

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES, TECHNOLOGIES ET
GEOSCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POSTGRADUATE SCHOOL OF
SCIENCES, TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

Laboratoire d'Etude Chimique des Endophytes et Plantes Médicinales

“LECEPLaM”

Chemical Study of Medicinal Plants and Endophytic Fungi Laboratory

Etude chimique du champignon *Phellinus pachyphloeus* (Hymenochaetaceae)

Mémoire Présenté et soutenu publiquement en accomplissement partiel en vue de
l'obtention du diplôme de **Master II** en chimie organique

Option : substance naturelle

Par :

AMBOGUI MEKOULOU Yves

Matricule : 1902940

Licencié en chimie

Sous la direction de :

Dr. NGNINTEDO Dominique

Chargé de Cours

(FS-UY1)



Année académique : 2023/2024

DEDICACES

À MES PARENTS

MEKOULOU JEAN ELVIS

ET

ESSOUNDOU AMBOGUI SUZANNE

REMERCIEMENT

Au terme de ces deux années de master, nos travaux ont été effectués au Laboratoire d'Etude Chimique des Endophytes et des Plantes médicinales. En effet j'éprouve une sincère gratitude envers tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce travail. Ils sont tellement nombreux qu'il m'est aujourd'hui difficile de n'en oublier aucune. Je tiens cependant à remercier particulièrement.

Professeur **FOTSO Ghislain** de m'avoir accueilli au sein de son unité de recherche : le Laboratoire d'Etude Chimique des Endophytes et des Plantes Médicinales. Merci pour les multiples encouragements.

Docteur **NGNINTEDO Dominique** d'avoir accepté diriger mon mémoire et de m'avoir transmis la passion de la recherche scientifique ; pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'il a concentrées à diriger cette recherche.

Professeur **NGADJUI Bonaventure** pour les multiples encouragements à tous les étudiants du LECEPLAM.

Professeur **PEGNYEMB Dieudonné** Chef de Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences pour son immense travail et pour l'attention qu'il accorde aux étudiants dont il a la charge.

Professeurs **AMBASSA Pantaléon** et **MKOUNGA Pierre** pour tout le savoir transmis, leurs encouragements et leurs esprits critiques.

Docteur **ANGO Yves** pour l'analyse des composés.

Docteurs **OUETE Judith**, **ACHE Roland**, **MESSI Angélique**, pour les conseils, et multiples encouragements.

Tous les Enseignants du Département de Chimie Organique et Chimie Inorganique de l'Université de Yaoundé I en particulier le Professeur **WANDJI Jean**.

Docteurs **KAMDOUM Blaise** et **SAWADOGO Assétou** pour les multiples conseils ; encouragements ; soutien moral et financier et le temps consacré pour la réalisation de ce travail.

Mme **KOUDJOU Liza** pour sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements, son soutien moral et surtout financier.

A tous mes aînés du Laboratoire en occurrence **KAPCHE Sorelle**, **KAMSO Viviane**, **FOMENE Raphaëlle**, **TCHOFFO Idriss**, **TOMFEUN Sandrine**, **AKUMA Michael**, pour les multiples conseils et encouragements.

A mes aînés en particulier **LITCHANG Lamer**, **MBARGA Paul**, **KOSMA Albert**, **AWONO La Flamme**, **BILONG Oscar**, **ABDOU Abdias** pour les encouragements et leurs sympathies à mon égard.

M. **TCHOUMI Firmin** pour l'aide dans l'analyse IR, pour son soutien financier, ces multiples encouragements et conseils.

KUETE Romarique pour son aide inexprimable, son hospitalité, sa sympathie.

A mes frères de Laboratoire, **KEGNE Eli**, **SENI Gaël**, **BASSECK Yann**, **YAMDJEU Giovannie**, **KEPDEM Winnie**, **NANA Samie** pour tous les temps forts passés ensemble, votre sens de l'humour, vos caprices, votre gentillesse.

Mes camarades de promotion, pour les moments inoubliables, votre esprit critique.

Mes oncles **ZINGA Sylvestre**, **MESSINA Alain**, **FOUDA François** et **BELLA Bernadette** pour les conseils, multiples encouragements et soutien financier.

Mon tuteur **MEMANG Anicet** pour ses encouragements, son estime et surtout son soutien financier.

Mes frères et sœurs **KEDE André**, **BELLA Bernadette**, **ONDOUA Cherif**, **EDANG Germaine** et **OBAGA Cyprien** pour les conseils et encouragements.

Mes amis en particulier **ENGWAPI Donald**, **OKOUNI Marty**, **OWONO Philémon**, **OBIAGA Marie**, **AKAMBA Cédric**, **KEDE Wilfried**, **YAYA Miche** et **MBADJAMA Louis** pour les multiples encouragements.

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce mémoire ; je leur dis merci.

SOMMAIRE

DEDICACES	i
REMERCIEMENT	ii
SOMMAIRE	iv
LISTE DES ABREVIATIONS.....	vii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES SCHEMAS	xi
RESUME	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITERATURE	4
I-1 Généralités sur les Basidiomycètes supérieurs.....	5
I-1-1-Définition et classification	5
I-1-2-Biologie, et écologie des basidiomycètes supérieurs	5
I.1.3 Différentes parties d'un champignon	7
I.1.4 Cycle de reproduction des champignons basidiomycètes	9
I-1-5-Importance alimentaire, médicinale et thérapeutique des Basidiomycètes.....	10
I-2- GENERALITES SUR LA FAMILLE DES HYMNOCHAETACEAE	21
I-2-1 Aspect mycologique	21
I-2-2-Intérêts et usages	22
I-3- LE GENRE <i>Phellinus</i> Quél.....	23
I-3-1- Généralités sur le genre <i>Phellinus</i> Quél	23
I-3-2-Repartition géographique dans le monde et au Cameroun de quelques espèces du genre <i>Phellinus</i>	24
I-3-3- Usages des espèces du genre <i>Phellinus</i>	24
I-4- GENERALITES SUR L'ESPECE <i>Phellinus pachyphloeus</i>	33
I-4-1- Taxonomie.....	33
I-4-2- Aperçue mycologique de l'espèce <i>Phellinus pachyphloeus</i>	33

I-4-3- Répartition géographique de <i>Phellinus pachyphloeus</i>	36
I-5- Travaux chimiques antérieurs sur le genre <i>Phellinus</i>	37
I-5-1 Généralités sur les triterpènes	16
I-5-1-1-Définition.....	16
I-5-1-2- Biosynthèse des triterpènes	16
I-5-1-3- Synthèse de l'IPP et DMAPP	17
I-5-2-Activités biologiques des triterpènes	21
I-6- Les stéroïdes	11
I-6-1 Définition.....	11
I-6-2- Biosynthèse des stéroïdes.....	12
I-6-3-Activités pharmacologiques des stéroïdes.....	16
I-7- Quelques polyphénols isolés du genre <i>Phellinus</i>	Error! Bookmark not defined.
I-8-Travaux pharmacologiques sur le genre <i>Phellinus</i>	31
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	39
II.1. Extraction et isolement des composés	40
II-2- Identification des composés isolés du champignon <i>Phellinus Pachyphloeus</i>	Error! Bookmark not defined.
II-2-1- Identification de PP1.....	Error! Bookmark not defined.
II-2-2- Identification de PP2.....	49
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	56
III- PARTIE EXPERIMENTALE	58
III-1- Appareillage et matériel végétal	59
III-1-1-Appareillage.....	59
III-2-Extraction et isolement	60
III-2-1- Extraction.....	60
III-2-2-Fractionnement de l'extrait brut	60
III-2-3- Séparation à l'aide d'une colonne chromatographique.	61
III-2-4- Isolement et purification des composés.....	64
III-3- Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés	65
III-4- Tests caractéristiques des composés isolés.....	65
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	Error! Bookmark not defined.

LISTE DES ABREVIATIONS

AE : Acétate d'éthyle

CC : Chromatographie sur Colonne

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

COSY: *Correlation Spectroscopy*

d: doublet

DCM: Dichloromethane

dd: doublet de doublet

DEPT: *Distortionless Enhancement by polarization Transfer*

DMAPP: Dimethylallyl pyrophosphate

HMBC: *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HMGCoAR: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme reductase

HMGCoS: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme synthétase

HSQC: *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

Hz: Hertz

IPP: *Isopentenyl pyrophosphate*

IR: Infrarouge

J : Constante de couplage

m : Multiplet

m/z : Rapport masse/charge

MeOH : Méthanol

MHz : Mégahertz

NADPH: Nicotinamide Adenine Dinucleotide phosphate H

P: *Phellinus*

ppm : Partie par million

RMN ^{13}C : Résonnance Magnétique Nucléaire du Carbone 13

RMN 1D : Résonnance Magnétique Nucléaire à une dimension

RMN ^1H : Résonnance Magnétique Nucléaire du Proton

RMN 2D : Résonnance Magnétique Nucléaire à deux dimension

s : Singulet

UV: Ultraviolet

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Différentes parties d'un champignon à chapeau (Corbat F, 2004).....	9
Figure 2 : Cycle de reproduction des champignons.....	10
Figure 3 : Noyau stérane	12
Figure 4 : Squelette de base des stéroïdes.....	12
Figure 5 : Quelques espèces du genre <i>Phellinus</i>	24
Figure 6 : Repartition géographique du genre <i>Phellinus</i>	24
Figure 7 : Vue générale de <i>Phellinus pachyphloeus</i> (Ambogui Y, 2023).....	35
Figure 8 : <i>Phellinus pachyphloeus</i> : A (Basidiospores), B (Hyphes générateurs), C (Hyphes squelettiques), D (Soies hyménales), E (Hyphes sétules).....	36
Figure 9 : Repartition de l'espèce <i>Phellinus pachyphloeus</i> en Afrique	37
Figure 10 : Spectre infra-rouge du composé PP1	42
Figure 11 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) du composé PP1	43
Figure 12 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100MHz) du composé PP1.....	44
Figure 13 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) élargi du composé PP1 présentant les carbones caractéristiques.	45
Figure 14 : Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) entre 65 ppm et 10 ppm du composé PP1	45
Figure 15 : Spectre DEPT 135 inversé (CDCl_3 , 100 MHz) du composé PP1.....	46
Figure 16 : Spectre HSQC entre 3,5 et 7,5 ppm du composé PP1	47
Figure 17 : Structure du composé PP1.....	47
Figure 18 : Supperposition des données Infra-rouge des composés PP1 et PP2	49
Figure 19 : Supperposition des données spectrales RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) des composés PP1 et PP2.....	50
Figure 20 : Spectre ^1H - ^1H COSY du composé PP2.....	51
Figure 21 : Supperposition des données spectrales RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) des composés PP1 et PP2.....	52
Figure 22 : Spectre DEPT 135 (CDCl_3 , 100 MHz) du composé PP2.....	53
Figure 23 : Spectre HSQC entre 3,5 et 7,5 ppm du composé PP2	53
Figure 24 : Structure du composé PP2.....	54
Figure 25 : Processus de broyage de <i>Phellinus pachyphloeus</i> (Ambogui Y, 2024).....	60

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition de quelques espèces des Hymenochaetaceae en genre	22
Tableau 2 : Quelques triterpènes isolés du genre <i>Phellinus</i>	26
Tableau 3 : Quelques stéroïdes isolés du genre <i>Phellinus</i>	27
Tableau 4 : Structure de quelques composés phénoliques du genre <i>Phellinus</i>	29
Tableau 5 : Bio activités de quelques espèces du genre <i>Phellinus</i>	32
Tableau 6 : Taxonomie de l'espèce <i>Phellinus pachyphloeus</i>	33
Tableau 7 : Répartition de l'espèce <i>Phellinus pachyphloeus</i> au Cameroun (Mossebo et al., 2015)	37
Tableau 8 : Bio activités de l'espèces <i>Phellinus pachyphloeus</i>	38
Tableau 9 : Données de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de PP1 comparées à celles de la littérature (Jin, 1998).....	48
Tableau 10 : Données de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de PP2 comparées à celle de la littérature (Borlagdan et al., 2017).....	54
Tableau 11 : Fraction F_{Hex} et F_{AE} obtenues après extraction liquide liquide de l'extrait brut de <i>Phellinus pachyphyloeus</i>	61
Tableau 12 : Chromatogramme de la fraction à l'hexane de <i>Phellinus pachyphloeus</i>	61

LISTE DES SCHEMAS.

Schéma 1 : : mécanisme de formation de l'IPP et du DMAPP.....	13
Schéma 2 : Formation du squalène	14
Schéma 3 : cyclisation du squalène.....	15
Schéma 4 : mécanisme de l'IPP et du DMAPP	18
Schéma 5 : formation du squalène	18
Schéma 6 : Biosynthèse des triterpènes pentacycliques à partir de 2,3-epoxy squalène (Ran et al.,2004)	20
Schéma 7 : Protocole d'extraction et isolement des composés de l'espèce Phellinus pachyphloeus.....	41

RESUME

Dans le cadre de ce travail de recherche, nous avons entrepris l'étude chimique de la fraction à l'hexane de l'extrait au diclorométhane/méthanol de *Phellinus pachyphloeus*, champignon supérieur de la famille des Hymnochaetaceae, utilisé en médecine traditionnelle pour traiter les troubles gastriques.

Par le biais des méthodes chromatographiques usuelles (CC et CCM), trois composés ont été isolés de la fraction à l'hexane indexés PP1 à PP3. Deux d'entre eux, à savoir PP1 et PP2 ont entièrement été caractérisés grâce à l'interprétation de leurs données spectroscopiques RMN à deux dimensions (IR, ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC et HMBC) et par comparaison de ces données avec celles décrites dans la littérature. Ils ont été respectivement identifiés à l'ergosta-7,22-dien-3-one (PP1) de nom usuel stellasterone et l'ergosta-7,22-dien-3-ol (PP2) ou stellasterol. PP3 est en cours d'analyse.

Mots clés : *Phellinus pachyphloeus*, Hymnochaetaceae, champignon, stellasterol, stellasterone

ABSTRACT

As part of our research projet ,we undertook the chemical study of the hexan fraction of the dichloromethane/methanol extract of *Phellinus pachyphloeus*, a mushroom of the Hymenochaetaceae family, used in traditional medicine to treat gastric disorders.

By the means of usual chromatographic methods (CC, TCL), three compounds were isolated from this fraction and indexed PP1 to PP2. Two among the isolates were fully characterized from the analysis of their one and two dimensions NMR data (IR, ^1H , ^{13}C , COSY,HSQC et HMBC) and by comparaison of these data whith those described in the literature. They were respectively identified to ergosta7,22-dien-3-one (PP1), commoly known as stellasterone, and ergosta-7,22-dien-3-ol (PP2) or stellasterone and PP3 is pending analysis.

Key words: *Phellinus pachyphloues*, Hymnochaetaceae, mushroom, stellasterol, stellasterone.

INTRODUCTION

La nature constitue une source primordiale de médicaments offrant une pharmacopée très importante et nécessite une exploration vraiment approfondie. Le règne fongique, plus précisément la famille des Hymenochaetaceae, bien que peu explorée, pourrait être une source fructueuse de nouvelles molécules biologiquement actives. Les champignons sont en effet des organismes fascinant qui ont évolué pour occuper une grande variété d'écotopes. Parmi les espèces de champignons *Phellinus pachyphloeus* de la famille des Hymenochaetataceae, est un champignon basidiomycète qui pousse sur les troncs et branches des arbres. Cette espèce est répandue dans les forêts tropicales humides d'Afrique, notamment au Cameroun, au Nigeria et en République démocratique du Congo (**Mossebo et Amougou, 2015**).

Les études chimiques sur *Phellinus pachyphloeus* ont révélé la présence de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les triterpènes et les stéroïdes (**Yemele et al., Ngoy, 2018**). Ces composés ont été rapportés pour posséder des activités biologiques intéressantes notamment les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**Tchiegang et al., 2013**)

Dans le cadre de ce travail devant conduire à l'obtention du diplôme de Master II en Chimie Organique, nos travaux ont porté sur l'étude chimique de *Phellinus pachyphloeus*, choisi d'une part pour ces propriétés thérapeutiques et d'autre part pour sa composition chimique et son étude limitée en chimie organique.

L'objectif général de ce travail est l'investigation de la composition chimique du champignon *Phellinus pachyphloeus*.

Plus spécifiquement, il s'agira de :

- ✓ Isoler
- ✓ Purifier
- ✓ Caractériser les différents métabolites secondaires présents dans ce champignon.

Pour atteindre notre objectif, notre travail se résume en trois grandes parties à savoir :

- Le premier chapitre qui porte sur la revue de la littérature
- Le deuxième chapitre est dédié aux résultats et discussion, suivi d'une conclusion générale et des perspectives.

- Le troisième chapitre est consacré aux méthodes expérimentales. Il décrira de manière bien détaillée le matériel et les méthodes employées telles que la technique d'extraction, d'isolement, de purification et de caractérisation des métabolites secondaire.

Nous terminerons notre travail par une présentation de la bibliographie consultée.

CHAPITRE I : REVUE DE LITERATURE

I-1 Généralités sur les Basidiomycètes supérieurs

I-1-1-Définition et classification

La mycologie est la science qui étudie les champignons. Les champignons représentent un groupe d'organisme majeur à la fois dans le fonctionnement des écosystèmes mais également dans les applications biotechnologiques qu'ils peuvent potentiellement diriger (**Schmit et Mueller, 2007**).

Les champignons sont des thallophytes eucaryotes non chlorophylliens appartenant au règne fongique (**Whittaker, 1969**). Ils ont une paroi cellulaire composée de chitine, ce qui les rapproche plus des animaux que des plantes. On estime leur diversité à environ 1,5 million d'espèces dont moins de 20% sont connues (**Hawksworth, 2001**). Ce potentiel est reparti en deux grands groupes : les Micromycètes (ensemble des espèces invisibles à l'œil nu), c'est le groupe prédominant et Macro-mycètes (ce sont des espèces formant des fructifications visibles à l'œil nu), c'est le groupe minoritaire. Compte tenu de leur grande diversité en métabolites secondaires, de nombreuses études ont axées la connaissance de leur composition chimique et menées de nos jours dans le but de rechercher de nouvelles molécules d'intérêts thérapeutiques bénéfiques à l'homme. La classification des champignons est basée sur la taxonomie et la chimio taxonomie. La chimio taxonomie est la classification des organismes selon des caractéristiques biochimiques.

I-1-2-Biologie, et écologie des basidiomycètes supérieurs

L'étude d'un Micromycète montre qu'il possède deux (02) composantes: le carpophore (fructification visible), le plus souvent à la surface de la terre, produit par appareil végétatif (mycélium), filamenteux, constitué d'hyphes (**Gevry, 2010**). L'hyphe est cloisonné ou septe (**Selosse et Durrieu, 2004**). La reproduction est sexuée et se fait par fusion des hyphes de polarité différente issus de la germination des spores.

Les champignons sont des organismes hétérotrophes qui tirent leur énergie dans leur environnement immédiat. Leur capacité à absorber des substances nutritives de diverses sources leur permet de prendre le dessus sur une multitude de substrats, enveloppant plusieurs modes de vie selon le comportement qu'ils ont avec le milieu. Les mycologues classent les champignons en trois grandes catégories en fonction de leur mode de vie (**Gévry et Dalpé, 2012**). C'est ainsi qu'on distingue :

- **Les champignons saprophytes** : qui sont des organismes capables de se nourrir de matières organiques mortes en décomposition, de composte ou de fumier. Ce sont les principaux décomposeurs microbiens du bois dans les écosystèmes forestiers. Le mode de vie du *Phylum basidiomycète* étant principalement saprophyte, ils sont d'ailleurs les organismes fongiques ayant les capacités de dégradation de matériels ligno-cellulolytiques les plus élaborées (**Hibbet et Donoghue, 2001**). Leur nutrition est assurée par la digestion des constituants du bois (**Sánchez, 2009**) aboutissant à la perte des propriétés mécaniques et esthétiques de celui-ci. Ces champignons dits lignolytiques peuvent être subdivisés en trois groupes fonctionnels suivant leurs modes de dégradation : les champignons de pourritures molles, de pourritures brunes et de pourritures blanches.

Les agents de **pourritures molles** appartiennent principalement à la famille des ascomycètes et deutéromycètes. Ces pourritures sont retrouvées généralement sur des bois et feuilles humides. Ils dégradent la cellulose, les hémicelluloses et partiellement la lignine rendant le bois noirâtre et très friable (**Deroy, 2015**).

Les agents de **pourritures brunes** (dites aussi pourritures cubiques, ou pourriture rouge à cause de l'aspect du bois dégradé) sont majoritairement des basidiomycètes et ascomycètes. Ils dégradent la cellulose du bois et les hémicelluloses et sont rencontrés généralement sur les résineux (**Deroy, 2015**). L'action de ces agents de dégradation confère au bois une couleur sombre.

Les agents de **pourritures blanches** ou pourriture fibreuses appartiennent à la famille des Basidiomycètes et sont les seuls micro-organismes qui possèdent la capacité de dégrader la totalité des constituants du bois tels que la cellulose, les hémicelluloses et surtout la lignine. Lors de sa dégradation, le bois va se ramollir et se décolorer progressivement pour laisser apparaître une couleur blanchâtre (**Deroy, 2015**). Les principaux vecteurs de la pourriture blanche sont les transmits, les pleurotes, les crepidotes polypores (du genre *Phellinus*, tel que des caves ou du genre à adouviers).

- **Les champignons parasites :** qui se procurent l'eau et les aliments soit en tuant les cellules de son hôte, soit en établissant des relations nutritionnelles avec des cellules vivantes et peuvent parfois entraîner sa déchéance et même sa mort ; une relation de parasitisme implique qu'un organisme vit au dépend d'un autre, y puise sa nourriture et peut parfois entraîner sa déchéance et même sa mort. Ce mode de vie diffère du commensalisme qui consiste en l'association de deux organismes vivants dont l'un se nourrit des débris de l'autre sans pour autant le nuire. Ces champignons s'attaquent aussi bien aux plantes qu'aux animaux, aux insectes et aux nématodes (Gevry et Dalpé, 2012).

