R., Christensen, J., Lund, E., ... & Olsen, A. (2013). Intake of whole grains from different cereal and food sources and incidence of colorectal cancer in the Scandinavian HELGA cohort. *Cancer Causes & Control*, 24, 1363-1374.

### L

- Landingin, H. R., Francisco, B. E., Dulay, R. M., Kalaw, S. P., & Reyes, R. G. (2021). Mycochemical screening, proximate nutritive composition and radical scavenging activity of *Cyclocybe cylindracea* and *Pleurotus cornucopiae*. *Journal of Fungal Biology*, 11(1), 37-50.
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208.
- Lo, K. M., & Cheung, P. C. (2005). Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. *Alba*. *Food chemistry*, 89(4), 533-539.
- Lau Bonilla, D. (2001). Factores que afectan el crecimiento micelial y la degradación del sustrato por *Agrocybe aegerita*.
- Liuzzi, G. M., Petraglia, T., Latronico, T., Crescenzi, A., & Rossano, R. (2023). Antioxidant Compounds from Edible Mushrooms as Potential Candidates for Treating Age-Related Neurodegenerative Diseases. *Nutrients*, 15(8), 1913.
- Lo, K. M., & Cheung, P. C. (2005). Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. *alba*. *Food chemistry*, 89(4), 533-539.

M

- Machlin, L.J.; Bendich, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.*, 1987, 1, 441-445
- Mallick, S., Dutta, A., Chaudhuri, A., Mukherjee, D., Dey, S., Halder, S., ... & Pal, C. (2016). Successful therapy of murine visceral leishmaniasis with astrakurkone, a triterpene isolated from the mushroom *Astraeus hygrometricus*, involves the induction of protective cell-mediated immunity and TLR9. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(5), 2696-2708.
- Mallick, S., Dutta, A., Chaudhuri, A., Mukherjee, D., Dey, S., Halder, S., ... & Pal, C. (2016). Successful therapy of murine visceral leishmaniasis with astrakurkone, a triterpene isolated from the mushroom *Astraeus hygrometricus*, involves the induction of protective cell-mediated immunity and TLR9. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(5), 2696-2708.
- Mansour, D. H. (2014). évaluation chimique et activité antidérmato phyte de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de doctorat en sciences, Université de Constantine1, Algérie, 161 p
- Marco, S. (1986). Incidence of aphid-transmitted virus infections reduced by whitewash sprays on plants. *Phytopathology*, 76(12), 1344-1348.
- **Mensah, F. (2021).** *Mycochemical Screening and Antioxidant Properties of Some Potential Medicinal Mushrooms in the Central Region of Ghana* (Doctoral dissertation, University of Cape Coast).
- Masoko, P., Mokgotho, M. P., Mbazima, V. G., & Mampuru, L. J. (2008). Biological activities of *Typhacapensis* (Typhaceae) from Limpopo Province (South Africa). *African Journal of Biotechnology*, 7(20), 3743-3748.
- Medini, H., Elaissi, A., Khouja, M. L., & Chemli, R. (2013). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* ssp. *phoenicea* L. extracts from two Tunisian locations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 1(2), 78-82.

## Références bibliographiques

---

- Mehrotra, S., Pandey, P. K., Gaur, R., & Darmwal, N. S. (1999). The production of alkaline protease by a *Bacillus* species isolate. *Bioresource Technology*, *67*(2), 201-203.
- Mensah, F. (2021). *Mycochemical Screening and Antioxidant Properties of Some Potential Medicinal Mushrooms in the Central Region of Ghana* (Doctoral dissertation, University of Cape Coast).
- Mešić, A., Šamec, D., Jadan, M., Bahun, V., & Tkalčec, Z. (2020). Integrated morphological with molecular identification and bioactive compounds of 23 Croatian wild mushrooms samples. *Food Bioscience*, *37*, 100720.
- Miller, D.M.; Buettner, G.R.; Aust, S.D. Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radic. Biol. Med.*, 1990, *8*, 95-108.
- Morel, S., Vitou, M., Masnou, A., Jumas-Bilak, E., Rapior, S., & Licznar-Fajardo, P. (2021). Antibacterial activity of wild mushrooms from France. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, *23*(1).
- Murcia, M. A., Martinez-Tome, M., Jiménez, A. M., Vera, A. M., Honrubia, M., & Parras, P. (2002). Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing. *Journal of food protection*, *65*(10), 1614-1622.

