

Exploration des Macromycètes comme Source des Composés Antibactériens



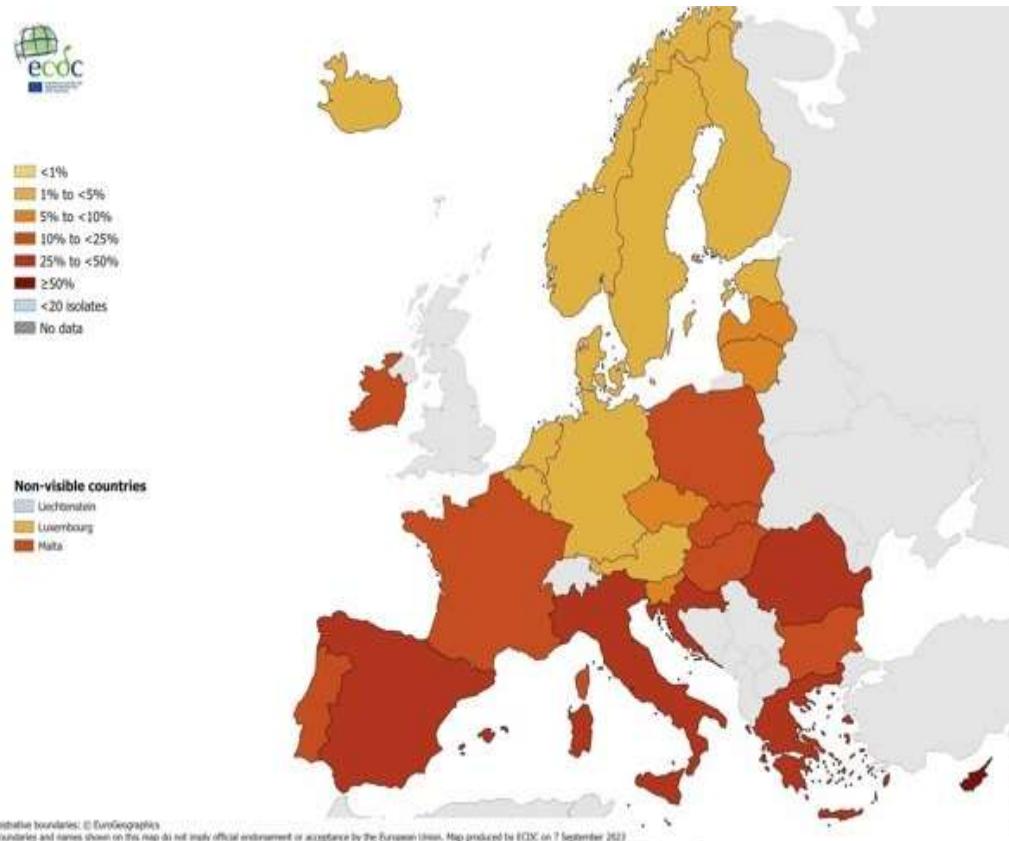
Yaouba SOUAIBOU, PhD. - Maître de conférences
UMR 7178 IPHC CNRS – DSA (CAMBAP)
Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg
e-mail: souaibou@unistra.fr



Antibioresistance

Situation actuelle

En 2019, 1.27 million de décès étaient attributable à antibiorésistance à travers le monde