- **Les champignons symbiotiques :** ils établissent une relation parfois indispensable et mutuellement bénéfique entre des êtres vivants communément appelés symbiotes. Pour se nourrir, ils tirent le glucose fabriqué par certains êtres vivants (plantes), et en échange, ils fournissent à la plante de l'eau, les acides aminés, des sels minéraux, du potassium et ainsi qu'une protection contre les parasites (Balezi, 2013). L'association entre un champignon et une plante constitue un réseau mycorhizien qui, représente la symbiose la plus répandue à l'échelle planétaire (Smith et Read., 2008). La plupart des basidiomycètes sont soit saprophages, soit vivent en symbiose comme par exemple les bolets. Cependant, il existe également des basidiomycètes parasites comme la pholiote qui pousse sur les troncs des peupliers ou la rouille du blé : les basidiomycètes participent également à la symbiose lichenique. Toutefois, la mycorhization demeure pour eux le principal mode d'association symbiotique.

I.1.3 Différentes parties d'un champignon

Un champignon supérieur est composé d'une partie souterraine (mycélium) et d'une partie aérienne (carpophore). Le carpophore souvent comestible, constitue son organe de reproduction. Le mycélium est formé de filaments généralement blanchâtres. Les hyphes et se situent dans divers substrats tels que le sol minéral, le bois pourri et l'écorce de l'arbre. En les observant de plus près, on se rend vite compte qu'ils ne se ressemblent pas tous (Whittaker, 1969). Hormis leur taille, on remarque facilement les différences ci-dessous :

-La forme du chapeau : bien que souvent ronde, elle peut être plus ou moins sphérique, conique, plate, mamelonnée ou en entonnoir et son revêtement peut être lisse, soyeux, ridé, pelucheux, etc. (Momo, 2009).

-**Le stipe (ou pied)** peut être lisse, fibrilleux, avec ou sans anneau, cortiné, avec ou sans volve, cassant comme de la craie, enflé à la base, bulbeux ou pointu, plein ou creux, charnu etc. **(Yian et al., 2020).**

-**La couleur de la chair** peut être blanche ou colorée, se colorant au touché ou à la coupe. La saveur peut être fongique, nulle, farineuse, amère, piquante, etc. **(Njouonkou et al., 2013).**

-**L'odeur** peut être nulle ou faire penser à l'anis, la farine, la noix de coco, l'amande amère, la mandarine, le gaz, le cacao, l'ail, etc. **(Yian et al., 2020).**

-**L'hyménium** peut être lisse, plissé, lamellé, à aiguillons, tubés ou porés et se trouve en dessous du chapeau. L'insertion de l'hyménium sur le pied peut se faire sous forme décurrent, adné, échancré. L'hyménium est un tissu fertile tapissant l'intérieur des champignons et donnant naissance aux spores. L'hyménium des basidiomycètes est essentiellement composé de basides placées côte à côte, tandis que celui des ascomycètes comporte des asques, eux aussi dressés côte à côte. La figure 1 ci-dessous montre les différentes parties d'un champignon à chapeau **(Yian et al., 2020).**

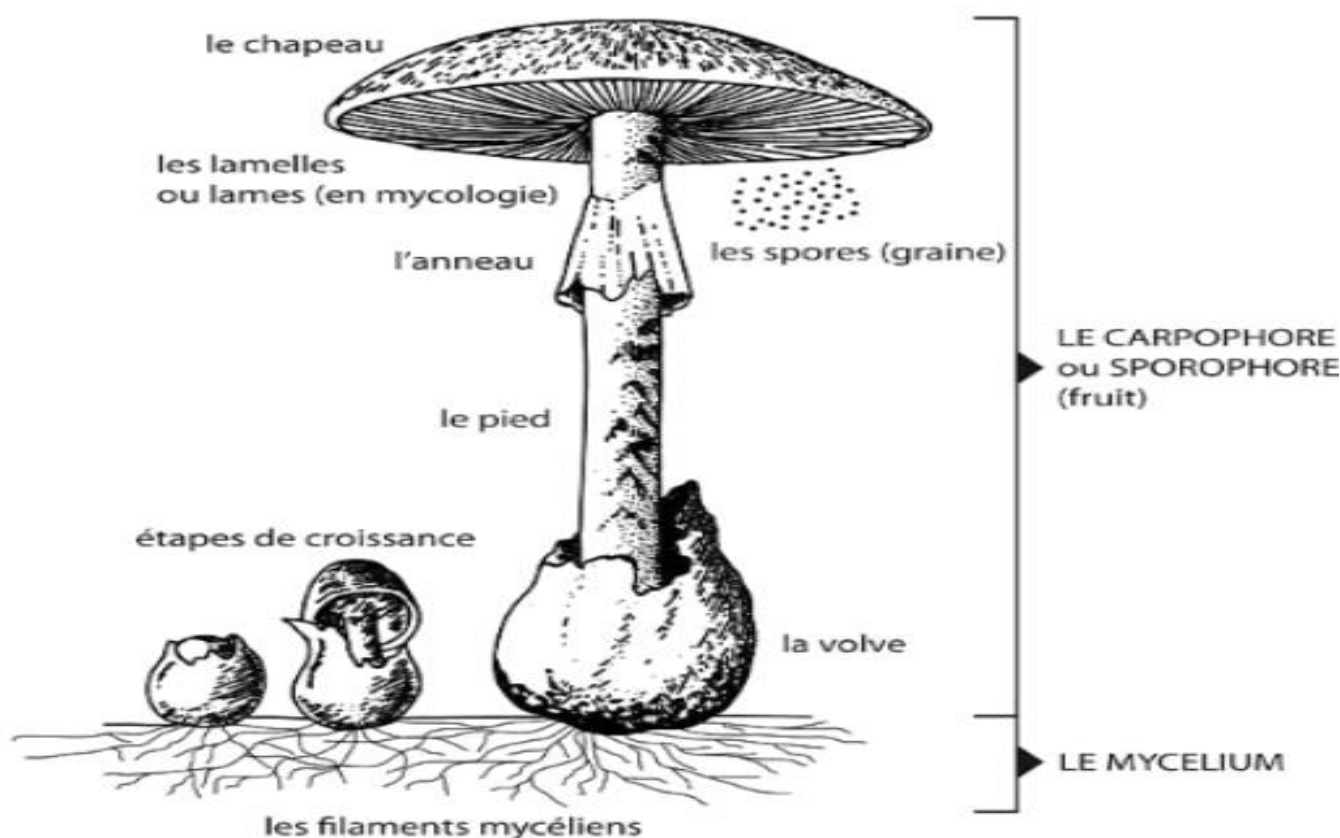


Figure 1 : Différentes parties d'un champignon à chapeau (Corbat F, 2004)

I.1.4 Cycle de reproduction des champignons basidiomycètes

Ils comprennent environ 23000 espèces à fructifications développées, appelées « sporophores », Les basidiomycètes apparaissent comme les champignons les plus évolués des mycètes (Taylor et al., 2004). Afin de coloniser un maximum de surfaces, ils produisent des spores au niveau d'une surface fertile (hyménium) qui sont dispersées par le vent à maturité. Ainsi dispersées, ces dernières germent pour donner un mycélium primaire qui se développe. Dans des conditions idéales de température et d'humidité, les mycéliums primaires issus de différentes spores se rencontrent et fusionnent pour donner des mycéliums secondaires qui à leurs tours donneront des fructifications appelés carpophores ou sporophores. Les jeunes carpophores prospéreront pour donner des champignons qui largueront leurs spores et le cycle continuera. La figure 2 suivante illustre le cycle de reproduction des basidiomycètes.

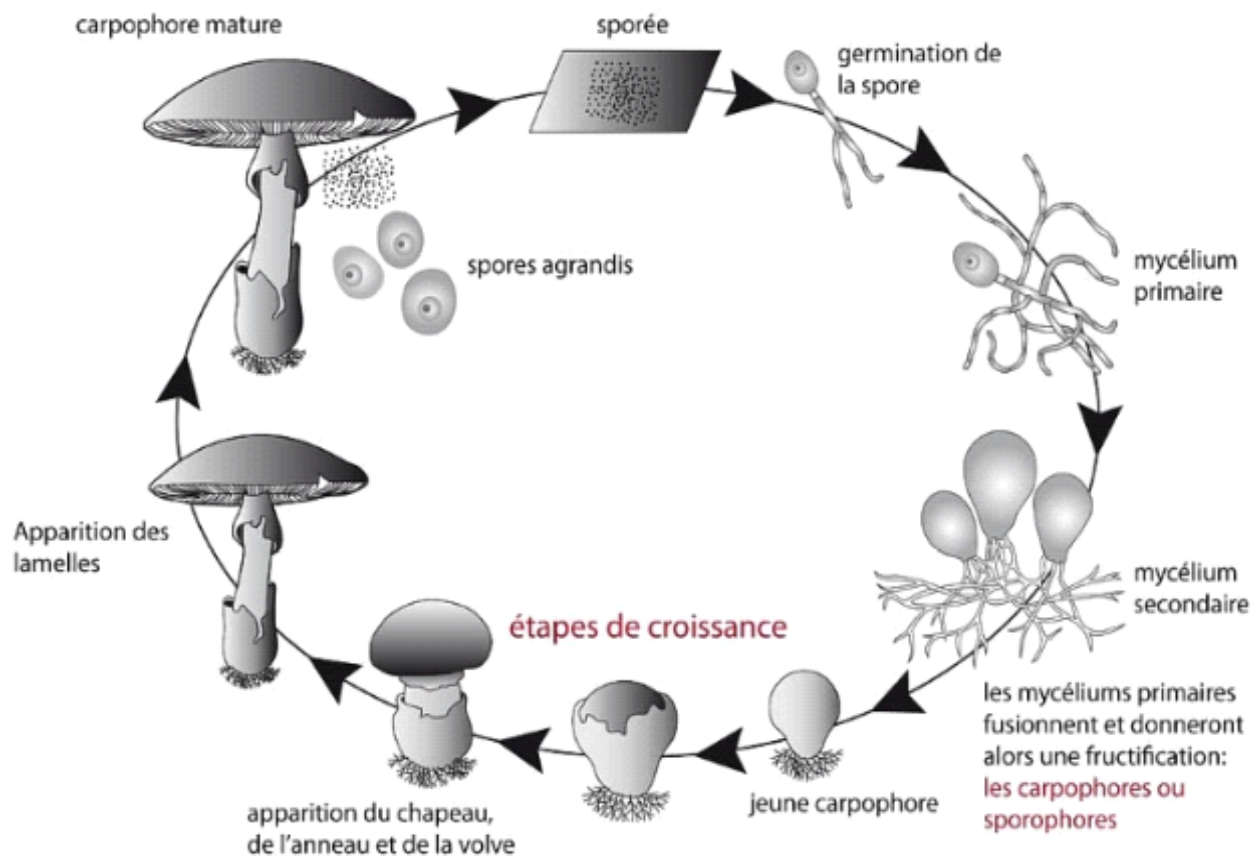


Figure 2 : Cycle de reproduction des champignons

I-1-5-Importance alimentaire, médicinale et thérapeutique des Basidiomycètes

Les champignons supérieurs constituent un excellent complément alimentaire et font depuis longtemps parti du régime alimentaire de l'homme. En effet outre leur valeur nutritionnelle et leur goût très apprécié, ils constituent une source d'agents bioactifs ayant plusieurs propriétés thérapeutiques telles que les propriétés anti-inflammatoires, antihistaminiques, antitumorales, hypocholestérolémiantes, antidiabétiques, analgésiques, immunomodulatrices (Wasser, 2002).

➤ Importance alimentaire

De nombreux spécimens de basidiomycètes sont comestibles aussi bien en zone tempérée que tropicale. En Afrique, ils sont considérés comme des aliments de substitution à la viande et au poisson en période de disette (Eyi-Ndong et al., 2011). Au Cameroun par exemple les termitomyces, plus consommés et très riches en eau (80 à 90% de biomasse fraîche), lipides, protéines (10-15% de leur poids sec) et glucides (4-6% de la matière fraîche) (Mossebo et al.,

2011) sont rencontrés et vendus dans certaines localités du pays notamment au centre et à l'Ouest, en période d'abondance (Mars-Avril ; juillet-Aout). En fait, l'analyse des champignons comestibles montre qu'ils contiennent plus de protéines et d'acides aminés que les légumes. Leur consommation constitue une solution aux problèmes d'obésité et maladies cardio-vasculaires dues aux protéines animales riches en cholestérol et graisses. Les protéines des champignons procurent à l'organisme l'habilité de digérer des hydrates de carbones ... Ils sont également riches en Sélénium, potassium, vitamine B3, B2 et D.

➤ **Importance médicinale et thérapeutique**

Les champignons macroscopiques ont des vertus médicinales avérées. Ils sont signalés comme capables d'améliorer la santé cardiaque, de réduire le risque de cancer, de promouvoir la fonction immunitaire, d'inhiber des virus, bactéries et champignons microscopiques toxiques, de réduire l'inflammation, d'aider à équilibrer les niveaux de sucre dans le sang et soutenir le mécanisme de détoxification de l'organisme (**Barros et al., 2007**). Ils ont également la capacité d'accumuler une grande variété de métabolites secondaires notamment les alcaloïdes, les composés phénoliques, les polypeptides, les terpènes, les stéroïdes et les saponines. Les composés phénoliques se sont montrés être des excellents antioxydants synergiques (**Marzoqi et al., 2015 ; Gnanavel et Mary, 2013 ; Kotan et al., 2010**).

Plusieurs peuples Africains et Asiatiques utilisent certaines espèces en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies. Pour ce faire, certaines préparent des décoctions à l'aide des carpophores et d'autre à partir des spores obtenues de ces carpophores. C'est le cas par exemple des populations du Niger qui utilisent la décoction *Podaxis pistillaris* pour le traitement des plaies et des vers intestinaux et *Agaricus subsarianus* pour le traitement des boutons (**Hama et al., 2012**).

I-2- GENERALITES SUR LES STEROIDES ET LES TRITERPENOIDES

I-2-1 Les stéroïdes

I-2-1-1 Définition

Les Stéroïdes sont des dérivés des triterpenoides (cyclisation du squalène), caractérisés par leur noyau stérane composé de 17 atomes de carbone. Cet ensemble de composé constituent un groupe lipidique.

Selon l'UIPAC, ce noyau stérane est encore appelé perhydrocyclopentanophénanthrène. Il contient trois (03) cycles renfermant chacun six (06) atomes de carbone et un (01) renfermant cinq (05) atomes de carbone d'après la figure ci-dessous :

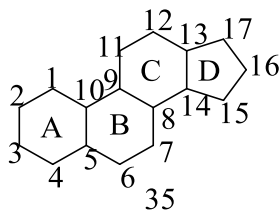


Figure 3 : Noyau stérane

Les stéroïdes sont constitués d'un noyau stérane composés de 17 Atomes de carbone, numéroté comme nous l'indique la figure ci-dessus. Les stéroïdes naturels issus des champignons ou des plantes, comportent tous un groupement 3β -hydroxyle et au moins une double liaison carbone-carbone (**Chenghom et al., 2010**). Ils sont considérés comme des triterpènes cycliques qui ont perdus les méthyles en position 4 et en position 14 comme nous le présente le squelette de base ci-dessous

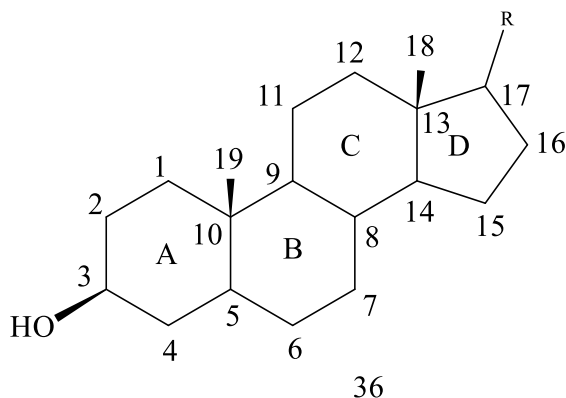


Figure 4 : Squelette de base des stéroïdes

I-2-1-2- Biosynthèse des stéroïdes

Les stéroïdes forment une grande famille chimique regroupant toutes les molécules naturelles dont le squelette carbone polycyclique s'apparente au gonane (perhydro-1,2-cyclopentanophenanthrene). Ils sont répandus dans la nature où on les rencontre à tous les échelons du règne animal.

La biosynthèse se passe en trois (03) étapes tout comme les triterpènes ; la différence se situe au niveau de la cyclisation du squalène.

- **1^{re} étape** : la formation du précurseur IPP et DMAPP à partir de la voie mévanoïque qui provient de l'acide acétique (CH_3COOH) en présence du coenzyme A (CoA).

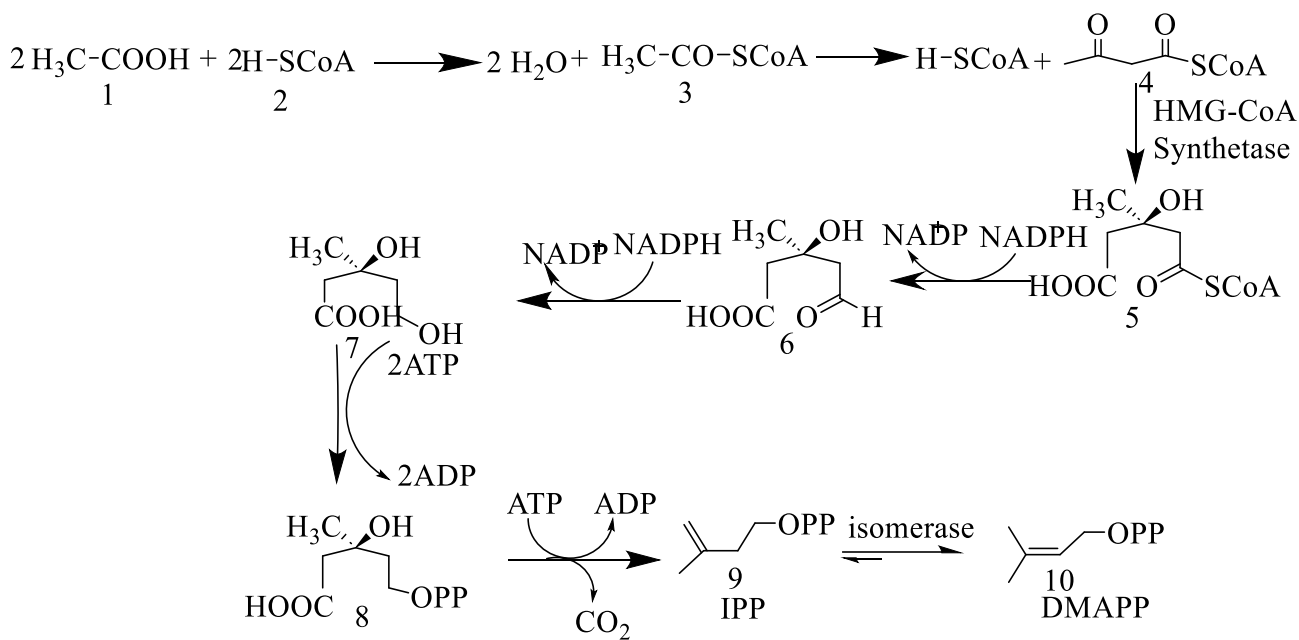


Schéma 1 : : mécanisme de formation de l'IPP et du DMAPP

- **2^{ème} étape :** formation du squalène par condensation de l'IPP et du DAMPP

