

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTE DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2022

N° 13

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

M. BOULON Emilien,

né le 08 Août 1994 à Blois (41)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 17 Mars 2022

**ÉTAT DES LIEUX SUR L'UTILISATION
DES CHAMPIGNONS DU GENRE PSILOCYBE
EN THÉRAPIE, AINSI QUE LEUR MODE DE
PRODUCTION.**

JURY

Président : Monsieur **CLASTRE Marc**, Maître de Conférences,
Faculté de pharmacie, Tours (37)

Membres : Monsieur **LANOUE Arnaud**, Maître de Conférences,
Faculté de pharmacie, Tours (37)

Monsieur **BOUDENOT Patrick**, Docteur en pharmacie, adjoint,
Chaumont-sur-loire (41)

Madame **GUERREIRO Maïthé**, Docteur en pharmacie, adjoint, Blois
(41)

JUSTE	Matthieu	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
LAJOIE	Laurie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MARCHAIS	Hervé	PHARMACIE GALENIQUE
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
OMBETTA-GOKA	Jean-Edouard	CHIMIE ORGANIQUE
ODIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
POUPET	Cyril	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VERCOILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	Emilie	SANTÉ PUBLIQUE, BIOSTATISTIQUES & ÉPIDÉMIOLOGIE
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

2 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
RESPAUD	Renaud	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE

2 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

1 ATER (Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche)

HILALI	Souka�na	PHARMACOGNOSIE
--------	----------	----------------

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

3 CHARGÉS DE RECHERCHE

EPARDAUD	Mathieu	INRAE
MEVELEC	Marie-Noëlle	INRAE
MOIRE	Nathalie	INRAE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 17 Mars 2022

L'étudiant

M BOULON Emilien

Le Doyen de la Faculté

Professeur Véronique Maupoil

REMERCIEMENTS

Aux membres de mon jury,

Monsieur Arnaud LANOUE, pour avoir accepté d'être mon directeur de thèse, pour votre accompagnement durant ce projet, vos conseils très précieux et votre disponibilité. Merci d'avoir ravivé ma passion pour la mycologie.

Monsieur Marc CLASTRE, de me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse et pour votre disponibilité.

Monsieur Patrick BOUDENOT, grand passionné de mycologie, merci d'avoir accepté d'être membre de ce jury.

Madame **Maïthé GUERREIRO**, tu auras été présente tout au long de ces belles années d'études et en permet l'aboutissement.

Un grand merci à ma mère, mon père, mes frérots et mamie Jeannine pour leur amour, leurs conseils ainsi que leur soutien inconditionnel qui m'a permis de réaliser mes études dans les meilleures conditions.

A mes neveux et nièces, à vous de trouver votre voies les enfants, ne pensez pas votre vie, vivez vos rêves.

Jean-Philippe Smet (JH), Merci l'artiste !

Et mes pensées vont tout naturellement à **Moumoune**, qui a pris la lourde responsabilité d'étendre le linge, à tout à l'heure mon cœur je t'aime. De rien !

Table des matières

Introduction.....	11
I Partie 1 : Le <i>Psilocybe</i>	12
I.1 Généralités.....	12
I.2 Classification du genre <i>Psilocybe</i>	12
I.2.1 Embranchement	12
I.2.2 Classe.....	12
I.2.3 Ordre	12
I.2.4 Famille	13
I.2.5 Genre	13
I.2.6 Espèces.....	13
I.2.6.1 <i>Psilocybe azurescens</i>	13
I.2.6.2 <i>Psilocybe cubensis</i>	15
I.2.6.3 <i>Psilocybe mexicana</i>	16
I.2.6.4 <i>Psilocybe semilanceata</i>	17
I.3 Composition en molécules psychoactives.....	18
I.3.1 Psilocybine.....	19
I.3.1.1 Pharmacodynamie.....	20
I.3.2 Psilocine.....	20
I.3.2.1 Pharmacodynamie.....	21
I.3.3 Pharmacocinétique du couple psilocybine/psilocine.....	22
I.3.3.1 Absorption.....	22
I.3.3.2 Distribution	22
I.3.3.3 Métabolisation	22
I.3.3.4 Elimination	23
I.3.4 Autres alcaloïdes	24
I.3.4.1 Norpsilocine.....	24
I.3.4.2 Baéocystine	27
I.3.4.3 Bêta-carbolines.....	27
I.3.5 Les effets physiologiques et psychologiques chez le sujet sain.....	30
I.3.5.1 Doses et durée des effets.....	30
I.3.5.2 Effets sur les fonctions somatiques, physiologiques et endocriniennes ..	31
I.3.5.3 Effet sur les fonctions psychiques	32

I.3.5.4	Effets indésirables	33
I.3.5.4.1	Physiologiques	33
I.3.5.4.2	Psychologiques	34
I.4	Législation en France.....	35
I.4.1	Cadre législatif.....	35
I.4.2	Peines encourues.....	35
II	Utilisations thérapeutiques	36
II.1	Dépression résistante aux traitements classiques.....	36
II.2	Troubles anxieux en relation avec le cancer	38
II.2.1	Introduction	38
II.2.2	Essais cliniques	38
II.2.3	Conclusion.....	39
II.3	Troubles obsessionnels compulsifs	39
II.3.1	Introduction	39
II.3.2	Intérêt de la psilocybine	40
II.3.3	Essai clinique	41
II.4	Algie vasculaire de la face	41
II.5	Antibiotique	42
II.5.1	Essais avec le <i>Psilocybe cubensis</i>	42
II.6	Anti-moustique	44
II.6.1	Principe de l'étude	44
II.6.2	Résultats	44
II.6.3	Conclusion.....	45
II.7	Nouvelles perspectives	46
II.7.1	Cytotoxicité.....	46
II.7.2	Antioxydant	46
II.7.3	Anti-inflammatoire	47
II.7.3.1	Oxyde nitrique inductible	47
II.7.3.2	Prostaglandines E2.....	48
II.7.3.3	Cytokines.....	48
II.7.4	Détermination phytochimique.....	49
II.7.5	Conclusion.....	50
III	Production des <i>Psilocybes</i> et de ses alcaloïdes.....	51
III.1	Production des <i>Psilocybes</i> et variation des teneurs en psychoactif	51
III.1.1	Productions illicites des <i>Psilocybes</i>	52

III.1.1.1	Les kits de culture	52
III.1.1.2	Cultiver à partir de spores	54
III.1.1.3	Cultiver des sclérotas	55
III.2	Synthèse chimique.....	56
III.2.1	La synthèse d'Hofmann.....	56
III.2.2	La synthèse de Nichols et Frescas.....	57
III.2.3	La synthèse de Londesbrough.....	58
III.2.4	La synthèse de Sherwood.....	60
III.3	Production des alcaloïdes	61
III.3.1	Biosynthèse des alcaloïdes	61
III.3.2	Production enzymatique <i>in vitro</i>	63
III.3.3	Production <i>in vivo</i> dans un hôte hétérologue : <i>Aspergillus nidulans</i>	64
III.3.4	Production <i>in vivo</i> dans un hôte procaryote : <i>Escherichia coli</i>	65
III.3.5	Production <i>de novo</i> chez <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	66
III.4	Avantages et inconvénients des modes de productions des alcaloïdes dérivés du <i>Psilocybe</i>	67
III.4.1	La synthèse chimique	67
III.4.2	La bioproduction	68
Conclusion	69
Bibliographie	70

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Psilocybe azurescens</i> (5).....	14
Figure 2 : <i>Psilocybe cubensis</i> (7).....	15
Figure 3 : <i>Psilocybe mexicana</i> (10).....	16
Figure 4 : <i>Psilocybe semilanceata</i> (13).....	17
Figure 5 : Biosynthèse de la psilocybine dans <i>P.cubensis</i> et <i>P.cyanescens</i> . (16).....	19
Figure 6 : Molécule de psilocybine. (19).....	19
Figure 7 : Molécule de psilocine (19).....	20
Figure 8 : Métabolisation de la psilocybine (17).....	23
Figure 9 : Taux d'excrétion urinaire de la psilocine après administration orale de 212µg/kg de psilocybine sur 24h. (38)	24
Figure 10 : Molécule de norpsilocine (40).....	24
Figure 11 : Comparaison des affinités de la psilocine (2) et de la norpsilocine (6) par rapport à la sérotonine (5-HT), sur les récepteurs sérotoninergiques 5-HT2A humain et murin, en mesurant la libération de calcium, médié par l'activation de ces récepteurs. (41).....	26
Figure 12 : Représentation des différents alcaloïdes détectés dans les <i>Psilocybes</i> , montrant les différences de méthylation. (41)	26
Figure 13 : Molécule de baéocystine (40).....	27
Figure 14 : β-carbolines détectés dans les <i>Psilocybes</i> . (47).....	28
Figure 15 : Molécule d'harmane (47)	28
Figure 16 : Molécule de norharmane (47)	29
Figure 17: Molécule d'harmol (47).....	30
Figure 18 : Représentation schématique du circuit du mouvement au travers des ganglions de bases.....	40
Figure 19 : Photographies au microscope confocal, montrant les variations morphologiques entre le contrôle (A) et l'extrait de <i>P. cubensis</i> , 800 ppm (B) sur larves de moustiques <i>Culex quinquefasciatus</i> . (91)	45
Figure 20 : Kit de culture de <i>Psilocybe cubensis</i> golden teacher (107)	53
Figure 21 : Sclérotés de <i>Psilocybe atlantis</i> (110).....	56
Figure 22 : Synthèse chimique de la psilocybine par Hofmann. (9)	57
Figure 23 : Synthèse chimique de la psilocybine par Nichols et Frescas. (111)	58
Figure 24 : Synthèse chimique de la psilocybine par Londesbrough. (112)	59
Figure 25 : Voie de biosynthèse des molécules psychoactives du <i>Psilocybe</i> . (115).....	62

Liste des tableaux

Tableau I : Degrés d'affinité des différents récepteurs (27)	21
Tableau II : Diamètres d'inhibitions en mm d'un extrait de <i>Psilocybe cubensis</i> et d'ampicilline et concentrations minimales inhibitrices en mg/mL de <i>P.cubensis</i> sur différentes bactéries. (91)	43
Tableau III : Taux de psilocybine et de psilocine dans le <i>Psilocybe cubensis</i> d'après les données relevées par P.Stamets. (3)	52

Introduction

L'Homme a une connaissance ancestrale des champignons, comme en atteste la découverte dans le sac de la momie Ötzi, estimée à -2500 ans avant J-C, des polypores du bouleau et de l'amadouvier qui servaient respectivement à un usage médicinal et comme allume-feu.

En Amérique du Sud et Centrale, des fresques datant de l'an 200 représentent des divinités chamaniques associées à des champignons hallucinogènes. Le chamanisme pratiqué avec ces substances hallucinogènes, par ces populations, constitue des rituels religieux, médical et sur la fertilité.

Les champignons sont une source importante de molécules exploitables en thérapeutique à l'instar de la pénicilline qui fut le premier antibiotique utilisé dans le monde. La recherche actuelle se focalise sur des produits efficaces à faible dose et provoquant peu d'effets indésirables.

Le règne fongique ayant une image de produits biologiques et naturels a également permis un regain d'intérêt par les chercheurs.

La composition exacte de molécules actives contenues dans les *Psilocybes* n'a été que très récemment déterminée grâce aux nouvelles techniques d'identification.

La plupart des études cliniques sur la psilocybine ont été réalisées dans les années 1960, en utilisant la spécialité Indocybin® du laboratoire Sandoz, qui est composée de psilocybine dosée à 2 mg.

Les hallucinogènes étaient considérés comme des outils clés pour comprendre l'étiopathogénie de certaines maladies mentales et comme ayant un certain potentiel thérapeutique. Bien qu'ils soient souvent considérés comme méthodologiquement imprécis d'un point de vue actuel, des milliers d'articles scientifiques publiés en 1965 décrivaient des résultats positifs chez plus de 40 000 patients qui avaient pris des psychédéliques avec des effets secondaires minimes et un niveau élevé de sécurité.

Cependant, le détournement de la psilocybine en consommation récréative a stoppé toutes les études et a été classé en stupéfiant limitant son utilisation thérapeutique et les études entreprises.

La plupart des études réalisées ont été établies à partir de témoignages de consommations spontanées des sujets. C'est à partir des années 2000 que l'on a pu voir des études en double aveugle et encadrées se réaliser.

Vient alors un problème majeur, la production des champignons et de ses composés actifs purs, en quantité suffisante afin de fournir la demande mondiale et ceux à moindre coût, ce dont on étudiera dans l'ultime partie de cette thèse. La production des *Psilocybes* comprenant trop d'incertitudes, les scientifiques se sont tournés vers la synthèse chimique ainsi que la bioproduction.

L'objectif de cette thèse est de présenter un état des lieux des connaissances sur le *Psilocybe* et de ses composés, ses potentiels thérapeutiques ainsi que la production du champignon et de ses composants.

I Partie 1 : Le *Psilocybe*

I.1 Généralités

Le genre *Psilocybe* fait partie du règne des Fungi également appelé Mycètes, ce règne regroupe des organismes eucaryotes pluricellulaires ou unicellulaires.

Ces Mycètes sont des organismes thallophytes, c'est-à-dire que leur appareil végétatif est un thalle diffus, ramifié, et tubulaire. Leurs cellules ne contiennent ni chlorophylles, ni plastides, car les Fungi sont hétérotrophes au carbone.

Leur mode d'alimentation est une nutrition par absorption, grâce à leur potentiel enzymatique libéré en milieu extérieur, qui facilite le passage des nutriments à travers leurs parois extérieures composées de chitine.

Le sporophore constitue l'appareil de reproduction des champignons, il va se développer pour permettre de disperser les spores. Le mycélium lui est microscopique, diffus et ramifié dans le substrat. (1)

I.2 Classification du genre *Psilocybe*

Les champignons du genre *Psilocybe* correspondant à la description faite précédemment, font partie du règne des Fungi.

I.2.1 Embranchement

Le *Psilocybe* a été classé dans l'embranchement des Basidiomycota, cette division est caractérisée par la formation des spores à l'extrémité de cellules spécialisées, les basides. Les basidiospores matures seront libérées à leur maturité par éjection active, qui sont disséminées par l'action des courants aériens et de la gravité.

Le sous-embranchement du genre *Psilocybe* a été défini comme étant Agaricomycotina.

I.2.2 Classe

La classe assignée est celle des Agaricomycetes. La sous-classe Agaricomycetidae, a été attribuée par la classification de phylogénie moléculaire.

I.2.3 Ordre

L'ordre des Agaricales, dont le *Psilocybe* fait partie, regroupe les champignons avec une structure caractéristique. Ils présentent un chapeau arrondi, à lames libres, coloré. Leurs chairs sont fermes avec une texture fibreuse, de plus le pied, qui est allongé, se détache du chapeau facilement.

I.2.4 Famille

Le genre *Psilocybe* est classé dans la famille des Strophariaceae. Les espèces répertoriées dans cette famille sont saprophytes et grégaires.

Les sporophores de forme agaricoïdes sont de tailles moyennes à grandes, hémisphériques à galéiculés, soit en forme de casque. De plus le stipe présente un anneau membraneux distinct ou des résidus. (2)

I.2.5 Genre

Le genre *Psilocybe* caractérise les petits champignons isolés, dont le pied fait 1 à 2 mm de diamètre et allant de 4 à 12 cm de hauteur.

Le chapeau de couleur brune, de 3 cm de diamètre, de morphologie conique, est surmonté d'un petit mamelon et est facilement séparable du stipe. De plus, il est souvent visqueux lorsqu'il est humide, due à une pellicule semi gélatineuse.

Les lamelles sont étroites, de couleur brune olive à brune rouge foncé, adnées et donnant un dépôt de spores typiquement brun violacé foncé.

Le stipe est coriace, filamenteux, ne casse pas facilement et présente souvent un bleuissement, due à la présence de psilocine, aux meurtrissures. (3)

I.2.6 Espèces

Il y a 680 espèces et sous-espèces actuellement répertoriées dans la base de données en ligne Mycobank, cette banque est destinée à servir la communauté mycologique et scientifique en documentant les nouveautés de la nomenclature mycologique et les données associées. (4)

Nous allons décrire quelques espèces caractéristiques des *Psilocybe*, connues depuis plusieurs décennies, riche en molécules psychoactives, très répandues dans le monde et cultivables.

I.2.6.1 Psilocybe azurescens

Le chapeau du *Psilocybe azurescens* est de forme conique à convexe, s'élargissant et finissant par s'aplatir avec l'âge, avec un large mamelon prononcé et persistant. Sa surface est lisse, visqueuse lorsqu'elle est humide, couverte par une pellicule gélatineuse séparable, de couleur marron à brun ocre, et striée translucide. Il bleuit également à la meurtrissure. (Figure 1)



Figure 1 : *Psilocybe azurescens* (5)

Les lames sont ascendantes, sinueuses à adnées, brunes, souvent tachées de noir là où elles sont blessées. L'empreinte des spores est brun violacé foncé, à noir violacé.

Le stipe est blanc soyeux, brun terne à la base ou selon l'âge et creux à maturité. La base du stipe s'épaississant vers le bas, souvent courbée, et caractérisée par de grosses touffes aériennes blanches de mycélium, souvent de teinte azurée.

Le mycélium entourant la base du stipe est densément rhizomorphe, d'un blanc soyeux, et maintient avec ténacité le substrat, dans lequel il a poussé, avec de fortes contusions bleuâtres en cas de perturbation.

Ce champignon ne possède aucune odeur caractéristique, de plus son goût est extrêmement amer.

Ces champignons poussent de manière cespiteuse à grégaire, sur des copeaux de bois feuillus et/ou dans des sols sableux riches en débris lignicoles. Ce champignon a une affinité avec les herbes des dunes côtières, notamment le long de la côte ouest des Etats-Unis d'Amérique, où il est naturellement et exclusivement présent. Le *Psilocybe azurescens* génère un tapis mycélien étendu, dense et tenace et provoque le blanchissement du bois.

Les teneurs des différents psychoactifs du poids sec du champignon, sont les suivants, 1,78% pour la psilocybine, 0,38% pour la psilocine et 0,35% pour la baéocystine. C'est l'espèce qui est la plus concentrée en psilocybine. (3)

1.2.6.2 *Psilocybe cubensis*

Le *Psilocybe cubensis* a été décrit pour la première fois en 1906 par Franklin Sumner Earle à Cuba, qui l'identifie comme étant *Stropharia cubensis*. C'est seulement en 1948, que Rolf Singer classifie ce champignon comme étant *Psilocybe cubensis*. (6)

Son chapeau lisse est de forme conique à convexe, d'un diamètre allant de 2 à 8 cm, il s'aplanit en gagnant de la maturité. Il présente un léger mamelon et une marge régulière. Sa couleur est brune à rougeâtre jeune et prend une coloration brun doré en vieillissant, donnant et visqueux quand il est humide. La chair blanchâtre bleuit facilement en cas de blessure. (Figure 2)



Figure 2 : *Psilocybe cubensis* (7)

Les lames adnées sont serrées et étroites, d'une coloration grise à violacée jeune et noircissant avec l'âge. L'empreinte des spores est marron voire violet foncée.

Le stipe mesure 4 à 15 cm de long et son épaisseur peut aller de 0,5 à 3,8 cm. Il est de couleur blanche à jaunâtre, creux, des taches bleu ou vert bleuté apparaissent à la suite de blessures.

Le voile une fois développé laisse un anneau membraneux blanc persistant, dont la surface devient généralement concolore avec les lames, en raison de la chute des spores.

Le goût et l'odeur du *Psilocybe cubensis* ont été identifiés comme étant farineux. (8)

Les teneurs relevées de psilocybine sont de 0,63%, pour la psilocine 0,60% et de 0,025% pour la baéocystine.

Cette espèce est présente majoritairement en Amérique centrale et du Sud, en Inde, en Australie ainsi qu'en Europe du sud.

Ce *Psilocybe* a probablement été introduit en Amérique à la suite de la colonisation des européens au XVIème et plus particulièrement des espagnols. Il n'est retrouvé que sur les excréments de bovins et d'équidés d'origine espagnole. (3)

1.2.6.3 Psilocybe mexicana

Cette espèce fut découverte et décrite par Roger Heim en 1957. De plus, c'est grâce à cette espèce que le chercheur suisse Albert Hofmann a pu identifier et isoler la psilocybine et la psilocine en 1958, il a relevé des teneurs de 0,3% de psilocybine et 0,05% de psilocine, du poids sec du champignon. (9)

Son chapeau strié mesure entre 0,5 et 3 cm de diamètre, présentant une forme en cloche et un mamelon en son sommet. Il est de couleur brunâtre à brun orangé profond, s'estompant en séchant pour devenir jaunâtre, présentant des taches bleuâtres dues aux meurtrissures. (Figure 3)



Figure 3 : *Psilocybe mexicana* (10)

Les lamelles sont adnées, de couleur brun-violacée à grise, de même que les spores sont bruns-violacées.

Le stipe a une longueur allant de 4 à 12cm et est fin, creux, de couleur paille à brunâtre, présentant des zones plus foncées en cas de blessures.

Le goût et l'odeur du champignon ont été assimilés au qualificatif de farineux.

Le *Psilocybe mexicana* peut former des sclérotés, une forme dormante de l'organisme, qui lui offre une certaine protection contre les aléas météorologiques et de l'environnement.

Il pousse seul ou en petits groupes parmi les mousses le long des routes et des sentiers, dans les prairies humides ou les champs de maïs, en particulier dans les zones herbeuses qui bordent les forêts de feuillus.

Il est très présent au Mexique, au Costa Rica et au Guatemala, sa consommation est ancestrale par la population Aztèque. (11)

1.2.6.4 Psilocybe semilanceata

Le *Psilocybe semilanceata* a pour nom vernaculaire *Psilocybe* lancéolé, fer de lance ou encore chapeau de la liberté en référence au bonnet phrygien, symbole de liberté. Leur odeur et leur goût sont comparés aux raves. (12)

Ce *Psilocybe* est constitué d'un chapeau mesurant de 0,5 à 2,5 cm de diamètre de forme campanulé, surmonté d'un mamelon proéminent. De plus, il est hygrophane, humide, le chapeau prend une teinte marron foncé couvert de rainures radiales, dont la cuticule est glutineuse.

Lorsque celui-ci est sec, le chapeau est beaucoup plus pâle, d'une teinte marron jaunâtre.

Les lames regroupées sont étroites et adnées, de couleur brune chez les jeunes et deviennent grises à bruns violacés lorsque les spores sont matures.

Le stipe mince et long, mesure entre 4 et 10 cm de long pour un diamètre de 0,75 à 2 mm d'épaisseur. (Figure 4)



Figure 4 : *Psilocybe semilanceata* (13)

Au microscope optique, on distingue la forme ellipsoïde des spores, qui peuvent mesurer de 12 à 14 μm en largeur et 7 à 8 μm en hauteur.

Les basides se terminent par des pointes, permettant à chacune de porter jusqu'à quatre spores.

Le *Psilocybe semilanceata* est présent dans toutes les régions d'Europe, en Amérique du Nord, en Australie ainsi qu'en Inde et plus rarement en Amérique du Sud, dans la région du Chili. Cette présence en fait l'un des champignons hallucinogènes le plus connu au monde et le plus consommé de manière récréative.

Il pousse dans des sols riches et acides tels que les pâturages, les pelouses et prairies, qui sont généralement fertilisés par les déjections de bovins et ovins. En revanche cette espèce ne pousse pas directement sur l'excrément au contraire d'autres espèces. (3)

Selon Gartz, ce *Psilocybe* est l'espèce la plus psychoactive en Europe. Il a été relevé des teneurs en psilocybine de 0,98% du poids sec du champignon, 0,02% de psilocine (14) et 0,36% de baéocystine. (15)

Ces descriptions permettent de constater les faibles variations morphologiques entre les différentes espèces, mais montre les différences de composition en composés psychoactifs ainsi que leurs distributions géographiques, qui montre la répartition mondiale du genre *Psilocybe*.

Ces différences de teneurs en molécules actives expliquent le fait que certaines espèces soient plus psychoactives que d'autres.

I.3 Composition en molécules psychoactives

Les champignons du genre *Psilocybe*, contiennent de la psilocybine et de la psilocine dont les taux varient de 0,2 % à 1 % du poids sec selon l'espèce.

On retrouve également dans certaines espèces, des traces de norpsilocine et de baéocystine, qui sont des molécules très proches de la psilocybine.

Toutes ces molécules présentent un noyau indole, car elles dérivent de l'acide aminé tryptophane. Il y a plusieurs étapes biosynthétiques avant d'obtenir nos molécules psychoactives (Figure 5).