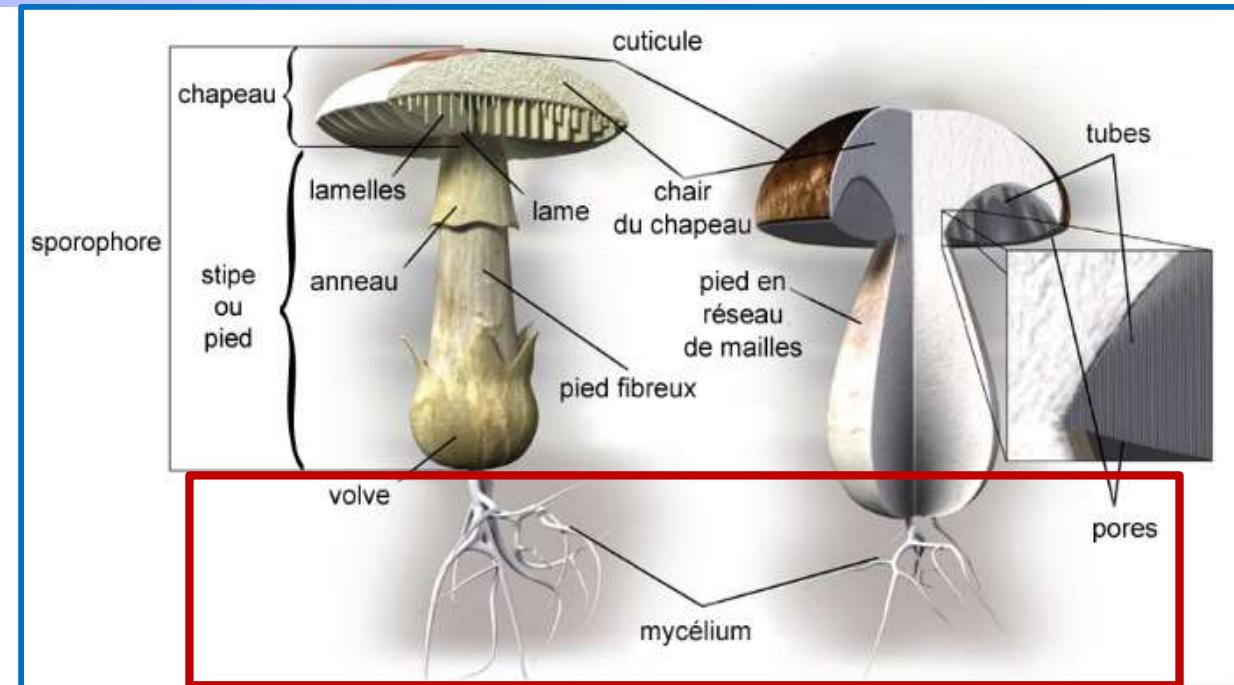
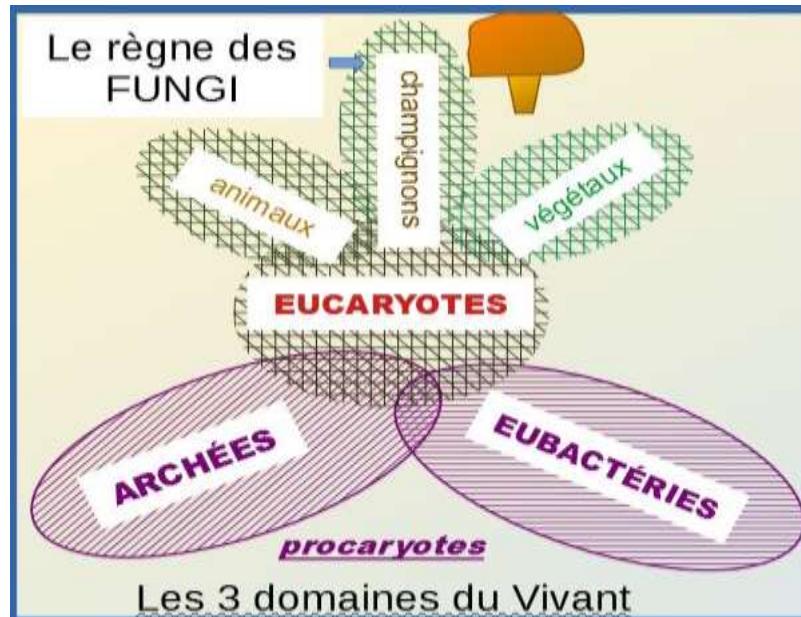
En Europe, 35000 personnes meurt chaque année à cause de l'antibiorésistance (ABR).