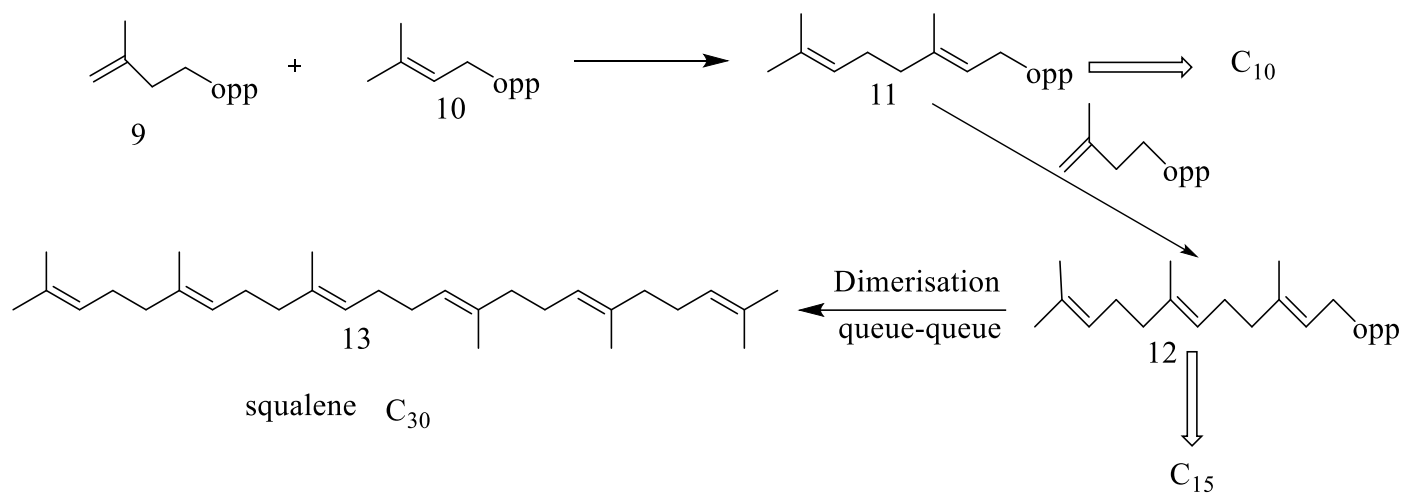


Schéma 2: Formation du squalène

3^{ème} étape : cyclisation du squalène

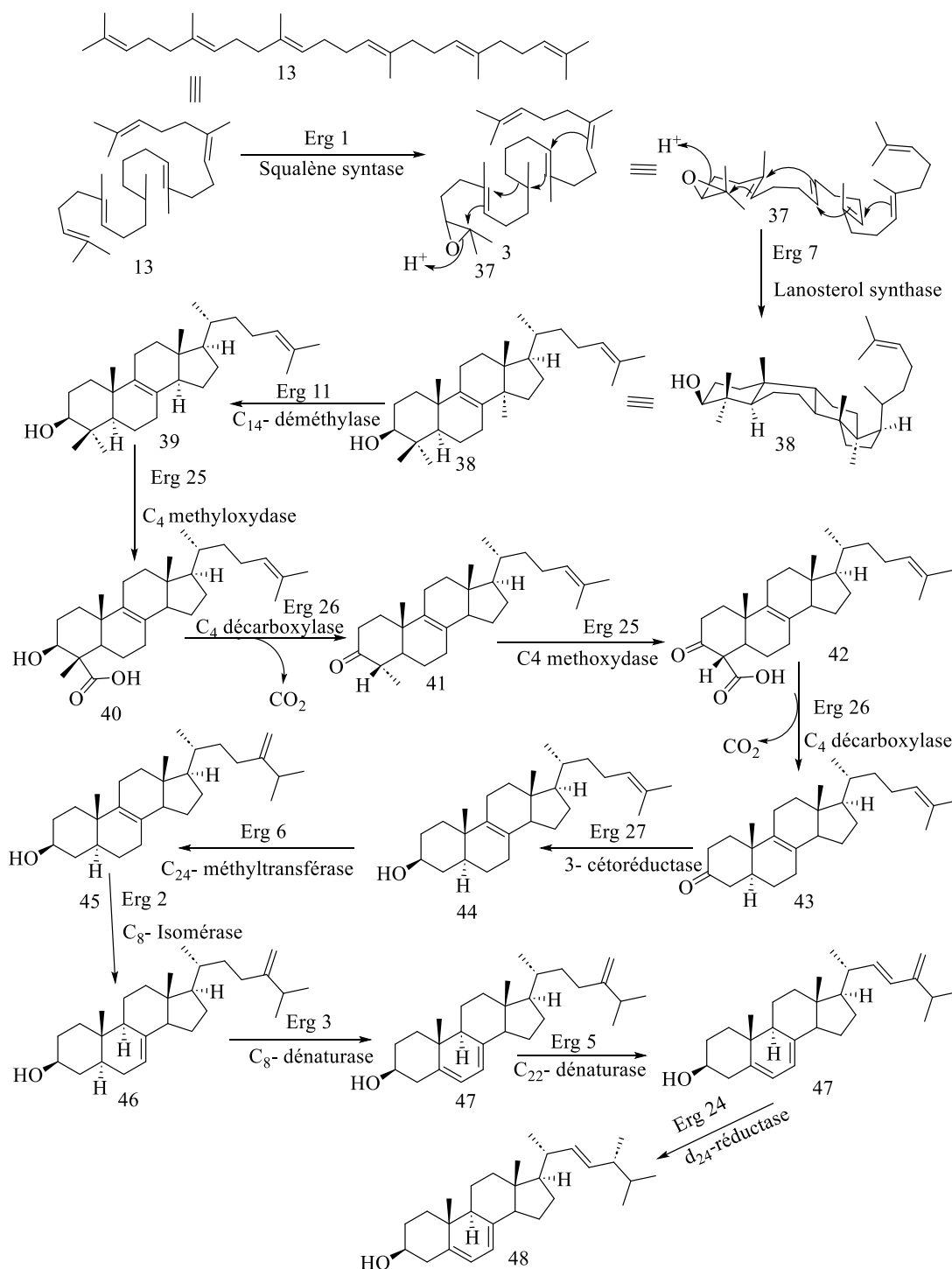


Schéma 3 : cyclisation du squalène

I-2-1-3 Activités pharmacologiques des stéroïdes

Les stéroïdes constituent un groupe de molécules de première importance, non seulement pour leurs propriétés thérapeutiques, mais aussi pour leurs intérêts comme matières premières utilisées dans divers secteurs de l'industrie (pharmaceutique, agroalimentaire, etc.). Le β -sitostérol et stigmastérol sont indispensables pour couvrir les besoins de l'industrie pharmaceutiques en médicament stéroïdiens (contraceptifs, anabolisants, anti-inflammatoires). Les phytosterols inhibent l'absorption du cholestérol par des mécanismes complexes, à l'instar du β -sitostérol connu comme agent hypocholestérolémiant depuis 1951 (**Bruneton, 1999**).

Les stéroïdes possèdent aussi des propriétés antitumorale, anti-inflammatoire, antivirale, antipyrétique, antiarthritique, anti-ulcère, antibactérienne, analgésique, antiparasitaire, antiallergique, antioxydant et antidiabétique (**Bruneton, 1999**). Ils pourraient être un piègeur d'espèces réactives de l'oxygène. Leurs activités immuno-modulatrice, anti-inflammatoire, anthelminthique et antimutagène ont été également rapportées par plusieurs autres auteurs (**Villasenor et al., 2002 ; Prieto et al., 2006**).

I-2-2- Les triterpènes

I-2-2-1- Définition

Les triterpènes constituent la classe majoritaire des terpénoïdes. Cette classe de métabolite secondaire est largement rependu aussi bien dans le règne animal que végétal (**Bruneton, 1999**). En réalité, plus de 20000 triterpènes à l'état libre, estérifié ou hétérosidiques ont été isolé et regroupent plus de 100 squelettes hydrocarbonés différents (**Thimmappa et al., 2014**). Ce sont des molécules en C₃₀ formés d'un enchainement de six unités isopréniques (C₅H₇)₆. Ils dérivent de la cyclisation d'un substrat linéaire de 3S-2,3 époxysqualène, ou plus rarement du squalène lui-même.

I-2-2-2 Biosynthèse des triterpènes

Tous les composés triterpéniques se forment à partir de 6 unités isopréniques qui s'assemblent par deux ou en plus d'une chaîne carbonée insaturée ; Ce dernier est ensuite modifié par oxydation, par réduction ou par élimination de carbone, ce qui explique la multiplicité des composés isopréniques (**Grigorias, 2012**). Le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et le

pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP) sont les précurseurs de tous les terpénoïdes. La biosynthèse de l'unité isoprène se fait par la voie de l'acide mévanolique. Chez les plantes supérieures, la biosynthèse des terpénoïdes a lieu exclusivement dans le cytoplasme et les plastes en suivant différentes voies. Dans le cytoplasme, la biosynthèse se fait selon la voie mévanolique tandis que dans les plasmides c'est la voie DXP (**Chappell, 1995**). La voie que nous utiliserons est celle de l'acide mévanolique.

I-2-2-3- Synthèse de l'IPP et DMAPP

La biosynthèse des triterpènes par voie du mévalonate commence par une réaction de condensation de Claisen entre deux molécules d'acétyl-CoA catalysées par l'acétoacétylCoA-thiolase pour donner de l'acétoacétyl-CoA (**Hung-wen, 2010**). Une seconde réaction de condensation aldolique avec une troisième molécule d'acétyl-CoA donne ensuite un composé à six atomes de carbones, le (S)-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A (HMGCoA). Cette réaction de condensation est catalysée par HMG-CoA synthase (**Hung-wen, 2010**). Le HMG-CoA est ensuite réduit en mévalonate par le HMGR (HMGR-CoA réductase). Le mévalonate est ensuite converti en phosphomévalonate puis en diphosphomévalonate via deux réactions consécutives de phosphorylation impliquant l'hydrolyse de l'adénosine-5'-triphosphate dont la première est catalysée par le mévalonate kinase et la seconde par la phosphomévalonate kinase (**Tarek, 2012**). Le diphosphomévalonate est ensuite converti en isopentényl diphosphate par la diphosphomévalonate décarboxylase. Dans cette étape, le dégagement de CO₂ du diphosphomévalonate se réduit conjointement avec l'hydrolyse de l'ATP en ADP. Enfin l'IPP est converti en son isomère le DMAPP par l'action de l'IPP isomérase (**Hung-wen, 2010 ; Tarek, 2012**). La séquence ainsi décrite est illustrée par le schéma suivant.

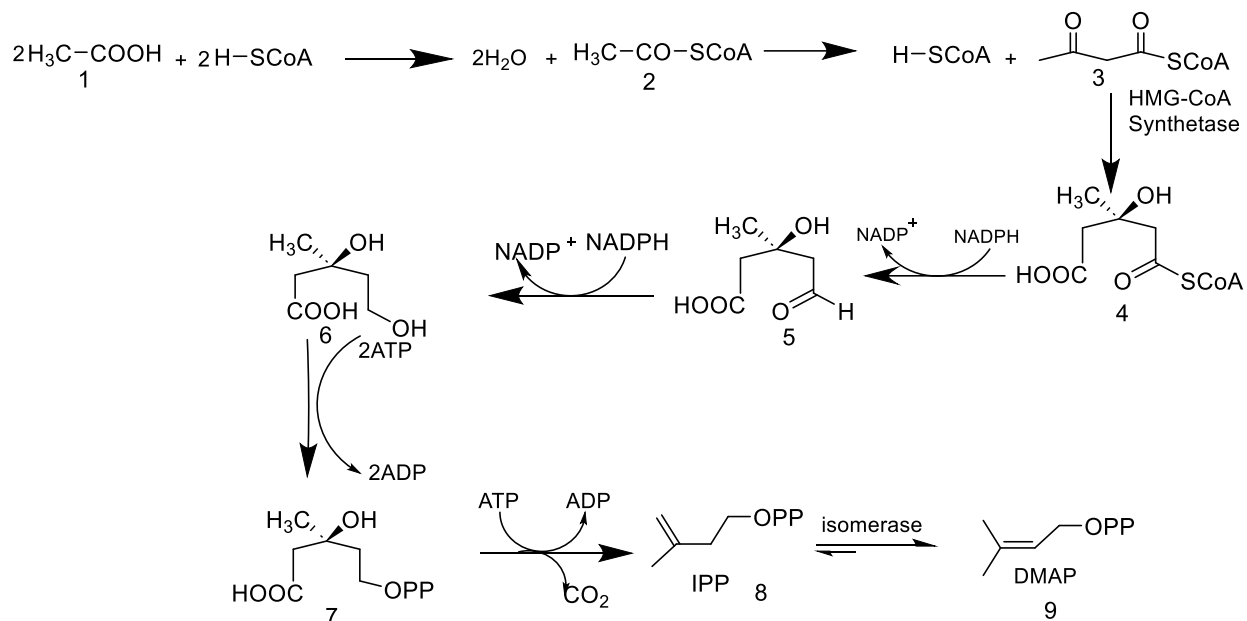


Schéma 4 : mécanisme de l'IPP et du DMAPP

➤ Synthèse du squalène

Le squalène se forme à partir de la condensation de l'IPP et du DMAP

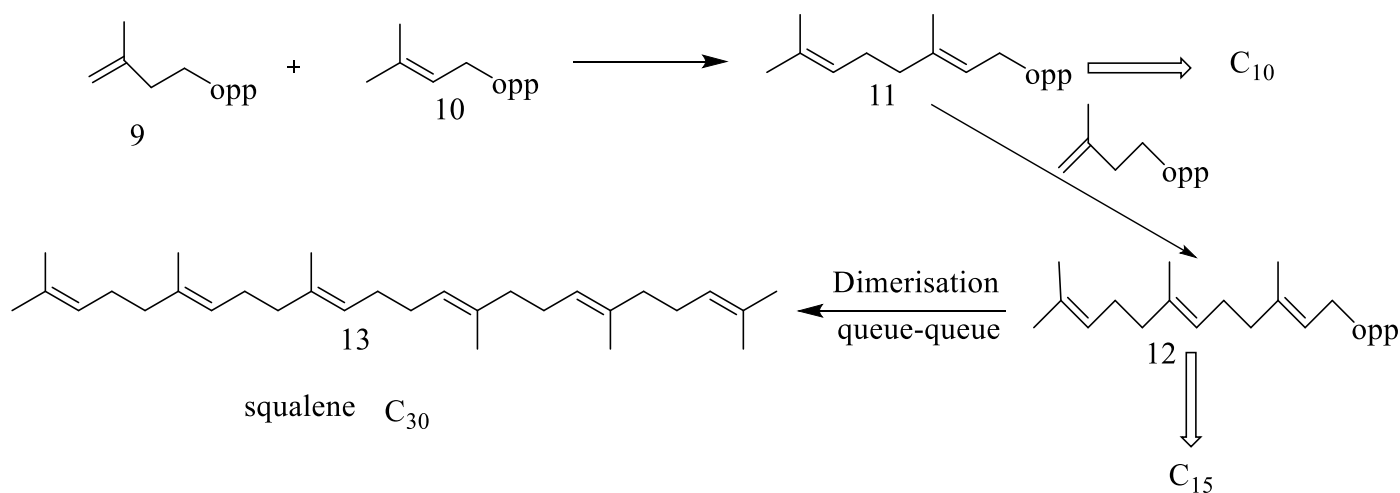


Schéma 5 : formation du squalène

➤ **Cyclisation du squalène**

Les triterpenoides forment un groupe de métabolites secondaires très répandus dans les végétaux. Ce sont des composés renfermant trente atomes de carbones dans leurs squelette principal et résultant de la cyclisation du (3S) 2,3-epoxy squalène ou du squalène lui-même obtenu par voie mévanolique. Ils sont généralement hydroxylés en position 3 et les différences majeures sont d'ordre configurationnel et liées à la conformation adaptée par l'époxyde squalène conduit aux composés triterpéniques de squelette tetracyclique ou pentacycliques (**Bruneton, 2009**).

Les triterpenoides pentacycliques sont classés dans plus d'une quarantaine de groupes structuraux (**Mahato et Kundu, 1994**). La glycosylation de ces groupes conduit à la formation des substances naturelles appelées saponines. La partie triterpenique porte un hydroxyle sur le C-3 et peut aussi porter dans la molécule d'autres fonctions carboxyles ou hydroxyles qui peuvent ne servir de points d'attaches de l'aglycone aux partie osidiques (**Mahato et al., 1992**).

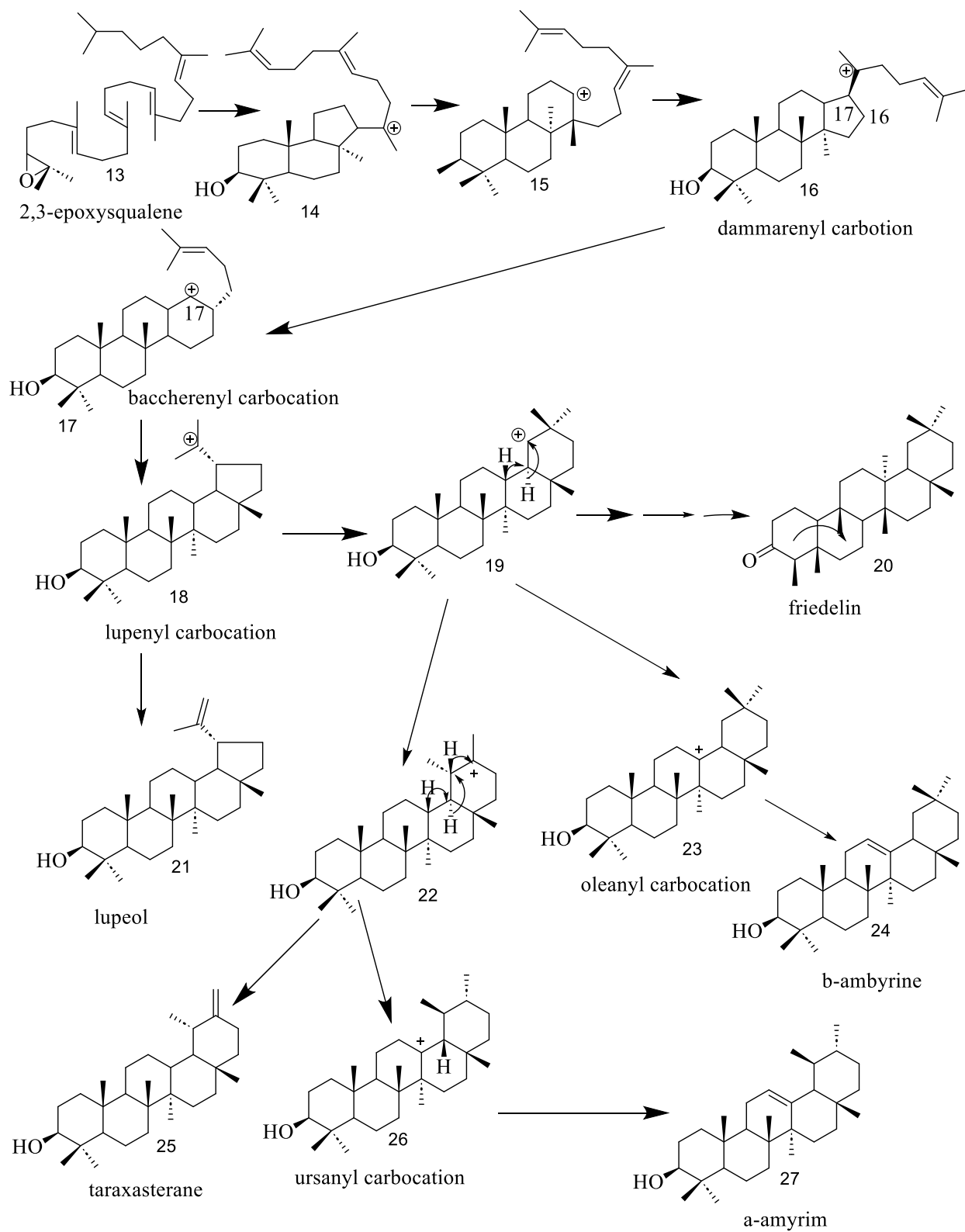


Schéma 6 : Biosynthèse des triterpènes pentacycliques à partir de 2,3-epoxy squalène (**Ran et al.,2004**)

I-2-2-4 Activités biologiques des triterpènes

Les triterpènes sont largement représentés dans la nature : on les retrouve dans les résines, les écorces d'arbres, les fleurs et les aromates ainsi que dans les champignons. La plupart d'entre eux sont naturellement synthétisés par les plantes pour améliorer leurs fonctions addictogènes : ils protègent la plante contre les stress physiques et les agressions extérieures tels que le froid, la sécheresse et les rayons UV (**Patocka J, 2003**). De nombreuses études se sont intéressées aux triterpènes et ont démontré la grande diversité de leurs activités biologiques sur la santé humaine (**Agra, L et al., 2015**).

I-3- GENERALITES SUR LA FAMILLE DES HYMNOCHAETACEAE

I-3-1 Aspect mycologique

Les Hymenochaetales ou clade Hymenochaetales sont un ordre ou un clade des champignons agricomycètes. La phylogénie des Hymnochaetaceae a été étudiée par des méthodes moléculaires depuis 2006 (**Karl et al., 2006**). Elles ont indiqué que la famille des Hymnochaetaceae, telle qu'autres fois circonscrite, n'était pas un groupe monophylétique.

Les Hymenochaetaceae sont une famille de champignons appartenant à la division des Basidiomycètes et de l'ordre des hymenochaetales. Cette famille comprend environ 48 genres et repartis en 610 espèces (**Picpeubring M., 2015**).

Les Hymenochaetales ont plusieurs caractéristiques morphologiques en commun, notamment des basidiospores brunes qui noircissent en alcalins, des hyphes manquant de pinces de connexion, et la présence de soies caractéristiques de proies épaisses, de cystides en forme d'épines visibles sous loupe. L'étude de leur ultrastructure montre que les Hymenochaetales ont des dolipores avec des parenthosomes non-perforés, alors que la plus part des agaricomycètes ont des dolipores avec parenthosomes perforés (**Wally et Joast, 2000**).

Chez les Hymenochaetales, les Hymnochaetaceae forment un clade distinct mais malheureusement tous les caractères morphologiques spécifiques des hymenochaetaceae se trouvent également dans certaines espèces en dehors du clade. Cete famille se caractérise par des formes de polypores ou clavaroides: Ce sont des saprophytes et sont la cause de la pourriture blanche du bois. Cette famille regorge plusieurs autres caractères tels que : l'absence de la boucle mycélienne, la présence des hyphes septes à paranthésome non perforés (**polémis et al., 2013**).

Le **tableau 1** ci-dessous présente la répartition de quelques genres et espèces de la famille des Hymenochaetaceae.

Tableau 1 : Répartition de quelques espèces des Hymenochaetaceae en genre

Genres	Espèces
<i>Phellinus</i>	<i>pachyphloeus, gilvus, linteus, rimosus, calcitratus, crustosus, erectus, extensus, igniarius...etc.</i>
<i>Onnia</i>	<i>leporina, tomentosa, triquetra</i>
<i>Innotus</i>	<i>alpinus, andersonii, baumii, circinatus, cuticularis</i>
<i>Fulvifomes</i>	<i>fastuosus, indicus, kawakamii</i>

La famille des Hymenochaetaceae est une famille très importante, car plusieurs de ces espèces sont utilisées comme ressource pour le développement de médicaments et la lutte contre certaines maladies humaines. Cette famille à une répartition cosmopolite, on les retrouve dans presque tout le monde surtout en Afrique. Au Cameroun, on retrouve les genres *Polyporus*, *Innotus*, *Fomitiporia*, *Phellinus*.

I-3-2-Intérêts et usages

Les Hymenochaetaceae présentent des intérêts sur plusieurs plans. Les enzymes et métabolites secondaires produits par certains Hymenochaetaceae ont suscité un intérêt considérable pour leur utilisation potentielle en tant que médicaments ou pour des applications biologiques. Plusieurs espèces du genre *Phellinus* sont utilisées dans la médecine traditionnelle asiatique et disponible dans le commerce. Plusieurs espèces de cette famille sont connues comme champignons médicinaux, et sont utilisés pour traiter plusieurs maladies telles que le diabète, cancer, maux d'estomac, la diarrhée et le paludisme (**Courtecuisse et al., 1996**). La plupart des champignons de l'ordre sont saprotrophes du bois mort, mais certaines espèces au sein des Hymenochaetaceae peuvent provoquer une pourriture chez les arbres vivants.

Les espèces de la famille des Hymenochaetaceae présentent un intérêt socio-économique. Sur le plan économique, la majorité des espèces de cette famille est cultivée en Amérique du nord

et en Asie et commercialisée à des prix très élevés. La culture de ces champignons est considérée comme l'une des plus grandes sources de revenus dans cette partie du monde (**Loubelo, 2012**).

Dans la nature, on observe les Hymenochaetaceae le plus souvent sur bois mort, mais aussi aux pieds d'arbres encore vivants. Les espèces qui sont les plus représentées sont celles du genre *Phellinus*.

I-4- LE GENRE *Phéllinus* Qué!

I-4-1- Généralités sur le genre *Phéllinus* Qué!