Dans un premier temps, le tryptophane est converti en tryptamine par une réaction de décarboxylation catalysée par l'enzyme L-tryptophane decarboxylase noté PsiD.

Ensuite vient une étape d'hydroxylation, catalysé par la monooxygénase P450 (PsiH), ce qui nous permet d'obtenir la 4-hydroxytryptamine. Cette dernière peut également être obtenue par décarboxylation du 4-hydroxy-l-tryptophane, catalysé par PsiD.

La 4-hydroxytryptamine, par une étape de phosphorylation, est convertie en norbaéocystine, catalysé par une kinase PsiK.

Cet alcaloïde va permettre la formation de psilocybine par la réaction de deux méthylations, via la méthyltransférase PsiM, dont la première réaction convertie la norbaéocystine en baéocystine.(16)

La psilocine est obtenue par déphosphorylation de la psilocybine. (17)

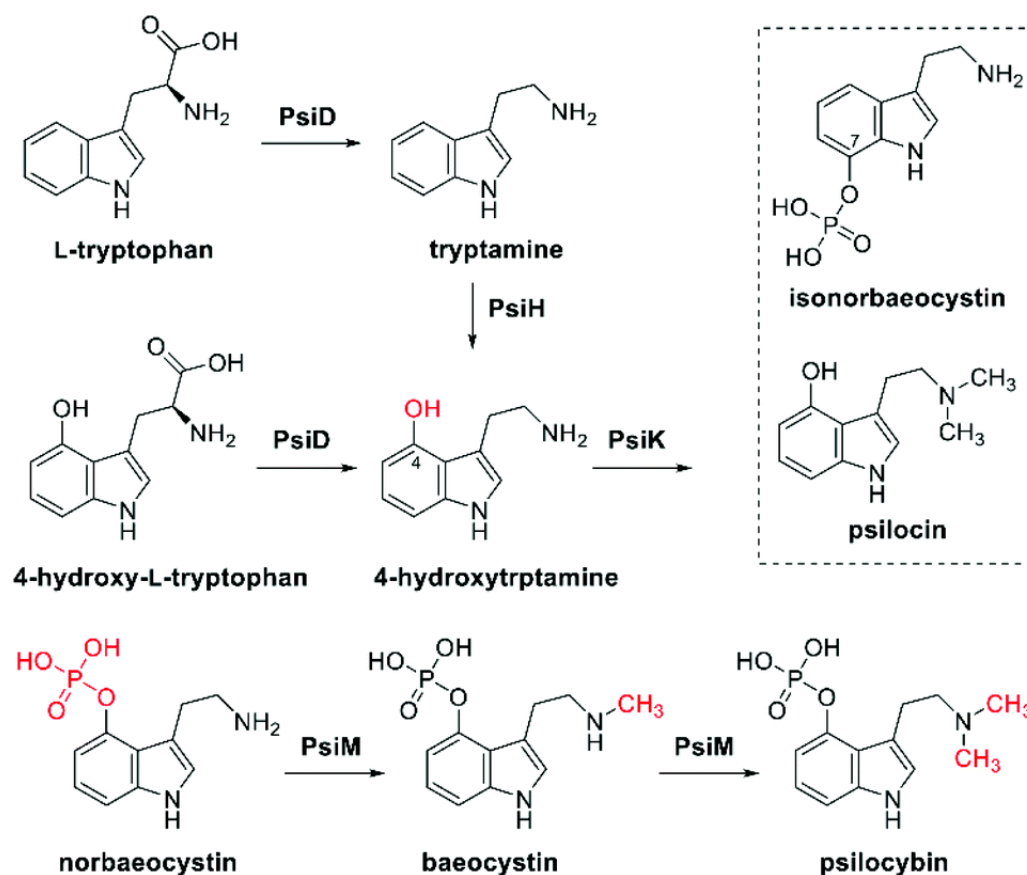
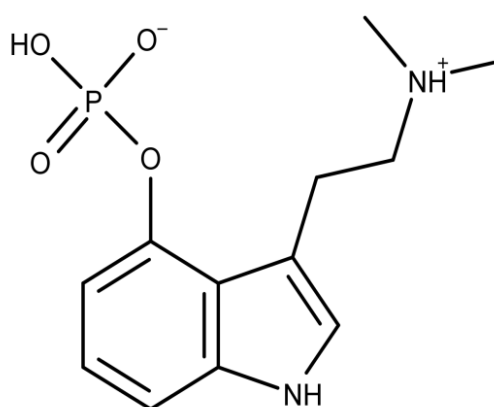


Figure 5 : Biosynthèse de la psilocybine dans *P.cubensis* et *P.cyanescens*. (16)

I.3.1 Psilocybine

La psilocybine est un alcaloïde psychoactif qui fait l'objet de nombreuses études par la communauté scientifique, c'est un outil qui a servi à modéliser et comprendre la psychose, elle a permis de mettre en évidence les circuits neuronaux pathologiques et sains. Elle est également étudiée pour ses effets thérapeutiques potentiels.



Son nom chimique est : *O*-phosphoryl-4-hydroxy-*N,N*-diméthyltryptamine. (Figure 6)
Sa forme pure est une poudre blanche cristalline.
Sa masse molaire est de 284,3 g/mol et son point de fusion est compris entre 185 et 195° C.

Cette molécule est soluble dans l'eau, modérément soluble dans le méthanol et l'éthanol et insoluble dans la plupart des solvants organiques et hydrophobes. (18)

Figure 6 : Molécule de psilocybine. (19)

La psilocybine a d'abord été isolée et identifiée en 1958 puis synthétisée en 1959 par Albert Hofmann et Roger Heim à partir de sclérotés de *Psilocybe mexicana*.

Dans les années 1960, la psilocybine a été largement utilisée dans la recherche des troubles mentaux et même en psychothérapie.

De nos jours, la psilocybine est l'un des psychotropes les plus utilisés dans les études sur l'homme, pour sa sécurité relative liée à une demi-vie modérément longue et une bonne absorption après administration orale. De plus les effets indésirables sont connus, faibles et bien maîtrisés. (20)

On retrouve également cette molécule dans les champignons des genres *Stropharia*, *Conocybe*, *Panaeolus*, *Gymnopilus*, *Pluteus* et *Panaeolina*. (21) (22)

1.3.1.1 Pharmacodynamie

La psilocybine est une pro-drogue, qui par déphosphorylation donne la psilocine qui est le métabolite actif.

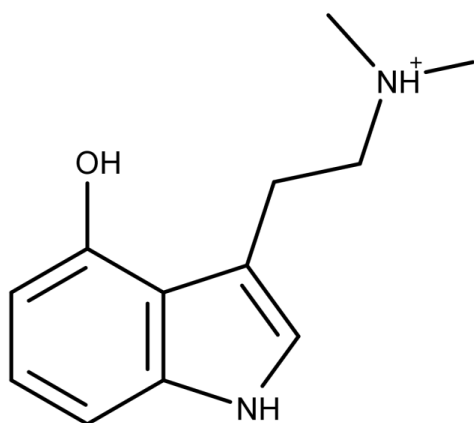
In vitro, la psilocybine a une faible affinité de liaison en tant qu'agoniste pour le récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A} par rapport à la forme active de la molécule, la psilocine.

La différence dans les affinités de liaison de la psilocybine et de la psilocine sur le récepteur humain 5-HT_{2A} est frappante. La constante de dissociation (K_i) pour la psilocybine est supérieure à 10 000 nM.

La psilocybine possède des affinités avec les récepteurs sérotoninergiques 5-HT 1E, 2B, 6 et 7.

Tous les sous-types de récepteurs 5-HT se trouvent à la fois dans le cerveau et les tissus périphériques, à l'exception des récepteurs 5-HT_{1E}, 5-HT_{2C} et 5-HT₆, pour lesquels l'expression est limitée en dehors du SNC. (23)

1.3.2 Psilocine



La psilocine est un alcaloïde dérivé de la psilocybine.

Son nom chimique est : 4-hydroxy-*N,N*-diméthyltryptamine. (Figure 7)

Sa forme pure est une poudre cristalline. Sa masse molaire est de 204,3 g/mol et son point de fusion est compris entre 173 et 176° C. (18)

Figure 7 : Molécule de psilocine (19)

C'est une molécule liposoluble, car elle est insoluble dans l'eau ainsi que les solvants aqueux. Cependant elle est peu soluble dans l'éther de pétrole et le chloroforme. (24)

Elle est soluble dans l'éthanol et le méthanol, de plus, la psilocine peut être diluée dans une solution aqueuse acidifiée et dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). (25)

La psilocine est très instable en solution, en présence d'oxygène et de conditions alcalines, elle forme immédiatement des produits de dégradation bleuâtres et noirs. Cela explique pourquoi les champignons du genre *Psilocybe* bleuissent au toucher.

Pour conserver la psilocine, il faut une température basse, de l'obscurité et une pression atmosphérique standard. (26)

1.3.2.1 Pharmacodynamie

La psilocine possède une forte action sur les récepteurs de la sérotonine. En 2010, le chercheur Thomas Ray a classé par ordre d'affinité les sous-types de récepteurs auxquels la psilocine se lie. De plus, il a découvert une affinité pour des récepteurs dopaminergiques, les récepteurs D1 et D3. (27)

Les chercheurs ont classé les affinités, pour les différents récepteurs, par le npKi, c'est la valeur logarithmique et normalisée de Ki. Elle est calculée par la formule :

$npKi = 4 + pKi - pKiMax$, où $pKi = -\log_{10}(Ki)$.

Une faible valeur de npKi signifie qu'il y a une forte liaison entre le récepteur et la molécule.

Par conséquent, ces données montrent clairement que la psilocine a une plus grande affinité agoniste pour la 5-HT_{2A} que la psilocybine. (23) (Tableau I)

Par ordre d'affinité, de la plus forte à la plus faible, la psilocine se lie aux récepteurs :

Récepteurs	npKi
5-HT 2A	2,14
5-HT 1B	2,19
5-HT 2C	2,52
D3	2,67
5-HT 6	2,82
5-HT 7	2,82
5-HT 5A	2,83
5-HT 1A	2,88
5-HT 1E	3,03
D1	3,37
5-HT 1D	3,40
5-HT 2B	4,0

Tableau I : Degrés d'affinité des différents récepteurs (27)

Il a également relevé une affinité sur les récepteurs aux imidazoline, alpha-adrénergiques alpha 2A, 2B et 2C qui reste cependant assez faible.

Par ailleurs, la psilocine interagit aussi faiblement, avec le transporteur membranaire SERT, du neurone post-synaptique, qui est impliqué dans la recapture de la sérotonine. (27)

I.3.3 Pharmacocinétique du couple psilocybine/psilocine

Le devenir de la psilocybine et de la psilocine étant étroitement lié, l'étude de la pharmacocinétique de ces deux molécules se fait simultanément.

C'est ce couple qui intéresse particulièrement la thérapeutique, car c'est la psilocine qui induit les effets recherchés, tandis que la psilocybine est le précurseur stable que l'on peut administrer facilement.

I.3.3.1 Absorption

La psilocybine étant une pro-drogue, elle nécessite une étape de déphosphorylation pour devenir la forme active, la psilocine.

Par voie orale, la psilocybine est rapidement déphosphorylée en psilocine, de par l'environnement acide de l'estomac, ou en rentrant en contact avec des phosphatases alcalines intestinales et estérases non spécifiques.

Dès lors, la psilocine peut alors être absorbée et pénétrée dans le système sanguin, la biodisponibilité de la psilocine est de $52,7\% \pm 20\%$, l'absorption est effectuée par le jéjunum et le côlon.

Par voie parentérale, ce sont les phosphatases alcalines, provenant des reins et du sang, qui vont procéder à l'étape de déphosphorylation de la psilocybine. (28) (29)

I.3.3.2 Distribution

On retrouve la psilocine dans le plasma sanguin 20 à 40 minutes suivant son administration par voie orale et le pic plasmatique va être atteint après 80 à 120 minutes. (30) (31)

La psilocine étant une molécule liposoluble, elle franchit facilement la barrière hémato-encéphalique et peut donc agir au niveau du système nerveux central sur les transmissions sérotoninergiques. (32)

I.3.3.3 Métabolisation

La métabolisation va permettre de transformer la pro-drogue en métabolite actif puis en métabolites secondaires afin de faciliter l'élimination des toxines. (Figure 8)

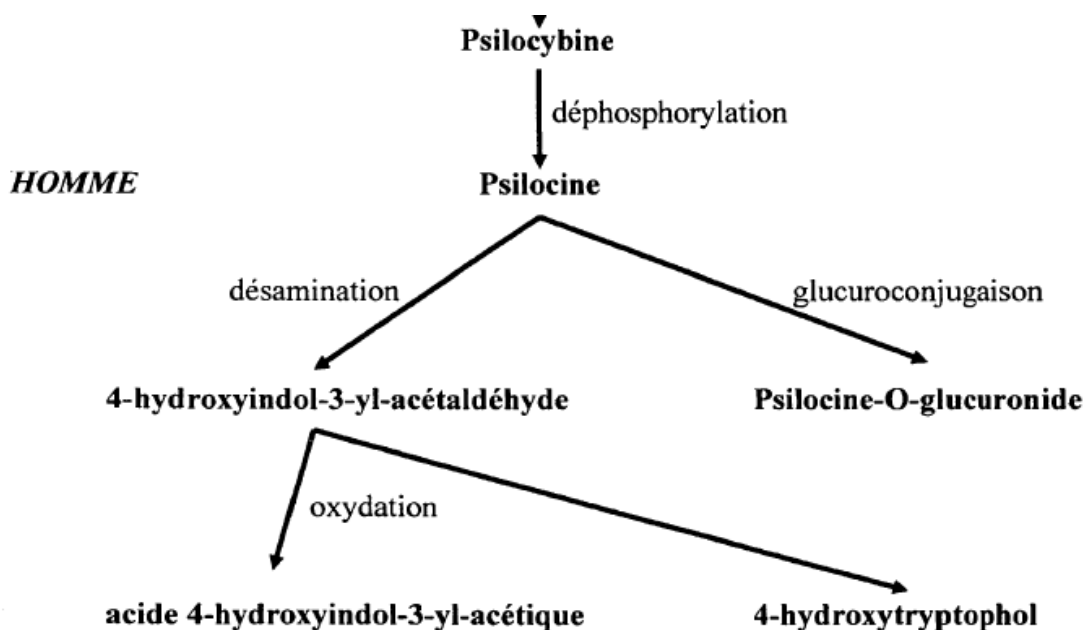


Figure 8 : Métabolisation de la psilocybine (17)

La psilocybine est déphosphorylée en psilocine par des enzymes de la muqueuse intestinale.

Elle est ensuite soumise au métabolisme oxydatif, la psilocine subit une déméthylation et une désamination pour devenir le 4-hydroxyindol-3-yl-acétaldéhyde (4-HIA). (31)

Ce métabolite va subir une oxydation, catalysée par la monoamine oxydase et l'aldéhyde déshydrogénase, d'origine hépatique, pour former de l'acide 4-hydroxyindol-3-yl-acétique et du 4-hydroxytryptophol. (32)

Ces métabolites sont mineurs, car environ 4% de psilocine sont ainsi dégradés, mais ils peuvent être détectés *in vivo* dans le plasma humain. (33)

La psilocine est glucuronidée en psilocine-*O*-glucuronide par des enzymes endoplasmiques, les UDP-glucuronosyl transférases (UGT), sous cette forme, 80% de la psilocine est excrétée par les urines. (34) (35)

La glucuronidation de la psilocine en psilocine-*O*-glucuronide semble être une étape de détoxification importante. (36)

1.3.3.4 Elimination

La demi-vie d'élimination de la psilocine dans le plasma est de deux heures et demie, après l'ingestion orale de psilocybine. (32) Après administration intraveineuse, la demi-vie d'élimination est de 1,23 h. 80% de la psilocine dans le plasma est présente sous la forme conjuguée, la psilocine-*O*-glucuronide. (37) Entre 90 et 97% de la psilocine et 3 à 10% de la psilocybine sont excrétées dans les urines humaines et particulièrement sous forme conjuguée avec de l'acide glucuronique. (38) La demi-vie d'élimination de la psilocybine est de 50 minutes et la constante d'élimination est de 0,307 par heure. (33) La majorité de la psilocybine est excrétée dans les 3 heures suivant l'administration orale et est complètement éliminée du corps en 24 heures. (38) (Figure 9)

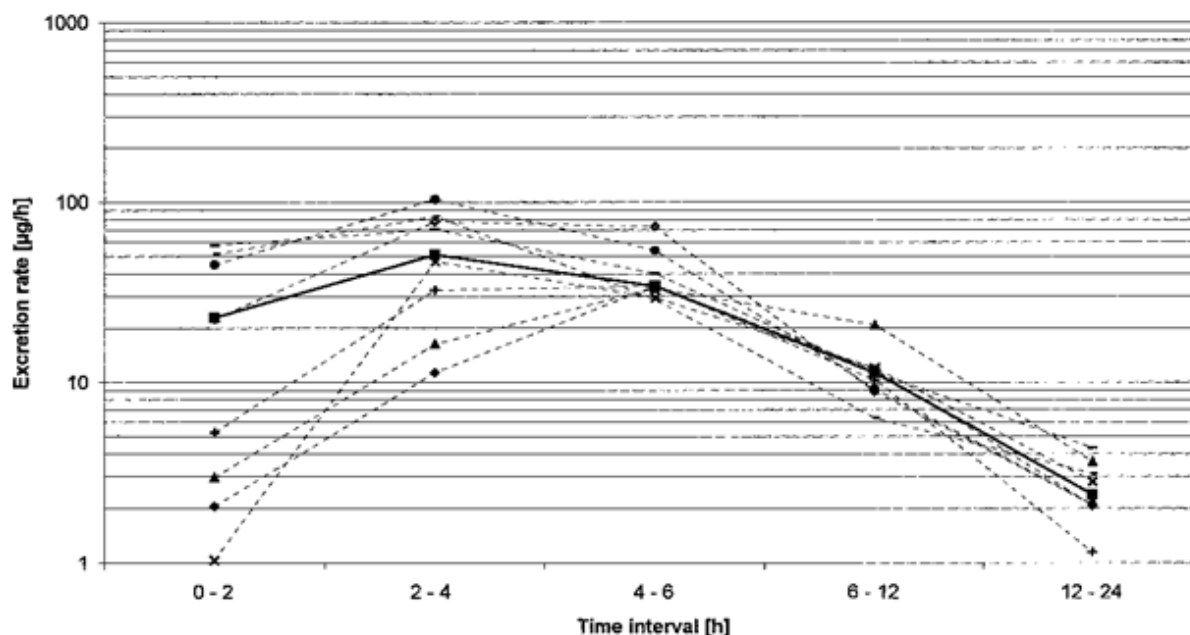


Figure 9 : Taux d'excrétion urinaire de la psilocine après administration orale de 212µg/kg de psilocybine sur 24h. Les courbes en pointillés sont les cinétiques individuelles des 8 sujets et la courbe continu représente la médiane de ces 8 patients. (38)

I.3.4 Autres alcaloïdes

I.3.4.1 Norpsilocine

La norpsilocine est un alcaloïde, dérivé de la psilocybine qui a été identifié par l'institut Hans-Knöl en Allemagne dans la ville de Jena en 2017.

Cette détection a été réalisée à partir de sporophores de *Psilocybe cubensis*, par spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) 1D et 2D et spectrométrie de masse haute résolution, avec une méthode qui prévient de la déphosphorylation des composés du champignon.

Cela a permis de déterminer avec précision le profil métabolique du *Psilocybe cubensis*.

Le nom chimique de la norpsilocine est ω-N-methyl-4-hydroxytryptamine. (Figure 10)

D'après les auteurs, la norpsilocine serait issue d'une déphosphorylation de la baéocystine dans l'organisme. (39)

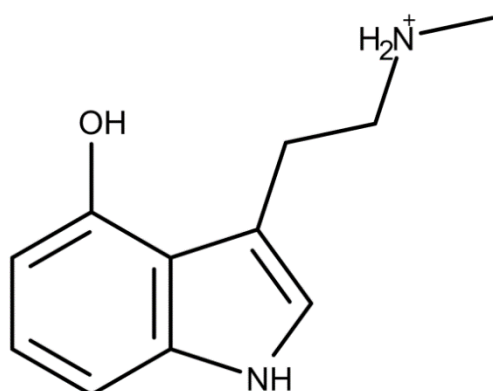


Figure 10 : Molécule de norpsilocine (40)

En 2020 Alexander Sherwood et son équipe ont effectué les premiers tests biologiques sur la norpsilocine et la baéocystine.

Ils ont effectué deux tests d'activité biologique comparant la norpsilocine et la baéocystine à la psilocybine.

Le premier test consiste à évaluer la réponse de contraction de la tête (HTR) chez la souris, cette contraction se traduit par un mouvement rapide de la tête d'un côté à l'autre, dû à l'activation du récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A}.

On extrapole cette réponse comme un indicateur comportemental des effets hallucinogènes chez l'homme, car on évalue les agonistes 5-HT_{2A} hallucinogènes des non hallucinogènes.

Le second test vise à étudier le flux de calcium, médié par la protéine Gq au récepteur 5-HT_{2A}, qui mesure l'activation de ces récepteurs.

Ils ont supposé que la raison pour laquelle la norpsilocine n'induit pas de contraction de la tête chez les souris était due à l'action des monoamines oxydase (MAO). Les MAO utilisent des atomes d'oxygène pour éliminer les groupes amines des molécules. Les auteurs ont noté que les amines secondaires ont tendance à être facilement décomposées par rapport aux amines tertiaires. Par conséquent, ils ont émis l'hypothèse que la norpsilocine qui est une amine secondaire, se dégrade plus rapidement dans l'organisme par rapport à la psilocine, qui est une amine tertiaire.

Les données ont montré que la psilocybine induit la contraction de la tête de manière dose-dépendante. Cependant, la baéocystine ne pouvait pas être distinguée des souris témoins qui avaient reçu une solution saline inerte.

De plus, d'après eux, la baéocystine n'a pas induit la contraction de la tête, car elle ne peut pas traverser la barrière hémato-encéphalique.

Les données *in vivo* combinées à l'évaluation des risques pharmacologiques suggèrent qu'il est peu probable que la baéocystine ou la norpsilocine, contribuent de manière significative aux effets hallucinogènes à médiation centrale, probablement en raison de la dégradation rapide par MAO ou de l'incapacité à traverser la barrière hémato-encéphalique.

Cependant, ils posent une hypothèse intéressante pour de futures études, la baéocystine pourrait potentiellement exercer un effet synergique avec la psilocine et la psilocybine en rivalisant pour la MAO, augmentant efficacement la concentration de psilocine dans le sang.

Dans un second essai, ils ont analysé l'affinité de la norpsilosine pour le récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A}. L'activation de ces récepteurs provoque la libération de calcium par les cellules. Les scientifiques ont donc mesuré le flux de calcium émanant des cellules, afin de quantifier l'activation du récepteur 5-HT_{2A}.

Ils ont mesuré l'amplitude d'effet (E_{max}) pour la norpsilocine sur le récepteur 5-HT_{2A} humain par rapport à la sérotonine, utilisée comme témoin car c'est un agoniste complet du récepteur.

La norpsilocine a un Emax correspondant à 93% de celui de la sérotonine sur le récepteur 5-HT_{2A} humain et 99% sur le murin.

Ils en concluent donc que la norpsilocine est un agoniste complet du récepteur 5-HT_{2A}, étant donné que l'Emax est proche de 100%. (Figure 11)

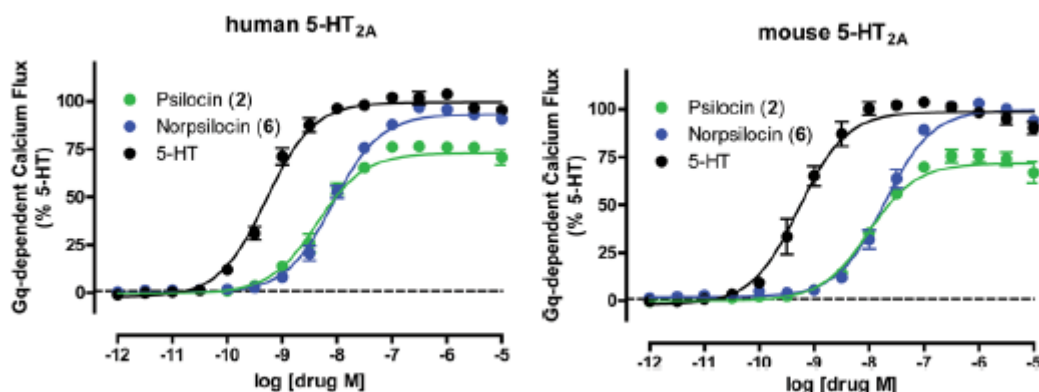


Figure 11 : Comparaison des affinités de la psilocine (2) et de la norpsilocine (6) par rapport à la sérotonine (5-HT), sur les récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{2A} humain et murin, en mesurant la libération de calcium, médié par l'activation de ces récepteurs. (41)

De plus, les valeurs de CE50, qui correspondent à la concentration efficace médiane, donc à 50% de l'effet maximum, pour la norpsilocine et la psilocine, sur le récepteur 5-HT_{2A} humain, étaient respectivement de 8,4 nM et 4,3 nM. Dans ce test, plus la CE50 est faible, plus l'effet est élevé.