Plus de 1/5 des infections bactériennes sont causées par la résistance aux antibiotiques

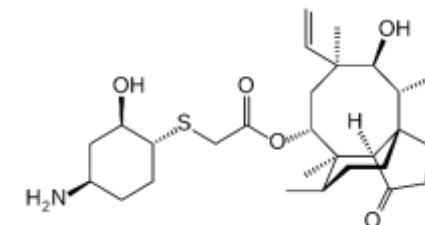
La mise au point de **nouvelles molécules** est cruciale pour contrer l'émergence de bactéries résistantes

Généralités

Macromycètes



*Clitopilus
passeckerianus*



Dérivé de pleuromutilin



Lefamulin
Médicament
Antibiotique

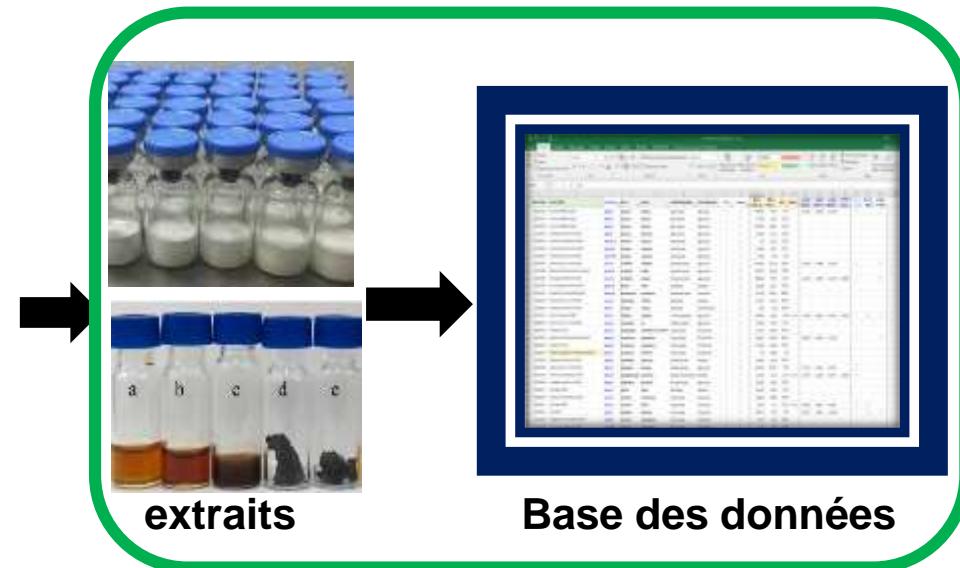