Phellinus Qué! a été découvert par le mycologue français Lucien Quélet en 1886 (**Enchir, 1886**). C'est un genre de champignons cosmopolites de la famille des Hymenochaetaceae, classes des agaricomycètes, subdivision des agaricomycotina et division des basidiomycota (**Kirt et al., 2008**). Le genre *Phellinus* est caractérisé par des basidiomes resupinés à pilés, annuels à pérennes, hyménophore simple à imbriqué avec une large gamme de couleur allant du brun jaunâtre au brun rouille, au gris, au noir sous-hyménium tomenteux à glabre, scrupuleux, croisé à rimose. Hyménium brun avec des pores arrondis, anguleux à daedaloïde. Macroscopiquement, ils s'identifient par un système d'hyphes dimitiques avec cloisons simples, ramifiés, une paroi mince. Hyphes génératifs subhyalines à jaune pâle et sans cloisons, paroi épaisse, occasionnellement ramifiés. Hyphes squelettiques jaune d'or à brun doré. Hyphes sétules et soies présents ou absents. Basides à 4 stigmates. Spores largement ellipsoïdes, subgloboïdes à globe, lisses, paroi mince et épaisse, hyaline, jaune or à brun doré, dextrinoïdes à non amyloïdes, faiblement cynophiles à acyanophiles.

Les espèces de ce genre sont parasites (troncs et racines) ou saprophytes (grumes, souches et branches tombées) des associations végétales formées d'angiospermes ainsi que des gymnospermes (**Bakshi, 1971 ; Ranadive et al., 2012**). Ils dégradent la lignine aussi bien que la cellulose et autres polysaccharides et sont reconnus pour la plupart comme des agents causals de la pourriture blanche du bois. Il comprend environ 220 espèces soit la moitié du nombre total d'espèces d'Hymenochaetaceae (**Pangya, 2021**) parmi lesquelles *Phellinus chrysoloma*, *Phellinus linteus*, *Phellinus ignarus*, *Phellinus gilvus*, *Phellinus rimosus*, *Phellinus sensu...*

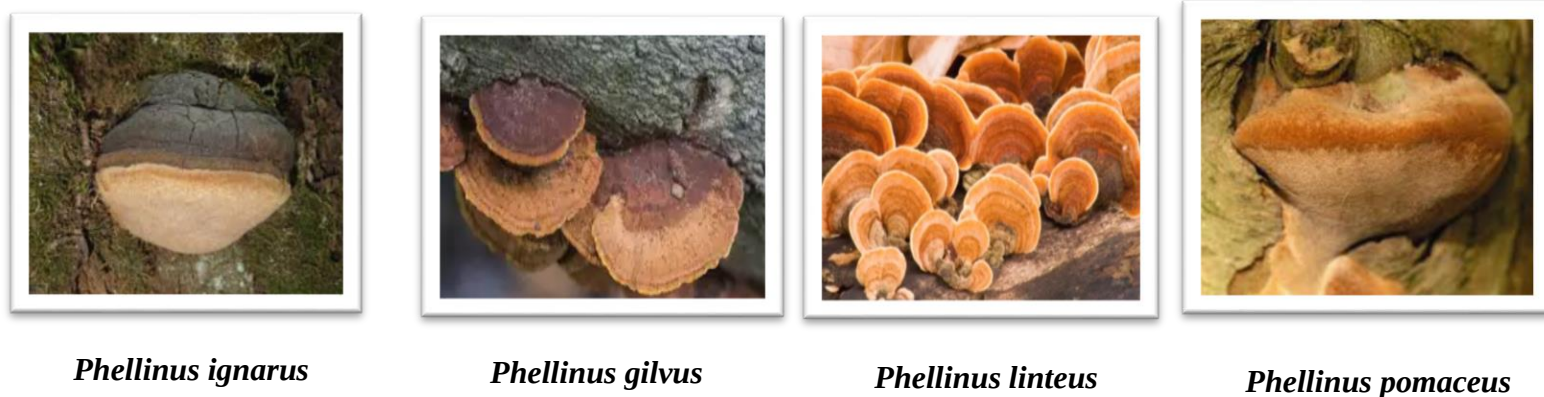


Figure 5 : Quelques espèces du genre *Phellinus*

I-4-2-Repartition géographique dans le monde et au Cameroun de quelques espèces du genre *Phellinus*

Le genre *Phellinus* est un genre cosmopolite rependu dans la plupart des continents. En Asie plus précisément en Chine on retrouve *Phellinus linteus* (Shon et al., 2003), (Ying et al., 1987) ; en Inde on retrouve *Phellinus rimosus* (Ajith et Janardhanan en 2003). En Amérique, au Brésil et en Argentine on a *Phellinus amazanicus* (Igance et al., 2011), Au Sud du Brésil on a *Phellinus sensu* (Maria, 2014). En Afrique, au Cameroun et en RDC Congo, *Phellinus* spp (Motsebing, 2020), au Burkina Faso et au Cameroun, *Phellinus pachyphloeus* plus précisément dans la région du Centre au Mont Kalla à 8km de Nkolbisson.



Figure 6 : Repartition géographique du genre *Phellinus*

I-4-3- Usages des espèces du genre *Phellinus*

Le genre *Phellinus* est utilisé dans plusieurs domaines :

- **Dans le domaine thérapeutique** : il est utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies variées depuis l'antiquité (**Samchai et al., 2009**) ; Parmi elles *P. rinosus*, *P. conchatus*, *P. baumii*, *P. ignarus*, et *Phellinus pachyphloeus* (**Huang et al., 2017**). Les *Phellinus* contiendraient différents composés bioactifs tels que les glucides, protéines, phénols, alcaloïdes, terpénoïdes, polysaccharides, stéroïdes et acides gras (**Kalac, 2009 ; Nagadesi, 2016**)

Des recherches progressives montrent que les composés identifiés dans les extraits naturels bruts ont des activités biologiques notamment anti-inflammatoire (**Ajiht et al., 2001; Kim et al., 2006**), hépato-protectrice (**Chang et al., 2007**), antidiabétique (**Hwang et al., 2005; Kaur et al., 2005**), anticancéreuse (**Sliva et al., 2008; Lu et al., 2009**), antioxydantes (**Park et al., 2009; Yang et al., 2011**), immuno-stimulatoire (**Xue et al., 2010**), cyto-protectrice (**Park et al., 2005**), antiallergique (**Abbas et al., 1996; Inagaki et al., 2005**) et antimicrobienne (**Sonawane et al., 2011; Honget al., 2016**). Les champignons deviennent de plus en plus populaires pour le développement des médicaments en raison de la conviction que la médecine naturelle est sans danger.

- **Dans le domaine alimentaire** : certaines espèces du genre *Phellinus* ne sont pas comestibles. Par contre *phellinus linteus* est consommé sous forme de thé chaud au Niger (**Br J Cancer, 2007**).
- **Dans le domaine économique** : vu leurs effets thérapeutiques, et utilités en médecine traditionnelle, les espèces du genre *Phellinus* participent à l'économie à travers les revenus générés par leur commercialisation. Les espèces de ce genre sont en effet comestible et facilement cultivables.

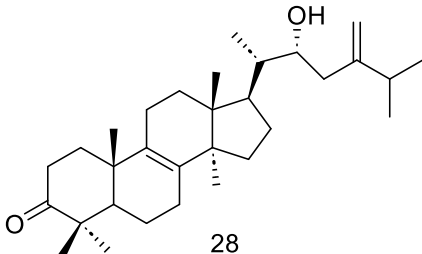
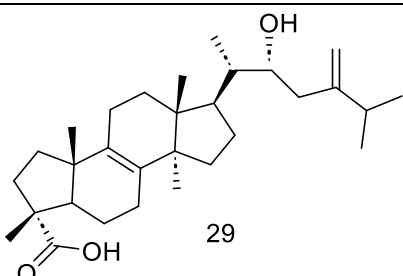
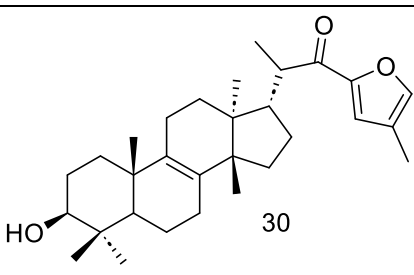
I-4-4- Travaux chimiques antérieurs sur le genre *Phellinus*

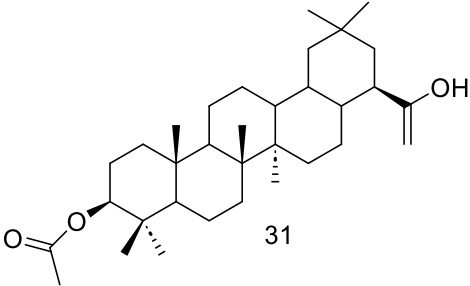
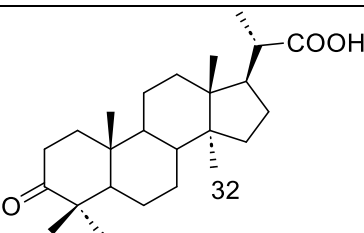
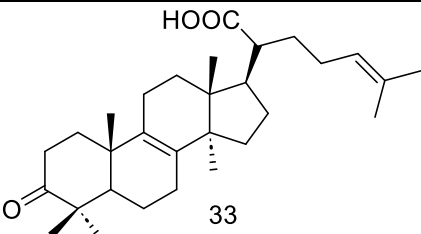
Phellinus Quél est l'un des plus grands genres d'Hymenochaetaceae, qui comprend environ 220 espèces. La plupart des macro-champignons du genre *Phellinus* sont des champignons lignicoles vivaces, largement répandus sur Terre. Certains de ce genre sont historiquement enregistrés comme médicaments traditionnels utilisés pour traiter diverses maladies dans les pays d'Asie de l'Est, en particulier la Chine, le Japon et la Corée. Des études chimiques antérieures ont révélé que les champignons du genre *Phellinus* produisent divers métabolites secondaires, qui appartiennent principalement à des polysaccharides, des flavones, des coumarines, des terpènes,

des stéroïdes des styrylpyranones, des glucides, sucres réducteurs, acides gras, acides aminés, tanins, glucosides d'antraquinone, anthocyanes, glucosides cardiaque et les alcaloïdes (Pingya et al., 2021).

➤ **Les terpenoïdes**

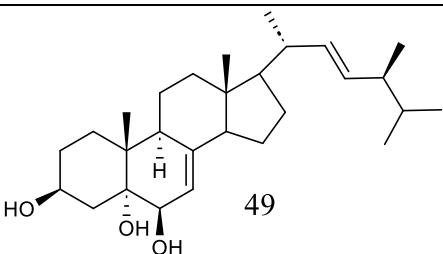
Tableau 2 : Quelques triterpènes isolés du genre *Phellinus*

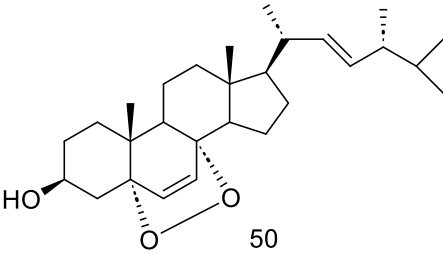
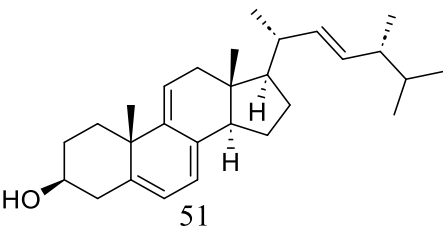
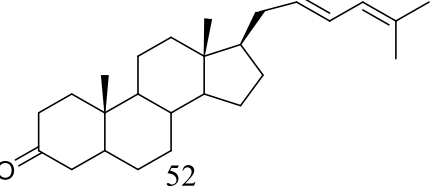
Espèces	Structures et noms	Références
<i>Phellinus linteus</i>	 28 22-hydroxy-24-methylenelanost-8-en-3-one	(Liu et al., 2009)
	 29 Acide-22-hydroxy-24-methylene-3-norlanost-8-enoïque	
<i>Phellinus igniarius</i>	 30 Igniarine	(Protiva et al., 1980)

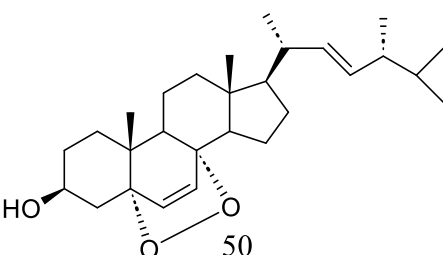
<i>Phellinus pini</i>	 31 Gammacerane	(Lobo et al., 1988)
<i>Phellinus torulosus</i>	 32 Acide torulosique	(Gonzalez et al., 1994)
<i>Phellinus gilvus</i>	 33 Acide ebricoique	(Gonzalez et al., 1986)

➤ **Les stéroïdes :**

Tableau 3 : Quelques stéroïdes isolés du genre *Phellinus*

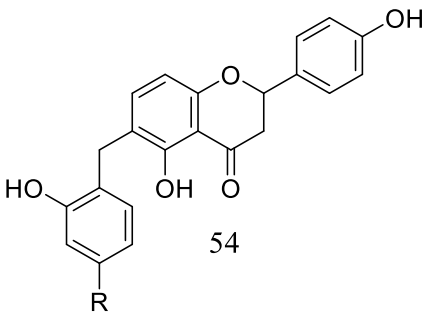
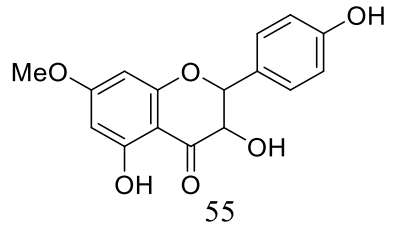
Espèces	Structure et noms	Références
<i>Phellinus ribis</i>	 49 Cerevistérol	(Ragasa et al., 2018)

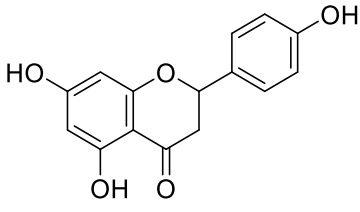
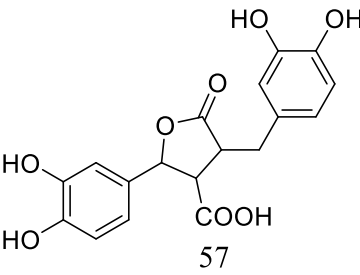
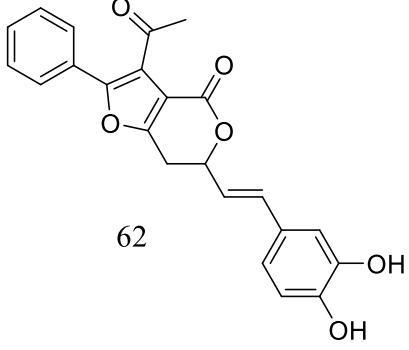
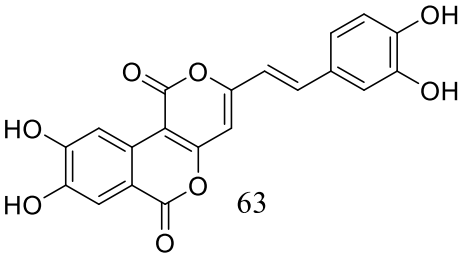
<i>Phellinus gilvus</i>	 50 (3β, 5α, 8α, 22<i>E</i>)-5, 8-diepoxy-ergosta-6,22-dièn-3-ol	(Fangkrathok, 2019)
<i>Phellinus igniarius</i>	 51 Ergosta-5,7,9(11),22-tétraen-3β-ol	(Lyu et al., 2007)
<i>Phellinus baumii</i>	 52 Ergosta-22,23-dien-3-one	(Wu et al., 2010)

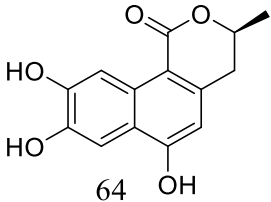
	Ergosta-7,22-diene-6β-ethoxy-3β,5α-diol  Peroxyde d'ergosterol	
--	--	--

➤ Composés phénoliques

Tableau 4 : Structure de quelques composés phénoliques du genre *Phellinus*

Espèces	Structures	Références
<i>Phellinus baumii</i>	 54 2R Phelligrine A 2S Phelligrine B  55 Folerogrone	(Mo et al., 2003)

	 56 Naringenine	
<i>Phellinus sp</i>	 57 Phellinsine A	(Mann et al., 1994)
<i>Phellinus ignarus</i>	 62 Inoscavine  63 Pelligridine D	(Suabjavyong et al.,)

<i>Phellinus ribis</i>	 64 (3S)-3,4-dihydro-6,8,9-trihydroxy- 3-methyl-1H-naphtho(1,2-C)pyran- 1-one	(Hseih et al., 2013)
------------------------	--	----------------------

I-4-5-Travaux pharmacologiques sur le genre *Phellinus*

Le genre *Phellinus* a fait l'objet de nombreux travaux pharmacologiques dont les plus connus sont :

- Activités antimicrobiennes :
 - *Phellinus linteus* : inhibition de la croissance de bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Kim et al., 2006).
 - *Phellinus pachyphyloeus* : activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Kim et al., 2015).
- Activités antioxydantes
 - *Phellinus pachyphyloeus* : Possède des propriétés antioxydantes et protectrices contre l'oxydation (Choi et al., 2012). Il inhibe également la production de radicaux libres et protège contre le stress oxydatif (Kim et al., 2019).
 - *Phellinus ribis* : activité antioxydantes et protection contre le stress oxydatif (Choi et al., 2011).
- Activités anticancéreuses
 - *Phellinus pachyphyloeus* : induit l'apoptose et inhibe la prolifération cellulaire dans les cellules cancéreuses (Lee et al., 2016). Présente également une activité anticancéreuse contre les cellules de cancer du sein (Kim et al., 2020)
 - *Phellinus baumii* : inhibition de la croissance tumorale et induction de l'apoptose dans le modèle de cancer (Kim et al., 2011).
- Activités immunomodulatrices

- *Phellinus linteus* : stimulation de la réponse immunitaire et augmentation de la production de cytokines (Kim et al., 2006).
- *Phellinus ribis* : modulation de la réponse immunitaire et protection contre les infections (Choi et al., 2011).

Tableau 5 : Bio activités de quelques espèces du genre *Phellinus*

Espèce Fongique	Parties	Extrait où Composés	Activité biologique	Références
<i>Phellinus pachyphloeus</i>	Carpophore	Extrait méthanolique	Trouble gastrique (pharmacopée traditionnelle)	(Guissou et al., 2014)
<i>Phellinus Aureobrunus</i>	Hymenophore	Sesquiterpène Extrait Méthanolique	Antibactérienne et Antifongique	(Sonawa et al., 2010)
<i>Phellinus Torulosus</i>	Hymenophore	Extrait a la Acétone Extrait au Chloroforme Extrait Ethanolique	Antimicrobienne	(Dulger et al., 2005)
<i>Phellinus Igniarus</i>	Hymenophore Mycélium	Extrait méthanolique et extrait aqueux Phelligridine G	Cytotoxique	(Jung et al., 2008)
<i>Phellinus Aureobrunus</i>	Hymenophore	Sesquiterpène Extrait Méthanolique	Antibactérienne et Antifongique	(Sonawa et al., 2010)

ETUDE CHIMIQUE DE *Phellinus pachyphloeus* (HYMNOCHAETACEAE)

<i>Phellinus Badius</i>	Hymenophore	Extrait éthanolique	Antioxydantes	(Yang et al., 2010)
<i>Phellinus Rimosus</i>	Hymenophore	Extrait la cétate d'éthyle	Antioxydantes et Hépatoprotectrice	(Ajith et Janardhanan, 2002)
<i>Phellinus Rhabarbarinus</i>	Hymenophore	Triterpénoides	Antioxydantes et Antitumorale	(Feng et al., 2016)
<i>Phellinus Hippophaecola</i>	Hymenophore	Extrait hydroéthanolique (50%, 80%, pur) et à l'acétate d'éthyle	Antioxydantes	(Lung et al., 2010)

I-5- GENERALITES SUR L'ESPECE *Phellinus pachyphloeus*

I-5-1- Taxonomie

Tableau 6 : Taxonomie de l'espèce *Phellinus pachyphloeus*

Règne	Champignons
Sous-règne	<i>Eucaryote</i>
Classe	<i>Basidiomycètes</i>
Sous-classe	<i>Agaricomycete</i>
Ordre	<i>Polyporales</i>
Famille	<i>Hymenochaetaceae</i>
Sous-famille	<i>Phellinoideae</i>
Genre	<i>Phellinus</i>
Espèce	<i>Phellinus pachyphloeus</i>

I-5-2- Aperçue mycologique de l'espèce *Phellinus pachyphloeus*

➤ Description macroscopique

Fructification pérenne, solitaire, anguleuse à plané, largement attachée à bord penché au dehors, entièrement rupiné sur jeunes spécimens, consistance ferme à dure ; carpophore dimidié, sessile ou occasionnellement avec une base en forme de tige, d'environ 25cm de diamètre, 45cm de large et 10cm d'épaisseur ; surface supérieure, d'abord finement veloutée à emmêlée, fauve pale à brun terne, puis glabre, brun foncé, grisâtre à noire à la base, généralement salqué à rugulose vers les zones concentrique, sur spécimens matures et sur spécimens secs à fissurations irrégulières. Marge entières, épais à obtuse parfois veloutée et brun pale à jaune d'or sur les spécimens en croissance active, sous le tomentum velouté et spécimens glabre on note une cuticule brun foncé à noir résineux, 0,2-2 mm d'épaisseur. Surface des pores fauves grisâtre à brun sur plusieurs spécimens africains avec un teint olivâtre, parfois décoloré ou envahi par d'autre champignons. Pores petits et ronds, 8-10 par mm ; disséminent entiers et équitablement épais. Tubes plus fauve à brun foncé d'environ 9cm de long distinctement et indistinctement stratifiées, avec des couches de 2-15 mm d'épaisseur, non séparées par une couche de contexte interposant. Contexte fauve à brun foncé, virant au noir dans le KOH, ne contrastant pas généralement avec les tubes ; 0,3-2 cm d'épaisseur, dur, homogène mais parfois avec es filaments de mycélium blanc à la base.