Bien que la CE50 de la norpsilocine soit supérieure à celle de la psilocine, la différence de 4,1 nM est considérée comme négligeable par les chercheurs.

Ainsi, les auteurs ont décrit les composés comme approximativement équipotents. Pour le récepteur 5-HT_{2A} des souris, la CE50 est de 19,0 nM pour la norpsilocine et 9,9 nM, pour la psilocine.

L'observation selon laquelle la norpsilocine est plus puissante que la psilocine soulève encore plus de questions et présente donc une multitude d'opportunités de recherches. Il est donc nécessaire de poursuivre l'étude de l'activité biologique de la norpsilocine. (41) (Figure 12)

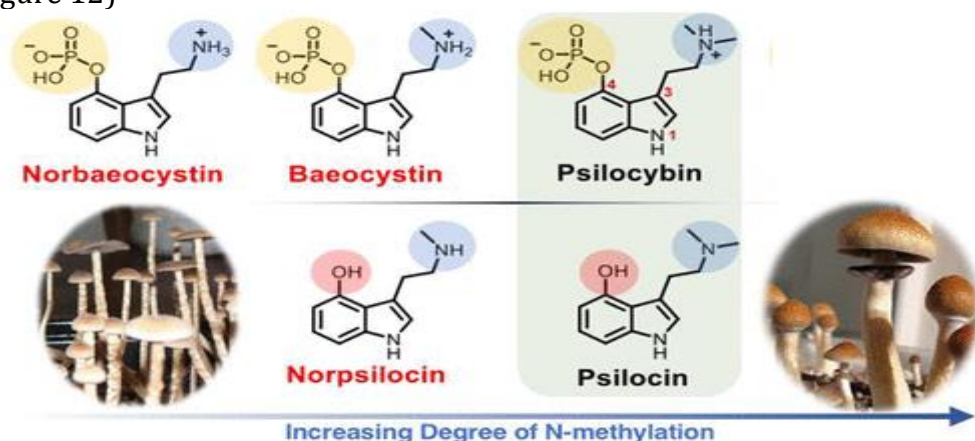


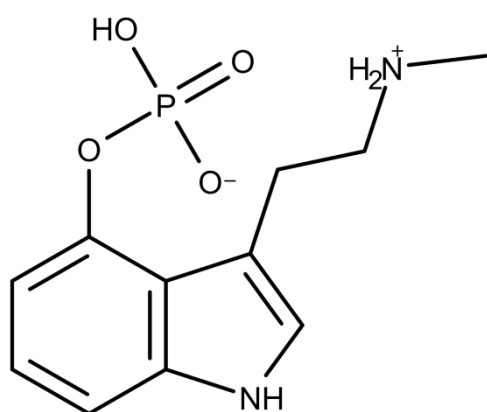
Figure 12 : Représentation des différents alcaloïdes détectés dans les *Psilocybes*, montrant les différences de méthylation. (41)

1.3.4.2 Baéocystine

La baéocystine est un dérivé de la psilocybine. Elle a été isolée pour la première fois à partir du *Psilocybe baeocystis* par Leung et Paul en 1968. (42)

En 1977, Repke, Leslie et Guzman l'ont isolé d'autres espèces telles que *Psilocybe semilanceata*, *Panaeolus renenosus*, *Panaeolus subbalteatus* et en 1987, Gartz l'identifie dans le *Pluteus salicinus*. (43) (44)

En 1994, ce dernier a décelé des taux de baéocystine pouvant atteindre 0,34% du poids sec, de certaines espèces de *Psilocybe*. Cette découverte laisse supposer que ce composé pourrait être physiologiquement actif dans les effets globaux des champignons. (45)



Le nom chimique de la baéocystine est 4-phosphoryloxy-*N*-méthyl-tryptamine. (Figure 13)

Chimiquement, la baéocystine diffère de la psilocybine par un groupe méthyle et est souvent décrite comme le dérivé *N*-déméthylé de cette dernière.

Elle a été synthétisée pour la première fois en laboratoire, en 1959, par Troxler *et al.* (46)

Figure 13 : Molécule de baéocystine (40)

Parmi les tryptamines connues présentes dans les champignons, la baéocystine et son métabolite déphosphorylé, la norpsilocine, seraient les candidats les plus susceptibles d'induire des effets de type psychédélique similaires à la psilocybine et à son métabolite analogue, la psilocine.

La difficulté de synthétiser et d'extraire la baéocystine, rend son étude encore difficile à étudier, mais les nouvelles perspectives de synthèse vont permettre d'analyser et tester cet alcaloïde plus facilement dans les années à venir, car elle pourrait générer et moduler des effets psychédéliques spécifiques. (41)

1.3.4.3 Bêta-carbolines

Les bêta-carbolines sont un groupe d'alcaloïdes biologiquement actifs qui sont très proches de la tryptamine.

En 2019, le scientifique Felix Blei et son équipe, ont découvert dans les sporophores de *P. cyanescens*, *P. semilanceata*, ainsi que chez *P. mexicana*, dans les sclérotés et le mycélium et dans le mycélium de *P. cubensis*, plusieurs alcaloïdes appartenant aux β-carbolines. Ils ont relevé des taux de 21 µg/g de ces alcaloïdes dans le mycélium et 0,2 µg/g dans les sporophores.

Dans les extraits, ils ont identifié les β -carbolines ; cordysinine C, cordysinine D, harmane, harmol, norharmane et perlolyrine, grâce à la spectroscopie de RMN 1D et 2D. (47) (Figure 14)

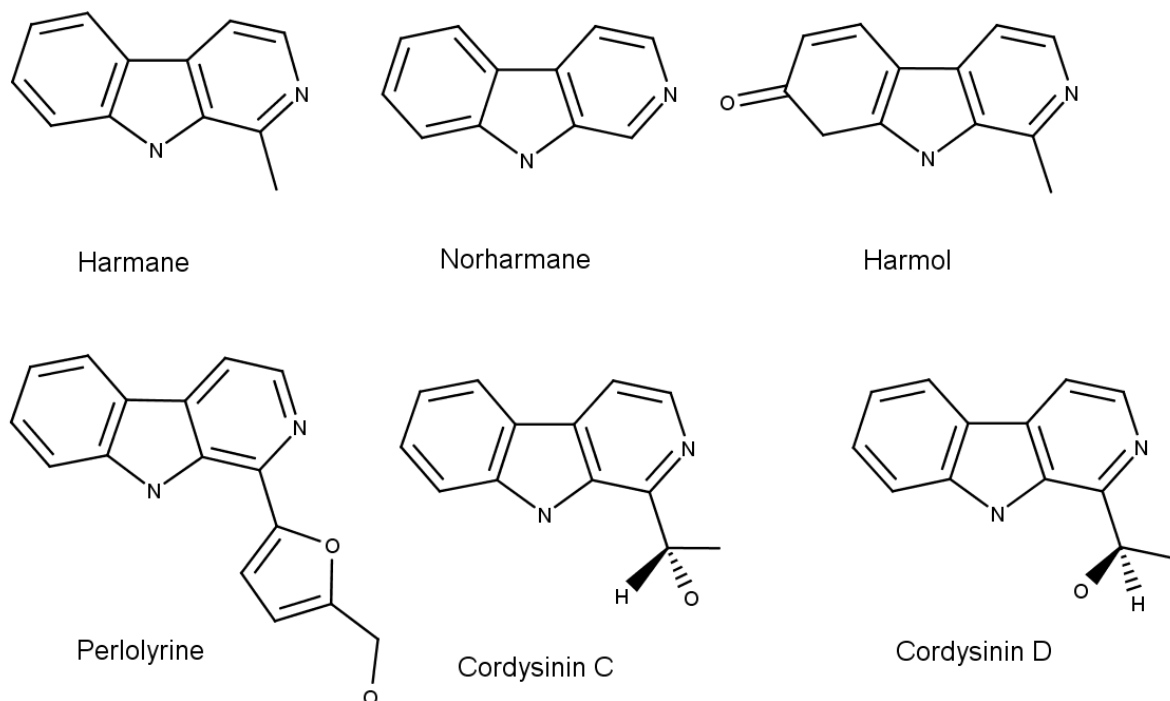


Figure 14 : β -carbolines détectés dans les *Psilocybes*. (47)

L'harmane est un métabolite alcaloïde eucaryote tricyclique. (48) (Figure 15)

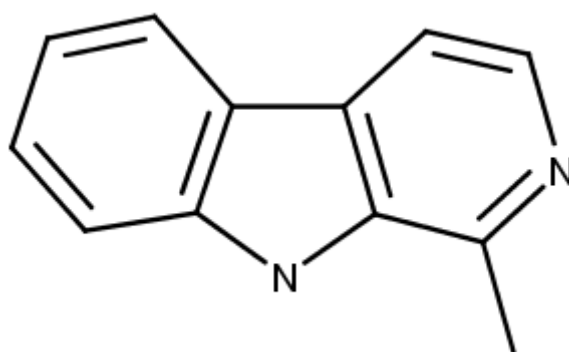


Figure 15 : Molécule d'harmane (47)

Comme d'autres composés de la famille des bêta-carbolines, l'harmane est hautement neurotoxique. (49)

Des taux élevés dans le sang sont associés à des tremblements essentiels et à la maladie de Parkinson. (48)

L'harmane est également un puissant inhibiteur de l'enzyme monoamine oxydase A, des oxydoréductases intervenant dans le catabolisme des monoamines (MOA-A). (50)

Une étude menée par Ferraz, indique que l'harmane et l'harmine, pourraient avoir des effets antidépresseurs.

Ces alcaloïdes modulent les systèmes sérotoninergiques et gabaergiques, favorisent la neurogenèse, induisent une réponse neuroendocrine et restaurent la fonction astrocytaire.

Ces molécules sont efficaces lorsqu'elles sont administrées de manière aiguë ou chronique dans différents modèles animaux, y compris des protocoles de stress chronique léger. (51)

De plus, certains de ces effets proviennent de la capacité de ces molécules à inhiber l'absorption de la sérotonine, de la dopamine, de l'adrénaline et de la noradrénaline via l'inhibition compétitive des récepteurs. (52)

Par ailleurs, c'est un agent antiviral qui détruit ou inhibe la réplication du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), *in vitro*. (53)

La norharmane est produite naturellement dans le corps humain et a également été isolée de la viande, du poisson, des boissons alcoolisées, du café et de la fumée de tabac. (Figure 16)

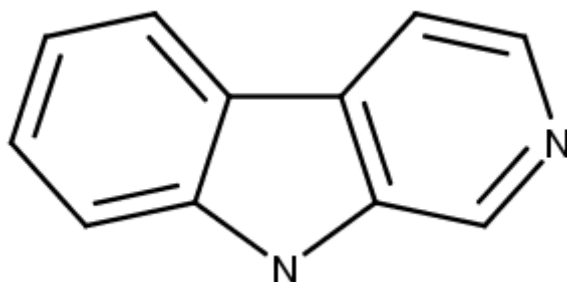


Figure 16 : Molécule de norharmane (47)

Il a été démontré que la norharmane isolée du café inhibe les enzymes de la monoamine oxydase (MAO), en particulier la MAO-A et la MAO-B. (50)

De plus, il a été démontré que la norharmane joue peut-être un rôle dans la maladie de Parkinson, bien que le mécanisme ne soit pas encore compris.

Les taux plasmatiques de norharmane des patients atteints de la maladie de Parkinson étaient significativement plus élevés que dans le groupe de contrôle.

Les chercheurs supposent que les niveaux élevés de norharmane et d'harmane sont dus à une régulation endogène, causée par des processus métaboliques inconnus visant à réduire le stress oxydatif, en inhibant les monoamines-oxydases dans les neurones. (54)

L'harmol est également un composé alcaloïde, qui est présent dans les fruits, les herbes, les épices et les baies d'argousier. L'harmol est le principal métabolite de l'harmine chez l'homme. (47) (Figure 17)

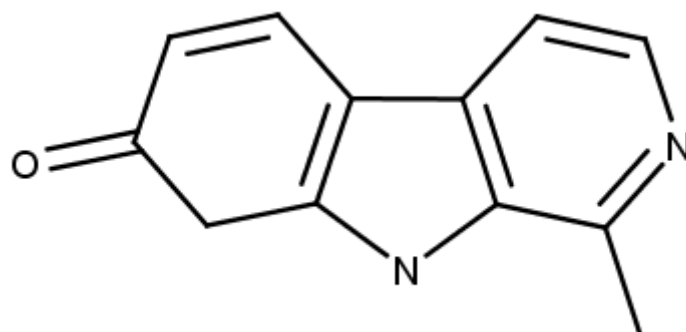


Figure 17: Molécule d'harmol (47)

L'harmine est un inhibiteur de la MAO, notamment la MAO-A.

De plus, des études scientifiques sur l'harmine indiquent qu'elle possède d'autres propriétés potentiellement bénéfiques. Ses effets comprennent des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, antioxydantes, antitumorales et cytotoxiques *in vitro*. (55)

Une autre étude a montré que l'harmine avait des effets antidépresseurs qui peuvent être médiés par son interaction avec la MAO-A et le récepteur de la sérotonine 5-HT_{2A}. (19)

On a encore trop peu d'informations sur ces alcaloïdes mais leurs récentes identifications dans les champignons du genre *Psilocybe* intriguent les scientifiques, notamment concernant leurs rôles dans l'effet psychédélique en général.

Les β -carbolines sont donc des composés neuroactifs qui interfèrent avec la dégradation de la psilocybine en tant qu'inhibiteur des monoamines oxydases. Tout en produisant des effets neuroactifs différents de la psilocine, ces composés contribuent directement ou indirectement aux mêmes effets pharmacologiques.

1.3.5 Les effets physiologiques et psychologiques chez le sujet sain

1.3.5.1 Doses et durée des effets

En termes d'efficacité, la psilocybine est 45 fois moins puissante que le LSD mais 66 fois plus puissante que la mescaline.

Les études cliniques indiquent que la dose efficace de psilocybine, à savoir la dose qui produit une réponse adaptée, par voie orale est de 0,045 à 0,429 mg / kg et de 1 à 2 mg par voie intraveineuse. (20)

Des effets psychédéliques surviennent à des doses supérieures à 15 mg par prise de psilocybine orale, ou à des taux plasmatiques de psilocine de 4 à 6 ng/ml. L'action de la psilocybine débute entre 20 et 40 min après l'administration orale, avec une activité

maximale entre 60 à 90 min, ensuite la durée de l'activité est de 4 à 6 h. Ces effets disparaissent entièrement en 6 à 8 h, complètement en 24 h.

Par voie intraveineuse, l'effet commence après 1 à 2 min, pointe à 4 à 5 min et dure environ 20 minutes. (31) (38) (56)

1.3.5.2 Effets sur les fonctions somatiques, physiologiques et endocriniennes

De manière analogue à celle des animaux, chez l'homme, la psilocybine stimule légèrement l'activité sympathique, c'est-à-dire qu'elle entraîne une légère augmentation de la pression artérielle et une augmentation de la fréquence cardiaque.

Ces symptômes sont constatés à des doses supérieures à 3 ou 5 mg par voie orale, avec un effet maximal entre 8 et 25 mg.

L'augmentation de la pression systolique et diastolique est d'environ 10 à 30 mmHg chacune.

Dans une étude menée par l'université de Zurich, dirigé par Félix Hasler, il a été mesuré en double-aveugle, le rythme cardiaque de 8 sujets prenant des doses de psilocybine allant de 45µg/kg à 315µg/kg, ainsi qu'un placebo.

Le rythme cardiaque moyen sous psilocybine était compris entre 82 et 87 battements par minute (BPM), les valeurs maximales atteignant 140 BPM, contre une moyenne de 77 BPM et des valeurs maximales atteignant 141 BPM. Ils ont constaté que la psilocybine a tendance à augmenter temporairement la pression artérielle. Cependant, la psilocybine n'a pas d'effet sur l'électrocardiogramme. (57) (58)

Dans une étude dirigée par Matthew Johnson, incluant 54 participants, ne souffrants d'aucun trouble psychiatriques, ni de dépendance à l'alcool ou de drogues, il a été relevé les diverses sensations ressenties par les volontaires. Durant la séance, ils étaient en permanence accompagnés d'un moniteur qui constaté les symptômes. Les doses élevées de psilocybine étaient déterminées selon chaque niveau d'expérience et morphologie des patients.

Les symptômes courants sont des étourdissements, faiblesses, tremblements, nausées et vomissements, notamment après l'ingestion de champignons contenant de grande concentration de psilocybine, somnolence, paresthésie, vision floue et augmentation des réflexes de tension. (59)

Les nausées, vomissements et les douleurs abdominales accompagnées de diarrhées ou non, seraient liés, de façon non spécifique aux *Psilocybes*, à la consommation des champignons, qui sont des denrées alimentaires difficiles à digérer.

On relève également une mydriase, une augmentation des larmes, une légère hausse de la température corporelle pouvant induire des sueurs ainsi qu'une érection pileuse.

De même une augmentation de la diurèse et l'apparition de céphalées ont été rapportés. (60) (61)

La psilocybine n'affecte pas de manière aiguë l'équilibre ionique, la glycémie ou la cholestérolémie. Par ailleurs, à fortes doses, son effet est négligeable sur la concentration plasmatique ou l'activité de diverses enzymes telles que le lactate déshydrogénase, l'alanine transaminase, la phosphatase alcaline et la cholinestérase.

Elle entraîne cependant une légère élévation de l'aspartate amino transférase et du γ -glutamyltransférase. Ces élévations peuvent traduire une atteinte hépato-biliaire.

En revanche, la psilocybine augmente les niveaux de prolactine et, à fortes doses, la corticolibérine et donc le cortisol, ainsi que la thyroolibérine qui stimule la synthèse et la libération de la thyroestimuline (TSH). Une hyperprolactinémie engendre une baisse de libido, des nausées, des risques d'ostéoporose, de galactorrhées et d'aménorrhées. L'hypercortisolémie favorise la prise de poids, augmente le risque d'ostéoporose, l'apparition de diabète et d'hypertension artérielle et peut perturber les cycles menstruels. De plus l'augmentation de la thyroestimuline peut provoquer une hypothyroïdie.

Les taux d'hormones retrouvent leurs valeurs physiologiques, 5 h après l'ingestion des champignons. (58)

1.3.5.3 Effet sur les fonctions psychiques

De très faibles doses de psilocybine, de 45 μ g/kg à 115 μ g/kg, provoquent de la somnolence et accentuent l'humeur préexistante du consommateur, qu'elle soit positive ou négative.

Des doses moyennes, 215 μ g/kg, induisent un état de conscience altéré contrôlable. Des doses plus élevées, 315 μ g/kg, provoquent une forte expérience psychédélique. (32) (58)

La psilocybine a un impact sur l'état émotionnel du consommateur. Elle peut entraîner des modifications de l'humeur telles qu'un état euphorique ou bien alors dysphorique.

Des épisodes de rires incontrôlables peuvent également apparaître, de même que généralement les sujets deviennent plus actifs et extravertis.

D'un point de vue sensoriel, le sujet peut ressentir une sensation de malaise général, des vertiges, acouphènes, des bâillements répétés, une paralysie labiale, des tremblements incontrôlables, engourdissements, l'équilibre et la coordination sont perturbés, les réflexes ostéo-tendineux ont une réponse exagérée. (20)

Les manifestations de l'intoxication à la psilocybine comprennent des changements de perceptions tels que des états de rêve, illusions, hallucinations et synesthésies. Les synesthésies se caractérisent par la capacité à traduire ou à ressentir des expériences relatant d'une modalité sensorielle, tel que l'odorat. C'est-à-dire que les patients associent une odeur à une couleur.

La perception de l'espace et du temps sont altérés, quant aux perceptions sensorielles, celles-ci subissent une hyperesthésie, c'est-à-dire que toute stimulation sensorielle va engendrer une sensibilité exagérée, notamment au niveau visuel, auditif et tactile. (17) (61)

Le sens le plus affecté par l'expérience psychédélique est la vue, qui se manifeste de différentes manières. On peut avoir une augmentation d'images perçues par le sujet lorsqu'il a les yeux fermés.

Avec les yeux ouverts, le sujet est soumis à des illusions optiques telles que des macropsies ou micropsies, une altération de la taille des objets perçus en estimant une taille supérieure ou inférieure à la taille réelle.

Il a également été relevé des hallucinations de deux types, celles élémentaires et les complexes. (17) (62)

Les hallucinations élémentaires se traduisent par des phosphènes qui sont une impression d'apparition de taches ou de lumière dans le champ visuel, persistante les yeux fermés, de nuances intenses et agréables pour le sujet.

Tandis que les hallucinations dites complexes peuvent représenter des objets animés, des êtres vivants non présents ainsi que des autoscopies externes ou internes, hallucinations où la personne croit voir l'intérieur de son corps ou se voir elle-même. De plus, des visions en mosaïques ou en kaléidoscopes sont fréquemment rapportées. (63)

Certaines hallucinations peuvent être auditives, elles se manifestent par des acouphènes, les sons et musiques sont amplifiés, en revanche certains bruits vont avoir des perceptions erronées.

On rapporte également des hallucinations de tacts, appelées cénesthésies, elles correspondent à des sensations de légèreté, d'engourdissement ou de lourdeur du corps entier ou d'une partie. (62)

1.3.5.4 Effets indésirables

1.3.5.4.1 Physiologiques

De nombreuses études toxicologiques et cliniques ont conclu à une très faible toxicité de la psilocybine.

Le seul décès rapporté a été décrit après l'ingestion d'une dose extrême de *Psilocybe semilanceata*, la concentration plasmatique de psilocine était de 4 µg / ml.

Une dose mortelle humaine de psilocybine est difficile à estimer, il faudrait environ 19 g de psilocine pur pour une personne de 70 kg, cela a été extrapolé à l'humain par rapport à la dose létale chez les souris estimé à 280 mg/kg, ou bien alors consommer son poids corporel de champignons frais contenant de la psilocybine pour entraîner la mort. (20)

A des doses psychoactives, au niveau cardiaque, les individus prédisposés à l'hypertension et la tachycardie peuvent être affectés. La stimulation excessive aux catécholamines peut provoquer des défaillances, dont des faits d'infarctus du myocarde ont été rapportés, ainsi que des arythmies, des cardiomyopathies et des syndromes coronariens aigus. (64)

Au niveau neurologique, des céphalées ainsi que des asthénies ont été relevées, mais elles ont tendance à disparaître dans les 24h suivant la consommation. Tandis que les troubles du sommeil vont être résolus dans les 12h. (62)

I.3.5.4.2 Psychologiques

Des doses extrêmement élevées de psilocybine peuvent provoquer un coma, une hyperthermie et une insuffisance respiratoire, ce sont les symptômes du syndrome sérotoninergique.

Certains effets vont être des effets psychiques antagonistes aux effets voulus. Ils se traduisent par de l'anxiété, des expériences paranoïdes, la déréalisation, le syndrome post hallucinatoire persistant : "flash-back", noté HPPD (Hallucinogen Persisting Perception Disorder). L'apparition de ces effets va être favorisée avec la consommation concomitante d'alcool. (65) (66)

Le syndrome post hallucinatoire persistant se caractérise par une survenue inattendue et soudaine de certains aspects de l'expérience psychédélique vécue, tandis que la substance hallucinogène n'est plus présente dans l'organisme. Cet épisode peut survenir en cas de stress, ou serait dû à des anomalies dans la fonction du système nerveux central.

La durée de l'épisode peut varier de quelques secondes à plusieurs heures. (67)

On estime que l'incidence de ce syndrome n'est que dans quelques cas par million d'utilisateurs. Des troubles psychiatriques non diagnostiqués, ou la consommation d'autres substances psychoactives pourraient favoriser la survenue de ce syndrome. (59)

Les consommateurs récréatifs parlent de "bad-trip" lorsque leur expérience psychédélique ne se déroule pas comme ils le souhaitent.