Mycothèque et extractothèque

Echantillons récoltés entre 2016 -2025

➤ 214 échantillons représentant 138 espèces différentes des macromycètes



1. Heptane
2. Acétate d'éthyle
3. Méthanol
4. Eau



Quelques espèces en cours d'études

Les Polypores sélectionnés



Fomitopsis pinicola – (Fopi23b)
Lieu de récolte: Fackenthal



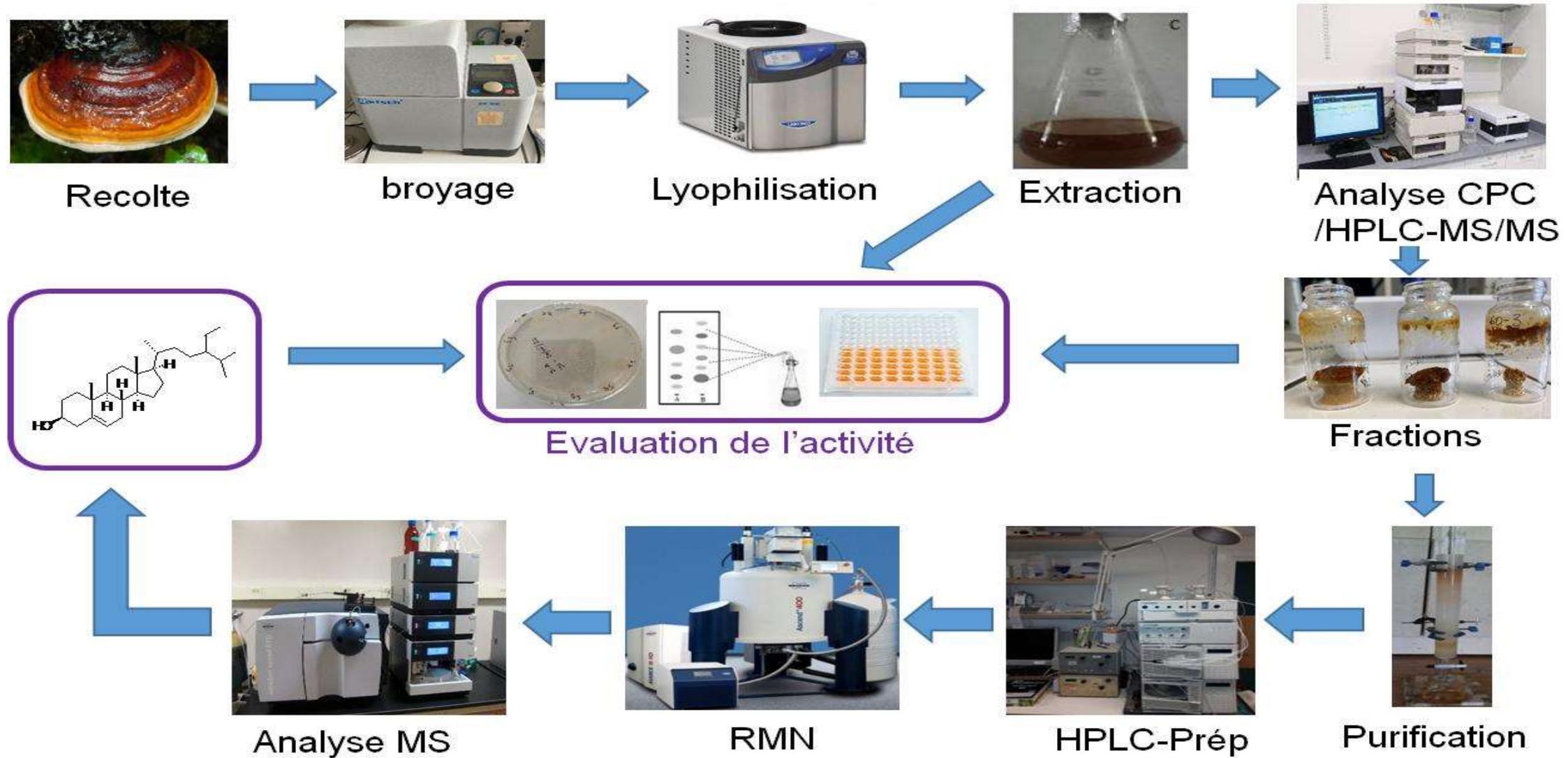
Fomitopsis betulina – (Fobe 24)
Lieu de récolte: Molsheim