➤ **Description microscopique**

Systèmes d'hyphes dimitique. Hyphes générateurs à cloisons simples, à paroi mince, hyalins à jaune pâle ou bruns, 1,5-4 (5) um de diamètre, parfois partiellement effondrés. Hyphes squelettiques abondants à la fois dans le disséminent et dans le contexte, jaune à bais, à paroi légèrement épaisseur, 4-6 um de diamètre. Hyphes sétules présents aigus, brun foncé dans les disséminent d'environ 900 um de long et 32 um de diamètre. Soies hyménales présentes, dépassant l'hyménium, à paroi épaisse, brun pale à ferrugineuse, aigues, parfois enflées à la base, 13-35 X 5-12 um. Spores globoses à ellipsoïdes, à paroi mince et lisse, d'abord hyalines, puis jaune pâle, 4,5-6 x 4-5,5 um, non amyloïdes.

Habitat : sur tronc, souches et racines d'angiospermes et gymnospermes vivants et morts et racines durs. On le retrouve sur troncs et branches d'arbres morts et vivants de Ficus et de magnifiera et moins fréquemment sur des espèces d'Anogeissus, Terminalia, Cassia... (**Bakshi, 1971**).

Distribution : les espèces semble être très répandues en Asie du sud, en Australie, en Amérique, et en Afrique (Kenya, Tanzanie, Malawi, Burkina Fasso et Cameroun).

➤ **Observations et commentaires**

Phellinus pachyphloeus se caractérise par un basidiocarpe de très grande taille, fissuré et surtout par la présence des hyphes sétules à paroi épaisse (Metsebing, 2020)



Figure 7 : Vue générale de *Phellinus pachyphloeus* (Ambogui Y, 2023)

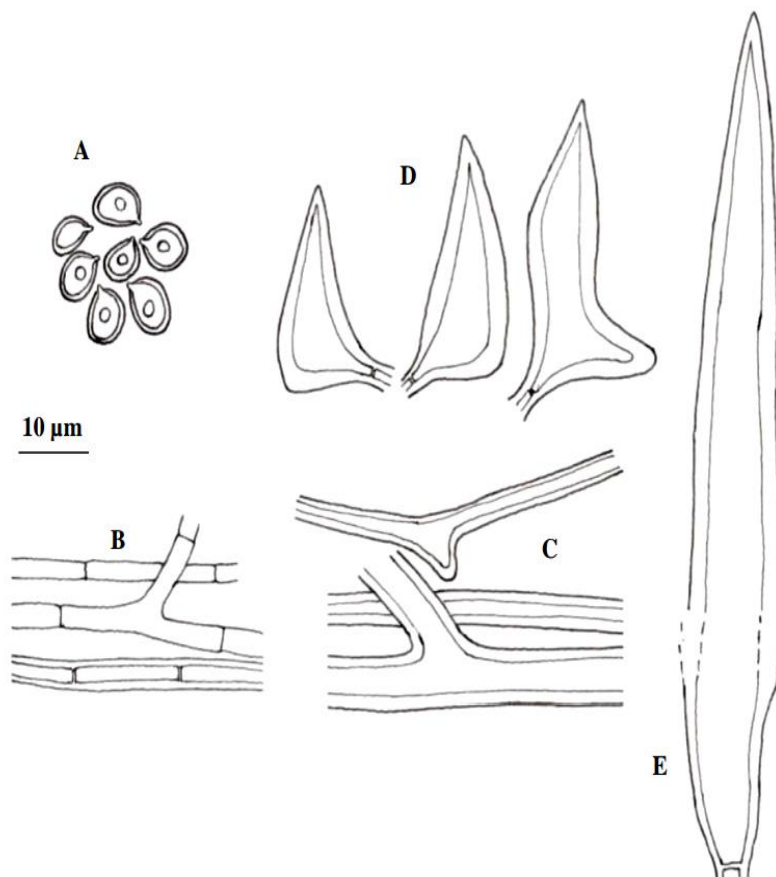


Figure 8 : *Phellinus pachyphloeus*: A (Basidiospores), B (Hyphes générateurs), C (Hyphes squelettiques), D (Soies hyménales), E (Hyphes sétules).

I-5-3- Répartition géographique de *Phellinus pachyphloeus*

L'espèce *Phellinus pachyphloeus* est un champignon basidiomycète qui pousse sur les troncs et les branches des arbres, notamment dans les forêts tropicales humides ; il est très répandu dans le monde tout entier. En particulier dans le continent asiatique : Chine, Inde, Corée du sud. Il est également retrouvé en Afrique de l'Ouest (Burkina Faso) et en Afrique centrale. Au Cameroun, il a été signalé dans les régions suivantes.

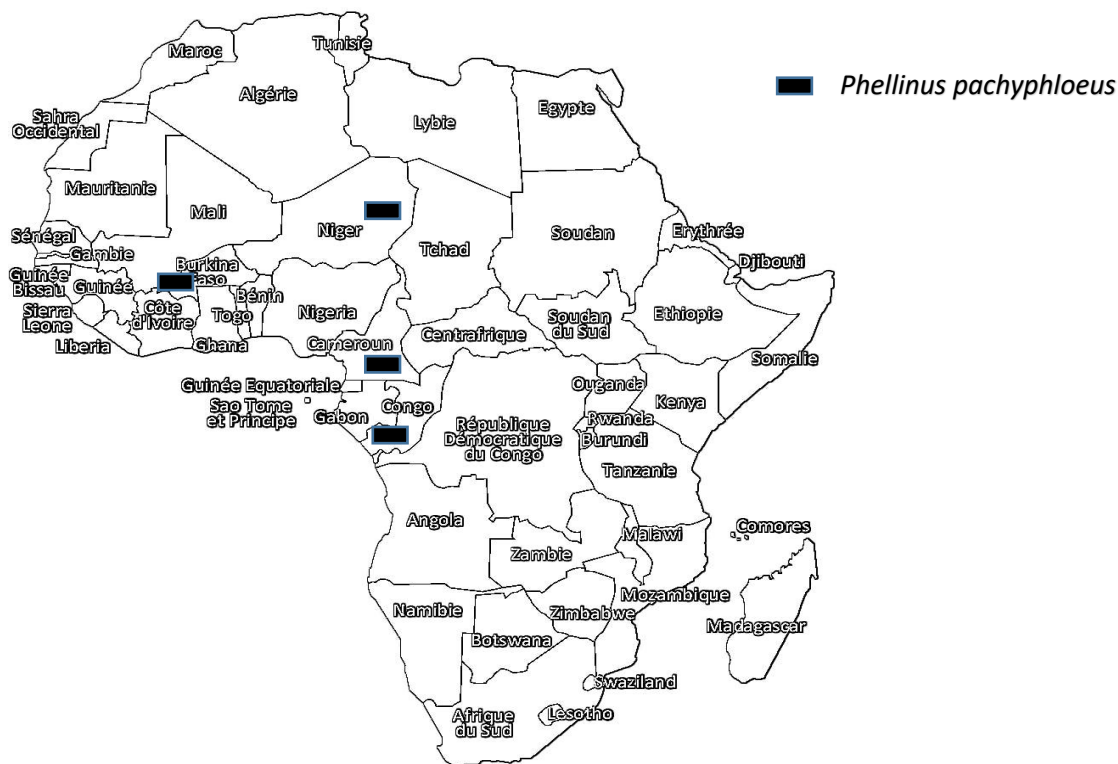


Figure 9 : Repartition de l'espèce *Phellinus pachyphloeus* en Afrique

Tableau 7 : Répartition de l'espèce *Phellinus pachyphloeus* au Cameroun (Mossebo et al., 2015)

Espèce fongique	Régions	Localités
<i>Phellinus pachyphloeus</i>	Centre	Forêt de Yaoundé
		Forêt de Mfou
	Est	Forêt de Bertoua
		Parc national de Kalamaloue
	Sud	Forêt de Kribi

I-6- Travaux chimiques antérieurs sur l'espèce *Phellinus pachyphloeus*

Aucune étude chimique n'a été fait à notre connaissance.

I-7-Travaux biologiques sur l'espèce *Phellinus pachyphloeus*

Le genre *Phellinus* a fait l'objet de nombreux travaux pharmacologiques dont les plus connus sont :

- Activités antimicrobiennes :
 - *Phellinus pachyphyloeus* : activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Kim et al., 2015).
- Activités antioxydantes
 - *Phellinus pachyphyloeus* : Possède des propriétés antioxydantes et protectrices contre l'oxydation (Choi et al., 2012). Il inhibe également la production de radicaux libres et protège contre le stress oxydatif (Kim et al., 2019).
- Activités anticancéreuses
 - *Phellinus pachyphyloeus* : induit l'apoptose et inhibe la prolifération cellulaire dans les cellules cancéreuses (Lee et al., 2016). Présente également une activité anticancéreuse contre les cellules de cancer du sein (Kim et al., 2020)
- Activités immunomodulatrices

Tableau 8 : Bio activités de l'espèce *Phellinus pachyphloeus*

<i>Phellinus pachyphloeus</i>	Carpophore	Extrait méthanolique	Trouble gastrique (pharmacopée traditionnelle)	(Guissou et al., 2014)
--------------------------------------	------------	----------------------	--	------------------------

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

Les travaux effectués lors de la préparation de ce mémoire ont porté sur *Phellinus pachyphloeus* de la famille des Hymenochaetaceae. Le matériel fongique a été récolté et identifié le 23 octobre 2023 au Mont Kalla à 8 Km de Nkolbisson, région du Centre par l'équipe de recherche du professeur Mossebo Dominique mycologue et enseignant à l'Université de Yaoundé I.

II.1. Extraction et isolement des composés

Le champignon *Phellinus pachyphloeus* a été découpé, puis broyé. La poudre de 1652 g obtenue a été extraite par macération à température ambiante dans le Dichlorométhane/Méthanol dans les proportions 1 :1 pendant 48 heures et 24h. Le solvant a été évaporé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif. Nous avons obtenu 18 g d'extrait brut. 2 g de cet extrait ont été conservés pour les tests biologiques. Les 16 g restant ont subi une partition solide-liquide successivement à l'Hexane et à l'Acétate d'Ethyle. Nous avons pu obtenir 7g de fraction a l'Hexane, 6 g de fraction a l'Acétate d'éthyle et 3 g de résidu aqueux.

Les 7 g de la fraction a l'Hexane, ont été fixés sur une masse équivalente de silice et chromatographié sur colonne à gel de silice avec pour éluant le système Hexane, Hex/AE de polarité croissante et contrôlé par CCM. Ce travail, nous a permis d'isoler trois composés indexés PP1, PP2, PP3.

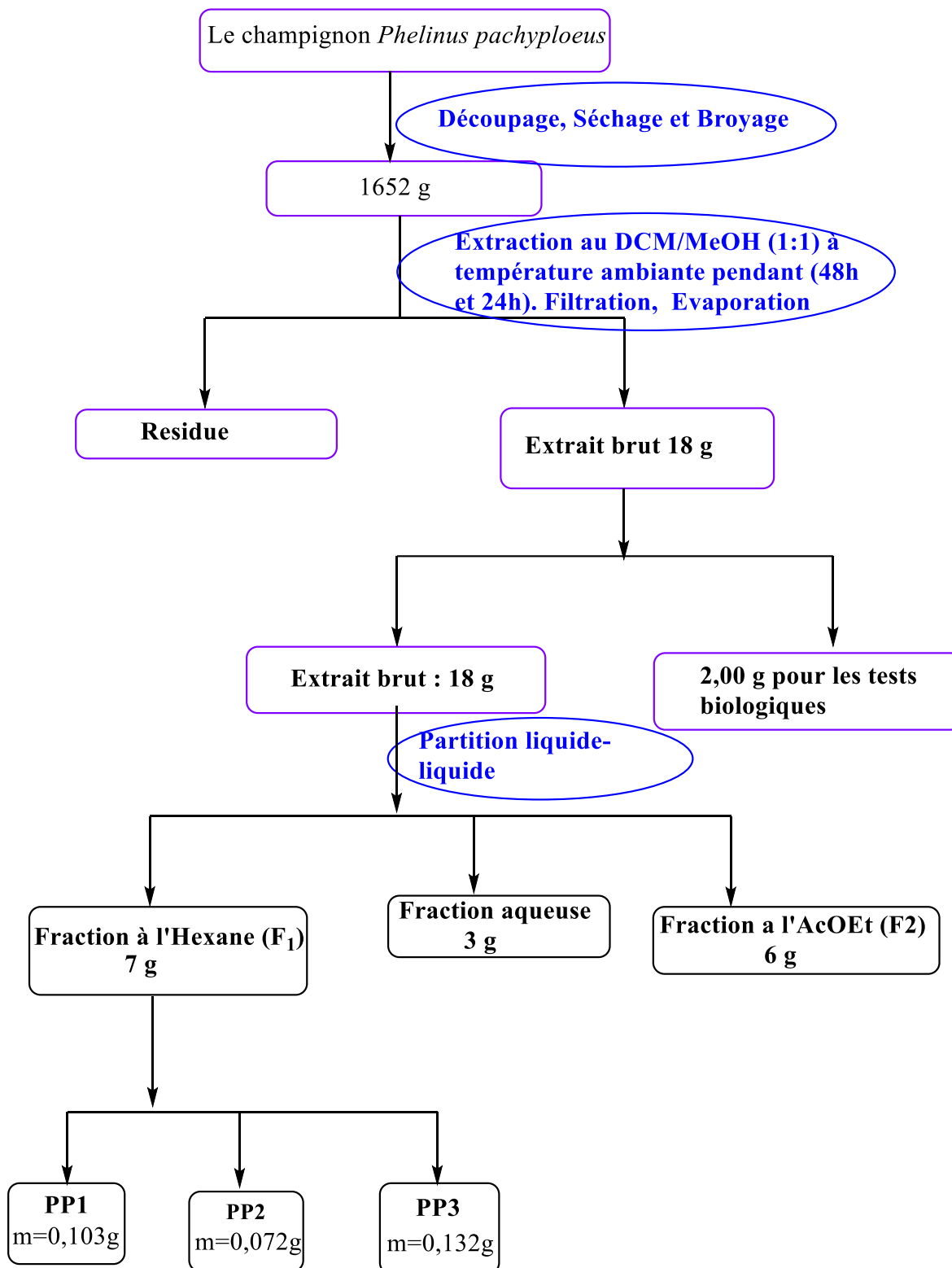


Schéma 7 : Protocole d'extraction et isolement des composés de l'espèce *Phellinus pachyploeus*

II-2-1- Identification de PP1

PP1 a été obtenu dans le système hexane/acétate d'éthyle 2,5%, il précipite sous forme de feuilles blanchâtre, soluble dans le chloroforme. Il donne une coloration bleue vert avec le test de Liebermann-Buchard caractéristique des stéroïdes.

L'analyse de son spectre Infra-rouge (IR), montre des bandes d'absorption entre 2952-2871 cm^{-1} ; 1714 cm^{-1} ; attribuables respectivement aux CH_3/CH_2 ; carbonyle de cétone non conjugué ($\text{C}=\text{O}$) et à la double liaison non conjugué ($\text{C}=\text{C}$).

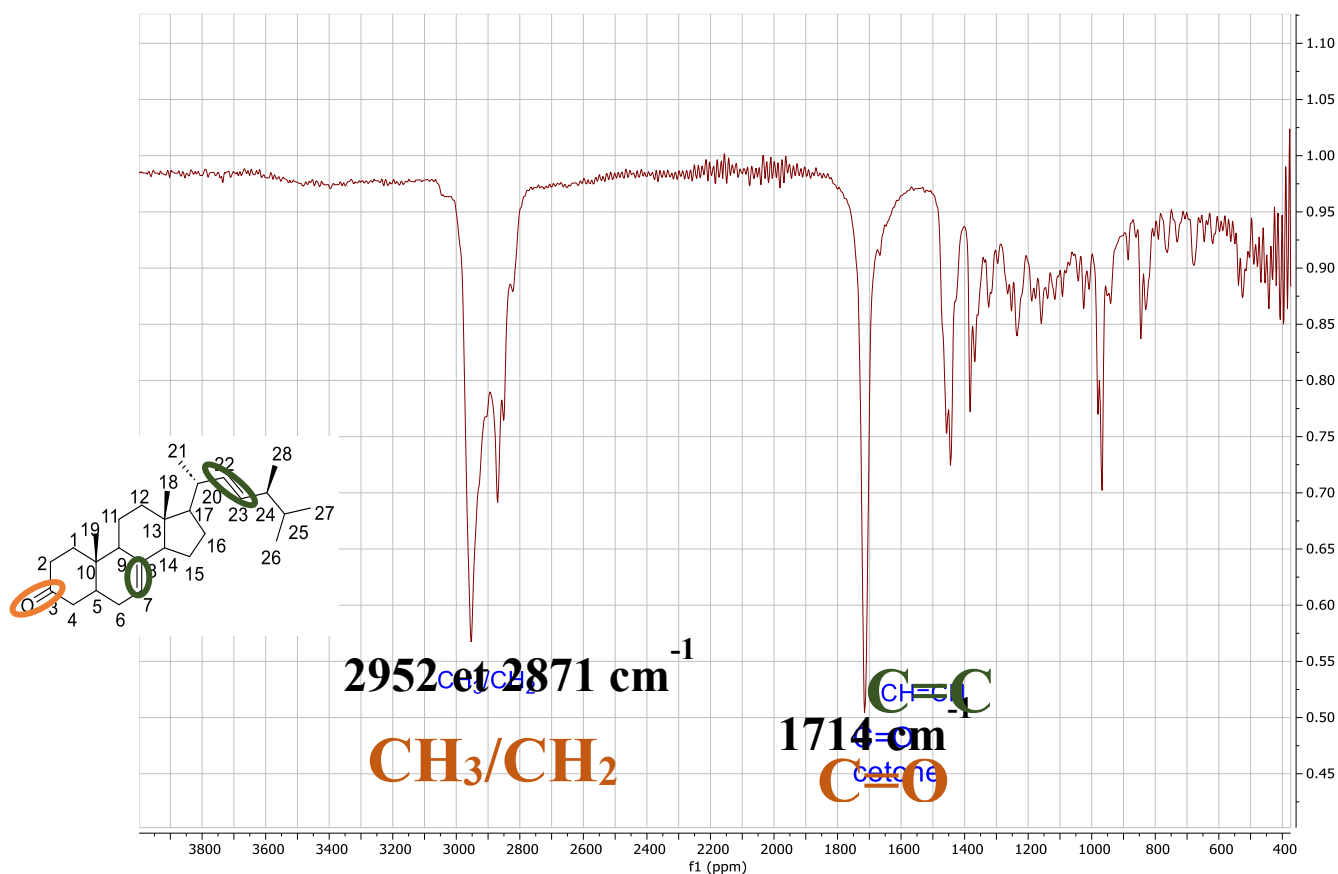


Figure 10 : Spectre infra-rouge du composé PP1

L'analyse couplée des spectres RMN ^1H RMN ^{13}C et 2D ont permis de lui attribuer la formule moléculaire $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}$ contenant sept insaturations.

L'analyse de son spectre RMN ^1H (**Figure 11**) complété par des techniques HSQC, COSY et HMBC à permis de mettre en évidence :

- Trois protons oléfiniques résonnant respectivement à δ_H 5,21 (1H, *dd*, $J=15,3\text{Hz}$) / δ_C 132,0 ; δ_H 5,21 (1H, *dd*, $J=15,3\text{Hz}$) / δ_C 135,8 ; δ_H 5,16 (1H, *d*, $J=8,6$) / δ_C 117,6 ; attribuable aux protons des doubles liaisons éthyléniques en position 23, 22, 7 respectivement.
- Six familles de protons de méthyle dont les valeurs de déplacements chimiques sont dans la structure ci-après.

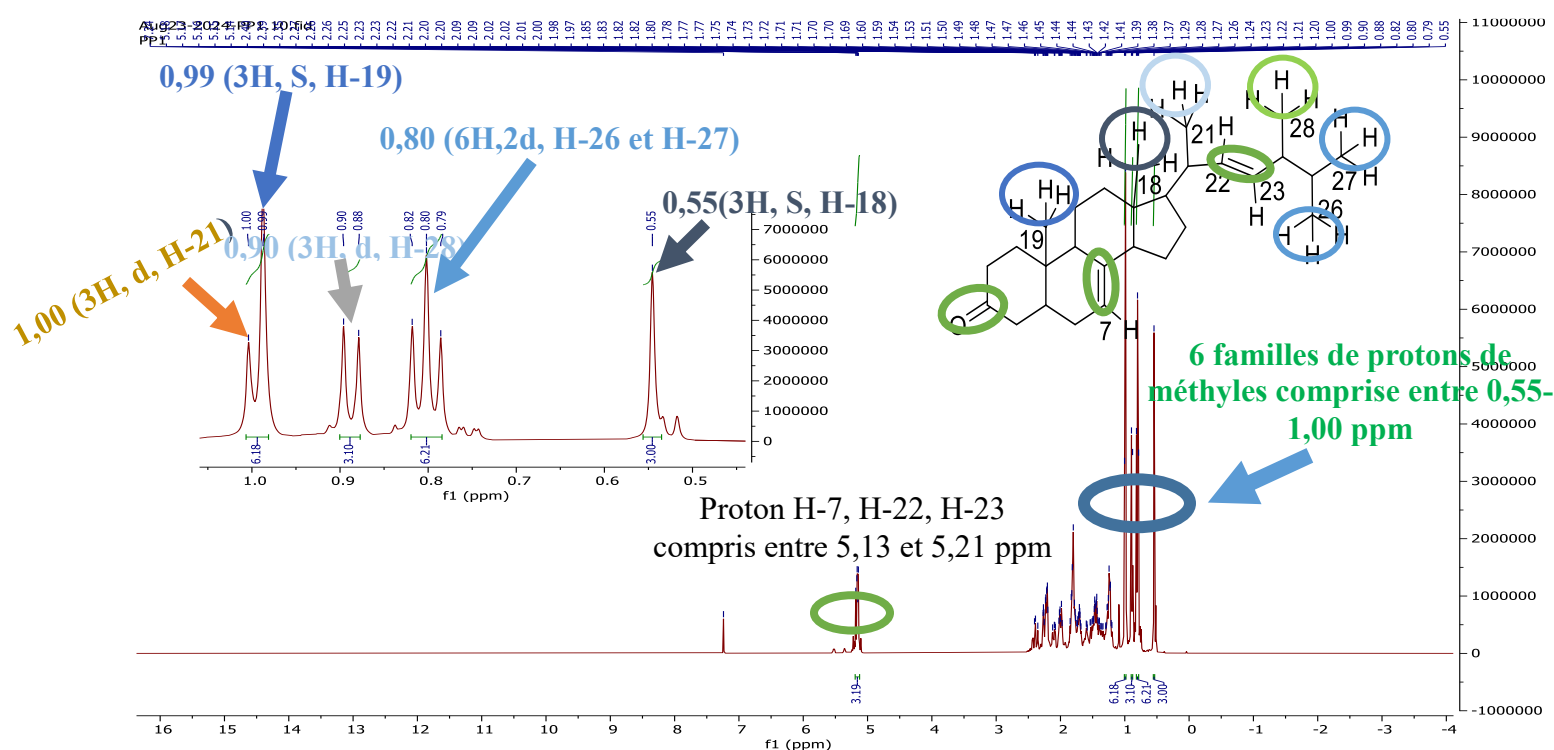


Figure 11 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) du composé PP1

En effet, l'analyse de son spectre RMN ^{13}C découplé large bande associé au DEPT révèlent la présence de 28 carbones présents dans la formule brute. Parmi ces signaux on distingue les signaux caractéristiques de la familles ergostérol à savoir.