## N

- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, *5*(35), 27986-28006.
- Nobari, H., Saedmocheshi, S., Chung, L. H., Suzuki, K., Maynar-Mariño, M., & Pérez-Gómez, J. (2022). An overview on how exercise with green tea consumption can prevent the production of reactive oxygen species and improve sports performance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(1), 218.

**O**

- Oke, F., & Aslim, B. (2010). Biological potentials and cytotoxicity of various extracts from endemic *Origanum minutiflorum* O. Schwarz & PH Davis. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1728-1733.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- Omulokoli, E., Khan, B., & Chhabra, S. C. (1997). Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 56(2), 133-137.

**P**

- Patel, Y.; Naraiian, R.; Singh, V.K. Medicinal properties of *Pleurotus Species* (Oyster Mushroom): A review. *World J. Fungal PlantBiol.* **2012**, 3, 1–12.
- Petrović, J., Glamočlija, J., Stojković, D., Ćirić, A., Barros, L., Ferreira, I. C., & Soković, M. (2015). Nutritional value, chemical composition, antioxidant activity and enrichment of cream cheese with chestnut mushroom
- Petrović, J., Glamočlija, J., Stojković, D., Nikolić, M., Ćirić, A., Fernandes, A., ... & Soković, M. (2014). Bioactive composition, antimicrobial activities and the influence of *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing on certain quorum-sensing-regulated functions and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Food & function*, 5(12), 3296-3303.
- Petrović, Jovana, et al. "Nutritional value, chemical composition, antioxidant activity and enrichment of cream cheese with chestnut mushroom *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing." *Journal of food science and technology* 52 (2015): 6711-6718.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.

## Références bibliographiques

---

- Pinto, S., Barros, L., Sousa, M. J., & Ferreira, I. C. (2013). Chemical characterization and antioxidant properties of *Lepistanuda* fruiting bodies and mycelia obtained by in vitro culture: Effects of collection habitat and culture media. *Food research international*, 51(2), 496-502.
- Podkowa, A., Kryczyk-Poprawa, A., Opoka, W., & Muszyńska, B. (2021). Culinary–medicinal mushrooms: A review of organic compounds and bioelements with antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 247, 513-533.

### R

- Ramírez-Anguiano, A. C., Santoyo, S., Reglero, G., & Soler-Rivas, C. (2007). Radical scavenging activities, endogenous oxidative enzymes and total phenols in edible mushrooms commonly consumed in Europe. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(12), 2272-2278.
- 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 biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Ridnour, L.A.; Isenberg, J.S.; Espey, M.G.; Thomas, D.D.; Roberts, D.D.; Wink, D.A. Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2005, 102, 13147-13152.
- Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Ascherio, A., Giovannucci, E., Colditz, G. A., & Willett, W. C. (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *New England Journal of Medicine*, 328(20), 1450-1456.

**S**

- Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Buffalini, M., Vallorani, L., Casadei, L., Zambonelli, A., ... & Stocchi, V. (2015). Biochemical characterization and antioxidant and antiproliferative activities of different Ganoderma collections. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 25(1), 16-25.
- Sánchez, C. (2017). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and systems biotechnology*, 2(1), 13-22.
- Sanchez, M. (1994). *Implication des radicaux libres dans l'efficacité et la toxicité des agents anticancéreux* (Doctoral dissertation).
- Shah, S. R., Ukaegbu, C. I., Hamid, H. A., & Alara, O. R. (2018). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of the stems of *Flammulina velutipes* and *Hypsizygus tessellatus* (white and brown var.) extracted with different solvents. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1947-1961.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Stampfer, M. J., Hennekens, C. H., Manson, J. E., Colditz, G. A., Rosner, B., & Willett, W. C. (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *New England Journal of Medicine*, 328(20), 1444-1449.

**T**

- Tamrakar, S., Tran, H. B., Nishida, M., Kaifuchi, S., Suhara, H., Doi, K., ... & Shimizu, K. (2016). Antioxidative activities of 62 wild mushrooms from Nepal and the phenolic profile of some selected species. *Journal of natural medicines*, 70(4), 769-779.
- Tan MC, Tan CP, Ho CW. 2013. Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. *Int Food Res J* 20: 3117-312.