Gloeophyllum odoratum (Glod 24)
Lieu de récolte: Molsheim

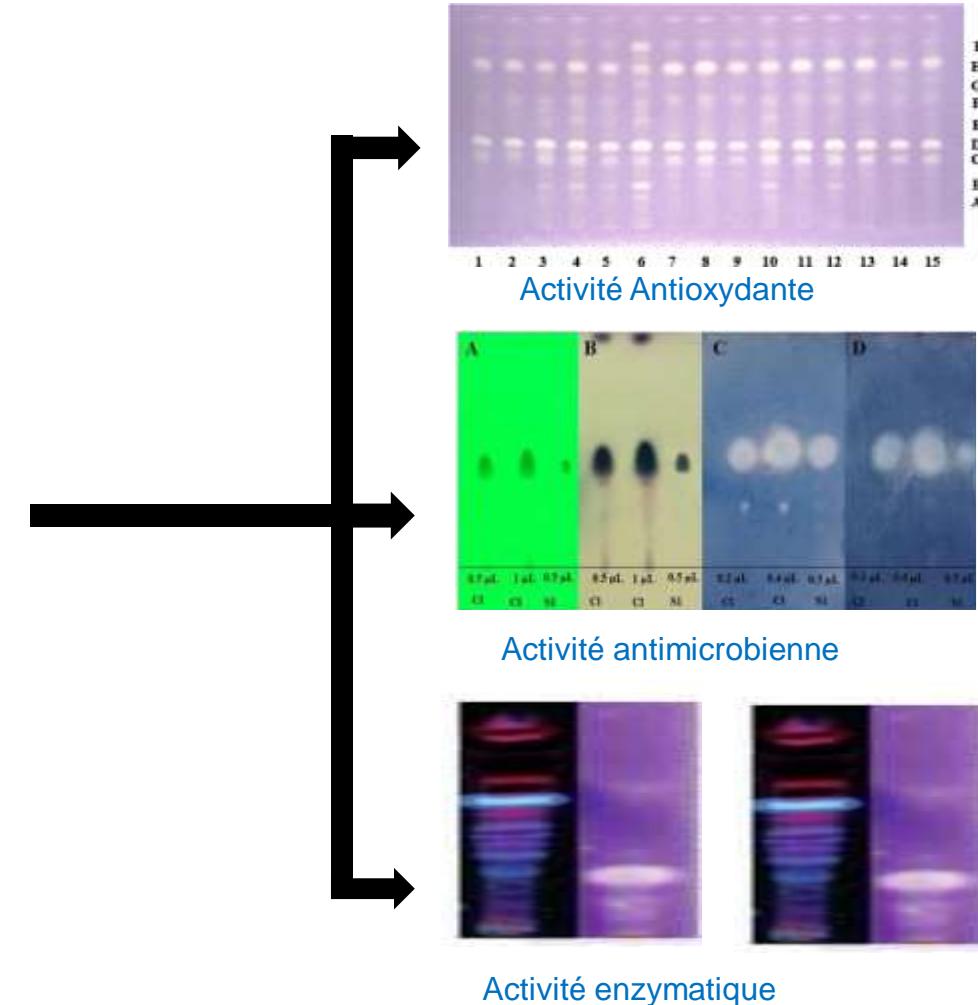
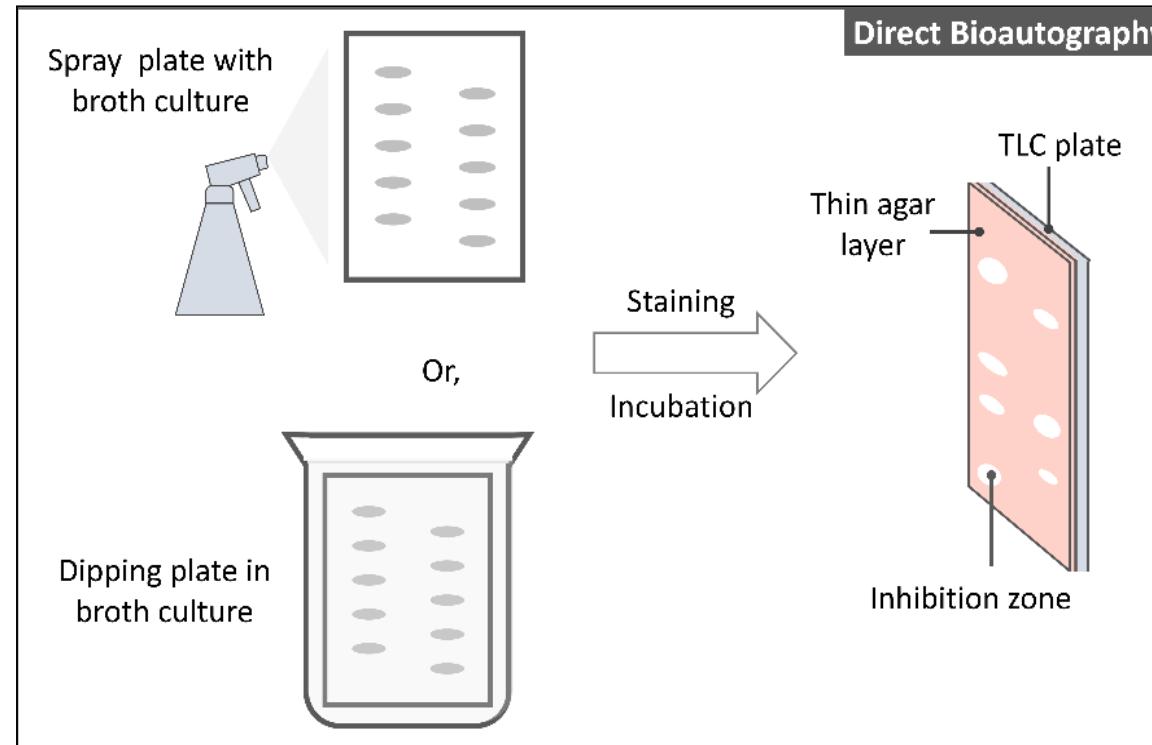
Méthode générale