- Quatre signaux de carbones oléfiniques hybridés sp^2 résonnant à 117,1 ppm ; 132,1 ppm ; 135,6 ppm ; 139,6 ppm attribuables respectivement aux carbones C₇, C₂₃, C₂₂, C₈.
- Un signal à δ 212,0 ppm correspondant à un carbonyle de cétone.

- Deux signaux de méthyles angulaires hybridés sp^3 résonnant à 12,2 ppm et 12,5 ppm attribuables aux carbones C_{18} et C_{19} .
- Quatre signaux de méthyles hybridés sp^3 résonnant à 21,2 ppm, 19,7 ppm, 20,0 ppm et 17,7 ppm attribuables respectivement aux carbones C_{21} , C_{26} , C_{27} , C_{28} .
- Huit signaux de méthylène hybridés sp^3 a δ 37,3 ($C-1$) ; 31,6 ($C-2$) ; 38,1 ($C-4$) ; 29,8 ($C-6$) ; 21,7 ($C-11$) ; 39,5 ($C-12$) ; 23,0 ($C-15$) ; 28,2 ($C-16$).
- Sept methines hybridés sp^3 a δ 40,6 ($C-5$) ; 49,6 ($C-9$) ; 55,3 ($C-14$) ; 56,1 ($C-17$) ; 40,4 ($C-20$) ; 43,0 ($C-24$) ; 33,3 ($C-25$).
- Deux carbones quaternaires résonnant ont δ 34,4 ($C-10$) et 43,3 ($C-13$) ppm

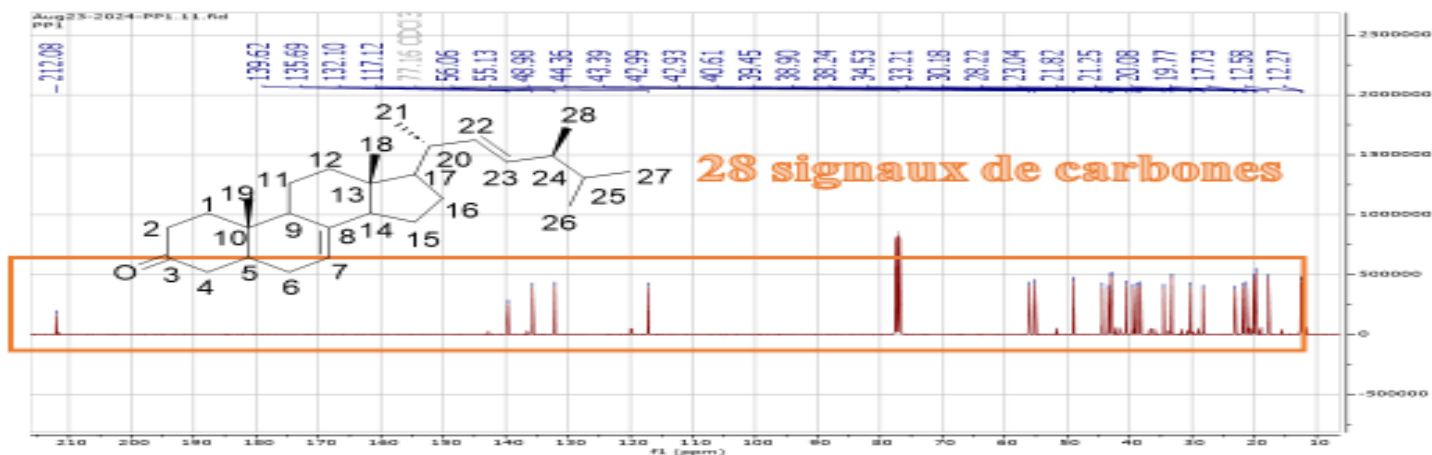


Figure 12 : Spectre de RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 100MHz) du composé PP1

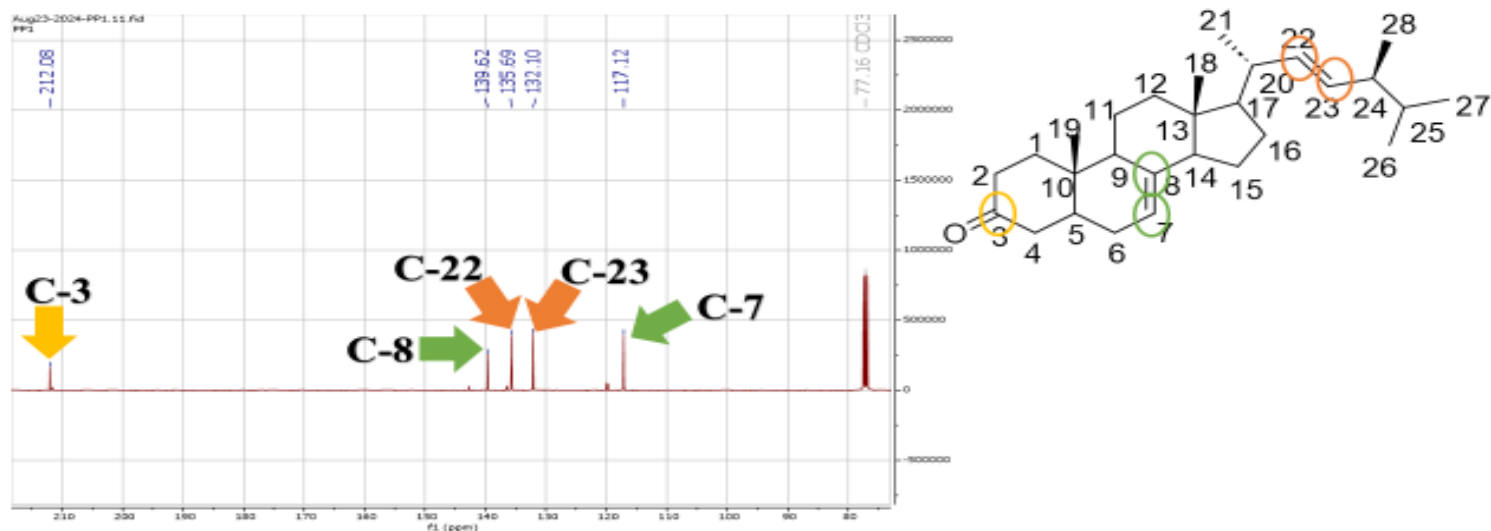


Figure 13 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) élargi du composé PP1 présentant les carbones caractéristiques.

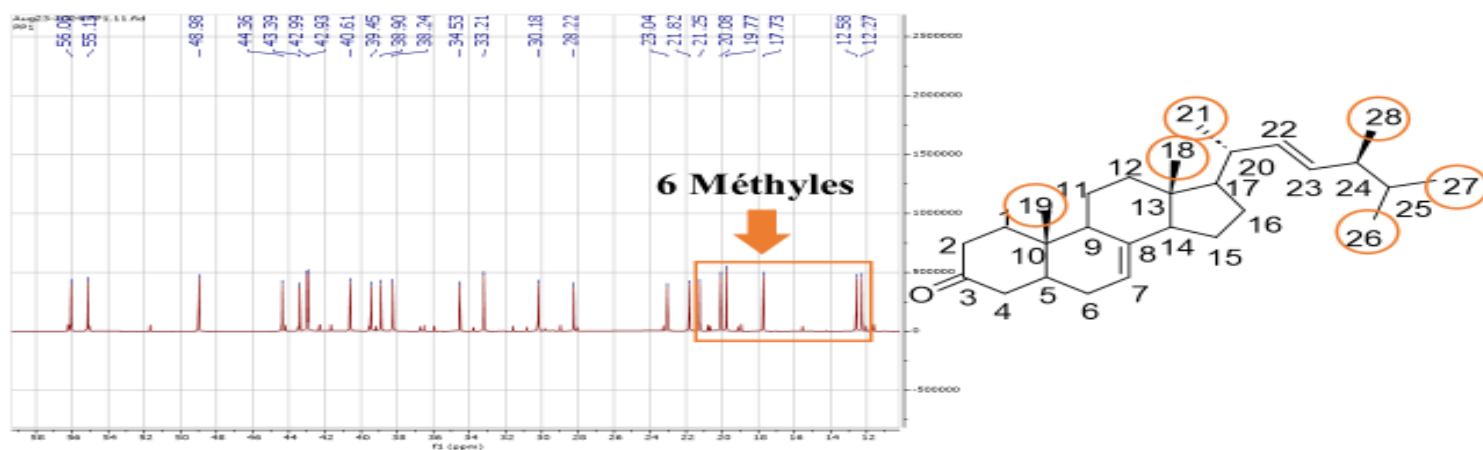


Figure 14: Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) entre 65 ppm et 10 ppm du composé PP1

Son spectre DEPT inversé (**Figure 15**) nous présente 24 signaux de carbones dont

- Six méthyles en phase négative (CH_3).
- Huit méthylènes en phase positive (CH_2).
- Trois carbones oléfiniques ($\text{CH}=\text{}$)
- Sept méthines (CH)

L'absence de quatre signaux carbones dans le DEPT 135 inversé confirme la présence de 4 carbones quaternaires dont :

- Deux carbones hybridés sp^2 correspondant au carbonyle de cétone (C-3) et un carbone oléfinique (C-8)
- Deux carbones hybridés sp^3 correspondant aux carbones C-10, C-13

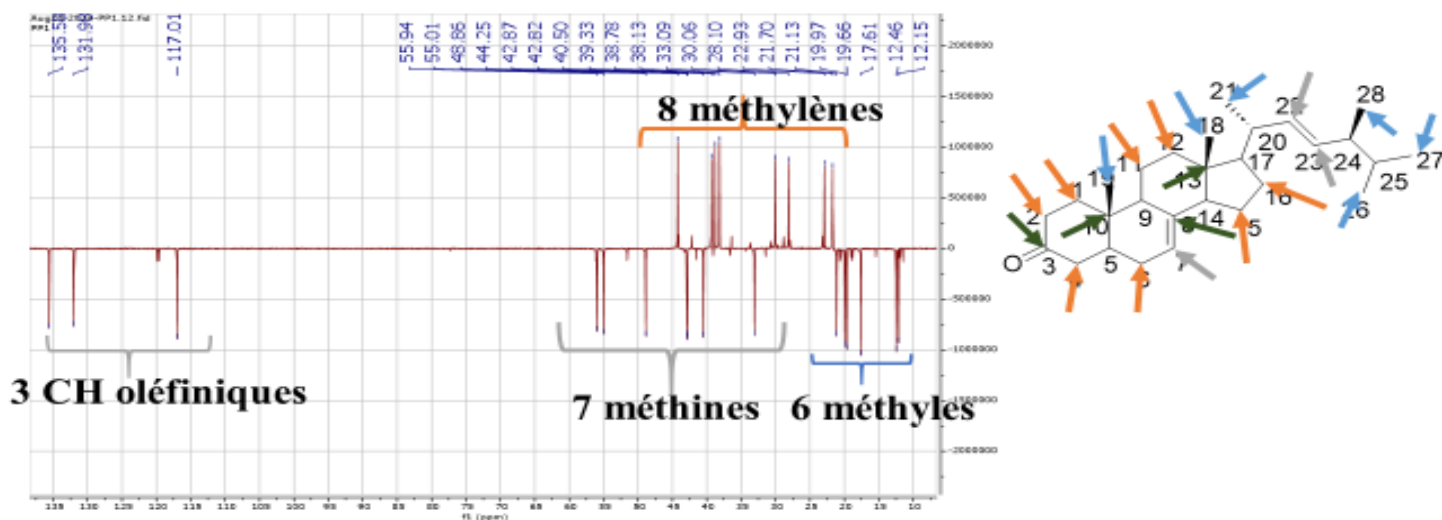


Figure 15: Spectre DEPT 135 inversé (CDCl_3 , 100 MHz) du composé PP1

Son spectre HSQC nous présente des corrélations hétéronucléaire entre proton et carbones directement liés

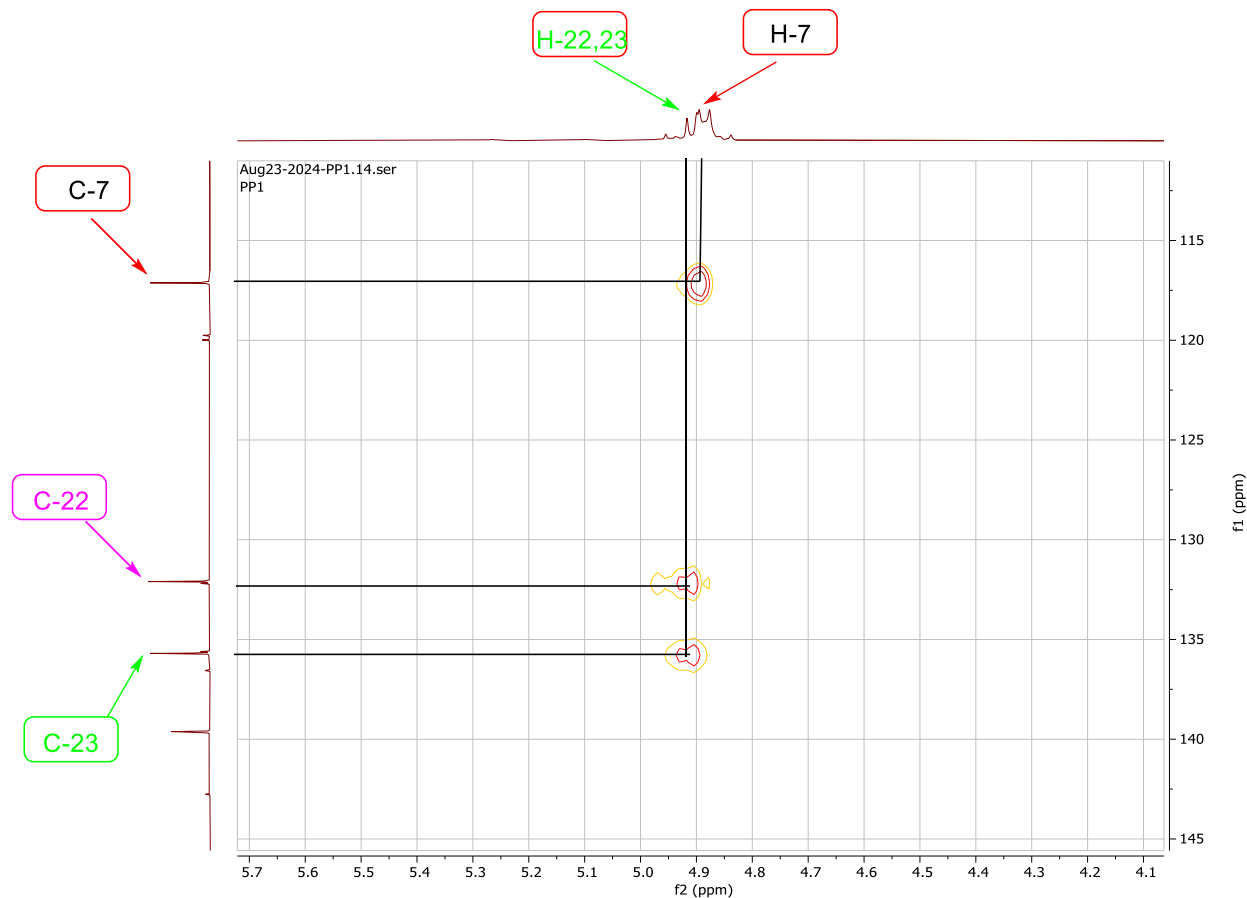


Figure 16 : Spectre HSQC entre 3,5 et 7,5 ppm du composé PP1

L'ensemble de ces données couplées à celles de la littérature, PP1 à été identifiée à l'ergosta-7,22-diène-3-one 65 (**Jin, 1998**) ou stéllasterone ; dont la structure est la suivante.

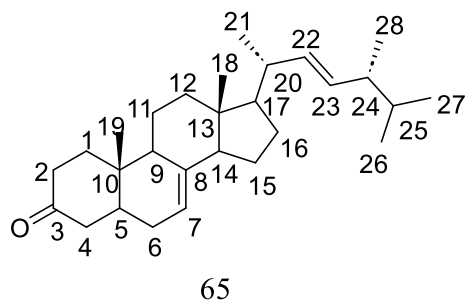


Figure 17 : Structure du composé PP1

Tableau 9 : Données de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de PP1 comparées à celles de la littérature (Jin, 1998)

Position	DEPT	PP1 (δ en ppm)	Littérature
1	CH ₂	38,9	38,8
2	CH ₂	38,2	38,1
3	C	212,6	211,9
4	CH ₂	44,3	44,2
5	CH	42,9	42,9
6	CH ₂	30,1	30,1
7	CH	117,1	117,0
8	C	139,6	139,7
9	CH	48,9	48,9
10	C	34,5	34,4
11	CH ₂	21,8	21,7
12	CH ₂	394	39,3
13	C	43,3	43,3
14	CH	55,1	55,0
15	CH ₂	23,0	22,9
16	CH ₂	28,2	28,1
17	CH	56,0	55,9
18	CH ₃	12,2	12,1
19	CH ₃	12,5	12,4
20	CH	40,1	40,5
21	CH ₃	21,2	21,1
22	CH	135,6	135,9
23	CH	132,1	132,0
24	CH	42,9	42,8
25	CH	33,2	33,1
26	CH ₃	20,0	19,9
27	CH ₃	19,7	19,6

28	CH ₃	17,7	17,6
----	-----------------	------	------

II-2-2- Identification de PP2

PP2 a été obtenu sous forme de poudre beige, soluble dans le CH₂Cl₂. Il donne une coloration bleue avec le test de Liebermann-Buchard caractéristique des stéroïdes.

L'analyse de son spectre IR comparé à celui de PP1 nous présente une large bande de vibration entre 3240-3479 cm⁻¹ correspondant à un OH libre. de l'oxymethine en position 3.