Les symptômes décrits vont être une anxiété, une désorientation, une confusion et une agitation, toutes ces sensations sont amplifiées et sévères. Les capacités de jugement et de concentration vont être altérées, d'où un retour à la réalité qui peut être long et difficile.

Viennent ensuite des moments de tristesse qui peuvent persister sous forme d'état dépressif durant plusieurs mois avec une interprétation paranoïde, et qui semblent être associés à des faiblesses physiques et psychiques.

Ce sont les "bad-trips" qui conduisent généralement le consommateur à consulter en urgence le corps médical. (60)

Ce sont ces effets antagonistes qui peuvent engendrer des comportements à risques pour l'individu lui-même ou contre les autres. Ces effets peuvent survenir dans l'heure qui suit la consommation, voire se manifester jusqu'à 4h après. (68)

Le risque de psychose prolongée, d'une durée de plus de 48h, chez des sujets en bonne santé après avoir ingéré une dose de psilocybine est rare, la plupart des cas sont associés à des troubles psychiatriques préexistants. (59)

I.4 Législation en France

I.4.1 Cadre législatif

D'après l'ANSM, les stupéfiants et les psychotropes sont des substances psychoactives pouvant, dans le cadre d'un usage détourné, faire l'objet de pharmacodépendance ou d'abus. La pharmacodépendance se caractérise par le désir obsessionnel de se procurer et de s'administrer une substance. L'abus de substances psychoactives se définit comme l'utilisation excessive et volontaire, permanente ou intermittente, ayant des conséquences préjudiciables sur la santé physique ou psychique.

L'objectif de ces dispositions est de limiter l'usage des stupéfiants et des psychotropes aux seules fins médicales et scientifiques et d'encadrer leur utilisation afin d'éviter tout abus ou détournement vers le trafic illicite.

L'ANSM a mis en place un système permettant la surveillance des cas d'abus et de dépendance liés à la prise de substances ou plantes ayant un effet psychoactif ainsi que de tout médicament ou autre produit en contenant.

En France, c'est le Code de la santé publique et le Code pénal qui recensent les molécules et plantes considérées comme stupéfiantes, dans un arrêté publié le 22 Février 1990. Cet arrêté est régulièrement mis à jour à chaque découverte de nouveaux psychoactifs.

L'annexe III de l'arrêté répertorie la psilocybine, la psilocine, leurs sels, leurs métabolites et toutes préparations contenant un de ces composés chimiques comme stupéfiants.

Par ailleurs, l'annexe IV recense des genres de champignons connus comme hallucinogènes tels que *Stropharia*, *Conocybe* et *Psilocybe*.

Le Code de la santé publique et le Code pénal stipule donc que le ramassage, la détention, la production, l'usage, la consommation, le transport, la cession, y compris par un don, sont prohibés. Sauf si par dérogation, la personne obtient une autorisation par arrêté, de la part du ministère de la santé. (69) (70)

I.4.2 Peines encourues

D'après le Code de la santé publique, l'usage illicite de ces composés expose le sujet à une peine d'un an d'emprisonnement et de 3750 euros d'amende, article L3421-1.

En pratique, les interpellations pour détention et/ou consommation, ne suggérant pas la vente, sont assortis d'un avertissement, pouvant être associé par le juge, à un suivi par un médecin exerçant dans un service d'aide à la personne ou dans un service de santé. En cas de récidive, le juge peut demander une cure de désintoxication ainsi que d'une aide psychologique.

L'offre ou la cession de ces substances à une personne en vue de sa consommation, condamne le sujet à une peine de cinq ans de prison et 75 000 euros d'amende d'après l'article 222-39 premier alinéa, du Code pénal. La peine de prison peut s'élever à dix années si des mineurs sont mis en cause, 222-39 deuxième alinéa.

Les peines maximales encourues sont de dix années de prison et 7 500 000 euros d'amende pour le transport, la détention, l'offre, la cession, l'acquisition et l'emploi illicites de stupéfiants, d'après le Code pénal article 222-37 premier alinéa. Tout comme la facilitation de l'usage ainsi que la prescription d'ordonnance fictive ou de complaisance, article 222-37 deuxième alinéa. (69) (70)

II Utilisations thérapeutiques

Toutes les études décrites ci-dessous visent à soulager, voire traiter, des pathologies bien connues et dont il existe des traitements référents auxquels la psilocybine va pouvoir être comparée.

II.1 Dépression résistante aux traitements classiques

3 à 17 % de la population adulte souffre d'un épisode dépressif majeur. Parmi ceux-ci, 15 à 30 % présentent une dépression résistante aux traitements classiques.

Un épisode dépressif majeur est considéré comme résistant, si, après deux traitements avec différentes classes thérapeutiques, de durée et de dosage adéquats, aucune réponse clinique acceptable n'est observée. (71)

Ce type de dépression est associé à de nombreuses comorbidités psychiatriques. 40 % des patients souffrant de cette pathologie présentent un trouble anxieux. D'autres comorbidités y sont associées, tels que le trouble panique, la phobie sociale, les caractéristiques mélancoliques, et les troubles de la personnalité.

Il existe également des associations prouvées avec de nombreuses pathologies somatiques comme l'hypothyroïdie, le syndrome de Cushing et des troubles neurologiques. (72)

L'hypothèse monoaminergique stipule que la dépression est due à un déséquilibre chimique des neurotransmetteurs de sérotonine, dopamine et noradrénaline, dans le cerveau. C'est sur cette hypothèse que reposent les traitements antidépresseurs actuels, on utilise des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline.

Les antidépresseurs régulent les structures cérébrales de ces trois monoamines, qui jouent sur les émotions, les réactions au stress, le sommeil, l'appétit et la sexualité. (73)

La noradrénaline permettrait un degré d'alerte, d'attention, d'énergie, mais aussi d'anxiété ainsi que d'intérêt pour la vie. Le manque de sérotonine pourrait entraîner de l'anxiété, des compulsions, de l'irritabilité et des obsessions. La dopamine influencerait sur l'attention, la motivation, l'envie d'être récompensé, le plaisir, de même que l'intérêt porté à la vie. (74)

On comprend alors l'intérêt d'étudier la psilocybine et la psilocine dans la dépression, de par leur activité agoniste sur les récepteurs sérotoninergiques et dopaminergiques.

Dans une étude de Robin Carhart-Harris en 2016, le chercheur et son équipe ont étudié la faisabilité, l'innocuité et l'efficacité de la psilocybine chez les patients souffrant de dépression unipolaire résistante aux traitements classiques. (75)

Cet essai clinique a été réalisé de manière ouverte, c'est-à-dire qu'il n'y avait pas de groupe de contrôle.

L'étude inclut 12 patients, 6 hommes et 6 femmes, atteints de dépression majeure modérée à sévère, unipolaire et résistante aux traitements.

Les patients ont reçu deux doses orales de psilocybine, 10 mg et 25 mg, à 7 jours d'intervalle, ainsi que l'environnement d'un cadre favorable. Un soutien psychologique a été fourni avant, pendant et après chaque séance.

Le critère de jugement principal pour la faisabilité était l'intensité des effets de la psilocybine rapportée par le patient.

Les patients ont été surveillés pour les effets indésirables pendant les séances de dosage et la clinique et le suivi à distance ultérieurs.

Les principaux effets indésirables relevés sont :

- Une anxiété passagère lors de la prise de la psilocybine sous forme de gélule, chez tous les patients.
- Une confusion ou un trouble de la pensée transitoire, chez neuf patients.
- Des nausées légères et transitoires, chez quatre patients.
- Des céphalées transitoires, chez quatre patients.

Ces événements indésirables sont des effets psychologiques connus et attendus de la psilocybine.

Étant donné qu'il s'agissait d'une étude de faisabilité à petite échelle avec une conception ouverte, il est impossible de tirer des conclusions solides sur l'efficacité thérapeutique du traitement.

Cependant, les données suggèrent que des recherches supplémentaires sont justifiées. Par rapport à l'inclusion, les symptômes dépressifs ont été nettement réduits au bout d'une semaine, après un traitement à haute dose. Des améliorations marquées et soutenues de l'anxiété et de l'anhédonie ont également été notées.

De plus, sept patients répondaient également aux critères de rémission. De même que sept des patients ont maintenu leur réponse pendant 3 mois et cinq sont restés en rémission.

Cette étude fournit une première approche en termes d'innocuité et d'efficacité de la psilocybine dans la dépression résistante au traitement et encourage la réalisation d'autres essais, avec des conceptions plus rigoureuses, pour mieux examiner le potentiel thérapeutique de cette approche.

Cette étude cherchait à évaluer l'innocuité et la tolérabilité de la psilocybine avec un soutien psychologique chez les patients souffrant de dépression unipolaire résistante au traitement.

Les résultats soutiennent la faisabilité de cette approche, l'ampleur et la durée de la gravité des symptômes post-traitement, motivent d'autres recherches contrôlées.

La psilocybine a une nouvelle action pharmacologique en comparaison avec les traitements actuellement disponibles pour la dépression et pourrait donc constituer une approche intéressante aux thérapies disponibles pour le traitement de la dépression. (75)

II.2 Troubles anxieux en relation avec le cancer

II.2.1 Introduction

Les patients à qui l'on a diagnostiqué un cancer sont susceptibles de développer des troubles anxieux liés à l'évolution de la maladie et du traitement. Ces troubles affectent plus particulièrement les jeunes patients et les femmes.

Ne pas prendre en charge ces troubles chez ces patients peut :

- Perturber les soins médicaux, en retardant les consultations, provoquer un évitement voire une rupture des soins, tout comme la perte de confiance envers le personnel médical et les soins. De même la compréhension des informations données par les soignants peut être altérée.
- Exacerber des symptômes d'effets indésirables liés aux traitements, tels que les nausées, vomissements, douleur, ou des symptômes somatiques de la pathologie.
- Favoriser l'apparition d'un épisode dépressif caractérisé. (76)

II.2.2 Essais cliniques

A ce jour, deux essais cliniques ont été réalisés :

En 2011, le professeur Grob (77) a réalisé une étude en double aveugle, contrôlée par un groupe placebo, incluant douze patients, tous atteints de cancers à un stade avancé et présentant des troubles anxieux. Les objectifs étaient d'explorer l'innocuité et l'efficacité de la psilocybine chez ces patients.

La dose utilisée était de 0, 2 mg/kg de psilocybine par voie orale, comparé à un placebo actif la niacine, vitamine B3, administré en séances séparées de plusieurs semaines d'intervalle.

Les réponses physiologiques et psychologiques ont été documentées. En se basant sur la sous-échelle d'anxiété de l'inventaire d'anxiété état-trait (State-Trait Anxiety Inventory = STAI), il a été démontré une réduction de l'anxiété de 1 et 3 mois après le traitement. L'échelle de Beck, est un questionnaire qui permet d'estimer l'intensité des sentiments dépressifs, a révélé une amélioration de l'humeur persistante jusqu'à 6 mois.

De plus, aucun effet indésirable significatif n'a été rapporté suite à l'administration de la psilocybine.

Cette étude a établi la faisabilité et l'innocuité de l'administration de doses modérées de psilocybine à des patients atteints de cancer et d'anxiété à un stade avancé. Certaines de ces données ont révélé une tendance positive à l'amélioration de l'humeur et de l'anxiété. (77)

Dans l'étude de 2016 du professeur Griffiths (78), ce dernier a utilisé une conception croisée en double aveugle pour comparer une dose de psilocybine très faible, conçue comme un placebo 0,014 ou 0,043mg/kg, à une dose de psilocybine modérément élevée, 0,31 ou 0,43 mg/kg, chez 51 patients dans un environnement qui réduit la variation des effets. L'intérêt de cet essai est d'évaluer les effets de ces différentes doses sur les mesures de l'humeur dépressive, de l'anxiété et de la qualité de vie. De plus, cela permet d'analyser les changements d'attitudes et de comportements dans le temps.

Les patients étaient diagnostiqués avec l'un des multiples troubles possibles liés à l'humeur ou à l'anxiété, en relation avec un diagnostic de cancer potentiellement mortel. Les deux séances d'administration ont été séparées de 5 semaines.

L'étude a montré que la dose élevée de psilocybine se traduisait par de nombreux résultats cliniques améliorés, par rapport aux patients traités à de plus faibles doses. De plus, les échelles d'évaluation de l'anxiété et de la dépression ont toutes montré des réductions importantes des symptômes et persistantes lors du suivi effectué à 6 mois.

Ces résultats sont intéressants car ils montrent des bénéfices persistants pendant plusieurs mois après une seule administration de psilocybine, mais aussi en raison de l'amélioration des symptômes liés aux anxiétés, telles que les nausées et vomissements, induits par les traitements. Après 6 mois, environ 80% des participants ont continué à montrer des diminutions significatives de l'humeur dépressive et de l'anxiété. Environ 60% ont montré une rémission de leur état dépressif. (78)

II.2.3 Conclusion

La psilocybine pourrait donc avoir une efficacité thérapeutique potentielle pour la détresse psychiatrique dans les cas de cancer en phase terminale et non terminale. Mais cela peut concerner également tous les états cancéreux et non cancéreux. Les recherches futures devraient étudier les différences potentielles d'efficacité dans les états physiologiques ou pathologiques.

II.3 Troubles obsessionnels compulsifs

II.3.1 Introduction

Le Trouble Obsessionnel Compulsif (TOC) est la quatrième maladie mentale la plus répandue, après la dépression, la toxicomanie et les phobies spécifiques. Affectant plus de 2% de la population mondiale à un moment de leur vie, le TOC peut être profondément angoissant et perturbateur. Il représente la dixième cause d'invalidité dans le monde. (79)

Le TOC est un trouble neuropsychiatrique qui s'exprime pour les patients par des pensées récurrentes, intrusives et/ou répétitives, ce qui résume les obsessions. Cela peut être des comportements stéréotypés ou des compulsions qui durent au moins une heure par jour et interfèrent de manière significative avec la vie normale de l'individu. (79)

II.3.2 Intérêt de la psilocybine

Un modèle explicatif pour le TOC propose un déséquilibre entre la voie directe et indirecte.

La voie directe active le cortex frontal, où se situent les aires motrices, dont l'action débute dans le cortex cérébral, se poursuivant dans le striatum, ensuite à la substance noire, puis relie le pallidum interne, se prolonge dans le thalamus et se termine dans le cortex frontal.

La voie indirecte inhibe le cortex frontal, en passant par le striatum, continue dans le pallidum externe avant de se poursuivre dans le noyau sous-thalamique et rejoint le circuit de la voie directe par le pallidum interne.

On comprend que la voie directe induit le mouvement tandis que la voie indirecte l'inhibe. (Figure 18)

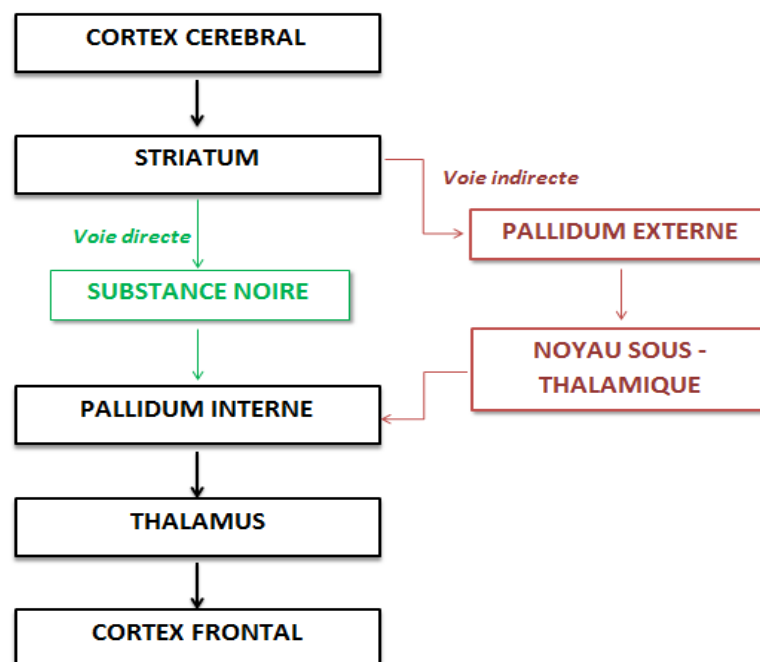


Figure 18 : Représentation schématique du circuit du mouvement au travers des ganglions de bases.

Ce serait donc une activité accrue dans la voie directe par rapport à la voie indirecte qui entraînerait un thalamus désinhibé, créant un circuit hyperactif autorégulé entre le thalamus et le cortex orbitaire qui entraîne les symptômes du TOC.

Des études de neuroimageries ont identifié une augmentation du flux sanguin et de la consommation d'énergie dans le cortex orbito-frontal, le striatum et le thalamus des personnes atteintes de TOC. (80) (81)

On comprend alors que le manque de sérotonine qui perturbe cette boucle rétroactive, peut être compensé par la psilocybine en sensibilisant les neurones de ce circuit à ses effets.

En améliorant l'effet inhibiteur de la sérotonine dans le cortex fronto-orbital, la psilocybine peut réduire l'excès d'activité excitatrice que l'on pense soutenir les obsessions, tout en régulant simultanément à la baisse l'expression des récepteurs 5-HT2A. (82) (83)

II.3.3 Essai clinique

Francisco Moreno et ses collègues de l'Université de l'Arizona, ont publié en 2006 une étude clinique en double-aveugle (84), analysant l'effet de la psilocybine chez des patients atteints de trouble obsessionnel compulsif. L'essai a recruté neuf patients, avec des symptômes modérés à sévères. Chaque patient a reçu trois doses de psilocybine, séparées d'une semaine, dont les doses ont augmenté à chaque séance, des doses faibles 100 µg / kg, moyennes 200 µg / kg et élevées 300 µg / kg ont été attribuées.

De plus une très faible dose 25 µg / kg, a été insérée au hasard et en double aveugle à tout moment après la première dose chez certains patients.

En plus d'établir un profil de sécurité pour l'administration du psychédélique dans ce type de cohorte, l'étude avait pour but principal de déterminer si le traitement offrait une amélioration à court terme des symptômes du TOC, dans les heures suivant l'administration d'une dose.

Les résultats ont montré que tous les patients présentaient une amélioration de leurs symptômes de TOC dans les 24 heures suivant une administration. Les effets à long terme étaient moins significatifs, mais toujours pertinents, avec deux sujets rapportant un soulagement jusqu'à une semaine, et un patient montrant une rémission soutenue des symptômes de TOC à un suivi de six mois. (84)

II.4 Algie vasculaire de la face

L'algie vasculaire de la face (AVF) est une affection caractérisée par de vives douleurs au niveau du visage, typiquement à proximité d'un œil, ce trouble peut être associé à des signes dits végétatifs homolatéraux variables, tels que des œdèmes palpébraux, un œil rouge et/ou larmoyant, mais aussi une sudation au niveau du front. Il s'agit d'une affection rare, dont la prévalence varie entre 0,01% et 0,1%, soit entre 10 000 et 60 000 patients en France, touchant majoritairement l'homme jeune fumeur. (85)

Une étude (86) a inclus 53 patients souffrant d'algie faciale qui ont utilisé de la psilocybine dans l'objectif de soulager leurs symptômes. Cette analyse est intéressante car les thérapies actuelles montrent une efficacité limitée dans le traitement de ce trouble et la douleur résultant de la pathologie est souvent sévère et incapacitante.

Les résultats suggèrent une efficacité du traitement avec des doses qui n'entraînent pas d'effets psychoactifs importants.

22 des 26 utilisateurs de psilocybine ont signalé que la psilocybine avait interrompu une crise débutante, lorsque la substance était prise dans ce but. 25 des 48 utilisateurs de psilocybine ont signalé la fin de la crise. 18 des 19 utilisateurs de psilocybine ont signalé une prolongation de la période de rémission. (86) (87)

Les hypothèses envisagées pour expliquer les effets de la psilocybine, serait une réduction du flux sanguin vers l'hypothalamus, ou alors, l'activité de la psilocybine sur les récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1B} et/ou 5-HT_{1D}, qui est similaire à celle de la famille des triptans, dont le sumatriptan est utilisé pour traiter une crise. (27) (88) (89)

Bien que l'efficacité potentielle de la psilocybine pour les algies faciales soit intéressante, il est important de notifier que les déclarations sont basées sur des individus utilisant des substances non réglementées, et n'impliquent aucun contrôle des effets placebo.

II.5 Antibiotique

Le premier antibiotique à avoir été isolé et identifié, est la pénicilline contenue dans le champignon *Penicillium notatum*, par Alexander Fleming en 1928 par hasard. Dès lors de nombreux champignons ont subi des essais afin de connaître leur capacité antimicrobienne, car il est urgent d'isoler de nouvelles molécules en vue de contrer l'émergence accrue de résistances à nos antibiotiques actuels.

L'efficacité chez l'Homme des antibiotiques provenant des champignons est due aux nombreux gènes que nous possédons en commun, environ 30%. On retrouve parmi les bactéries colonisant l'Homme, *E.coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Listeria monocytogenes*, elles parasitent également les champignons.

Ainsi, les défenses antibiotiques développées par les champignons nous sont également extrêmement utiles dans la lutte contre les infections bactériennes, du fait de nos ennemis communs. (90)

II.5.1 Essais avec le *Psilocybe cubensis*

Dans une étude *in vitro* menée, en 2020, Dhanasekaran et al (91) ont comparé les propriétés antibiotiques du *Psilocybe cubensis* par rapport à l'ampicilline, une référence antibiotique.

Les souches étudiées sont *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi* et *Staphylococcus aureus*. Les agents pathogènes ont été initialement cultivés dans un bouillon nutritif pendant 24h à 37 °C, puis ont été distribués dans des puits de culture respectifs.

Ils ont utilisé un extrait de *Psilocybe cubensis*, qu'ils ont solubilisé dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), un solvant inerte, à raison de 10mg/mL. Chaque puit s'est vu recevoir 100µL d'extrait de cette solution. Les témoins vont être l'ampicilline, 10µg/mL pour le positif et le DMSO pour le négatif.

Après incubation à 37 °C pendant 24 h, la zone d'inhibition autour de chaque puits a été mesurée en millimètres et leur moyenne a été calculée pour trois répétitions. (Tableau II)

Bactérie	Diamètre d'inhibition (mm)		Concentration minimale inhibitrice (mg/mL)
	<i>Psilocybe cubensis</i>	Contrôle positif : ampicilline	
<i>E.coli</i>	15	12	2,5
<i>P.aeruginosa</i>	14	16	2,5
<i>P.vulgaris</i>	17	18	1,25
<i>S.typhi</i>	12	17	5
<i>S.aureus</i>	13	20	10

Tableau II : Diamètres d'inhibitions en mm d'un extrait de *Psilocybe cubensis* et d'ampicilline et concentrations minimales inhibitrices en mg/mL de *P.cubensis* sur différentes bactéries. (91)

L'extrait utilisé dans cette étude, a révélé des effets antibactériens contre les agents pathogènes bactériens, parmi lesquels *Proteus vulgaris* s'est avéré le plus sensible suivi d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, tandis que la plus faible sensibilité a été détectée pour *Salmonella typhi*.

En revanche, *Vibrio cholerae* s'est avéré très résistant à l'extrait. Les bactéries qui présentent une zone d'inhibition de plus de 15 mm à 10 mg/mL pourraient être considérées comme hautement sensibles à l'extrait de champignon. Par conséquent, *P. vulgaris* est considéré comme très sensible en raison de sa zone d'inhibition de 17 mm de diamètre. Viennent ensuite *E. coli* avec 15 mm, *P. aeruginosa* avec 14mm, *S. aureus* est de 13 mm et *S. typhi* avec 12 mm.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait de champignon a été réalisée en utilisant la technique de microdilution en bouillon.

La CMI la plus basse, 1,25 mg/mL, de l'extrait de *P. cubensis* confirme la plus haute activité antibactérienne contre *P. vulgaris*, ensuite *P. aeruginosa* et *E. coli* puis *S. typhi*. En revanche, l'extrait a montré la plus faible activité contre *S. aureus* avec une CMI à 10mg/mL.

L'effet antibactérien de l'extrait de *Psilocybe cubensis* sur les bactéries Gram négatives et Gram positives indique la présence de composants bioactifs à large spectre d'activité.

Les prochaines études auront pour mission la purification, l'élucidation structurale et les mécanismes d'action des composés bioactifs, qui sont des conditions préalables à leurs utilisations en tant qu'agents thérapeutiques efficaces *in vivo*.