Description

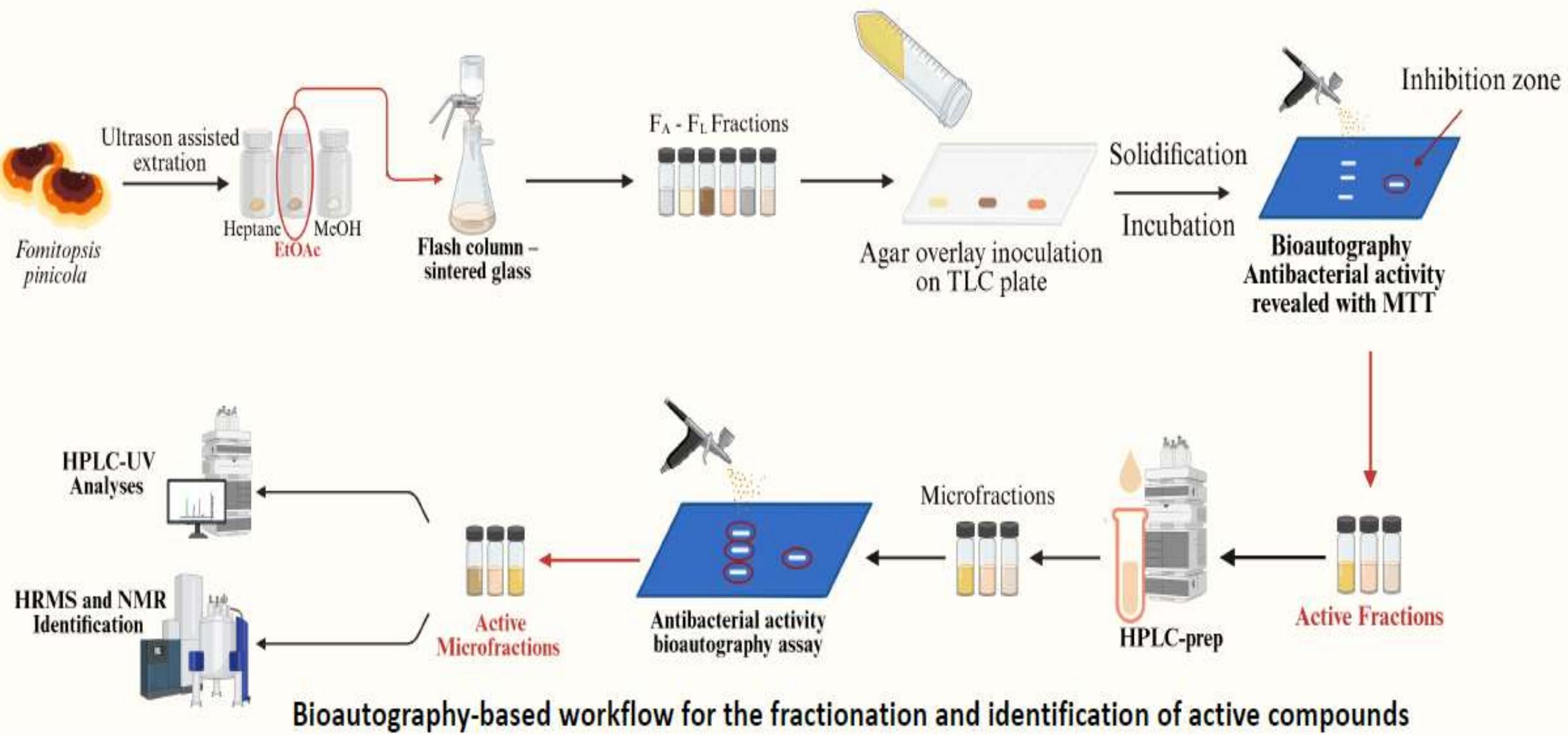


Méthode par Bioautographie

Description



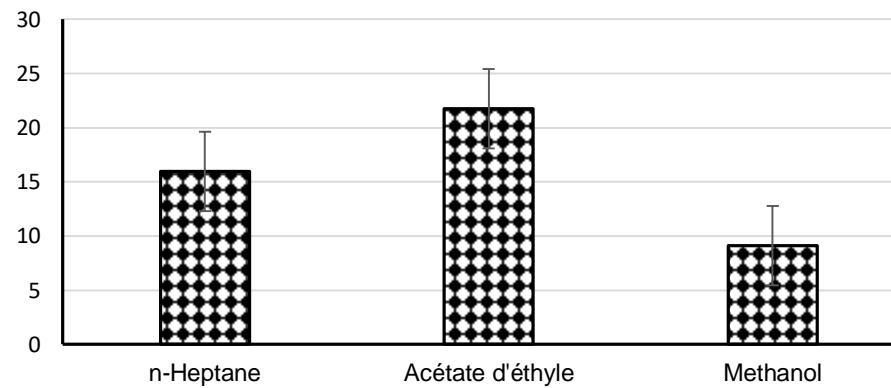