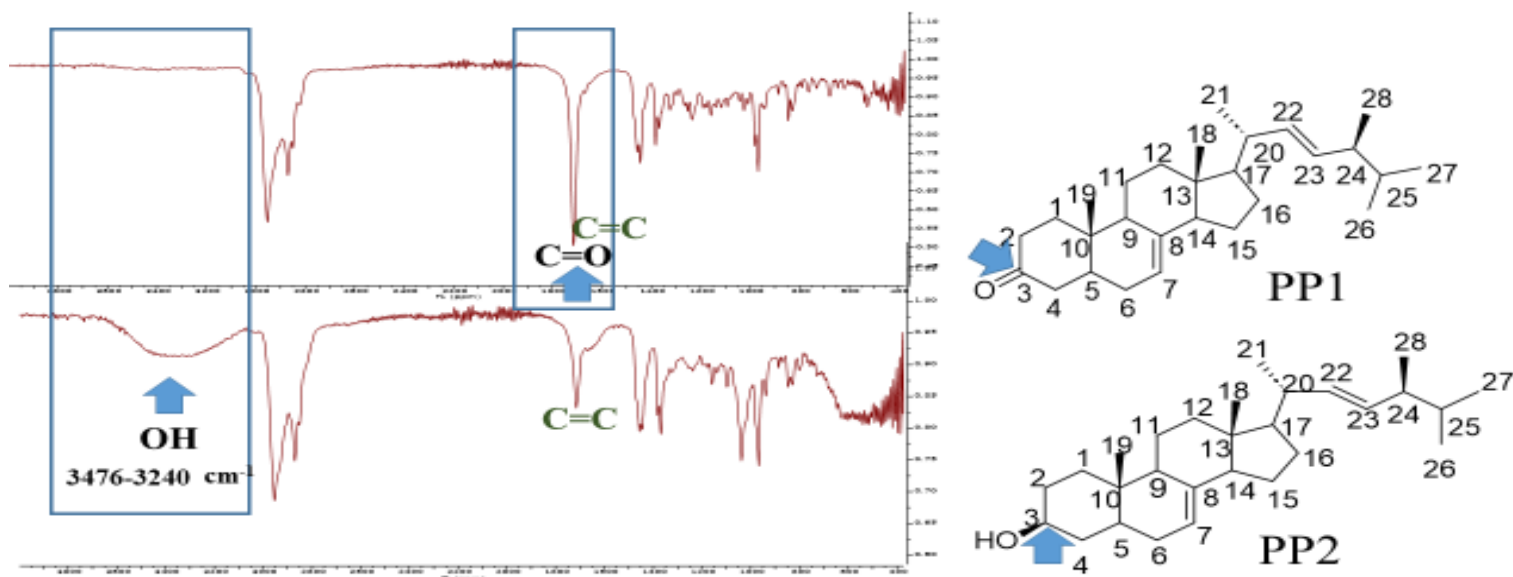


Figure 18 : Superposition des données Infra-rouge des composés PP1 et PP2

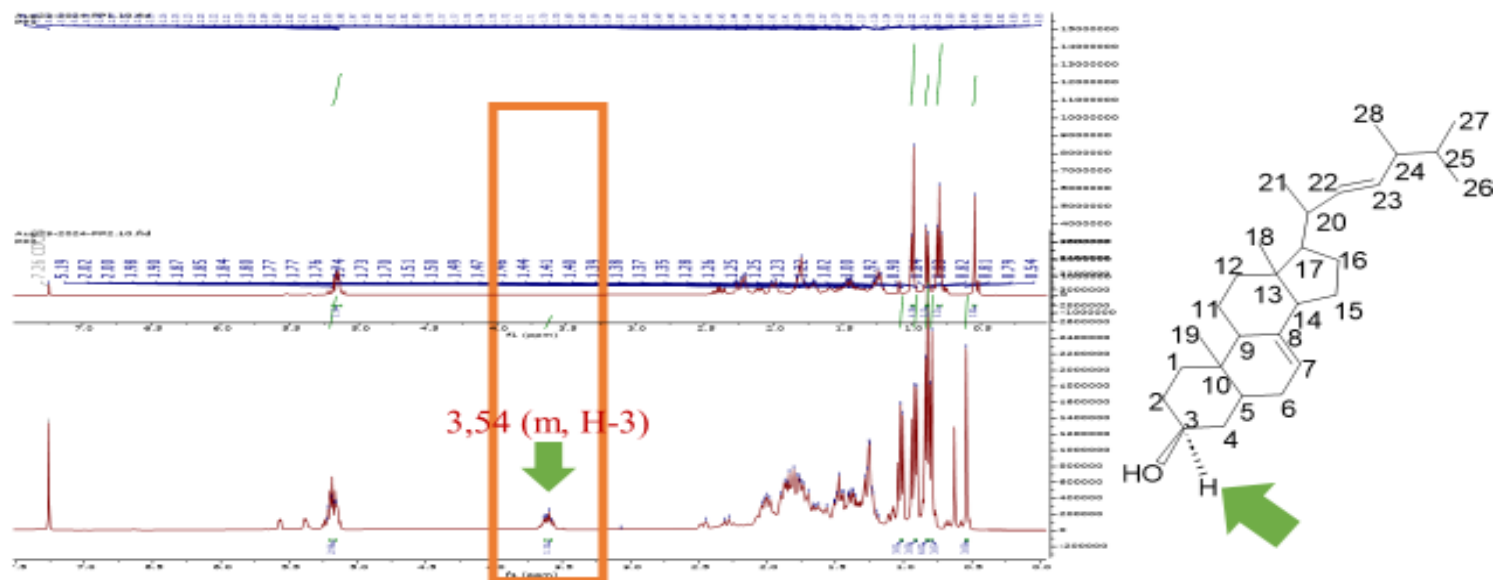


Figure 19 : Supperposition des données spectrales RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) des composés PP1 et PP2

Sur son spectre ^1H - ^1H COSY, on observe les taches de corrélations homonucleaires entre les protons, H_7 et H_6 ; H_3 et H_2 , H_4 ; H_{22} et H_{21}

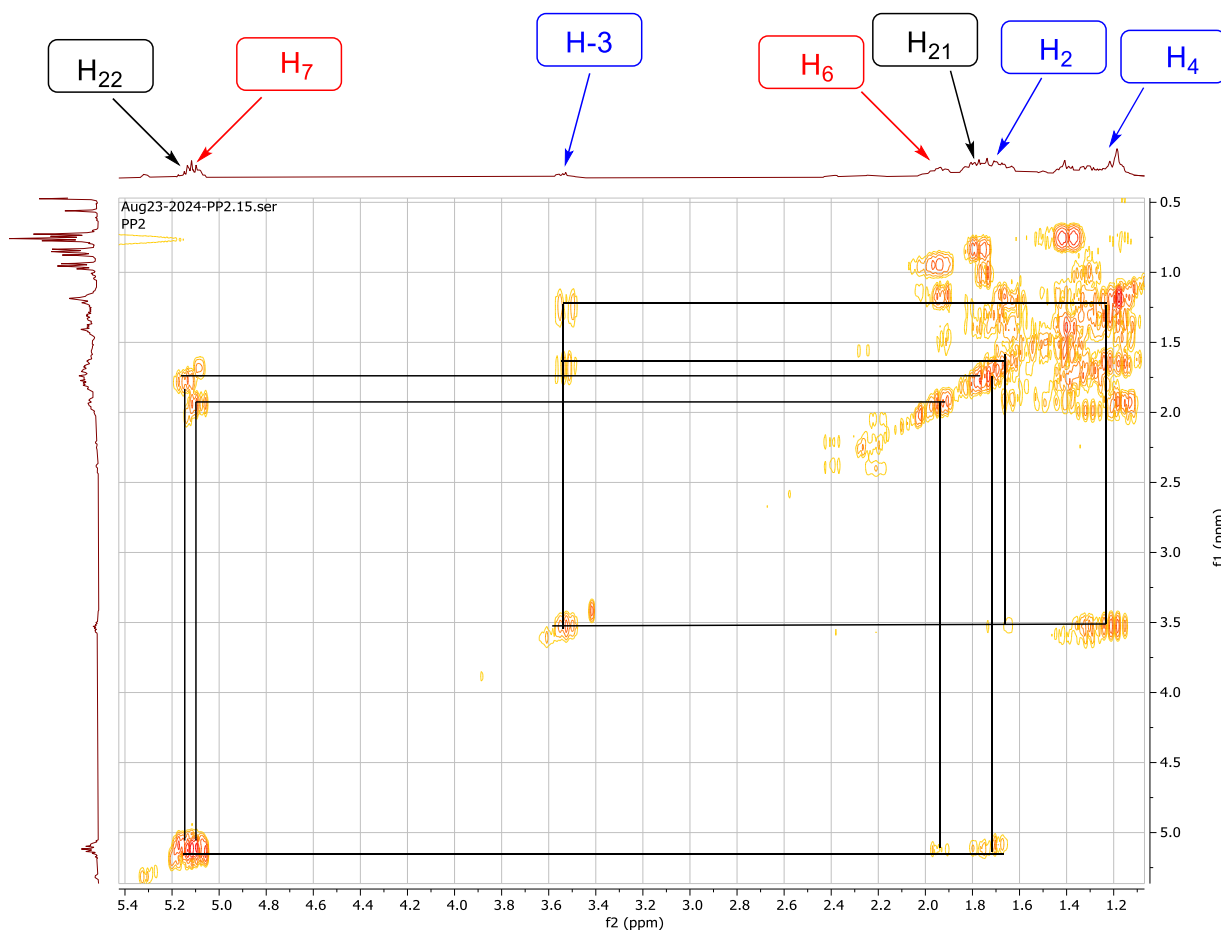


Figure 20 : Spectre ^1H - ^1H COSY du composé PP2

De même l'analyse de son spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100MHz, **Figure 16**) découplé large bande en comparaison avec celui de PP1 nous présente également 28 signaux de carbones ; à la seule différence que le carbone en position 3 dans PP1 qui résonnait à 212,0 ppm résonne plutôt à 71,2 ppm dans PP2 attribuable au carbone de l'oxyméthine en position 3.

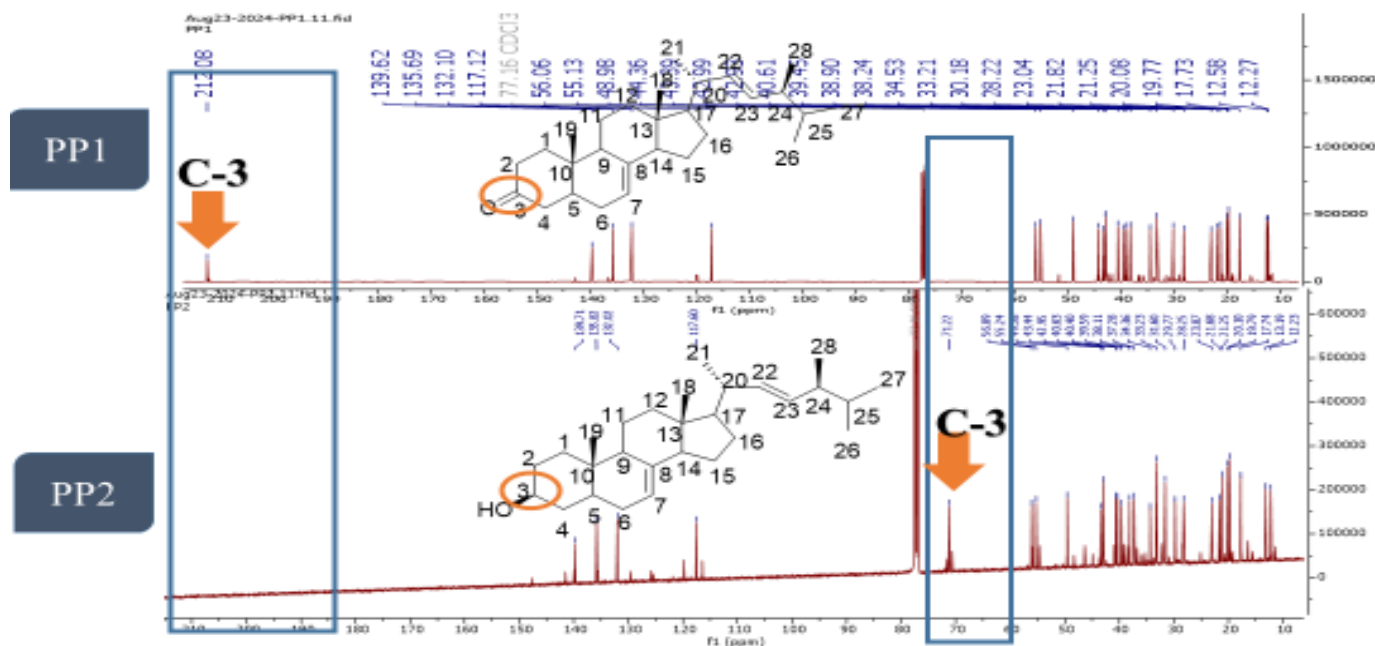


Figure 21: Supperposition des données spectrales RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) des composés PP1 et PP2

De plus Son spectre DEPT 135 comparé à celui inversé de PP1 nous présente vingt-cinq signaux dont l'apparition d'un méthine en phase positive attribuable au CH de l'oxyméthine en position 3 et l'absence de trois signaux nous confirme la présence de trois carbones quaternaire en position 8, 10, 13.

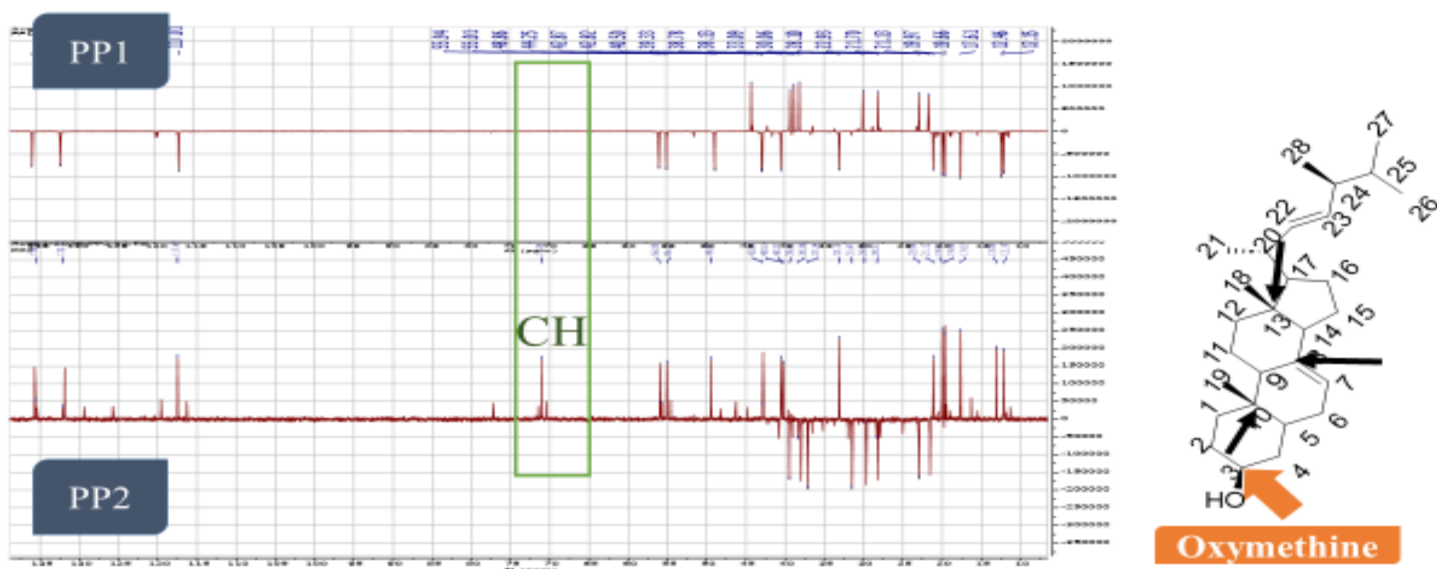


Figure 22 : Spectre DEPT 135 (CDCl₃, 100 MHz) du composé PP2

Il en est de même pour son spectre HSQC qui nous présente l'apparition d'une corrélation hétéronucléaire entre le carbone en position 3 et le proton en position 3.

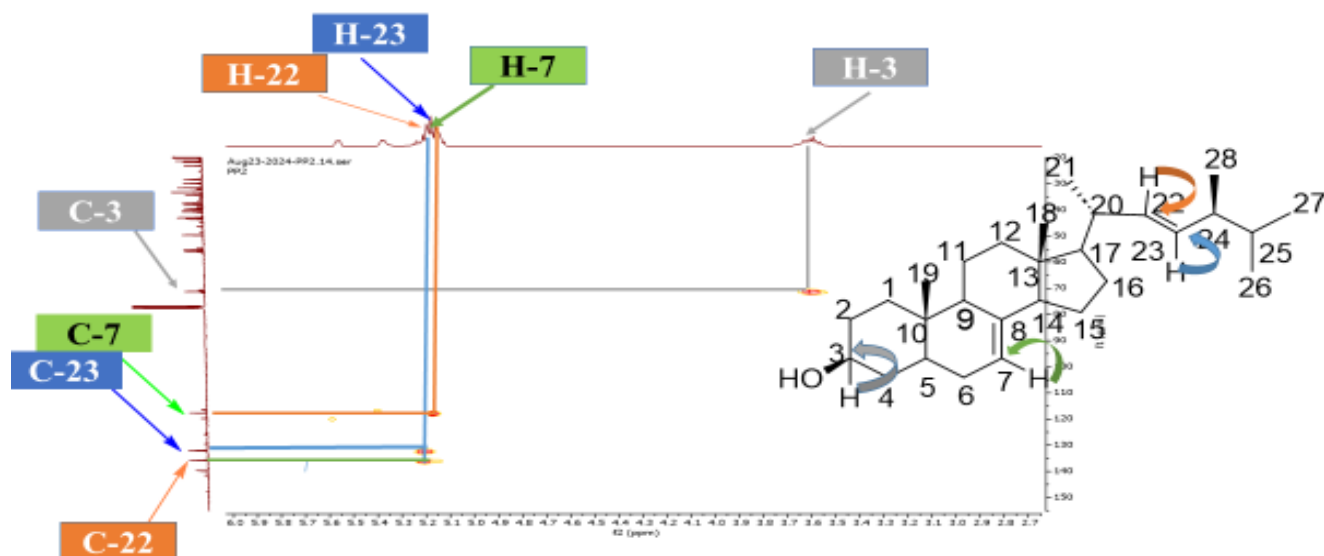


Figure 23 : Spectre HSQC entre 3,5 et 7,5 ppm du composé PP2

L'ensemble de ces données comparées à celles de la littérature nous ont permis d'identifier PP2 à l'ergota-7,22-dién-3-ol ou stellerol **66**.

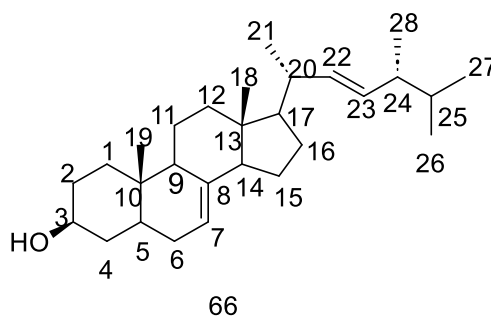


Figure 24 : Structure du composé PP2

Tableau 10 : Données de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de PP2 comparées à celle de la littérature (Borlagdan et al., 2017)

Position	DEPT	PP2 (δ en ppm)	Littérature
1	CH_2	37,2	37,3
2	CH_2	31,6	31,6
3	CH	71,2	71,2
4	CH_2	38,1	38,1
5	CH	40,6	40,6
6	CH_2	29,7	29,8
7	CH	117,6	117,1
8	C	139,7	139,7
9	CH	49,5	49,6
10	C	34,3	34,2
11	CH_2	21,6	21,7
12	CH_2	39,5	39,6
13	C	43,4	43,3
14	CH	55,2	55,3
15	CH_2	23,0	23,0
16	CH_2	28,2	28,2

ETUDE CHIMIQUE DE PHELLINUS PACHYPHLOEUS (HYMNOCHAETACEAE)

17	CH	56,0	56,1
18	CH ₃	12,2	12,1
19	CH ₃	13,1	13,1
20	CH	40,4	40,4
21	CH ₃	21,6	21,2
22	CH	135,8	135,9
23	CH	132,0	132,1
24	CH	43,4	43,0
25	CH	33,2	33,2
26	CH ₃	19,7	19,8
27	CH ₃	20,1	20,1
28	CH ₃	17,7	17,7

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'étude chimique de l'extrait au dichlorométhane/méthanol dans les proportions (1 :1) de l'espèce fongique *Phellinus pachyphloeus*, (Hymnochaetacea), a conduit à l'isolement de trois composés grâce aux méthodes chromatographiques usuelles. Deux de ces composés indexés PP1 et PP2 ont été entièrement caractérisés et identifiés comme deux stéroïdes : l'ergota-7,22-diène-3-one (PP1) et l'ergota-7,22-diène-3-ol ou stellasterol (PP2).

La détermination des structures de ces composés a été faite sur la base de leurs données spectrales : la RMN ^1H et la RMN ^{13}C à une et deux à deux dimensions ; et l'interprétation par comparaison directe avec celles décrites dans la littérature. Au terme de ces travaux, il en ressort que le genre *Phellinus* plus précisément l'espèce *Phellinus pachyphloeus* est riche en métabolites secondaire appartenant à la classe stéroïdes.

Dans la suite de nos travaux, nous nous proposons de purifier les fractions restantes et étendre nos recherches sur les autres espèces du genre *Phellinus* et si possibles effectuer des tests biologiques sur les extraits, les fractions restantes et les composés isolés.

III- PARTIE EXPERIMENTALE

III-1- Appareillage et matériel végétal

III-1-1-Appareillage

Les masses ont été prises sur une balance de marque COBOS D-600-SX et SARTORUIS modèle 1200g/1 g de précision 1/1000.

La filtration s'est faite à l'aide d'un gros entonnoir et coton. Le filtrat obtenu a été concentré avec un évaporateur rotatif de marque Heidolph connecté à un circuit d'eau fabricant LAUDA type WKL 2305, et a une pompe à vide Vacuubrand GMBH/CVC 3000/PC500 series. L'extrait brute obtenu a été pesé sur une balance électronique de marque Power :AC/220V/60Hz (DC7,4V1.2AH) S/N :6224 Date : 2023-04 ; Model :5003 Max=500 g e=0,01 g d=0,001g.

Cet extrait a subi une partition dans une ampoule a décanté de 500 ml.

Plusieurs types de chromatographies ont été utilisées lors de nos travaux. Pour la chromatographie sur colonne(CC), une colonne ouverte de 6 cm de diamètre et 68 cm de hauteur, un gel de silice (SiO₂) comme phase stationnaire de type MERCK et de granulométrie variée a été utilisé comme phase stationnaire. Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques constituées de feuilles d'aluminium de dimensions 20 X 20 cm recouvertes d'environ 0,2 mL de silice G-60, type GF 254 Merck. Ces plaques ont été éluées dans des cuves cylindrique contenant l'hexane, hexane/acétate ou le système Chlorure de méthylène/méthanol dans des proportions variées.

La détection des composés au cours de différentes CCM a été faite par utilisation d'une lampe UV de type Nu-4KL de longueur d'onde comprise entre 254 nm et 366 nm ; puis introduite dans des vapeurs de Diiodure de mercure contenues dans une cuve cylindrique dans lequel les plaques étaient immergées, puis pulvérisées avec l'acide sulfurique dilué à 20% suivie d'un chauffage sur les plaques chauffantes de marque SELECTA.

Les composés obtenus ont été pesés à l'aide d'une balance électronique de type power : AC/220V/60Hz(DC7,4V1.2AH) S/N :6224 Date : 2023-04 ; Model :5003 Max=500 g e=0,01 g d=0,001 g.

III-2-Extraction et isolement

III-2-1- Extraction

Le champignon *Phellinus pachyphloeus* a été découpé, séché pendant plusieurs jours et broyé dans un mortier. Nous avons obtenu une masse de 1652 g de poudre. 1600 g ont subi une macération dans 500 ml de chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) à température ambiante pendant 48 heures et 24 heures. Le filtrat obtenu, a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir un extrait brut de masse $m=18$ g (rendement=1,125%)



Figure 25 : Processus de broyage de *Phellinus pachyphloeus* (Ambogui Y, 2024)

III-2-2-Fractionnement de l'extrait brut

. Sur 18 g d'extrait obtenus, 2 g ont été gardés pour des tests biologiques et 16 g ont subi un fractionnement par solubilité différentielle...successivement à l'hexane puis à l'acétate d'éthyle pour donner une fraction en deux fractions l'hexane indexée F_{Hex} d'une masse de 7 g et une fraction à l'acétate indexées F_{AE} d'une masse de 6 g ainsi que 3 g de fraction aqueuse comme nous présente le **tableau 10** ci-dessous.

Tableau 11 : Fraction F_{Hex} et F_{AE} obtenues après extraction liquide liquide de l'extrait brut de *Phellinus pachyphyloeus*

SOLVANT	FRACTION	MASSE
Hexane	F _{Hex}	7 g
Acétate d'éthyle	F _{AE}	6 g
Risidu aqueux	F _{aqueux}	3 g

III-2-3- Séparation à l'aide d'une colonne chromatographique.