Les études futures viseront également à l'optimisation du milieu pour la production de biomasse à grande échelle ainsi que le développement de techniques de culture indigènes appropriées pour la conservation et la production commerciale du *Psilocybe cubensis* en milieu naturel. (91)

II.6 Anti-moustique

Dans la même étude, Dhanasekaran et al, le pouvoir insecticide d'extrait de *Psilocybe cubensis*, sur des larves de moustiques *Culex quinquefasciatus* a été testé. (91)

II.6.1 Principe de l'étude

L'efficacité larvicide des moustiques de l'extrait de champignon a été déterminée selon la méthode standard de l'OMS.

Les larves de troisième stade larvaire de *Culex quinquefasciatus*, ont été exposées à diverses concentrations d'extrait de champignon : 50; 100; 200; 400 et 800 ppm.

Les récipients étaient recouverts d'un filet de nylon pour empêcher les autres moustiques ou insectes d'y pondre des œufs.

Le test comprenait cinq reliquats pour chaque concentration et contrôle avec de l'eau distillée, conduits à 25-30 ° C avec 80-90% d'humidité relative et une photopériode lumière-obscurité de 14h.

Après 24h d'exposition, le nombre de larves mortes, déterminées comme celles qui ne se déplaçaient pas après avoir été sondé avec une aiguille, dans le siphon ou la région cervicale, qui sont des zones réactives pour les larves, et le nombre de larves vivantes ont été enregistrés et les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité.

Ensuite, l'analyse de régression probit utilisant la méthode Finney a été réalisée pour vérifier la concentration létale qui tue 50% (CL50) des larves de moustiques.

De plus, des variations morphologiques entre les témoins et les larves traitées avec une concentration de 800 ppm d'extrait de champignon ont été observées au microscope confocal à balayage laser après coloration au fluorochrome et à l'acridine orange.

II.6.2 Résultats

L'extrait a provoqué la mortalité de 40%, 50%, 55%, 70% et 80% des larves, aux concentrations de 50; 100; 200; 400 et 800 ppm, respectivement. Aucune mortalité n'a été détectée dans le groupe témoin.

Par ailleurs, la valeur de CL50 calculée à partir de l'analyse de régression probit s'est avérée être une concentration d'extrait de champignon de 106,39 ppm.

La relation dose-dépendante entre la concentration d'extrait de *P. cubensis* et le taux de mortalité des larves de moustiques, révèle une augmentation progressive du probit avec des concentrations croissantes de l'extrait, ce qui nous justifie la présence de composés phytochimiques.

De plus, une enquête microscopique entre les larves traitées et témoins, a montré que la mort aurait pu survenir en raison de l'effondrement des structures larvaires. (Figure19)

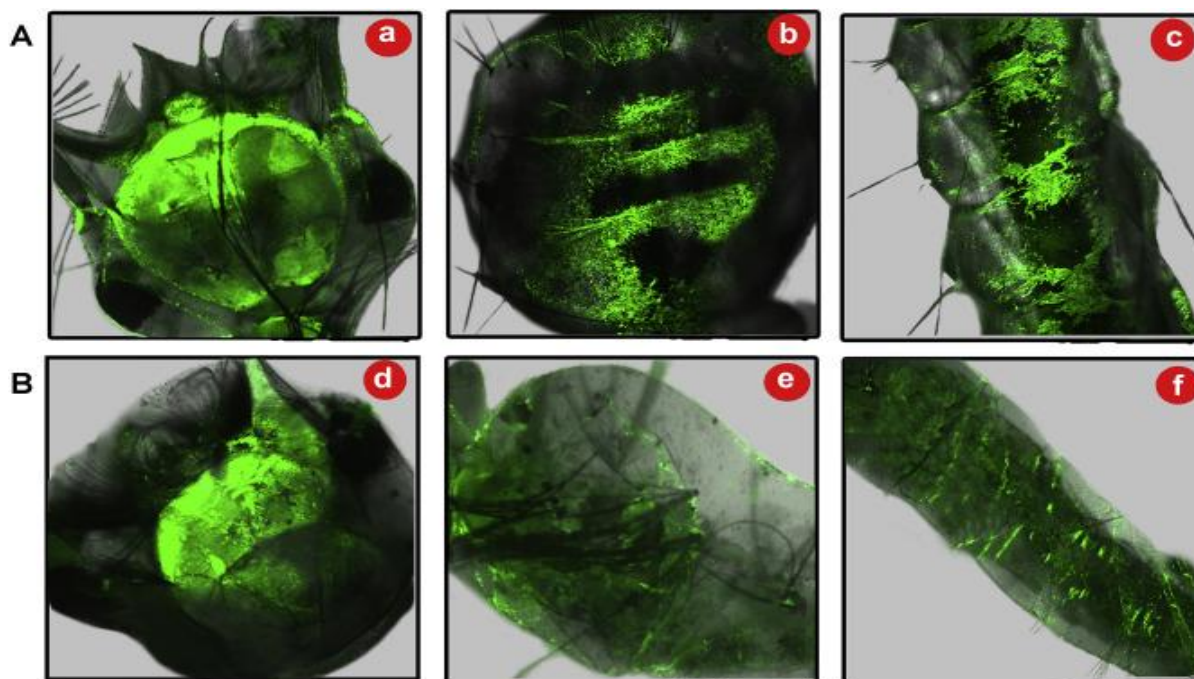


Figure 19 : Photographies au microscope confocal, montrant les variations morphologiques entre le contrôle (A) et l'extrait de *P. cubensis*, 800 ppm (B) sur larves de moustiques *Culex quinquefasciatus*. Les clichés de la tête sont a et d, b et e sont le thorax et c et f sont l'abdomen. (91)

Le cliché d démontre les anomalies au niveau de la tête, on y relève des yeux composés, des plaques mentales et antennes segmentées.

Le thorax sur la figure e, présente des anomalies au niveau de l'intestin antérieur : l'œsophage, le cardia, le caecum gastrique et les glandes salivaires.

L'abdomen représenté sur f, comprend des segments abdominaux, la région de l'intestin moyen du tube digestif, des troncs trachéaux et des poils latéraux, qui ont subi des modifications de structures.

En revanche, aucun changement notable n'a été observé au niveau du siphon respiratoire, de la selle, des branchies anales, des segments anaux, de la brosse ventrale.

II.6.3 Conclusion

Les résultats du test biologique larvicide de moustiques indiquent une toxicité dose-dépendante de l'extrait brut de *P. cubensis* vis-à-vis du moustique *Culex quinquefasciatus*, plus précisément sur les larves.

Basé sur la valeur CL50, de 106,39 ppm, on conclut que l'activité larvicide de *P. cubensis* contre le moustique est modérément efficace.

L'observation micromorphologique des larves traitées à l'extrait brut de *P. cubensis* montre un effondrement majeur dans l'abdomen, dans la région de l'intestin moyen du tube digestif, qui est une région spécialisée pour la digestion et l'excrétion des aliments. Cette altération structurelle de l'intestin moyen suggère que les composés bioactifs du champignon peuvent provoquer la mort des larves en bloquant la synthèse des protéines, en plus de bloquer l'absorption et le transport des nutriments.

Cela confirme que l'approche larvicide est proactive, sans danger pour l'environnement et spécifique à la cible. (91)

II.7 Nouvelles perspectives

Un article paru en Août 2020, mené par Nkadameng et al. extrapole les résultats de recherches concernant l'innocuité sur des cellules Vero, celles-ci sont issues des cellules épithéliales du rein d'un singe vert d'Afrique et sont utilisées pour les cultures cellulaires. Mais également un effet anti-inflammatoire sur des macrophages RAW264.7 et antioxydant du champignon *Psilocybe natalensis*. Cette étude a analysé des extraits de *Psilocybe natalensis*, par eau froide, eau bouillante ou par éthanol à 70%, mis en contact durant 24 heures. (92)

II.7.1 Cytotoxicité

Il est important d'étudier la cytotoxicité des nouvelles molécules issues d'extrait de champignon, afin de vérifier l'innocuité sur les cellules saines de l'organisme. Si l'extrait est trop cytotoxique, on risque de voir apparaître des effets indésirables au dépend des effets bénéfiques.

En ce qui concerne leur essai sur les cellules Vero, les concentrations létales qui provoque 50% de mortalité (CL50) des extraits étaient supérieures à celles du témoin positif, la doxorubicine qui est d'environ 10µg/ml.

Les extraits à l'éthanol ont une CL50 de 182 µg/ml, tandis que les CL50 des extraits à l'eau chaude et à l'eau froide, les CL50 sont plus basse, respectivement de 49,08 µg/ml et 25,06µg/ml.

Les résultats de cytotoxicité ont montré que les extraits étaient sans danger sur les cellules Vero, par rapport à la doxorubicine, le témoin positif. De plus, les résultats ont également indiqué que les extraits à l'éthanol et à l'eau du champignon sont considérés comme sûrs au regard des directives de l'American National Cancer Institute, qui stipulent qu'un extrait avec une CL50 inférieures à 20µg / mL est toxique. (93)

L'innocuité des extraits de *Psilocybe natalensis* mise en exergue, a conforté les chercheurs à poursuivre leurs études sur les potentiels effets antioxydants et anti-inflammatoires.

II.7.2 Antioxydant

De nombreuses espèces de champignons sont connues pour contenir diverses molécules et piégeurs de radicaux libres, tels que les polysaccharides et les composés phénoliques. (94)

Pour analyser l'effet antioxydant, les différents extraits de *Psilocybe natalensis* ont été comparés aux témoins positifs, l'acide ascorbique et le trolox, un analogue hydrophile de la vitamine E, ces deux molécules étant reconnu comme antioxydant efficace.

Les extraits et les contrôles positifs, ont eu un effet dépendant de la concentration pour obtenir l'activité antioxydante.

Les témoins positifs ont montré une concentration inhibitrice qui provoque 50% d'inhibition (CI50) très faible, inférieur à 1 µg/mL. L'extrait de champignon obtenu dans l'éthanol présente une CI50 de 26,56 µg/ml, tandis que les extraits provenant d'eau chaude et d'eau froide ont montré une CI50 de 86,23 µg/mL et 90,15 µg/mL respectivement.

Phongpaichit et al. affirment que l'activité des extraits avec une CI50 inférieur à 100µg /mL a un bon potentiel antioxydant tandis que ceux avec une CI50 inférieurs à 50 µg /mL sont considérés comme de puissants agents antioxydants. (95)

En conséquence, les extraits à l'eau chaude et froide du champignon *Psilocybe natalensis* ont un bon potentiel antioxydant tandis que l'extrait à l'éthanol a une activité puissante *in vitro*.

II.7.3 Anti-inflammatoire

Les cellules macrophages sont signalées comme des cellules immunitaires clés au stade initial de l'inflammation.

Les cellules macrophages RAW 264.7 fournissent un excellent modèle de criblage de médicaments pour leur utilisation potentielle dans les maladies inflammatoires et pour évaluer les inhibiteurs potentiels des voies menant à la production d'oxyde nitrique inductible. (96) (97)

Dans les macrophages, le lipopolysaccharide est une endotoxine qui induit la production de médiateurs inflammatoires tel que l'oxyde nitrique inductible et la prostaglandine E2, qui sont synthétisés par l'oxyde nitrique synthase inductible et la cyclooxygénase-2. En plus de l'activité pro-inflammatoire des cytokines libérées par les macrophages. En conséquence, le lipopolysaccharide est couramment utilisé comme agent inflammatoire dans différents modèles expérimentaux d'études sur l'inflammation. (98) (99)

II.7.3.1 Oxyde nitrique inductible

Pour étudier l'effet potentiel anti-inflammatoire des différents extraits de *Psilocybe* à différentes concentrations, 10µg/mL, 25µg/mL et 50µg/mL, il a été mesuré la production d'oxyde nitrique, induite par le lipopolysaccharide, par les macrophages RAW 264.7. De plus les résultats ont été comparés à deux témoins positifs, la quercétine et le N-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (LNAME), qui sont des anti-inflammatoires références. (100) (101)

De même que les cellules témoins ont été en contact avec le lipopolysaccharide, afin de certifier que ce dernier, va bien provoquer la production d'oxyde nitrique.

Les résultats ont montré que les extraits à l'eau chaude ont diminué de manière significative l'oxyde nitrique inductible avec toutes les concentrations, en comparaison aux cellules contrôles. Les extraits à l'éthanol ont significativement diminué l'oxyde nitrique inductible à la concentration de 50µg/mL, mais de manière non significative avec les autres concentrations, par rapport aux cellules témoins.

En revanche, ceux à l'eau froide ont inhibé de manière significative l'oxyde nitrique inducible, mais uniquement avec la concentration la plus faible de 10µg/mL.

Étant donné que l'accumulation d'oxyde nitrique inducible est un médiateur inflammatoire majeur, impliqué dans la pathogenèse de diverses maladies inflammatoires, l'inhibition ou le contrôle de sa production est important dans la recherche de nouveaux anti-inflammatoires. (102)

Dès lors on peut imaginer des essais cliniques *in vivo* afin d'étudier la réaction des macrophages dans leurs conditions naturels.

II.7.3.2 Prostaglandines E2

Nkadimeng et al. ont reproduit le même essai mais en mesurant le taux de prostaglandines E2, un médiateur de l'inflammation.

Les cellules témoins soumises au lipopolysaccharide ont produit une quantité importante significative de prostaglandine E2, par rapport aux cellules normales. Les témoins positifs, la quercétine et le LNAME, ont significativement inhibé les concentrations de prostaglandine E2, par rapport aux cellules témoins.

Les trois extraits de *Psilocybe natalensis* ont également inhibé de manière significative les concentrations de prostaglandine E2 par rapport aux cellules témoins.

Pour les extraits à l'éthanol, l'inhibition de la prostaglandine E2 est dose dépendante. Plus la concentration de l'extrait est importante, moins de prostaglandine E2 est produite. Pour l'extrait concentré à 50µg/mL, les valeurs obtenues sont très proches de celles de la quercétine.

En ce qui concerne les extraits à l'eau chaude et froide, les réponses sont également dose dépendante. Cependant l'inhibition de la prostaglandine E2 est affaiblie lorsque les concentrations des extraits augmentent. Les extraits les plus inhibiteurs sont ceux de 10µg/mL, qui semblent plus efficaces que le LNAME et la quercétine, et dont les taux avoisinent ceux des cellules normales.

Au cours de l'inflammation, l'augmentation de la production de la prostaglandine E2 est associée à la survenue de douleurs pathologiques. En conséquence, les propriétés inhibitrices des extraits de champignons *Psilocybe natalensis* sur la prostaglandine E2 ont démontré leur capacité potentielle à soulager l'inflammation et les douleurs physiques chroniques associées à l'inflammation pathologique. (103)

II.7.3.3 Cytokines

Nkadimeng et al. ont également réalisé leur essai sur la production de cytokines pro inflammatoires, dont les cellules contrôles, induites par le lipopolysaccharide, ont augmenté la production du Facteur de Nécrose Tumorale alpha (TNF) mais de manière non significative, par rapport aux cellules témoins. Donc les données de l'essai ne sont pas exploitables. Les cellules contrôles sont celles misent en contact avec le lipopolysaccharide afin d'affirmer la production de cytokines pro-inflammatoire, par rapport aux cellules témoins qui sont isolées. On ne peut donc pas affirmer l'apparition d'une inflammation avec ce système.

Tandis que les taux d'Interleukine-1 (IL-1) et d'Interleukine-10 (IL-10), produits par les cellules contrôles ont augmenté de manière significative par rapport aux cellules témoins.

L'IL-1 a des effets systémiques qui déclenchent de la fièvre, de plus elle favorise la formation de l'athérome, ainsi que de la fibrose du myocarde, à la suite d'un infarctus, car l'IL-1 joue un rôle dans la cicatrisation, qui favorise cette fibrose.

L'IL-10 est quant à elle anti-inflammatoire et immunosuppressive.

Les trois extraits de *Psilocybe*, à l'éthanol, à l'eau chaude et froide, aux différentes concentrations, diminuent significativement, la production d'IL-1 induite par le lipopolysaccharide, dont l'effet est très proche du LNAME.

En revanche, les extraits de *Psilocybe* à l'éthanol ont augmenté de manière significative la production d'IL-10, notamment la concentration de 50 µg/mL, dont les effets se rapprochent à ceux du LNAME, par rapport aux cellules contrôles.

Tandis que les extraits à l'eau chaude et à l'eau froide ont diminuée la production d'IL-10 de manière dose-dépendante.

L'inhibition de l'IL-1 est intéressante car cette cytokine est pro-inflammatoire

Au contraire, la production de l'IL-10 est satisfaisante car cette protéine diminue la réponse du système immunitaire.(104) (105)

Afin de poursuivre ces recherches pleines d'espoir dans la découverte de nouvelles molécules modulant l'inflammation, il faudrait qu'un essai clinique *in vivo* soit réalisé.

II.7.4 Détermination phytochimique

Nkadimeng et al. ont étudié les différents extraits, à l'éthanol, à l'eau froide et à l'eau chaude de *Psilocybe natalensis*, par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS/MS), dans le but de comprendre quelles molécules présentent pouvaient donner les effets relatés auparavant. (92)

Parmi tous les composés analysés, les chercheurs en ont répertorié six avec des activités anti-inflammatoire et antioxydante connues :

- L'acide n-hexadécanoïque, aussi appelé acide palmitique, qui possède des activités anti-inflammatoires et antioxydantes est présent dans les trois extraits, mais en concentration plus importante dans l'éthanol.
- Le 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-méthyl est uniquement présent dans l'extrait à l'eau froide. Ce composé présente des propriétés antioxydantes et anti inflammatoires.
- Le 3-Octanone a été relevé dans les extraits d'eau chaude et d'eau froide, à des concentrations similaires. Cette molécule est répertoriée comme anti inflammatoire et antioxydante.
- Le phtalate de dibutyle est détecté uniquement dans l'extrait à l'eau chaude. Celui-ci exerce des effets anti-inflammatoires.

- Le nonadecane retrouvé dans l'extrait à l'éthanol est intéressant car il présente des propriétés antioxydantes, antivirales, antibactériennes et antiparasitaires. De plus ce composé est présent en quantité assez importante dans l'extrait, de l'ordre de 20%
- Le tétradécane relevé dans l'extrait à l'éthanol est également intéressant, présent de l'ordre de 17%, car il exerce des activités anti inflammatoire, antibactérienne et anti-diarrhéique. (95)

II.7.5 Conclusion

Les extraits de champignons *Psilocybe natalensis* démontrent un avantage positif dans le traitement de l'inflammation chronique. L'analyse par GC-MS/MS, a montré que les trois extraits de champignons contenaient des composés connus pour induire des effets antioxydants et anti-inflammatoires naturels tels que l'acide n-hexadécanoïque; 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-méthyl; 3-octanone; et le phtalate de dibutyle.

Les résultats du GC-MS/MS ont également montré que l'extrait à l'éthanol avait un pourcentage très élevé de composés connus pour avoir des effets antioxydants et anti-inflammatoires tels que le nonadecane et le tétradécane. En conséquence, l'analyse phytochimique a soutenu les plus grands effets positifs observés avec les extraits à l'éthanol par rapport aux extraits aqueux dans l'étude.

Ces résultats indiquent que les extraits d'eau et d'éthanol du champignon *Psilocybe natalensis* ont une activité antioxydante potentielle, un facteur important dans les dysfonctionnements du stress oxydatif associés à l'inflammation.

Étant donné que l'augmentation du stress oxydatif et la diminution des concentrations d'antioxydants jouent un rôle important dans la genèse et la progression de l'inflammation, les propriétés de piégeage des extraits de champignons *Psilocybe natalensis* semblent bénéfiques dans le traitement de l'inflammation chronique.

Les résultats suggèrent pour la première fois que les extraits aqueux et éthanoliques de *Psilocybe natalensis* sont sans danger dans les concentrations utilisées, et possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

L'étude ouvre des perspectives de recherches sur les effets des champignons *in vivo* dans ce domaine. (100)

III Production des *Psilocybes* et de ses alcaloïdes

III.1 Production des *Psilocybes* et variation des teneurs en psychoactif

Dans une étude expérimentale publiée en 1982, Jeremy Bigwood et Michael Beug ont produit des *Psilocybes* et en ont analysé leurs compositions. (106)

La souche de *Psilocybe cubensis* cultivée dans cet essai, provenait d'une empreinte de spores récoltée au Pérou.

Ce mycélium a étéensemencé dans un pot, contenant des grains de seigle et de l'eau stérilisés auparavant.

Les bocalx ont été régulièrement secoués pour répartir uniformément le mycélium en développement sur les grains. En 28 jours, le mycélium avait recouvert les grains, puis ils ont été recouverts de tourbe, un mélange de carbonate de calcium, de perlite et de vermiculite.

La première fructification a eu lieu quatre à cinq semaines après l'inoculation. Les cultures ont continué à produire des champignons pendant au moins 20 semaines, donnant jusqu'à cinq fructifications, à condition qu'elles ne soient pas contaminées par des organismes extérieurs.

Chaque champignon a été récolté dès que les sporophores étaient matures, donnant un rendement moyen de 2,7 g de poids sec par culture. Les champignons ont été immédiatement lyophilisés, scellés et stockés à -5°C jusqu'à l'analyse par chromatographie HPLC.

Les niveaux de psilocybine varient quelque peu de façon imprévisible d'une fructification à l'autre, mais étaient généralement sensiblement les mêmes sur la première et la dernière, donnant une moyenne de 6,31mg de psilocybine par gramme de sporocarpe sec sur les cinq cultures.

En revanche, la psilocine est généralement absente lors des deux premières poussées, atteignant son maximum à la quatrième fructification, puis semble commencer à décliner ensuite. Il est difficile de suivre ce déclin de manière significative, puisque cinq poussés sont le maximum qu'ils ont pu obtenir avant que le mycélium ne cesse de fructifier. Sur les cinq cultures, on retient une moyenne de 1,15mg de psilocine par gramme de sporocarpe sec.

Le niveau de psilocybine et de psilocine étant variable parmi les diverses cultures de *Psilocybe cubensis* cultivées dans des conditions rigoureusement contrôlées, on ne peut s'approvisionner avec des spécimens provenant de sources extérieures, dont les taux peuvent varier de dix fois, selon la localisation et les conditions climatiques.

Stamets dans son étude de 1996, relatait déjà le fait que les taux de psychoactifs variaient au sein des *Psilocybe cubensis*, selon diverses variables. (3) (Tableau III)

Auteurs	Taux psilocybine (en %)	Taux psilocine (en%)
Heim et Hofmann (1958)	0,50%	0,25%
Beug et Bigwood (1982)	1,3%	0,35%
Stijve et de Meijer (1993) souche mexicaine	0,15%	0,50%
Stijve et de Meijer (1993) souche amazonienne	0,15%	0,33%
Gartz (1994)	0,63%	0,11%

Tableau III : Taux de psilocybine et de psilocine dans le *Psilocybe cubensis* d'après les données relevées par P. Stamets. (3)

La culture de ces champignons psychédéliques est limitée aux utilisateurs récréatifs. Par ailleurs, la grande variation de la teneur en psilocybine observée entre les différents lots de champignons présente des difficultés pour générer un produit cohérent avec une chaîne d'approvisionnement stable nécessaire pour une application thérapeutique à grande échelle. (106)

III.1.1 Productions illicites des *Psilocybes*

Les scientifiques ayant délaissé la production des *Psilocybes*, ce sont les consommateurs récréatifs qui ont optimisé les techniques de culture. Ces derniers sont de plus en plus nombreux car les kits de culture sont facilement accessibles sur l'internet. De plus, les champignons ont une image de produits naturels, bio, pur, non coupés avec des substances toxiques.

De plus, les communautés se rassemblent sur des forums pour partager leurs expériences de culture et leurs consommations, ce qui encourage de nouveaux utilisateurs à se lancer dans cette expérience.

III.1.1.1 Les kits de culture

Pour les débutants, les sites de ventes en ligne conseillent dans un premier temps les kits de culture, appelé également "grow kit". Ces kits sont composés d'une boîte de culture ainsi qu'un sac de culture, avec un filtre pour reproduire un microclimat. Cette boîte contient un pain de seigle colonisé par le mycélium d'une espèce de *Psilocybe*, de la perlite et de la vermiculite.

Les différentes espèces proposées par les vendeurs sont classées par la puissance psychoactive des champignons, le rendement et la facilité de culture. Ils donnent également les temps de colonisation et de fructification ainsi que les températures optimales pour chaque variété.

