



FACULTÉ
DE PHARMACIE

UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES

**Activité néphroprotectrice du genre *Ganoderma*
vis-à-vis du cisplatine :
étude *in vitro* et analyse du contenu chimique**

Thèse présentée par Sébastien SINAÈVE

en vue de l'obtention du grade académique de docteur en Sciences
Pharmaceutiques et Biomédicales

Année académique 2023-2024

Sous la direction de la Professeure Caroline STEVIGNY, promotrice

ULB, RD3-Unité de Pharmacognosie, Bioanalyse et Médicaments

et de la Professeure Joëlle NORTIER, co-promotrice

ULB, Laboratoire de Néphrologie Expérimentale

Jury de thèse :

Stéphanie POCHET, Université libre de Bruxelles, Présidente

François DUFRASNE, Université libre de Bruxelles, secrétaire

Marie-Hélène ANTOINE, Université libre de Bruxelles

Thomas BAUDOUX, Université libre de Bruxelles, Hôpital Erasme

Véronique MATHIEU, Université libre de Bruxelles

Rémi ROSIERE, Université libre de Bruxelles

Jean-Marie COLET, Université de Mons

Amandine NACHTERGAEL, Université de Mons

Table des matières

Remerciements	i
Table des matières.....	iii
Abréviations	vii
Résumé.....	x
1. Introduction.....	1
1.1. Le rein	2
1.1.1. Description générale	2
1.1.2. Rappel anatomique du rein	2
1.1.3. Physiologie rénale	3
1.1.3.1. Le corpuscule de Malpighi	5
1.1.3.2. Le tubule urinaire	6
1.1.4. Les maladies rénales	8
1.1.4.1. L'atteinte rénale aiguë.....	8
1.1.4.2. La maladie rénale chronique.....	14
1.1.5. Les xénobiotiques néphrotoxiques	18
1.1.5.1. Description et généralités	18
1.1.5.2. Le cisplatine.....	20
1.2. Les champignons médicinaux et leur composition	27
1.2.1. Description et généralités	27
1.2.2. Les champignons néphroprotecteurs	29
1.3. Le genre <i>Ganoderma</i> P. Karst.....	30
1.3.1. Généralités et description.....	30
1.3.2. Contenu chimique	33
1.4. Espèces étudiées dans le cadre de ce travail.....	35
1.4.1. <i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat.....	35
1.4.1.1. Description mycologique.....	35
1.4.1.2. Activités biologiques et contenu chimique	36
1.4.2. <i>Ganoderma tuberculosum</i> Murill	38
1.4.2.1. Description mycologique.....	38
1.4.2.2. Activités biologiques et contenu chimique	39
1.4.3. <i>Ganoderma resinaceum</i> Boud.....	41
1.4.3.1. Description mycologique.....	41

1.4.3.2.	Activités biologiques et contenu chimique	42
1.4.4.	<i>Ganoderma martinicense</i> Welti & Courtecuisse	43
1.4.4.1.	Description mycologique	43
1.4.4.2.	Activités biologiques et contenu chimique	44
1.4.5.	<i>Ganoderma parvigibbosum</i> Welti & Courtecuisse	45
1.4.5.1.	Description mycologique	45
1.4.5.2.	Activités biologiques et contenu chimique	46
2.	But du travail	47
3.	Evaluation de l'activité néphroprotectrice <i>in vitro</i> du genre	
<i>Ganoderma</i>	49
3.1.	Matériel et méthodes	51
3.1.1.	Réactifs et milieux de culture	51
3.1.2.	Matériel fongique	52
3.1.3.	Préparation des échantillons	52
3.1.4.	Culture cellulaire et traitements	53
3.1.5.	Viabilité cellulaire	54
3.1.5.1.	Résazurine	55
3.1.5.2.	WST-8 (CCK-8)	57
3.1.6.	Activité piègeur de radicaux libres	60
3.1.7.	Cytométrie en flux	62
3.1.7.1.	Détermination de l'apoptose totale	65
3.1.7.2.	Expression du p53, de la caspase 3 et du cytochrome C	67
3.1.7.3.	Estimation du stress oxydatif	69
3.1.7.4.	Estimation de l'activité anti-inflammatoire	70
3.1.7.5.	Proportion du calcium intracellulaire	72
3.1.7.6.	Translocation de la β -caténine	73
3.1.8.	Analyses statistiques	74
3.2.	Résultats	75
3.2.1.	Viabilité cellulaire	75
3.2.1.1.	Détermination des concentrations de travail	75
3.2.1.2.	Evaluation du potentiel néphroprotecteur	77
3.2.2.	Etude de l'apoptose	80
3.2.3.	Activité antioxydante	83
3.2.4.	Activité anti-inflammatoire	85
3.2.5.	Homéostasie du calcium	88

3.2.6.	Translocation de la β -caténine	90
3.3.	Discussion	92
3.4.	Conclusion.....	101
4.	Détermination du contenu chimique et identification des composés	
bioactifs.....	102
4.1.	Matériel et méthodes	103
4.1.1.	Réactifs	103
4.1.2.	Screening phytochimique	104
4.1.2.1.	Sucres simples réducteurs.....	105
4.1.2.2.	Terpènes.....	106
4.1.2.3.	Tanins	106
4.1.2.4.	Saponosides	107
4.1.2.5.	Flavonoïdes	107
4.1.2.6.	Alcaloïdes	108
4.1.3.	Contenu total en triterpènes	109
4.1.4.	Contenu total en composés phénoliques.....	110
4.1.5.	Méthodes chromatographiques	112
4.1.5.1.	Chromatographie sur couche mince	113
4.1.5.2.	Chromatographie liquide.....	116
4.1.6.	Analyses biologiques.....	122
4.1.6.1.	Détermination des concentrations de travail.....	122
4.1.6.2.	Estimation de l'activité des molécules identifiées	122
4.1.7.	Traitement des données et analyses statistiques.....	124
4.1.7.1.	Traitements des résultats obtenus par HPLC-UV/DAD.....	124
4.1.7.2.	Traitement des résultats obtenus par RRLC-QTOF-SM	124
4.1.7.3.	Traitement des résultats obtenus pour les analyses	
biologiques.....	127
4.2.	Résultats.....	128
4.2.1.	Screening phytochimique	128
4.2.2.	Contenu en triterpènes et composés phénoliques	129
4.2.3.	Chromatographie sur couche mince.....	134
4.2.4.	RRLC-QTOF-SM.....	139
4.2.4.1.	Acide ganodérique A	139
4.2.4.2.	Analyses métabolomiques	140
4.2.5.	RRLC-QTOF-SM/SM et HPLC-UV/DAD	147

4.2.6. Détermination de l'activité biologique néphroprotectrice	154
4.3. Discussion	157
4.4. Conclusion.....	175
5. Conclusions générales et perspectives	176
Références.....	181
Annexe 1	206
Annexe 2.....	208
Annexe 3.....	212