Une masse de 7 g de la fraction a l'hexane a été fixé sur 12 g de silice (SiO₂) et chromatographiée dans une colonne de 68 cm de hauteur et 5 cm de diamètre.

L'élution de notre colonne, s'est faite grâce à un système de solvant hexane/acétate d'éthyle, a l'acétate d'éthyle de polarité croissante et au méthanol. Au cours de cette séparation, nous avons recueilli 716 fraction de 7 à 10ml chacune, regroupées en 28 sous-fractions sur la base de la CCM analytique comme le **tableau 11** ci-dessous.

Tableau 12 : Chromatogramme de la fraction à l'hexane de *Phellinus pachyphyloeus*

Système d'élution	Fractions	Système de CCM	Série	Observation
Hexane pure	1-10	Hex	1	Petite quantité et 3 taches
	11-21	Hex/AE 2,5%	2	Mélange huileux
	22-35		3	Mélange de plusieurs taches

ETUDE CHIMIQUE DE PHELLINUS PACHYPHLOEUS (HYMNOCHAETACEAE)

Hex/AE 2,5%	36-44	Hex/AE 5%	4	Mélange de 2 taches en très petites quantité
	45-66		5	Cette série précipite sous forme poudre blanche, sa CCM donne un produit indice PP1
Hex/AE 5%	67-78	Hex/AE 10%	6	Mélange de 4 taches
	79-97	Hex/AE 15%	7	Cette série précipite sous forme de poudre belge, sa CCM présente une tache indice PP2
	98-114		8	Mélange huileux
Hex/AE 7,5%	115-125	Hex/AE 20%	9	Mélange huileux
	126-150		10	Mélange huileux
	151-192	Hex/AE 25%	11	Précipitation de poudre blanche, sa CCM présente une tache visible à l'UV, nomme PP3

ETUDE CHIMIQUE DE PHELLINUS PACHYPHLOEUS (HYMNOCHAETACEAE)

	193-204		12	Mélange de 4 taches
Hex/AE 10%	205-354	Hex/AE 25%	13	Mélange huileux
4Hex/AE 12,5%	355-372	Hex/AE 30%	14	Mélange huileux
Hex/AE 15%	373-409	Hex/AE 35%	15	Mélange de plusieurs taches
Hex/AE 20%	410-423	Hex/AE 45%	16	Mélange de liquide et cristaux dont la CCM présente 3 taches
	424-443		17	Poudre marron, sa CCM présente 2 taches mais a une très petite quantité
Hex/AE 25%	444-477	Hex/AE 45%	18	Mélange huileux
Hex/AE 30%	478-509	Hex/AE 45%	19	Mélange de 4 taches
Hex/AE 35%	510-542	Hex/AE 50%	20	Mélange huileux
Hex/AE 40%	543-560	Hex/AE 60%	21	Mélange huileux
Hex/AE 50%	561-581	Hex/AE 60%	22	Mélange huileux
	582-598		23	Poudre blanche, dont la CCM

				présente 3 taches visible à l'UV.
	599-606		24	Mélange huileux
Hex/AE 65%	607-639	Hex/AE 60% Hex/AE 65%	25	Mélange huileux
Hex/AE 75%	640-671	Hex/AE 65%	26	Mélange huileux
Hex/AE 80%	672-700	Hex/AE 80%	27	Mélange huileux
Méthanol	701-716	Hex/AE 80%	28	Mélange huileux

III-2-4- Isolement et purification des composés

➤ Isolement et purification du composé PP1

Les sous fractions 45-66 ont été obtenues au système Hex/AE 2,5% et regroupées sous la base de la CCM représentant ainsi la série 5. Après élution et évaporation du solvant, il s'est formé un précipité blanc sale que nous avons lavé au méthanol et filtré pour obtenir des feuilles blanchâtres soluble au DCM, indexé PP1 dont la pureté confirmée par CCM.

➤ Isolement et purification du composé PP2

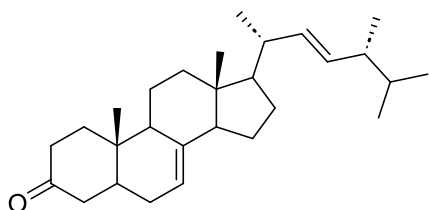
La série 7 comportant les sous fractions 79-97 obtenues au système Hex/AE 5% regroupées sous la base de la CCM ; a formé une poudre beige après évaporation, lavage et filtration. La CCM de cette poudre présentant une tâche nous confirme la pureté de celui-ci ainsi indexé PP2 soluble dans le DCM.

➤ Isolement et purification du composé PP3

Il a été obtenu des sous fractions 151-192 obtenues à Hex/AE 15% et regroupées sous la base de la CCM qui représente la série 11. Après évaporation du solvant il s'est formé un précipité que nous avons lavé à l'hexane pure et filtré pour obtenir des feuilles blanchâtres solubles dans le méthanol indexé PP3.

III-3- Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés

- Composé PP1

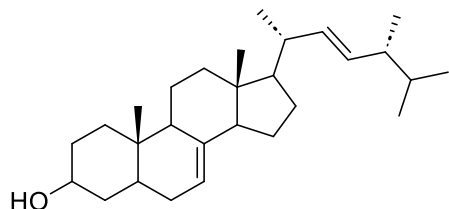


Aspect physique : feuilles blanchâtres

Formule brute : $C_{28}H_{44}O$

Solvant de solubilité : $CHCl_3$

- Composé PP2



Aspect physique : poudre beige

Formule brute : $C_{28}H_{46}O$

Solvant de solubilité : $CHCl_3$

III-4- Tests caractéristiques des composés isolés

■ Le test de Liebermann-Burchard

- Principe : il repose sur la réaction entre le réactif de Liebermann-Burchard (mélange d'acide sulfurique et d'acide acétique) et les triterpènes ou stéroïdes dans l'échantillon.

- Réaction : les triterpènes et les stéroïdes réagissent avec l'acide sulfurique pour former un complexe coloré, généralement vert, bleu ou violet.
- Procédure : ajouter 1 à 2 gouttes d'acide sulfurique à l'échantillon ; puis ajouter 1 à 2 gouttes d'acide acétique et enfin observer la couleur formée.
- Résultats : si la couleur est verte, cela signifie qu'il y a présence des triterpènes ; si la couleur est bleue, on a la présence des stérols et si on observe une coloration violette, il y a mélange des triterpènes et stérols.
- Avantages : test rapide et facile à réaliser, sensibilité élevée
- Limitations : réaction non spécifique (autres composés peuvent réagir de la même manière), nécessite une purification préalable de l'échantillon.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbas A, Murphy K, Sher A. 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 383 :787-793.

Agra L, Jamylle N, Fabiano T, Emiliano B. 2015. Triterpene with healing activity: A systematic review. *Journal of Dermatological Treatment*. 26: 465-470.

Ajith T, Janardhan K. 2002. “Antioxidant and antihepatotoxic activities of *Phellinus rimosus* (Berk) Pilat”. *Journal of Ethnopharmacology*. 81: 387–391.

Ajith T, Janardhanan K. 2001. Antioxidant and anti-inflammatory activities of methanol extract of *Phellinus rimosus*. *Indian Journal of Experimental Biology*. 39: 1166-1169.

Balezi Z. 2013. “Taxonomie et écologie des Hymenochaetales dans les forêts de montagne de l’Est de la République Démocratique du Congo : le cas du Parc National de Kahuzi-Biega”. *Thèse de doctorat de la Faculté d’ingénierie biologique, agronomique et environnementale de l’Université Catholique de Louvain*.

Barros L, Baptista P et Correia D. 2007. Importance médicinale et thérapeutique des Basidiomycètes. *Journal de Mycologie Médicale*. 17 :131-143.

Borlagdan M, Alterna V, Ragasa C. 2017. Sterols from *Trametes versicolor*. *Journal of Pharmacology Biology Chemistry Science*. 8: 740-744.

Br J Cancer. 2007. ‘*Phellinus linteus* activates different pathways to induce apoptosis in prostate cancer cells’’. *British Journal of Cancer*. 96: 583-590.

Bruneton J. 1999. Saponosides In Pharmacognosie: phytochimie et plantes médicinales. *Techniques et Accumulation Lavoisier*. Paris. 3: 672-719.

Chang H, Peng W, Sheu M, Huang G, Tseng M, Lai M. 2007. Hepatoprotective and antioxidant effects of ethanol extract from *Phellinus merrilli* on carbon tetrachloride-induced liver damage. *American Journal of Clinical Medicine*. 35: 793-804.

Chappell J, Wolf F, Proulx J, Cuellar R, Saunder C. 1995. Is the reaction catalyzed by 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase a rate-limiting step for isoprenoid biosynthesis in plants? *Plants physiology* 109: 1337-1343

Choi Y, Kim J, Lee S, Kim B, Lee J. 2011. Antioxidant and immunomodulatory activities of *Phellinus ribis*. *Journal of Medicinal Food*. 14: 1032-1038.

Choi Y, Kim J, Lee S, Kim B, Lee J. 2012. Antioxidant activity of *Phellinus pachyphyloeus*. *Journal of Food Science*. 77: 144-149.

Corbat F. 2004. Les champignons à chapeau : morphologie, anatomie et identification. *Journal de Mycologie*. 10 :1-15

Courtecuisse R. 2005. Conférence sur le rôle des champignons dans les écosystèmes. *Faculté des sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille*.

Deroy, A. 2015. Évolution et adaptation des champignons saprophytes : les systèmes impliqués dans la dégradation du bois chez *Trametes versicolor*. *Sylviculture, foresterie, Université de Lorraine*.

Dewick P. 2016. A Biosynthetic Approach. Wiley Chemistry. *Medecinal Natural Product* 3: 291.

Dulger B, Suerdem T, Yesilyurt D, Hacıoglu N. et Camdeviren A. 2005. “Evaluation of antimicrobial activity of macrofungus *Phellinus torulosus*”. *Journal of Biological Sciences*. 5: 436-439.

Eyi Ndond H. Degreef J, De-Kesel A, 2011. Champignons comestibles des forêts denses d’Afrique Centrale, Taxonomie et identification. *Abc. Taxa.*, 10 :262p.

Feng T, Cai J, Li M., Zhou Z, Li Z, Liu J. 2016. “Chemical constituents and their bioactivities of mushroom *Phellinus rhabarbarinus*”. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 64: 1945-1949.

Frangkrathok N. 2019. Chemical constituents and pharmacological activities of *Phellinus gilvus*. Faculty of Agriculture Technology, Burapha. These Ph.D. of University Sakaeo Campus Sa Kaeo 27160, Thailand. 15 : 49-57.

Gévry M, Dalpé Y. 2012. “Les modes de vie : L’univers des champignons”. *Presses de l’Université de Montréal* : 37-46.

Gnanavel A. 2013. GC-MS analysis of petroleum ether and ethanol leaf extracts from *Abrus precatorius* Linn. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 4: 37-44

González A, Barrera B, Mediavilla M, Toledo S, Perales. 1986. Deux nouveaux acides triterpéniques de *Phellinus pomaceus*. *Journal of Chemistry Société, Perkin Trans*. 35 : 551-554.

Gonzalez AG, Exposito S, Toledo F, Mediavilla J, Tejera B et Barrera B. 1994. Dérivés de lanostérol de *Phellinus torulosus*, *Journal of Phytochemistry*, 35 : 1523-1526.

Grignonas I, Planson A, Carbonell P, Faulon J. 2012. Retrosynthetic biology approach to therapeutics from conception to delivery. *Current Opinion in Biotechnology*. 23: 948-956.

Guisso I, Sawadogo A, Sawadogo M, Ouattara A. 1995. Etude de l'activité anti drépanocytaire des gélules FACA chez les enfants en milieu hospitalier de Ouagadougou (CHN YO). *Pharmacology Medicinal Traditional African*. 1 :29-38.

Hama O, Ibrahim D, Barage M, Alhou B, Daniel P, Infant F. 2012. Utilisation de quelques espèces de Micromycètes dans la pharmacopée traditionnelle au Niger occidental (Afrique de l'Ouest). *Journal of Applied Biosciences*, 57 :4159-4167.

Hawakaworth D. 2005. Fungal diversity and its implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*. 14: 1-13.

Hibbet J et Donoghne M. 2001. Phylogenetic analysis of saprotrophic group. *Mycologia*. 93: 841-854.

Hsieh P, Wu J et Wu C. 2013. "Chemistry and biology of *Phellinus linteus*". *Journal of Biomedecine*. 3 :106-113.

Hui-Kang L, Tung-Hu T, Tun-Tschu C, Cheng-Jen C, Lie-Chwen L. 2009. Lanostane-triterpenoids from the fungus *phellinus gilvus*. *Journal of Phytochemistry*. 70: 558-563.

Iganci V, Heiden G, Miotto S, Pennington T. 2011. Campos de Cimada Serra: The Brazilian Subtropical Highland Grasslands show an unexpected level of plant endemism. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 167: 378-393.

Inagaki N, Shibata T, Itho T, Suzuki T, Tanaka H, Nakamura T, 2005. Inhibition of IgE-dependent mouse triphasic cutaneous reaction by boiling water fraction separated from mycelium of *Phellinus linteus*. *Evidence Based Complement Alternative Medicine*. 2: 369-374.

Karl C, Decock C et Ryvarden L. 2006. Phylogeny and taxonomy of the family Hymenochaetaceae (Basidiomycota). *Mycological Research*. 110: 1265-1281.

Kaur A, Dhingra G, Shri R, 2005. Evaluation of carbohydrate metabolism inhibition by some species of medicinal mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 17: 351-360.

Kim B, Choi J, Hong H, Lee S, Hong S, Park E. 2006. Hemme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of mushroom *Phellinus linteus* in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*. 106 :364-371.

Kim J, Lee S, Choi Y, Lee J. 2006. Antimicrobial activity of *Phellinus linteus* against human pathogenic microorganisms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 16: 755-761.

Kim J, Lee S, Kim B, Lee J, Park S. 2011. Antitumor activity of *Phellinus baumii* against human cancer cells. *Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 54: 631-638.

Kim J, Lee S, Kim B, Lee J, Park S. 2019. Antioxydant and protective effects of *Phellinus pachyphyloeus* against oxidative stress. *Journal of Medicinal Food*. 22: 1032-1038.

Kim J, Lee S, Kim B, Lee J, Park S. 2020. Anticancer activity of *Phellinus pachyphyloeus* against human breast cancer cells. *Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 63: 249-258.

Kim J, Lee S, Park S, Kim B, Lee J. 2015. Antimicrobial activity of *Phellinus pachyphyloeus* against human pathogenic microorganisms. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25: 1751-1758.

Kirt P, Connom P, David J, Stalpers J. 2008. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi, 10. Ed. Wallingfort, Oxon: CAB International, p 771

Kotan R, Cakir A, Dadasoglu F. 2010. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish Achillea, Satureja and Thymus species against plant pathogenic bacteria. *Journal of Science Food and Agriculture*. 90 :145-160.

Lebreton P, Meneret G. 1964. Elements de chimiotaxonomie botanique. I. Generalites; notion d'espèce biochimique; cas des flavonoïdes *Humulus lupulus* L. *Bulletin de la Société Botanique de France*. 69-79.

Lee S, Kim J, Lee J, Park S, Kim B. 2016. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by *Phellinus pachyphyloeus* in human cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 194: 101-109.

Mann J, Davidson R, Hobbs J, Banthorpe D, Harborne J. 1994. Natural Product: Their Chemistry and Biological Significance. Longman. Chemistry. 7 :389.

Marzoqi A, Hameed I, Salah I. 2015. Analysis of bioactive chemical components of two medicinal plants (*Coriandrum sativum* and *Melia azedarach*) leaves using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *African Journal of Mycology and Biotechnology*. 14: 2812-2830.

Metsebing Blondo-Pascale. 2020. Taxonomie, chimio taxonomie et évaluation des activités antifongiques et antibactériennes de quelques Basidiomycètes supérieurs (Agaricales et Polyporales) du Cameroun et de la R.D. Congo.

Mo S, Yang C et Shi J. 2003. Études sur les constituants chimiques de *Phellinus igniarius*. *Journal of China Medicinal*. 28: 339–341.

Mo S, Yang C et Shi J. 2003. Isolement et synthèse des phelligrines A et B. *Journal of Chemistry*. 17 : 1161– 1163.

Momo T. 2009. Morphologie et taxonomie des champignons : étude de la forme du chapeau. *Journal of Mycology*. 15 :1-12.

Mossebo D et Amougou A. 2015. Etude ethnobotanique et phytochimique de *Phellinus pachyphyloeus* (Polyporaceae). *Journal of Botanique Society of Botanique of France*. 62 :53-63.

Mossebo D, Essouman P, Kengni A, Nzapena'a T, Ambit T, 2011. *Termitomyces infundibulifera* sp. Nov. et *T. Striatus* f. *camerunensis* f. nov. décrites du Cameroun : Clé d'identification des *Termitomyces* d'Afrique centrale. *Bulletin de la Société Mycologique de France*. 127: 153-168.

Nagadesi P, Aravind G, Kannamba B. 2016. Taxonomy and Bioactive chemicals from *Ganoderma* and *Phellinus* of India. *An International Journal*. 8: 240-246.

Ngoy M. 2018. Evaluation de l'activité biologique de *Phellinus pachyphloeus* : Etude de la composition chimique et des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et cytotoxique. *Thèse de doctorat, Université de Kinshasa République démocratique du Congo*.

Park B, Lim Y, Lee H, Eum W, Park J, Han K. 2009. Anti-oxidative effects of *Phellinus linteus* and red ginseng extracts on oxidative stress-induced DNA damage. *Biochemistry and Molecular Biology Reports*. 42 :500-505.

Park S, Cheon Y, Son W, Rhee H, Kim T, Song C. 2009. "Hepatoprotective effects of polysaccharides isolated from *Phellinus gilvus* against carbon tetrachloride induced liver injury in rats". *Toxicological Research*. 25: 29-33.

Patocka J. 2003. Natural Toxins Used in Medicine *Journal of Applied Biomedicine*. 1: 7-12.

Picpenbring M. 2015. Hymenochaetaceae; dans: "The Mycota." Springer, Berlin, Heidelberg. 14: 257-274.

Polemis *Phellinus igniarius*, *Journal of Chemistry*. 14: 810-813

Prieto J, Recio M, Giner R. 2006. Anti-inflammatory activity of beta-sitosterol in a model of oxazolone-induced contact delayed type hypersensitivity. *Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales*. 5: 57-62

Ranadive K, Jagtap N, Vaidya J. 2012. Host diversity of genus *Phellinus* from world. *Elixir Applied Botany*. 52: 11402-11408.

Samchai S, Seephonkai P, Sangdee A. 2009. Puntumchai A, Klinhom U. Antioxidant, cytotoxic and antimalarial activities from crude extracts of mushroom *Phellinus linteus*. *Journal of Biological Sciences*. 9: 778-783.

Sanchez J. 2009. Los hongos saprofícos: diversidad y ecología. *Revista Mexicana de Micología*. 29 : 15-26.

Schmit J, Mueller G.M. 2007. An estimate of the lower limit of global fungal diversity. *Biodiversity and Conservation* 16: 99-111.

Selosse M et Durrieu G, 2004. Une classification mycologique phylogénétique francophone. *Acta Botanica Gallica*. 151: 73-102.

Sliva D, Jedinak A, Kawasaki J, Harvey K, Slivova V, 2008. *Phellinus linteus* suppresses growth, angiogenesis and invasive behavior of breast cancer cells through the inhibition of AKT signaling *British journal of cancer*, 98: 1348-1356.

Smith S et Read D. 2008. Mycorrhizal symbiosis. *Academic Press, Elsevier, Amsterdam*. 802p.

Sona H, Bhosle S, Vaidya J, Asghar A, Garad S, Bapat G., 2011. In vitro evaluation of sesquiterpenoid extracts of *phellinus* samples from western ghats of Maharashtra for antimicrobial activity. *Journal of phytology*. 3: 35-37.

Taylor J, Spatafora J, O'Donnell, K, Lutzoni F, James T, Hibbett D, Geiser D, Bruns T, et Blackwell M. 2004. The fungi. in assembling the tree of life (Joel Cracraft, Michael J. Donoghue eds). *Oxford University Press*

Tchicgang C, Kammalac T, Djengou P. 2013. Evaluation des activités antimicrobienne, antioxydantes et cytotoxique de *Phellinus pachyphloeus*. *Journal of mycology of medicinal*. 23 :131-138.

Thimmappa R, Geisler K, Loupeau T, O'Maille P, Osboum A. 2014. Triterpene biosynthesis in plants. *Annual Review Plants Biology*. 65: 256-257.

Villasenor I., Angelada J, Canlas P, Echegoyen D. 2002. Bioactivity studies on b-sitosterol and its glucoside. *Journal of Phytotherapy Research*. 16: 417-421.

Wasser S. 2002. Medicinal mushrooms as a sources of antitumor and immunomolulating polysaccharides. *Appl. Microbiol.Biotechnol.* 60: 258-274.

Whittaker R. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. *Journal of Chemistry Science.* 163: 150-160.

Wu S. 2011. Constituants chimiques du champignon médicinal *Phellinus baumii*, Université du Shandong.

Wu X, Lin S, Zhu C, Yue Z, Yu Y, Zhao F, Liu B, Dai J. et Shi J. 2010. “Homo- and Heptanor-sterols and Tremulane Sesquiterpenes from Cultures of *Phellinus igniarius*”. *Journal of Natural Products.* 73: 1294-1300

Xue Q, Sun J, Zhao M, Zhang K, Lai R. 2010. Immunostimulatory and anti-tumor activity of a watersoluble polysaccharide from *Phellinus baumii* mycelia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 27: 1017-1023.

Yang Y, Wang Q, Liu Y, Wang W, Feng N, Wu D. 2011. Antioxidant activities of extracts from the genus phellinus species. *Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7).* 20: 232-241.

Yemelé M, Telefo P, Lontsi D, Sondengam B, Du bois M. 2015. Evaluation des activités antimicrobiennes, antioxydante et cytotoxique de *Phellinus pachyphloeus*. *Journal of Mycology Medicinal.* 25 :123-132.

Yian W, Zhang K, Wang X, Li T. 2020. Morphological and anatomical characteristics of the hymenium in edible mushroom. *Journal of Mushroom Research.* 10: 1-11.