Les espèces les plus proposées et vendues sont le *Psilocybe mexicana*, les *Psilocybe cubensis* dit hawaïien, golden teacher ou encore McKennaii. (Figure 20)

Selon l'espèce choisie par le futur consommateur, les vendeurs proposent des tapis de chauffage, des hygromètres et des thermomètres afin que la culture soit dans les conditions les plus optimales préconisées possible.

Les protocoles sont disponibles en ligne sous formes écrites ou bien en vidéo. La culture devient accessible à tous et les forums d'entraide se multiplient.



Figure 20 : Kit de culture de *Psilocybe cubensis* golden teacher (107)

Voici un exemple de protocole détaillé :

Toutes les étapes doivent se réaliser en respectant des règles de propreté afin de ne pas contaminer le kit avec des organismes extérieurs. Le port de gants stériles et d'un masque chirurgical, sont fortement recommandés.

- Etape 1 : Retirez le couvercle du kit de culture et versez de l'eau dans ce dernier jusqu'à ce que le récipient soit complètement rempli. Remettre le couvercle et laissez tremper pendant 12 heures.
- Etape 2 : Après ces 12 heures, retirez le couvercle du contenant et nettoyez-le sous l'eau courante. Ne le jetez pas, vous aurez besoin du couvercle plus tard. Drainez tout l'excès d'eau du kit.
- Etape 3 : Placez le kit de culture dans le sac de culture fourni et vaporiser les parois intérieures du sac de culture deux fois par jour. Ce processus doit être répété chaque jour jusqu'à ce que les premières pousses soient apparues. Il est très important de maintenir le niveau d'humidité adéquat en tout temps. L'humidité relative optimale est de 95-100 %.
- Etape 4 : Pliez le haut du sac de culture deux fois, environ 3 cm et fixez-le avec des trombones. Placez le sac dans un endroit lumineux. Choisissez un endroit chaud entre 22-24 °C avec un accès à la lumière indirecte du jour, jamais à la lumière directe du soleil. La température à l'intérieur du sac de culture est à adapter selon l'espèce choisie.

- Etape 5 : Une fois les premières pousses apparues, ouvrez et agitez légèrement le sac 1–3 fois par jour. Désormais, vous n’aurez plus qu’à pulvériser une fois par jour. Les champignons poussent grâce à l’oxygène et ont donc besoin d’air frais tous les jours pour pousser correctement. Toute accumulation de CO₂ sera éliminée lorsque vous ouvrirez et secouerez le sac.
- Etape 6 : Récoltez tous les champignons, même les plus petits, juste avant que le voile sous les chapeaux des champignons ne commence à se déchirer. Cela évitera que les Psilocybes ne libèrent leurs spores et altèrent le mycélium. Les champignons peuvent être récoltés en les tirants vers le haut à partir de leur base tout en effectuant un mouvement de torsion, en évitant d’endommager le mycélium.
- Etape 7 : Après la première récolte, vous pouvez préparer le kit pour une nouvelle récolte. Habituellement, un kit de culture produit au minimum trois récoltes. Pour préparer le kit pour la prochaine récolte, vous devez le faire tremper à nouveau comme expliqué à l’étape 1. À partir de là, vous pouvez répéter le même processus.

Il est possible de conserver entre 3 à 4 semaines maximum, le kit dans le réfrigérateur à -3, -5 °C qui le conservera en mode hibernation. (108)

III.1.1.2 Cultiver à partir de spores

Pour les cultivateurs plus expérimentés, les sites proposent des spores sous forme d’empreintes, des seringues prêtes à être inoculées, ou des flacons contenant des spores en suspension. Ils décrivent également des manières de collecter soi-même les empreintes de spores.

Avec cette méthode de culture les sites promettent un rendement plus intéressant et une conservation plus longue.

Les empreintes de spores doivent être préparées avant d’être inoculé dans le pain de culture.

La première étape est de recueillir les spores dans de l’eau préalablement stérilisée. La seconde est de remplir une seringue également stérile. Puis il faut la laisser à température ambiante durant 2 à 3 jours pour que les spores puissent s’hydrater totalement. Ensuite ces seringues peuvent être conservées dans un sac hermétique à l’air, au réfrigérateur, durant une période allant de 2 à 6 mois. (109)

Que ce soit la seringue ou le flacon, les spores sont à inoculer dans un substrat tel que des graines de seigle, de riz ou encore de café, dans une boîte de culture, toujours dans des conditions stériles.

Cette boîte apporte aux spores un environnement dans lequel elles peuvent s’installer et se transformer en mycélium. Chaque goutte apportée sur le substrat est un potentiel point de croissance de mycélium. Il est donc préférable de les répartir uniformément pour optimiser la colonisation. (110)

III.1.1.3 Cultiver des sclérotés

Le sclérote est une forme de champignon dérivé du mycélium qui stocke des réserves nutritives pour le champignon, lui permettant de survivre à un environnement défavorable. Cette forme contient de la psilocybine et de la psilocine recherchées par les consommateurs récréatifs, qu'ils appellent les "truffes magiques".

En revanche il y a peu d'espèces présentant cette forme, dont on retrouve le *Psilocybe tampanensis*, le *Psilocybe pajaritos*, le *Psilocybe mexicana sclerotia*, le *Psilocybe atlantis* et le *Psilocybe hollandia*. (Figure 21)

Les sites internet proposent des kits prêts à la culture mais décrivent également des protocoles pour les produire soi-même.

La première étape est de remplir jusqu'à la moitié un bocal en verre de substrat. Celui de prédilection est la graine de gazon d'après les cultivateurs chevronnés. Il faut ensuite remplir le contenant d'eau et laisser reposer durant douze heures afin d'hydrater le substrat.

Suite à cette étape, il faut égoutter le substrat de l'excédent d'eau, avant de pouvoir réaliser le processus de stérilisation. Cette procédure doit s'effectuer dans un autocuiseur durant une heure avec une pression d'environ un bar. Une fois le substrat stérilisé et refroidi, il faut le secouer afin d'éviter son agglomération et la formation de motte.

Cette étape évite que les graines de gazon ne germent ainsi que le développement d'organismes non désirés.

La dernière étape est d'inoculer le substrat avec une seringue de spores préalablement préparée ou achetée, puis de secouer notre bocal de culture afin de disperser uniformément les spores.

Enfin, il faut laisser notre culture dans un environnement à l'abri de l'exposition du soleil, à une température comprise en 21 et 25°C, durant 2 à 4 semaines. Suite à cette période, le mycélium aura entièrement colonisé le substrat et pourra produire les sclérotés. Cependant il faut attendre entre 3 et 4 mois avant de pouvoir récolter les sclérotés matures. (110)



Figure 21 : Sclérotés de *Psilocybe atlantis* (110)

III.2 Synthèse chimique

III.2.1 La synthèse d'Hofmann

Albert Hofmann a été le premier chercheur à isoler la psilocybine et la psilocine en 1957, il est également le premier à les avoir synthétisées en 1958. (9)

A partir du 4-benzyloxyindole, par la réaction d'une oxydation, grâce au chlorure d'oxalyle, il a pu obtenir le 5-benzyloxy-3-indole-glyoxylyl chloride. Ce dernier en présence de la diméthylamine anhydre ajoutée, devient la 5-benzyloxy-3-indole-*N*, *N*-dimethylglyoxylamide.

Après avoir recueilli de cette molécule sous forme de solides blancs, le chlorhydrate de diméthylamine a dû être éliminé, par la mise en suspension de ces solides, dans de l'eau distillée et agités pendant une heure.

Suite au séchage, du 5-benzyloxy-3-indole-*N*, *N*-dimethylglyoxylamide purifié, durant 8h, ce composé a été dissous dans un mélange de 200 mL de dioxane et de 150 mL de tétrahydrofurane.

Au contact d'une suspension de tétrahydruroaluminate de lithium, par réaction de réduction, cela permet d'obtenir la 4-benzyloxy-*N*, *N*-dimethyltryptamine.

Cette dernière, de part une réaction d'hydrogénation, grâce au dihydrogène associé au catalyseur insoluble qu'est le palladium sur charbon, on obtient la psilocine.

L'étape la plus délicate est la dernière, la phosphorylation de la psilocine, cette étape est réalisée à l'aide de chlorure de *O*, *O*-dibenzylphosphoryle, un réactif instable qui est utilisé sans purification, comme solution dans du tétrachlorure de carbone. En outre, le rendement final de la psilocybine est inférieur à 20 %. (Figure 22)

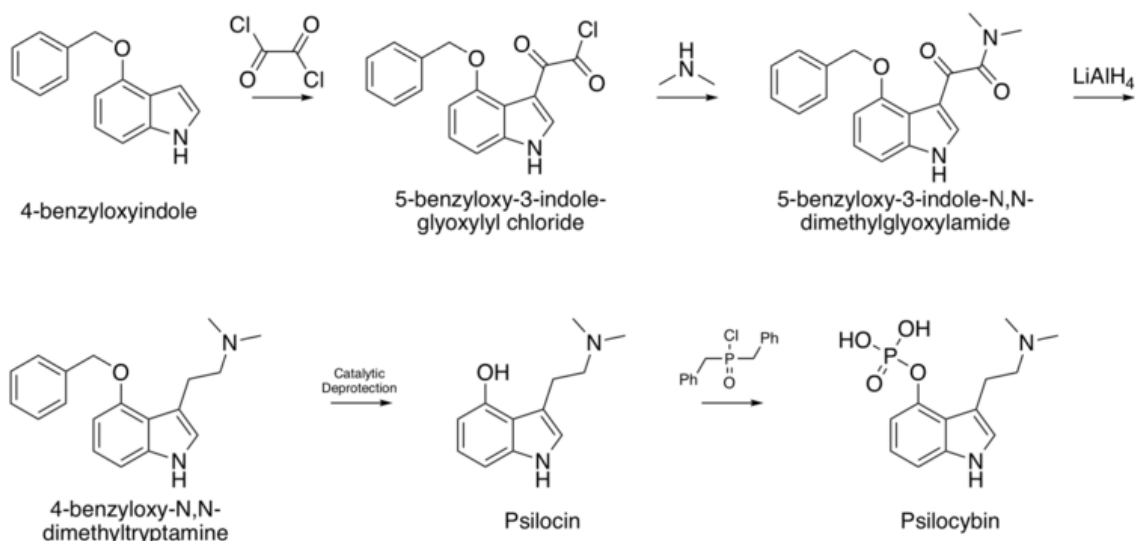


Figure 22 : Synthèse chimique de la psilocybine par Hofmann. (9)

La difficulté globale de préparation de psilocybine et de ses précurseurs, ainsi qu'un rendement aussi faible à la dernière étape, n'a pas permis une production à grande échelle. En revanche, ce procédé a ouvert la voie à d'autres protocoles de synthèse profitant des améliorations technologiques. (9)

III.2.2 La synthèse de Nichols et Frescas

En 1999 Nichols et Frescas (111) ont cherché à améliorer la synthèse d'Hofmann. Ils ont repris la même molécule de départ, le 4-benzyloxyindole, ainsi que les premières réactions.

Les améliorations vont s'effectuer à partir de la psilocine. Ils ont choisi de phosphoryler cette molécule à l'aide de tétra-*O*-benzylpyrophosphate, un réactif cristallin stable, contrairement au chlorure de *O*, *O*-dibenzylphosphoryle, utilisé par Hofmann.

La psilocine a été au préalable mise en contact avec du *n*-butyllithium afin de faciliter la réaction du tétra-*O*-benzylpyrophosphate.

Cette phosphorylation donne naissance à la 4-*O*-Monobenzylphosphoryloxy-*N*, *N*-dimethyltryptamine.

Les groupes *O*-benzyle de cette dernière, ont été éliminés par hydrogénation catalytique de palladium sur carbone pour donner la psilocybine. (Figure 23)

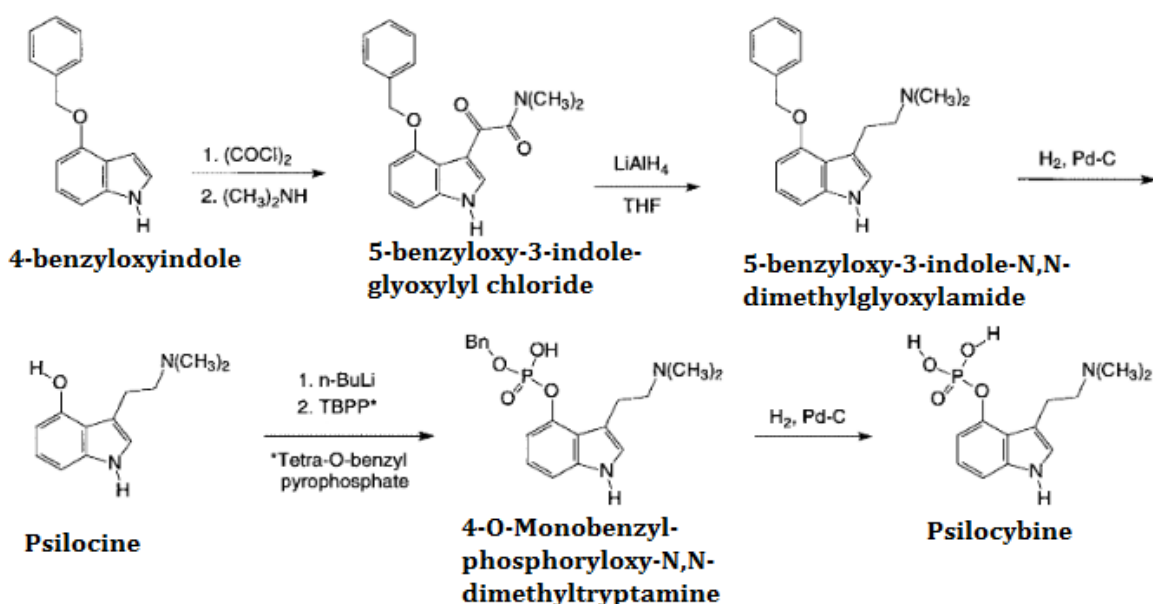


Figure 23 : Synthèse chimique de la psilocybine par Nichols et Frescas. (111)

Après purification et stockage dans un congélateur à -20°C , les produits ont lentement cristallisés sous forme d'aiguilles blanches, puis ont été séchés, à température de $212\text{--}213^\circ\text{C}$ sous vide, pour produire de la psilocybine exempte de solvant, donnant un rendement final de 46.9%.

Cette méthode a permis d'augmenter le rendement final, en revanche cette réaction nécessite une étape supplémentaire et ne permet pas de réduire les coûts de production qui restent onéreux, notamment le prix de la molécule de départ qui est très élevé. (111)

III.2.3 La synthèse de Londesbrough

Récemment, Derek Londesbrough travaillant pour la société COMPASS pathways, a développé et breveté une nouvelle méthode pour la synthèse chimique de la psilocybine. Celle-ci améliore les méthodes précédentes avec un rendement global de 75%, en revanche elle utilise le 4-hydroxyindole coûteux, comme substrat de départ entraînant des coûts de production élevés qui peuvent limiter son application. (Figure 24)

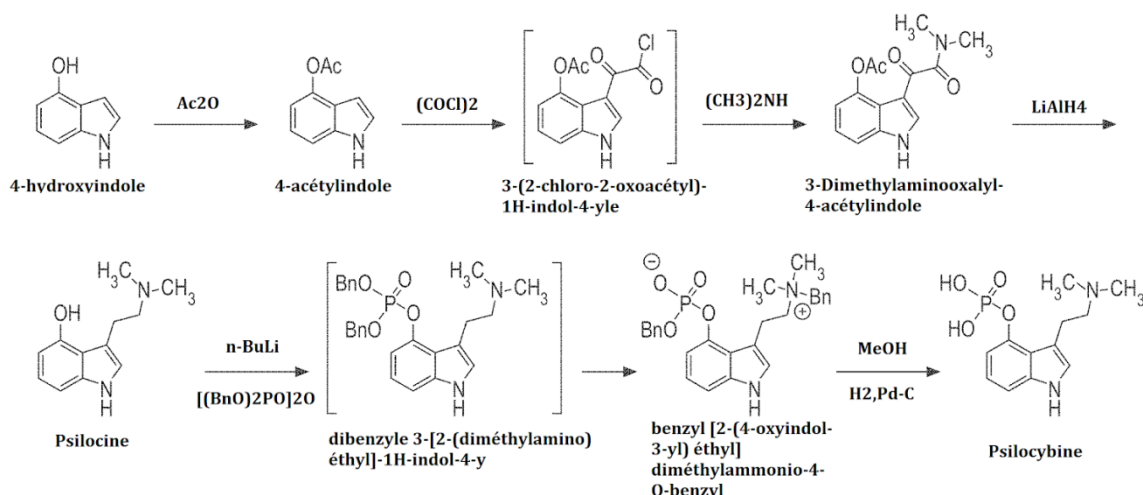


Figure 24 : Synthèse chimique de la psilocybine par Londesbrough. (112)

La première étape consiste à faire réagir le 4-hydroxyindole avec de l'anhydride acétique dans de la pyridine et du dichlorométhane anhydre à 0° C, pour obtenir du 4-acétylindole, qui a été recueilli par filtration, lavé à l'eau et à l'acétate d'éthyle.

Cette dernière va être mise en contact avec du chlorure d'oxalyle dans de l'éther diéthylique anhydre, en agitant, en ajoutant du n-hexane et en maintenant une température de -20° C, afin de produire de l'acétate de 3-(2-chloro-2-oxoacetyl)-1H-indol-4-yl par acylation.

Cette molécule va réagir avec de la diméthylamine dans du tétrahydrofurane et de la pyridine, le produit de réaction a été séparé par filtration et lavé avec du n-hexane, de l'acétate d'éthyle et de l'eau pour obtenir du 3-Diméthylaminooxalyl-4-acétylindole, par amidation.

La troisième étape comprend la formation de psilocine en faisant réagir le 3-diméthylaminooxalyl-4-acétylindole avec du tétrahydroaluminat de lithium, dans du tétrahydrofurane anhydre sous une atmosphère d'argon. Le mélange réactionnel a été dilué avec de l'acétate d'éthyle sous vide, et les cristaux de psilocine résultants ont été lavés avec du méthanol.

Avant d'obtenir la psilocybine, la psilocine précédemment obtenue va devoir subir deux étapes.

La première est de faire réagir la psilocine dissoute dans du THF anhydre, avec du n-butyl-lithium dans du n-hexane, en y ajoutant du tétrabenzyl-pyrophosphate à 0° C, afin d'obtenir du phosphate de dibenzyle 3-[2-(diméthylamino)éthyl]-1H-indol-4-yl, l'intermédiaire.

Ce mélange a été dilué avec de l'acétate d'éthyle, puis filtré par aspiration à travers un tampon de Celite, le filtrat s'est concentré sous vide, puis a été dissous dans du dichlorométhane

Enfin le précipité a été recueilli par filtration, où l'on obtient le benzyl [2-(4-oxyindol-3-yl)éthyl] diméthylammonio-4-O-benzyl phosphate.

L'ultime étape consiste à faire réagir le benzyl [2-(4-oxyindol-3-yl) éthyl] diméthylammonio-4-*O*-benzyl phosphate, dans du méthanol et de l'hydrogène, sous l'effet catalyseur du palladium sur charbon. La solution réactionnelle a été filtrée à travers un tampon de Celite, le produit a été recueilli par filtration et lavé à l'éthanol pour donner une forme cristalline à aiguilles blanches de psilocybine.

Le procédé permet de produire des quantités de l'ordre de 10g de psilocybine avec une méthode de fabrication qui est facilement reproductible. Elle permet également d'obtenir de la psilocybine pure, une possibilité de cristallisation pour fournir une forme polymorphe, pour l'administration à des sujets humains. (112)

III.2.4 La synthèse de Sherwood

En 2020, Sherwood a publié une méthode de synthèse pour la production de baéocystine et de norpsilocine, ce qui n'avait jamais été réalisé jusqu'alors. (41)

Cette production débute par la synthèse du chlorure d'acyle à partir du 4-acétoxyoxyindole et du chlorure d'oxalyle. Le chlorure d'acyle est mis à réagir avec de la *N*-benzylméthylamine ou de la dibenzylamine pour donner les cétoamides.

Ces derniers vont être réduits à l'aide d'hydruure de lithium et d'aluminium dans le tétrahydrofurane et le 2-méthyltétrahydrofurane.

La phosphorylation va être réalisée à l'aide d'hydruure de sodium, de tétrahydrofurane et de chlorure d'ortho-xylénylphosphoryle.

La baéocystine et la norpsilocine sont ainsi obtenues par hydrogénolyse catalytique, en utilisant soit du palladium sur charbon, soit un catalyseur à l'hydroxyde de palladium. Cette étape a été suivie d'une filtration, d'une élimination du solvant et d'une précipitation en ajustant le pH pour donner des produits solides, avec un bon rendement.

Les travaux de Sherwood fournissent des données sur les premières synthèses de la baéocystine et de la norpsilocine. Ces données servent de tremplin à d'autres chercheurs pour approfondir la chimie et la pharmacologie de ces composés. De plus, les scientifiques ont maintenant une voie de synthèse pour fabriquer la baéocystine et la norpsilocine en laboratoire. Ils peuvent fabriquer eux-mêmes les composés pour leurs études, atténuant ainsi le problème d'approvisionnement. (41)

III.3 Production des alcaloïdes

III.3.1 Biosynthèse des alcaloïdes

Les premières hypothèses de la biosynthèse des alcaloïdes émanent des travaux réalisés en 1968 par Agurell et Nilsson. (113)

Ils ont synthétisé divers précurseurs présumés radiomarqués au ^{14}C et ^3H , qu'ils ont mis en contact avec du mycélium fongique. Ensuite, ils ont retracé leurs incorporations dans la molécule de psilocybine.

Les auteurs ont proposé une biosynthèse en cinq étapes, commençant par un acide aminé, le L-tryptophane, qui subit successivement une décarboxylation en tryptamine, puis une méthylation, pour devenir la *N, N*-diméthyltryptamine.

Cette dernière subit une 4-hydroxylation pour donner la psilocine, vient ensuite une 4-*O*-phosphorylation conduisant à la formation de psilocybine. (113)

Plus récemment (114), les séquences génomiques de diverses espèces produisant la psilocybine, tels que *Psilocybe cubensis*, *P. cyanescens*, *P. serbica*, *Panaeolus cyanescens* et *Gymnopilus dilepis*, ont été analysés.

Ces espèces partagent un ensemble de gènes réunis en cluster, dans une portion d'environ 11 à 22 kb de leurs génomes, qui code pour quatre enzymes de biosynthèse avec des transporteurs essentiels aux réactions.

Les gènes notés psiK et psiH, codent respectivement pour la 4-hydroxytryptamine kinase et la tryptamine monooxygénase, qui modifient le noyau indole.