## Références bibliographiques

---

- Tel, G., Apaydın, M., Duru, M. E., & Öztürk, M. (2012). Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia. *Food Analytical Methods*, 5(3), 495-504.
- Tam, R. C., Lau, J. Y., & Hong, Z. (2001). Mechanisms of action of ribavirin in antiviral therapies. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 12(5), 261-272.

### V

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- Valko, M.; Rhodes, C.J.; Moncol, J.; Izakovic, M.; Mazur, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 2006, 160, 1-40.
- Van Breusegem, F., Slooten, L., Stassart, J. M., Moens, T., Botterman, J., Van Montagu, M., & Inzé, D. (1999). Overproduction of *Arabidopsis thaliana* FeSOD confers oxidative stress tolerance to transgenic maize. *Plant and cell physiology*, 40(5), 515-523.
- Vaz, J. A., Barros, L., Martins, A., Santos-Buelga, C., Vasconcelos, M. H., & Ferreira, I. C. (2011). Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions. *Food Chemistry*, 126(2), 610-616.
- Veljović, S., Veljović, M., Nikićević, N., Despotović, S., Radulović, S., Nikšić, M., & Filipović, L. (2017). Chemical composition, antiproliferative and antioxidant activity of differently processed *Ganoderma lucidum* ethanol extracts. *Journal of food science and technology*, 54(5), 1312-1320.
- Venturella, G., Ferraro, V., Cirlincione, F., & Gargano, M. L. (2021). Medicinal

## Références bibliographiques

---

mushrooms: Bioactive compounds, use, and clinical trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 634.

- Verdiana M, Widarta IWR, Permana IDGM. 2018. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus Limon* (Linn.) Burm F.) J Ilmu Teknologi Pangan 7 (4): 213-222. DOI: 10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08 [Indonesian]
- Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., & Matarrese, P. (2021). The impact of oxidative stress in human pathology: Focus on gastrointestinal disorders. *Antioxidants*, 10(2), 201.

### W

- Wasser, S. P. (2011). Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Applied microbiology and biotechnology*, 89, 1323-1332.
- Wasser, S. J. A. M. B. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied microbiology and biotechnology*, 60, 258-274.
- Wei, Q., Zhan, Y., Chen, B., Xie, B., Fang, T., Ravishankar, S., & Jiang, Y. (2020). Assessment of antioxidant and antidiabetic properties of *Agaricus blazei* Murill extracts. *Food science & nutrition*, 8(1), 332-339.
- Willcox, J. K., Ash, S. L., & Catignani, G. L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(4), 275-295.

### X

- Xie, H., Li, X., Ren, Z., Qiu, W., Chen, J., Jiang, Q., ... & Chen, D. (2018). Antioxidant and cytoprotective effects of Tibetan tea and its phenolic components. *Molecules*, 23(2), 179.

### Y

## Références bibliographiques

---

- Yan, L. L., & Zaher, H. S. (2019). How do cells cope with RNA damage and its consequences?. *Journal of Biological Chemistry*, 294(41), 15158-15171.
- Yegenoglu, H., Aslim, B., & Oke, F. (2011). Comparison of antioxidant capacities of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Funaliatrogii* (Berk.) Bondartsev & Singer by using different in vitro methods. *Journal of Medicinal Food*, 14(5), 512-516.
- Yildiz, O., Can, Z., Laghari, A. Q., Şahin, H., & Malkoç, M. (2015). Wild edible mushrooms as a natural source of phenolics and antioxidants. *Journal of Food Biochemistry*, 39(2), 148-154.
- Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.
- Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.
- Yzydorczyk, C., et al. "Stress oxydant chez l'enfant prématuré : Causes, biomarqueurs et possibilités thérapeutiques." *Archives de Pédiatrie* 22.10 (2015) : 1047-1055.

## Z

- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.
- Zhong, Y., & Shahidi, F. (2015). 12—methods for the Assessment of Antioxidant Activity in Foods, Handbook of Antioxidants for Food Preservation a Volume in Woodhead Publishing Series in Food Science. *Technol. Nutr.*, 2015, 287-333.