Les gènes psiM et psiD codent respectivement pour la méthyltransférase et la l-tryptophane décarboxylase, qui initient et concluent la biosynthèse de la psilocybine. (114) (Figure 25)

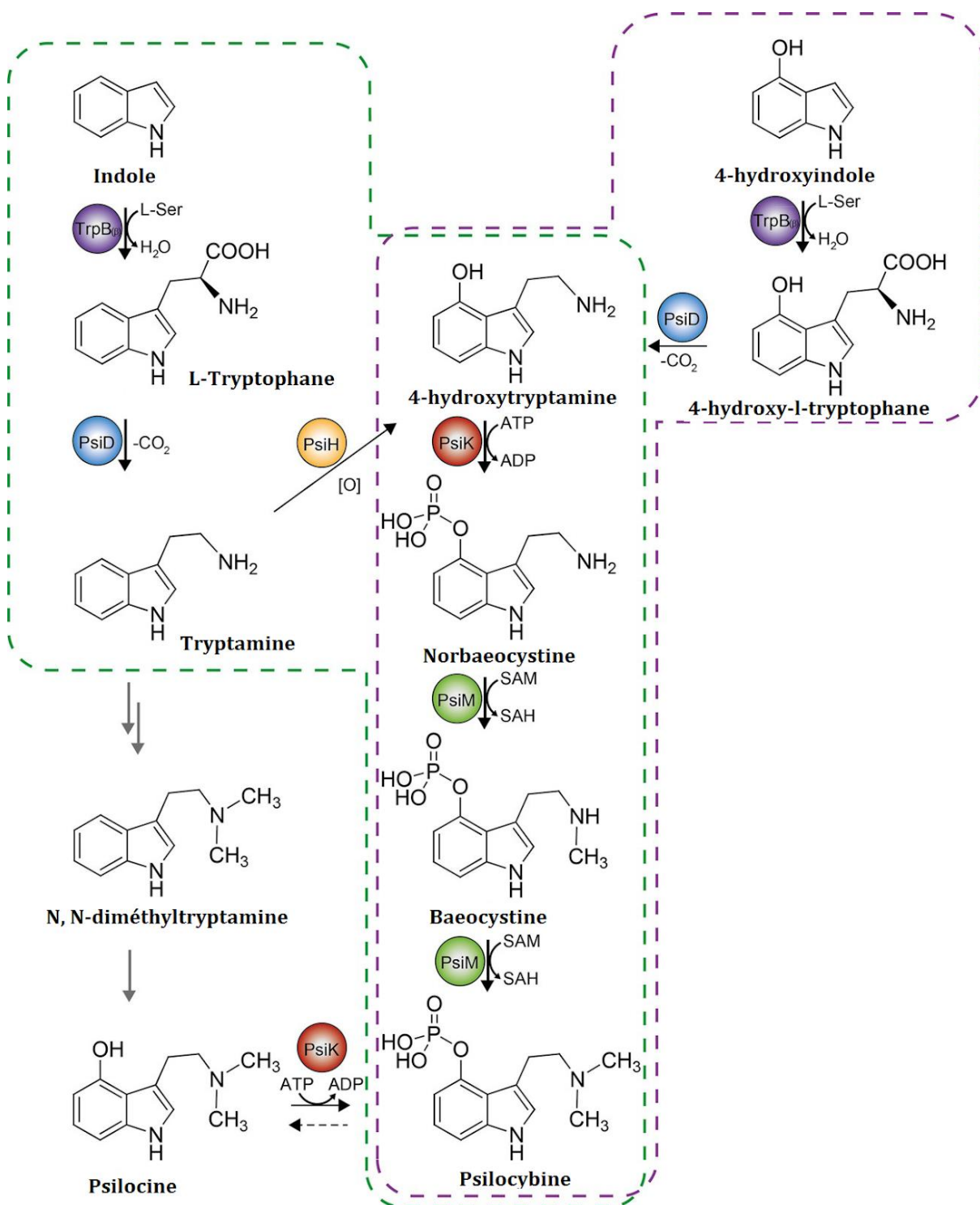


Figure 25 : Voie de biosynthèse des molécules psychoactives du *Psilocybe*. (115)

Dès lors on a pu retracer plusieurs voies de biosynthèse :

- Dans une première voie, le tryptophane synthase va convertir le noyau indole en L-tryptophane. Chez les champignons, ces enzymes sont des homodimères alpha / bêta, qui catalysent certaines étapes de la biosynthèse du L-tryptophane, dont le clivage du phosphate par la sous-unité alpha pour libérer l'indole. Puis la sous-unité bêta catalyse cette réaction pour catalyser l'indole en L-tryptophane. Ensuite ce L-tryptophane va subir une décarboxylation, catalysée par la L-tryptophane décarboxylase, pour donner la tryptamine. Puis les voies proposées par Agurell et Nilsson (113) ont été confirmées, la tryptamine devient la *N,N*-diméthyltryptamine par méthylation, cette dernière devenant la psilocine par hydroxylation. Enfin on obtient la forme de la psilocybine à la suite d'une phosphorylation catalysée par la kinase PsiK à partir d'ATP.
- Dans une seconde voie, la molécule de départ est la 4-hydroxytryptamine. Celle-ci est obtenue de deux manières, la première à partir de la tryptamine subissant une hydroxylation par la monooxygénase P450 PsiH. La seconde a pour origine le 4-hydroxyindole qui devient la 4-hydroxy-Ltryptophane par décarboxylation due au tryptophane synthase. La 4-hydroxy-L-tryptophane va alors devenir le substrat de la L-tryptophane décarboxylase pour produire la 4-hydroxytryptamine.

Ce précurseur sera transformé en norbaéocystine, par la kinase PsiK qui catalyse le transfert de phosphore. Cet alcaloïde va subir deux transferts de méthyle via la méthyltransférase PsiM, ce qui va permettre la conversion de la norbaéocystine en baéocystine puis en psilocybine. (115)

L'identification de la biosynthèse de la psilocybine, ainsi que des enzymes le permettant, pose les bases de sa synthèse biotechnologique.

On comprend alors que deux voies différentes peuvent être envisagées. La première option comprend la synthèse enzymatique *in vitro*, tandis que la voie alternative implique la reconstitution de la voie *in vivo* en introduisant les gènes de biosynthèse dans un hôte approprié.

III.3.2 Production enzymatique *in vitro*

Pour la production enzymatique *in vitro*, les scientifiques ont utilisé comme base le 4-hydroxyindole, cette molécule va permettre la biosynthèse de psilocybine par l'intermédiaire de quatre enzymes, ce qui limite le nombre de réactions, de manipulations et permet une bonne rentabilité.

En passant par cette voie de synthèse, on évite la réaction d'hydroxylation catalysée par la tryptamine monooxygénase PsiH, cette étape augmenterait le nombre de réactions et d'enzymes impliquées. De plus cela nécessiterait une réductase de type P450 compatible, pour fournir la monooxygénase avec des électrons.

Pour initier le processus *in vitro*, le 4-hydroxyindole est mis en contact avec la tryptophane synthase TrpB, extrait de *Psilocybe cubensis*, et la L-sérine, qui permet d'obtenir le 4-hydroxy-L-tryptophane.

Ce dernier est le substrat de la L-tryptophane décarboxylase PsiD, pour donner la 4-hydroxytryptamine. Celle-ci devient la norbaéocystine par l'action de la kinase PsiK qui catalyse la réaction. Enfin cette molécule par le transfert de deux méthyles, via la méthyltransférase PsiM, par l'intermédiaire de la baéocystine devient la psilocybine.

Comme preuve de concept et sans aucune optimisation supplémentaire, par cette méthode, 15 mmol de 4-hydroxy-L-tryptophane a été transformé en 3,9 mmol de psilocybine soit un rendement de bioconversion de 26%. Cependant, de petites quantités des précurseurs, norbaéocystine et baéocystine, étaient également présents après la réaction, il faudra alors une étape de purification afin d'isoler la psilocybine.

Pour la première fois, la psilocybine n'a été obtenue ni à partir d'un champignon ni de manière synthétique. (115)

III.3.3 Production *in vivo* dans un hôte hétérologue : *Aspergillus nidulans*

La connaissance détaillée de la biosynthèse de la psilocybine, a ouvert la voie au génie génétique, pour la production de cette molécule dans un hôte non producteur, afin de réaliser une production hétérologue *in vivo*.

Sandra Hoefgen et son équipe (116) ont sélectionné pour hôte le champignon filamenteux *Aspergillus nidulans* de par ses qualités d'organisme modèle fiable, robuste et cultivable en bioréacteur.

La première étape fut d'insérer les quatre gènes codant les enzymes essentielles à la biosynthèse de la psilocybine déjà décrits auparavant : PsiK, PsiM, PsiH et PsiD; dans le génome de l'hôte hétérologue *Aspergillus nidulans*.

Pour cela, les ADNc de ces quatre gènes ont été assemblés sous la forme d'un polycistron dans le vecteur issu du picornavirus, le peptide 2A noté pV2A-T, qui sera traduit dans l'hôte suite à son assimilation.

Ce polycistron a ensuite été placé en aval d'un promoteur inductible par la tétracycline, le système dit Tet-On adapté pour l'expression fongique, cela conduit à la formation du plasmide noté pJF36 dans l'étude, pour modifier l'hôte receveur.

Afin de vérifier la production de psilocybine, différentes souches ont été placées dans des flacons à agitation Erlenmeyer standard et sans autre optimisation des conditions de culture et des milieux.

La meilleure souche productrice en a produit, à des titres jusqu'à 110 mg/L, correspondant à 1,5% du poids mycélien sec.

La production de psilocybine dans un organisme standard cultivable en bioréacteur comme *Aspergillus nidulans* offre l'avantage de fabriquer de manière reproductible cette molécule à l'échelle industrielle et dans un environnement contrôlé. (116)

III.3.4 Production *in vivo* dans un hôte procaryote : *Escherichia coli*

En 2019, suite à ces nouvelles avancées, une équipe de chercheurs dirigée par Alexandra M. Adams (117), a cherché à développer un hôte plus rentable et plus facile à manipuler pour la production biosynthétique de psilocybine.

Pour cette étude, l'hôte procaryote *Escherichia coli* a été choisi pour la grande quantité de connaissances métaboliques et d'outils génétiques disponibles.

Les gènes de production de psilocybine précédemment décrits, PsiD, PsiK et PsiM ont été exprimés de manière hétérologue dans *Escherichia coli* en utilisant le système du puissant promoteur T7, un virus bactériophage qui infecte l'hôte procaryote, afin d'y introduire son matériel génétique. L'induction par l'isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside, un réactif de biologie moléculaire, a permis la production de $2,19 \pm 0,02$ mg/L de psilocybine.

Les milieux de culture ont été soumis à une analyse par chromatographie liquide couplée à la spectroscopie de masse. La psilocybine, ainsi que tous les composés précurseurs et intermédiaires de la voie de biosynthèse, ont été identifiés dans le surnageant.

Les chercheurs ont cherché à optimiser le milieu de base, en variant les sources de carbone et la concentration d'inducteurs. Ces variables peuvent affecter le taux de croissance cellulaire et les points d'induction optimaux correspondant. L'hôte de production a démontré une sensibilité élevée à la composition du milieu, à l'identité de la source de carbone, à la température de fermentation et à la concentration de l'inducteur.

Les conditions optimales relevées sont le maintien d'une température de fermentation à 37 ° C pendant les phases de croissance et de production.

Une amélioration significative du taux de psilocybine a été observée par l'ajout de 5g/L de méthionine en présence de plus de 350 mg/L de 4-hydroxyindole.

Les gains les plus importants ont été obtenus grâce aux études de supplémentation du milieu de culture. Le 4-hydroxyindole et la sérine sont condensés par la tryptophane synthase, dans la première étape de la voie pour former le 4-hydroxytryptophane. Bien que l'hôte puisse produire naturellement de la sérine et de l'indole, il n'a pas la capacité d'exprimer l'hydroxylase P450 qui oxyde l'indole en 4-hydroxyindole.

Dans les conditions de production optimale, la psilocybine a été produite à $139 \pm 2,7$ mg/L.

Les informations tirées des études d'optimisation génétique et de fermentation ont été appliquées dans une étude à grande échelle pour la production de psilocybine dans un bioréacteur de type fed-batch. Cette étude a abouti à la production de 1,16 g/L de psilocybine, le titre le plus élevé rapporté à ce jour à partir d'un hôte recombinant.

Cette étude indique que les hôtes bactériens présentent un potentiel en tant que plateforme de production pour la psilocybine.

C'est la première étude qui expérimente la production de psilocybine dans un organisme procaryote. De plus cet essai a permis d'obtenir les taux les plus élevés de psilocybine à partir d'un hôte recombinant.

Cela a pu être établi grâce à l'optimisation génétique et à la fermentation à petite échelle, combiné à une étude à plus grande échelle utilisant le fed-batch et une stratégie d'alimentation en substrat.

Dès lors, afin de réduire les coûts de production qui pourraient être un frein à la production à grande échelle, il est nécessaire d'étudier la possibilité de la production *de novo* de la psilocybine par l'hôte, éliminant le processus d'ajout d'une source de carbone. (117)

III.3.5 Production de novo chez *Saccharomyces cerevisiae*

En Juillet 2020, une équipe de chercheurs danois, rédigé par Nicholas Milne (118), a publié une étude relatant la production biosynthétique *de novo*, c'est-à-dire sans ajout de précurseurs indoliques dans le milieu de culture de psilocybine chez l'hôte *Saccharomyces cerevisiae*, un micro-organisme eucaryote unicellulaire.

Ils se sont penchés sur cette biosynthèse pour parvenir à une production fermentative à grande échelle de psilocybine à un prix compétitif et conforme aux réglementations des Bonnes Pratiques de Fabrication.

Ils postulent que *Saccharomyces cerevisiae* pourrait constituer un hôte de production attrayant, en raison de sa longue utilisation dans la production industrielle, ainsi que du fait que cette levure produit naturellement très peu de métabolites secondaires ou d'autres produits dérivés du tryptophane, facilitant ainsi un traitement et une purification simples en aval de la culture en fermenteur.

De plus *Saccharomyces cerevisiae* peut exprimer fonctionnellement les enzymes du cytochrome P450 nécessaires à l'hydroxylation par monooxygénase, permettant la conversion de la tryptamine en 4-hydroxytryptamine et ainsi la bioproduction *de novo* à partir du glucose via le tryptophane. On contourne le besoin d'ajouter le substrat coûteux, qu'est le 4-hydroxyindole, cela entraîne une réduction significative des coûts de production.

La voie de biosynthèse hétérologue commence par la production native de tryptophane, lui-même dérivé de métabolites produits par glycolyse, la voie du pentose phosphate et celle du shikimate.

S'ensuit la synthèse de la psilocybine par la voie de la 4-hydroxytryptamine, dérivant de la tryptamine. Cette voie passe par la norbaécocystine, puis la baécocystine et enfin la psilocine.

Des gènes hétérologues codant pour les enzymes catalytiques pour la biosynthèse de la psilocybine ont été introduits dans la souche de *Saccharomyces cerevisiae* ST9482.

Ces cellules ont subi une fermentation contrôlée de type fed-batch, qui a été réalisée dans des bioréacteurs de 1 L, équipés de sondes de mesure du pH, de l'oxygène dissous et de la température.

La fermentation a été effectuée à 30 ° C le pH contrôlé à 5,0 par addition d'une solution d'ammoniaque à 12%. Les concentrations d'O₂ et de CO₂ dans les effluents gazeux ont été analysées, il a été observé une forte augmentation de l'O₂ et une diminution correspondante du CO₂, indiquant une consommation complète de glucose.

La fermentation fed-batch contrôlée de la souche hôte, a conduit à la production de 627 ± 140 mg/L de psilocybine, cela s'est accompagné d'une production concomitante de 580 ± 276 mg/L de psilocine.

Une accumulation significative de psilocine a été observée, ce qui indique une forte réaction d'équilibre entre les deux molécules. *Saccharomyces cerevisiae* contient plusieurs enzymes phosphatases, capables d'éliminer les groupes phosphate des protéines et des petites molécules, qui peuvent être responsables de la conversion de la psilocybine en psilocine.

La fermentation de type fed-batch de *Saccharomyces cerevisiae* a fourni une preuve de concept pour la production à l'échelle industrielle de la psilocybine. La mise en œuvre de la voie de biosynthèse de *Psilocybe cubensis* avec l'expression d'un nouveau cytochrome P450 réductase a abouti à une production *de novo* de haut niveau à partir du glucose. Et bien que la séparation ainsi que la purification de la psilocybine du milieu de culture n'aient pas été étudiées dans ce travail, l'observation que la psilocybine était excrétée efficacement dans l'espace extracellulaire par la levure facilitera une procédure de traitement en aval simple et rentable.

De plus cela démontre la polyvalence de la biosynthèse enzymatique et comment *Saccharomyces cerevisiae* peut être utilisée pour produire de nouveaux candidats médicaments qui vont au-delà de ce qui est possible avec la synthèse chimique ou l'extraction à partir de sources naturelles. (118)

III.4 Avantages et inconvénients des modes de productions des alcaloïdes dérivés du *Psilocybe*

III.4.1 La synthèse chimique

La synthèse chimique est la première méthode à avoir permis l'obtention de la psilocybine et la psilocine avec la synthèse d'Hofmann, puis a été améliorée afin d'améliorer le rendement et réduire le coût de production.

Cette technique de synthèse permet d'obtenir un produit pur, mais pouvant nécessiter de nombreuses étapes de purification, avec une possibilité de réaliser une cristallisation.

Il peut également y avoir de nombreuses étapes avant d'obtenir le produit final voulu, ce qui diminue le rendement final, augmente le temps de production et nécessite du matériel adéquat et un personnel qualifié.

L'utilisation de matière première peut s'avérer être coûteuse, dans la synthèse de Londesbrough, la molécule de départ est le 4-hydroxyindole, dont le prix au gramme varie en fonction de la pureté. Selon le fournisseur, le gramme de 4-hydroxyindole pur à 98% s'adapte aux alentours de 15 dollars, tandis que le gramme pur à 99% s'élève à 200 dollars. (119)

Malgré un coût de départ important, cette synthèse permet d'obtenir un rendement de 10g de psilocybine.

L'utilisation de produits chimiques induit des équipements de protection pour le personnel manipulant et un circuit d'élimination des déchets qui peuvent être polluants pour l'environnement.

En revanche, cette technique de production permet une reproductibilité aisée, avec la rédaction d'un protocole bien détaillé. (120)

III.4.2 La bioproduction

La bioproduction des alcaloïdes issus des *Psilocybes*, a recours à des bioréacteurs, par des procédés de fed-batch. Ces bioréacteurs permettent de contrôler toutes les conditions de culture tels que la température, le pH, l'aération et son alimentation, ce qui permet de recueillir des informations très fiables.

Ce mode de production permet en pratique un gain de temps, une augmentation de la productivité et une possibilité de modification du milieu en cours de culture.

De plus, cela permet de favoriser l'expression des gènes codant les enzymes essentielles à la biosynthèse de la psilocybine en optimisant le substrat, tout comme la productivité maximale qui peut dépendre de la stratégie d'alimentation.

Les différents hôtes étudiés ont permis d'obtenir différents taux de molécules psychoactives, tel que pour *Aspergillus nidulans*, dont des titres jusqu'à 110 mg/L de psilocybine ont pu être produit. (116)

En ce qui concerne l'hôte *Escherichia coli*, dans des conditions optimales, la production a permis d'obtenir 1160 mg/L de psilocybine. (117)

Quant à la levure *Saccharomyces cerevisiae*, elle a permis de produire 627 ± 140 mg/L de psilocybine et 580 ± 276 mg/L de psilocine. (118)

En revanche, dans ces modes de culture, le risque majeur est la contamination qui est élevée, de même que les organismes utilisés comme hôtes, ont des risques accrus de subir des modifications génétiques, altérant leur productivité. (121)

L'extraction et la purification du produit doivent être réalisées par des techniques qui ne vont pas altérer les molécules produites, tels que l'électrophorèse, la distillation ou la chromatographie.

Enfin les temps de nettoyage, de stérilisation et de manutention sont assez conséquents et doivent être réalisés dans des conditions drastiques afin d'éviter toute contamination. (122)

Conclusion

Les champignons sont connus, consommés et étudiés depuis des millénaires. Le genre *Psilocybe* est présent sur l'ensemble du globe terrestre sous diverses espèces, contenant différentes teneurs en molécules psychoactives selon l'espèce et l'environnement dans lequel le champignon se développe. Les différentes espèces ont été très bien décrites et documentées par différents auteurs.

Les découvertes concernant les rites chamaniques faisant état d'utilisation de *Psilocybe*, ont orienté certains scientifiques à étudier ces champignons dans les années 1960, afin d'analyser certaines pathologies et leur potentiel thérapeutique.

Cependant la consommation récréative se démocratisant, les champignons contenant des molécules hallucinogènes ont été classées comme stupéfiants, limitant la recherche jusqu'à la reprise dans les années 2000.

Les molécules de psilocybine et psilocine sont désormais bien connues des scientifiques, leurs pharmacodynamies, pharmacocinétiques et effets indésirables ont été largement étudiés et décrits avec détails, ce qui permet leurs utilisations avec sécurité et innocuité dans les différents essais.

En revanche de nouvelles molécules ont été identifiées dans les *Psilocybes* et présentes un réel potentiel thérapeutique, tels que la norpsilocine, la baéocystine et les bêta-carbolines.

Toutes les études menées jusqu'à maintenant, expriment un réel potentiel de la psilocybine dans des pathologies neurologiques, mais également dans de nouvelles perspectives telles que des rôles antibiotiques, anti-moustique et anti-inflammatoires qui sont à explorer *in vivo*.

Ces potentiels efficacités thérapeutiques, pose la question de la productivité du champignon et de ses alcaloïdes actifs. La production du *Psilocybe*, a rapidement été écartée par les chercheurs, car ils ont mis en évidence une disparité des teneurs en molécules psychoactives dans diverses cultures et donc l'impossibilité de production à grande échelle, par manque de reproductibilité.

Vient alors la production par synthèse chimique, qui a permis d'isoler pour la première fois la psilocybine et la psilocine, ce type de production a subi depuis de multiples optimisations depuis ces prémices et est une des voies privilégiées pour la production lors des essais cliniques.

Si ces molécules psychoactives viennent à être commercialisées, la bioproduction a étudiée diverses voies afin de déterminer la plus productive et la plus économique. Ce type de production permettrait un grand rendement malgré les contraintes liées à cette voie de production.

Néanmoins, on ne peut encore établir de réelles perspectives pour le *Psilocybe* et ses composants, car malgré un fort potentiel thérapeutique, le manque d'étude et les limites juridiques qui entourent son utilisation, compromettent leurs avenir à court terme dans l'arsenal thérapeutique en tant que médicament.

Bibliographie

1. Bouchet, P., Guignard, J., & Villard J. Les champignons: mycologie fondamentale et appliquée. Editions Masson. 1999.
2. Kirk P, Cannon P, Minter D, Stalpers J. Dictionary of the Fungi 10th Edition. World. 2003;
3. Stamets P. Psilocybin mushrooms of the world: an identification guide. Ten Speed Press, Berkeley, USA,. Mycologist. 1996.
4. Robert V, Stegehuis G, Stalpers J. Mycobank [Internet]. The MycoBank engine and related databases. 2005 [cited 2021 Feb 10]. Available from: <https://www.mycobank.org/>
5. Guinberteau J. MycoDB : Fiche de *Psilocybe cyanescens* [Internet]. 2008 [cited 2021 Feb 10]. Available from: <https://www.mycodb.fr/fiche.php?genre=Psilocybe&espece=cyanescens>
6. Singer R, Smith AH. Mycological investigations on Teonanácatl, the mexican hallucinogenic mushroom. Part II. A taxonomic monograph of *Psilocybe*, section Caerulescentes. Mycologia. 1958;50(2):262.
7. Rockefeller A. Mushroom observer [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 10]. Available from: <https://images.mushroomobserver.org/orig/1046854.jpg>
8. Pean Remi; Bouet Christian. MycoDB : Fiche de *Psilocybe cubensis* [Internet]. [cited 2021 Jun 15]. Available from: <https://www.mycodb.fr/fiche.php?genre=Psilocybe&espece=cubensis>
9. Hofmann A, Frey A, Ott H, Petrzilka T, Troxler F. Konstitutionsaufklärung und synthese von Psilocybin. Experientia. 1958;14(11):397–9.
10. Alan Rockefeller. Mushroom Observer: Image: *Psilocybe mexicana* R. Heim (1054567) [Internet]. [cited 2021 Jun 15]. Available from: https://mushroomobserver.org/image/show_image/1054567?obs=372243
11. Heim R. Preliminary notes on the hallucination producing Agarics of Mexico. Rev Mycol. 1957;22(2):183–207.
12. Pean Remi; Bouet Christian; Schwab Nicolas. MycoDB : Fiche de *Psilocybe semilanceata* [Internet]. [cited 2021 Jun 15]. Available from: <https://www.mycodb.fr/fiche.php?genre=Psilocybe&espece=semilanceata>
13. Rockefeller A. Mushroom observer [Internet]. 2012 [cited 2021 Feb 10]. Available from: <https://mushroomobserver.nyc3.digitaloceanspaces.com/orig/284884.jpg>
14. Gartz J. Magic mushrooms around the World a scientific journey cross cultures and time. 1997;133.
15. Stijve T, Kuyper Th. W. Occurrence of psilocybin in various higher fungi from several European countries. Planta Med. 1985;51(5):385–7.
16. Lin HC, Hewage RT, Lu YC, Chooi YH. Biosynthesis of bioactive natural products from Basidiomycota [Internet]. Vol. 17, Organic and Biomolecular Chemistry. Royal Society of Chemistry; 2019 [cited 2021 Jun 29]. p. 1027–36. Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2019/ob/c8ob02774a>
17. Courtecuisse R, Deveaux M. Champignons hallucinogènes d'Europe et des Amériques : mise au point mycologique et toxicologique. Ann Toxicol Anal. 2004;16(1):36–64.
18. Ballesteros S. Natural sources of drugs of abuse: magic mushrooms. New Res Str Drugs. 2006;167–86.
19. The Pharmacology of Psilocybin and Psilocin - Psychedelic Science Review [Internet]. [cited 2021 Feb 10]. Available from:

- <https://psychedelicreview.com/the-pharmacology-of-psilocybin-and-psilocin/>
20. Tylš F, Páleníček T, Horáček J. Psilocybin - Summary of knowledge and new perspectives. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2014;24(3):342–56.
 21. Derosa G, Maffioli P. Alkaloids in the nature: pharmacological applications in clinical practice of berberine and mate tea. *Curr Top Med Chem.* 2014;14(2):200–6.
 22. Cody JT. Chapter 4 Hallucinogens. *Handb Anal Sep.* 2000;2:143–62.
 23. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology.* 1999;38(8):1083–152.
 24. Barceloux DG. Book review: Medical toxicology of drug abuse: Synthesized chemicals and psychoactive plants. *Acad Forensic Pathol.* 2012;65.
 25. Clarke EGC. Isolation and identification of drugs in pharmaceuticals. Body fluids, and post-mortem material. *J Med Chem.* 1970;13(2):338.
 26. Anastos N, Barnett NW, Pfeffer FM, Lewis SW. Investigation into the temporal stability of aqueous standard solutions of psilocin and psilocybin using high performance liquid chromatography. *Sci Justice - J Forensic Sci Soc.* 2006;46(2):91–6.
 27. S Ray T. Psychedelics and the Human Receptorome. *PLoS One.* 2010;
 28. Dinis-Oliveira RJ. Metabolism of psilocybin and psilocin: clinical and forensic toxicological relevance. *Drug Metab Rev.* 2017;49(1):84–91.
 29. Horita A, Weber LJ. Dephosphorylation of psilocybin to psilocin by alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1961;106(1):32–4.
 30. Horita A, Weber LJ. The enzymic dephosphorylation and oxidation of psilocybin and psilocin by mammalian tissue homogenates. *Biochem Pharmacol.* 1961;7(1):47–54.
 31. Hasler F, Bourquin D, Brenneisen R, Bär T, Vollenweider FX. Determination of psilocin and 4-hydroxyindole-3-acetic acid in plasma by HPLC-ECD and pharmacokinetic profiles of oral and intravenous psilocybin in man. *Pharm Acta Helv.* 1997 Jun;72(3):175–84.
 32. Passie T, Seifert J, Schneider U, Emrich HM. The pharmacology of psilocybin. Vol. 7, *Addiction Biology.* 2002. p. 357–64.
 33. Lindenblatt H, Krämer E, Holzmann-Erens P, Gouzoulis-Mayfrank E, Kovar KA. Quantitation of psilocin in human plasma by high-performance liquid chromatography and electrochemical detection: Comparison of liquid - liquid extraction with automated on-line solid-phase extraction. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1998;709(2):255–63.
 34. Manevski N, Kurkela M, Höglund C, Mauriala T, Court MH, Yli-Kauhaluoma J, et al. Glucuronidation of psilocin and 4-hydroxyindole by the human UDP-glucuronosyltransferases. *Drug Metab Dispos.* 2010;38(3):386–95.
 35. Grieshaber AF, Moore KA, Levine B. The detection of psilocin in human urine. *J Forensic Sci.* 2001;46(3):627–30.
 36. Sticht G, Käferstein H. Detection of psilocin in body fluids. *Forensic Sci Int.* 2000;133(1–3):403–7.
 37. Kamata T, Nishikawa M, Katagi M, Tsuchihashi H. Direct detection of serum psilocin glucuronide by LC/MS and LC/MS/MS: Time-courses of total and free (unconjugated) psilocin concentrations in serum specimens of a “magic mushroom” user. *Forensic Toxicol.* 2006;24(1):36–40.
 38. Hasler F, Bourquin D, Brenneisen R, Vollenweider FX. Renal excretion profiles of psilocin following oral administration of psilocybin: A controlled study in man. *J*

- Pharm Biomed Anal. 2002;30(2):331–9.
39. Lenz C, Wick J, Hoffmeister D. Identification of ω -N-Methyl-4-hydroxytryptamine (Norpsilocin) as a *Psilocybe* Natural Product. J Nat Prod. 2017;80(10):2835–8.
 40. Bauer MS. Norpsilocin - A newly discovered psilocybin derivative - Psychedelic Science Review [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 11]. Available from: <https://psychedelicreview.com/norpsilocin-a-newly-discovered-psilocybin-derivative/>
 41. Sherwood AM, Halberstadt AL, Klein AK, McCorvy JD, Kaylo KW, Kargbo RB, et al. Synthesis and biological evaluation of tryptamines found in hallucinogenic mushrooms: norbaeocystin, baeocystin, norpsilocin, and aeruginascin. J Nat Prod. 2020;83(2):461–7.
 42. Leung AY, Paul AG. Baeocystin and norbaeocystin: New analogs of psilocybin from *Psilocybe baeocystis*. J Pharm Sci. 1968;57(10):1667–71.
 43. Repke DB, Leslie DT, Guzmán G. Baeocystin in *Psilocybe*, *Conocybe* and *Paraeolus*. Lloydia. 1977;40(6):566–78.
 44. Gartz J. Occurrence of psilocybin and baeocystin in fruit bodies of *Pluteus salicinus*. Planta Med. 1987;53(3):290–1.
 45. Gartz J. Extraction and analysis of indole derivatives from fungal biomass. J Basic Microbiol. 1994;34(1):17–22.
 46. Troxler F, Seemann F, Hofmann A. Abwandlungsprodukte von psilocybin und psilocin. 2. Mitteilung über synthetische Indolverbindungen. Helv Chim Acta. 1959;42(6):2073–103.
 47. Blei F, Dörner S, Fricke J, Baldeweg F, Trottmann F, Komor A, et al. Simultaneous production of psilocybin and a cocktail of β -carboline monoamine oxidase inhibitors in “magic” mushrooms. Chem - A Eur J. 2020;26(3):729–34.
 48. Louis ED, Zheng W, Jurewicz EC, Watner D, Chen J, Factor-Litvak P, et al. Elevation of blood B-carboline alkaloids in essential tremor. Neurology. 2002;59(12):1940–4.
 49. Rommelspacher H, May T, Salewski B. Harman (1-methyl- β -carboline) is a natural inhibitor of monoamine oxidase type A in rats. Eur J Pharmacol. 1994;252(1):51–9.
 50. Herraiz T, Chaparro C. Human monoamine oxidase enzyme inhibition by coffee and β -carbolines norharman and harman isolated from coffee. Life Sci. 2006;78(8):795–802.
 51. Ferraz CAA, de Oliveira Júnior RG, Picot L, da Silva Almeida JRG, Nunes XP. Pre-clinical investigations of β -carboline alkaloids as antidepressant agents: A systematic review. Vol. 137, Fitoterapia. Elsevier B.V.; 2019. p. 104196.
 52. Buckholtz NS, Boggan WO. Monoamine oxidase inhibition in brain and liver produced by β -carbolines: structure-activity relationships and substrate specificity. Biochem Pharmacol. 1977;
 53. Ishida J, Wang HK, Oyama M, Cosentino ML, Hu CQ, Lee KH. Anti-AIDS agents. 46.1 Anti-HIV activity of harman, an anti-HIV principle from *Symplocos setchuensis*, and its derivatives. J Nat Prod. 2001;64(7):958–60.
 54. Kuhn W, Müller T, Große H, Dierks T, Rommelspacher H. Plasma levels of the β -carbolines harman and norharman in Parkinson’s disease. Acta Neurol Scand. 1995;92(6):451–4.
 55. Patel K, Gadewar M, Tripathi R, Prasad SK, Patel DK. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid “ Harmine.” Asian Pac J Trop Biomed. 2012;2(8):660–4.

56. Carhart-Harris RL, Williams TM, Sessa B, Tyacke RJ, Rich AS, Feilding A, et al. The administration of psilocybin to healthy, hallucinogen-experienced volunteers in a mock-functional magnetic resonance imaging environment: A preliminary investigation of tolerability. *J Psychopharmacol*. 2011;25(11):1562–7.
57. Griffiths RR, Richards WA, McCann U, Jesse R. Psilocybin can occasion mystical-type experiences having substantial and sustained personal meaning and spiritual significance. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006;187(3):268–83.
58. Hasler F, Grimberg U, Benz MA, Huber T, Vollenweider FX. Acute psychological and physiological affects of psilocybin in healthy humans: A double-blind, placebo-controlled dose-effect study. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004;172(2):145–56.
59. Johnson MW, Richards WA, Griffiths RR. Human hallucinogen research: Guidelines for safety. *J Psychopharmacol*. 2008;22(6):603–20.
60. Amsterdam J van, Opperhuizen A, Brink W van den. Harm potential of magic mushroom use: A review. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2011;59(3):423–9.
61. Saviuc P, Flesch F. Intoxications aiguës par les champignons supérieurs et leur traitement. *Press Medicale*. 2003;32(30):1427–35.
62. Studerus E, Kometer M, Hasler F, Vollenweider FX. Acute, subacute and long-term subjective effects of psilocybin in healthy humans: A pooled analysis of experimental studies. *J Psychopharmacol*. 2011;25(11):1434–52.
63. Pierrot M. Intoxications by hallucinogenic mushrooms | Intoxications par champignons hallucinogènes. *Ann Med Interne (Paris)*. 2002;153(3):47–9.
64. Lim TH, Wasywich CA, Ruygrok PN. A fatal case of “magic mushroom” ingestion in a heart transplant recipient. *Intern Med J*. 2012;42(11):1268–9.
65. Klock JC, Boerner U, Becker CE. Coma, hyperthermia, and bleeding associated with massive LSD overdose a report of eight cases. *Clin Toxicol*. 1975;120(3):183–8.
66. Strassman RJ. Adverse reactions to psychedelic drugs. A review of the literature. *J Nerv Ment Dis*. 1984;172(10):577–95.
67. Espiard ML, Lecardeur L, Abadie P, Halbecq I, Dollfus S. Hallucinogen persisting perception disorder after psilocybin consumption: A case study. *Eur Psychiatry*. 2005;20(5–6):458–60.
68. Griffiths RR, Johnson MW, Richards WA, Richards BD, McCann U, Jesse R. Psilocybin occasioned mystical-type experiences: Immediate and persisting dose-related effects. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;218(4):649–65.
69. Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cited 2021 Feb 13]. Available from: <https://www.legifrance.gouv.fr/codes/id/LEGITEXT000006072665/>
70. Code pénal - Légifrance [Internet]. [cited 2021 Feb 13]. Available from: <https://www.legifrance.gouv.fr/codes/id/LEGITEXT000006070719/>
71. Vieta E, Colom F. Therapeutic options in treatment-resistant depression. *Ann Med*. 2011;43(7):512–30.
72. Schosser A, Serretti A, Souery D, Mendlewicz J, Zohar J, Montgomery S, et al. European group for the study of resistant depression (GSRD) - Where have we gone so far: Review of clinical and genetic findings. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2012;22(7):453–68.
73. McHenry L. Ethical issues in psychopharmacology. *J Med Ethics*. 2006;32(7):405–10.
74. Nutt DJ. Relationship of neurotransmitters to the symptoms of major depressive disorder. *J Clin Psychiatry*. 2008;69(1):4–7.
75. Carhart-Harris RL, Bolstridge M, Rucker J, Day CMJ, Erritzoe D, Kaelen M, et al. Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an

- open-label feasibility study. *The Lancet Psychiatry*. 2016;3(7):619–27.
76. Spencer R, Nilsson M, Wright A, Pirl W, Prigerson H. Anxiety disorders in advanced cancer patients: Correlates and predictors of end-of-life outcomes. *Cancer*. 2010;116(7):1810–9.
 77. Grob CS, Danforth AL, Chopra GS, Hagerty M, McKay CR, Halberstad AL, et al. Pilot study of psilocybin treatment for anxiety in patients with advanced-stage cancer. *Arch Gen Psychiatry*. 2011;68(1):71–8.
 78. Griffiths RR, Johnson MW, Carducci MA, Umbricht A, Richards WA, Richards BD, et al. Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial. *J Psychopharmacol*. 2016;30(12):1181–97.
 79. Murray CJ, Lopez, Alan D. The Global burden of disease : a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020,. *Harvard Sch Public Heal*. 1996;349(9063):1436–42.
 80. Nordahl TE, Benkelfat C, Semple WE, Gross M, King AC, Cohen RM. Cerebral glucose metabolic rates in obsessive compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology*. 1989;2(1):23–8.
 81. Baxter LR, Schwartz JM, Mazziotta JC, Phelps ME, Pahl JJ, Guze BH, et al. Cerebral glucose metabolic rates in nondepressed patients with obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*. 1988;145(12):1560–3.
 82. Van Der Straten AL, Denys D, Van Wingen GA. Impact of treatment on resting cerebral blood flow and metabolism in obsessive compulsive disorder: A meta-Analysis. *Sci Rep*. 2017;68(1):71–8.
 83. Buckholtz NS, Zhou D, Freedman DX, Potter WZ. Lysergic acid diethylamide (LSD) administration selectively downregulates serotonin₂ receptors in rat brain. *Neuropsychopharmacology*. 1990;26(21):1991–6.
 84. Moreno FA, Wiegand CB, Taitano EK, Delgado PL. Safety, tolerability, and efficacy of psilocybin in 9 patients with obsessive-compulsive disorder. *J Clin Psychiatry*. 2006;67(11):1735–40.
 85. Stovner LJ, Andree C. Prevalence of headache in Europe: A review for the Eurolight project. *J Headache Pain*. 2010;11(4):289–99.
 86. Sewell RA, Halpern JH, Pope HG. Response of cluster headache to psilocybin and LSD. *Neurology*. 2006;66(12):1920–2.
 87. Sempere ÁP, Berenguer-Ruiz L, Almazán F. Chronic cluster headache: Response to psilocybin. *Rev Neurol*. 2006;43(9):571–2.
 88. Carhart-Harris RL, Erritzoe D, Williams T, Stone JM, Reed LJ, Colasanti A, et al. Neural correlates of the psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(6):2138–43.
 89. Cologno D, Mazzeo A, Lecce B, Mundi C, Petretta V, Casucci G, et al. Triptans: Over the migraine. *Neurol Sci*. 2012;193–8.
 90. Stamets P. Can mushrooms help save the world? *Explor J Sci Heal*. 2006;
 91. Dhanasekaran D, Latha S, Suganya P, Panneerselvam A, Senthil Kumar T, Alharbi N, et al. Taxonomic identification and bioactive compounds characterization of *Psilocybe cubensis* DPT1 to probe its antibacterial and mosquito larvicidal competency. *Microb Pathog*. 2020;143:104138.
 92. Nkadameng SM, Nabatanzi A, Steinmann CML, Eloff JN. Phytochemical, cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory effects of *Psilocybe natalensis* magic mushroom. *Plants*. 2020;9(9):1–13.
 93. Takimoto CH. Anticancer drug development at the US National Cancer Institute.

- Cancer Chemother Pharmacol Suppl. 2003;52 Suppl 1(1):29–33.
94. Guerra Dore CMP, Alves MG das CF, Santos M da GL, De Souza LAR, Baseia IG, Leite EL. Antioxidant and anti-inflammatory properties of an extract rich in polysaccharides of the mushroom *Polyporus dermatopus*. *Antioxidants*. 2014;3(4):730–44.
 95. Phongpaichit S, Nikom J, Rungjindamai N, Sakayaroj J, Hutadilok-Towatana N, Rukachaisirikul V, et al. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007;51(3):517–25.
 96. Jeong D, Yang WS, Yang Y, Nam G, Kim JH, Yoon DH, et al. In vitro and in vivo anti-inflammatory effect of *Rhodomyrtus tomentosa* methanol extract. *J Ethnopharmacol*. 2013;146(1):205–13.
 97. An HJ, Kim IT, Park HJ, Kim HM, Choi JH, Lee KT. Tormentic acid, a triterpenoid saponin, isolated from *Rosa rugosa*, inhibited LPS-induced iNOS, COX-2, and TNF- α expression through inactivation of the nuclear factor- κ B pathway in RAW 264.7 macrophages. *Int Immunopharmacol*. 2011;11(4):504–10.
 98. Kanwar J, Kanwar R, Burrow H, Baratchi S. Recent advances on the roles of NO in cancer and chronic inflammatory disorders. *Curr Med Chem*. 2009;16(19):2373–94.
 99. Gasparrini M, Forbes-Hernandez TY, Giampieri F, Afrin S, Alvarez-Suarez JM, Mazzoni L, et al. Anti-inflammatory effect of strawberry extract against LPS-induced stress in RAW 264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol*. 2017;102(4):1–10.
 100. Nair MP, Mahajan S, Reynolds JL, Aalinkeel R, Nair H, Schwartz SA, et al. The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF- κ B system. *Clin Vaccine Immunol*. 2006;13(3):319–28.
 101. Cheng Z, Nolan A, McKellar QA. Anti-inflammatory effects of carprofen, carprofen enantiomers, and NG-nitro-L-arginine methyl ester in sheep. *Am J Vet Res*. 2002;63(6):782–8.
 102. Muniandy K, Gothai S, Badran KMH, Kumar SS, Esa NM, Arulselvan P. Suppression of proinflammatory cytokines and mediators in LPS-Induced RAW 264.7 macrophages by stem extract of *Alternanthera sessilis* via the inhibition of the NF- κ B pathway. *J Immunol Res*. 2018;2018(4):1–12.
 103. Wang Q, Liang J, Stephen Brennan C, Ma L, Li Y, Lin X, et al. Anti-inflammatory effect of alkaloids extracted from *Dendrobium aphyllum* on macrophage RAW 264.7 cells through NO production and reduced IL-1, IL-6, TNF- α and PGE2 expression. *Int J Food Sci Technol*. 2020;55:1255–64.
 104. Van Tassell BW, Toldo S, Mezzaroma E, Abbate A. Targeting interleukin-1 in heart disease. *Circulation*. 2013;127(1):33–41.
 105. Goldmann M, Velu T. L'interleukine 10, une nouvelle cytokine immunosuppressive et anti-inflammatoire. *médecine/sciences*. 1993;9(4):453–5.
 106. Bigwood J, Beug MW. Variation of psilocybin and psilocin levels with repeated flushes (harvests) of mature sporocarps of *Psilocybe cubensis* (earle) singer. *J Ethnopharmacol*. 1982;5(3):287–91.
 107. Fresh Mushrooms “Golden Teacher” | Champignons Magiques - Zamnesia [Internet]. [cited 2021 Feb 21]. Available from: <https://www.zamnesia.fr/3722-fresh-mushrooms-golden-teacher.html>
 108. Instructions D'utilisation Des Kits De Culture De Champignons Magiques Zamnesia - Zamnesia [Internet]. [cited 2021 Feb 21]. Available from:

- <https://www.zamnesia.fr/content/437-instructions-kits-de-culture-zamnesia>
109. Comment Faire Des Seringues De Spores De Champignons Magiques - Zamnesia [Internet]. [cited 2021 Feb 21]. Available from: <https://www.zamnesia.fr/content/316-comment-faire-des-seringues-de-spores-de-champignons>
 110. Flacons De Spores – Un Bon Moyen De Cultiver Des Champignons Magiques - Zamnesia Blog [Internet]. [cited 2021 Feb 21]. Available from: <https://www.zamnesia.fr/blog-utiliser-un-flacon-de-spores-n1597>
 111. Nichols DE, Frescas S. Improvements to the synthesis of psilocybin and a facile method for preparing the O-acetyl prodrug of psilocin. *Synthesis (Stuttg)*. 1999;1999(6):935–8.
 112. Londesbrough DJ, Brown C, Northen JS, Moore G, Patil H, Nichols D. Preparation of psilocybin, different polymorphic forms, intermediates, formulations and their use. 2019 Apr 18;
 113. Agurell S, Lars J, Nilsson G. A biosynthetic sequence from tryptophan to psilocybin. *Tetrahedron Lett*. 1968;9:1063–4.
 114. Reynolds HT, Vijayakumar V, Gluck-Thaler E, Korotkin HB, Matheny PB, Slot JC. Horizontal gene cluster transfer increased hallucinogenic mushroom diversity. *Evol Lett*. 2018;2(2):88–101.
 115. Fricke J, Blei F, Hoffmeister D. Enzymatische synthese von psilocybin. *Angew Chemie*. 2017;129(40):12524–7.
 116. Hoefgen S, Lin J, Fricke J, Stroe MC, Mattern DJ, Kufs JE, et al. Facile assembly and fluorescence-based screening method for heterologous expression of biosynthetic pathways in fungi. *Metab Eng*. 2018;48(7):44–51.
 117. Adams AM, Kaplan NA, Wei Z, Brinton JD, Monnier CS, Enacopol AL, et al. In vivo production of psilocybin in *E. coli*. *Metab Eng*. 2019;59:111–9.
 118. Milne N, Thomsen P, Mølgaard Knudsen N, Rubaszka P, Kristensen M, Borodina I. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the de novo production of psilocybin and related tryptamine derivatives. *Metab Eng*. 2020;60:25–36.
 119. 4-Hydroxyindole price,buy 4-Hydroxyindole - chemicalbook [Internet]. [cited 2021 Sep 15]. Available from: <https://www.chemicalbook.com/Price/4-Hydroxyindole.htm>
 120. WO2019073379A1 - Preparation of psilocybin, different polymorphic forms, intermediates, formulations and their use - Google Patents [Internet]. [cited 2021 Sep 15]. Available from: <https://patents.google.com/patent/WO2019073379A1>
 121. Hochfeld WL. Producing biomolecular substances with fermenters, bioreactors, and biomolecular synthesizers. 2006;383.
 122. The Difference Between Batch, Fed-batch and Continuous Processes - EN Blog [Internet]. [cited 2021 Sep 16]. Available from: <https://www.inforsh.com/fr/blog/the-difference-between-batch-fed-batch-and-continuous-processes/>

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) BOULON Emilien

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (*Décret n°92-657 du 13 juillet 1992*)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : 21304765

N° Thèse : 13

Nom et Prénom : BOULON Emilien

Sujet : Etat des lieux sur l'utilisation des champignons du genre Psilocybe en thérapie,
ainsi que leur mode de production.

Tours, le : 28 mars 2022

Le(s) Directeur(s) de Thèse :


ARNAUD LANDUC

Vu et Transmis :
Le Doyen



NOM, PRÉNOM de l'étudiant : BOULON Emilien	N° 13
TITRE DE LA THÈSE Etat des lieux sur l'utilisation des champignons du genre <i>Psilocybe</i> en thérapie, ainsi que leur mode de production.	
RÉSUMÉ DE LA THÈSE <p>Les champignons sont connus, consommés et étudiés depuis des millénaires. Le genre <i>Psilocybe</i> est présent sur l'ensemble du globe terrestre sous diverses espèces, contenant une multitude de molécules psychoactives, dont les teneurs varient selon l'espèce.</p> <p>Ces dernières années, il y a eu un regain d'intérêt pour la nature et sa biodiversité, dans lesquelles les chercheurs ont de nouvelles sources de molécules aux propriétés biologiques exploitables. Cela a permis d'établir la composition exacte des composés contenus dans les <i>Psilocybes</i></p> <p>Les molécules de psilocybine et psilocine ont été très largement étudiées par les scientifiques, notamment leurs pharmacodynamies, pharmacocinétiques et effets indésirables, afin d'établir leurs possibles utilisations avec sécurité et innocuité, dans différents essais cliniques.</p> <p>Les études menées jusqu'à maintenant, ont évalué le potentiel de la psilocybine dans des pathologies neurologiques, mais également dans de nouvelles perspectives telles que des rôles antibiotiques, anti-moustique et anti-inflammatoires.</p> <p>Reste à établir les différentes voies de production afin de pouvoir fournir en quantité suffisante les <i>Psilocybes</i> et ses alcaloïdes actifs.</p> <p>Parmi lesquelles on retrouve, la culture du champignon, la synthèse chimique et la bioproduction qui ont été étudiées.</p>	
MOTS-CLÉS SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTRIBUÉS PAR LE CANDIDAT EN LIAISON AVEC LA BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY Champignons hallucinogènes, <i>Psilocybe</i> , psilocybine, psilocine, dépression, toc, algie vasculaire de la face, antibiotique, anti moustique, anti-inflammatoire, production, synthèse chimique, bioproduction.	
<u>JURY</u> <p>PRÉSIDENT : Monsieur CLASTRE Marc, Maître de Conférences, Faculté de pharmacie, Tours (37)</p> <p>MEMBRES : Monsieur LANOUE Arnaud, Maître de Conférences, Faculté de pharmacie, Tours (37) Monsieur BOUDENOT Patrick, Docteur en pharmacie, adjoint, Chaumont-sur-loire (41) Madame GUERREIRO Maïthé, Docteur en pharmacie, adjoint, Blois (41)</p>	
DATE ET LIEU DE SOUTENANCE : 17 Mars 2022 Faculté de pharmacie de Tours (37)	