## Références bibliographiques

---

# Annexes

### **Réactifs et produits chimiques**

Les produits chimiques et réactifs suivants ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich GmbH (Steinheim, Allemagne) : Réactif de Folin-Ciocalteu ; acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque (acide gallique) ; 3, 3', 4', 5,7-pentahydroxyflavone 3-rutinoside (rutine) ; DPPH (2,2 -diphényl-1-picryl -hydrazyle) ; 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonicacid) diammonium salt (ABTS) ; l'acide trichloracétique (TCA) ; le potassium ferricyanide Le carbonate de sodium ; le chlorure de fer (III) (FeCl<sub>3</sub>) ; l'acétate d'ammonium ; le persulfate de potassium et l'acétate de potassium ont été obtenus auprès de Biochem (Cosne-Cours-sur-Loire, France). Tous les autres produits chimiques et solvants étaient de qualité analytique.

Méthanol, chloroforme, acétate d'éthyle, éthanol et n-butanol sont de marque Merck Index et Sigma-Aldrich, l'acide Sulfurique (95-97%) de Honeywell ; acide borique (100%) de VWR ; bleu de méthylène fourni de Biochem ; rouge de méthylène Fulka ; sulfate de cuivre (CuSO<sub>4</sub>-5H<sub>2</sub>O) Honeywell ; Hydroxyde de sodium (NaOH) sigma. (Méthode kjeldahl)

(±)- $\alpha$ -Tocopherol (grade analytique pour HPLC) de Sigma-Aldrich.

# **Etude mycochimique et évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* du champignon comestible *Cyclocybe sp* d'Algérie**

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master 2ème cycle *LMD*  
EN BIOCHIMIE APPLIQUEE**

Présenté par :  
**ACHOURI Zouaoui Amine et LAHNECHE Mohamed Adlene**

## **Résumé :**

La présente étude vise à promouvoir les vertus des champignons nutritionnels et médicaux en Algérie pour le champignon «*Cyclocybe sp*», en étudiant et caractérisant la mycochimie et en évaluant la capacité antioxydante et les activités biologiques de ses fruits. L'étude mycochimique a montré qu'il contenait des métabolites secondaires majeurs, tels que les polyphénols et les terpènes, ainsi que des alcaloïdes et des tanins. Elle a examiné l'extraction de ces composés dans des solvants chimiques où nous avons utilisé deux types : l'eau et le méthanol (méthanol/eau : hydro-méthanol ; 80/20 v/v), et le méthanol.

L'essai visant à déterminer les concentrations de polyphénols et de flavonoïdes a montré que l'extrait méthanolique aqueux (Hydrométhanolique) contenait ces substances bioactives à une concentration de  $59,2 \pm 0,00321 \mu\text{g GAE/mg Ext}$  ;  $17,06 \pm 0,001 \mu\text{g RE/mg Ext}$  ; Elles ont également été estimées en extrait méthanolique à  $53,52 \pm 0,004932 \mu\text{g GAE/mg Ext}$  ;  $16,30 \pm 0,01967 \mu\text{g RE/mg Ext}$  successivement.

L'évaluation du potentiel antioxydant *in vitro* des extraits de DPPH •, ABTS • +, FRAP, a montré que les deux extraits ont une activité antioxydante remarquable, une meilleure activité a été exercée par l'extrait méthanolique (Ext-MeOH) avec des  $IC_{50}$  :  $493,53 \pm 10,50 \mu\text{g/ml}$  pour inhibition de 50% d'activité de radical DPPH ;  $168,03 \pm 23,95 \mu\text{g/ml}$  pour le piégeage de cation ABTS, et  $255,00 \pm 0,00$  pour une réduction de la moitié d'absorbance du fer ou FRAP.

**Mots clés:** Champignon comestible, *Cyclocybe sp* ; potentiel antioxydant ; activités biologiques *in vitro*.

## **Devant le jury :**

**Président :** NECIB Y (Pr. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1)

**Encadreur :** TOUMI M.E.S (MCB. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1)

**Examinatrice :** KLIBET F (MCB. Univ. Frères Mentouri- Constantine 1)

**Année universitaire : 2022/2023**