Méthode basée sur la Bioautography



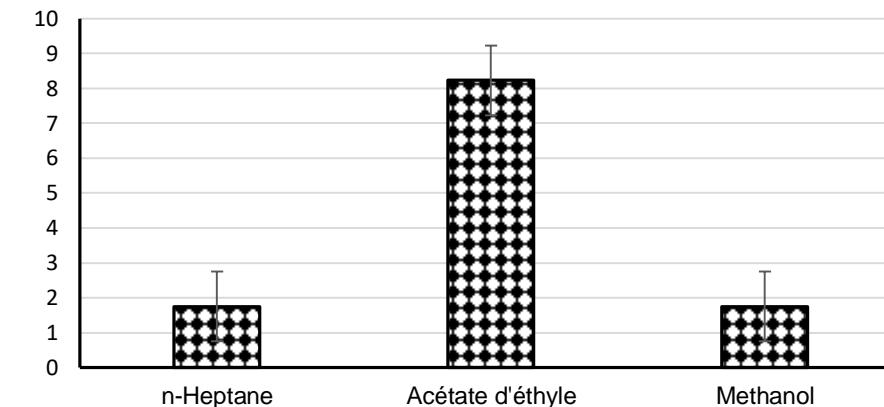
Résultats sur les extractions

Rendement d'extraction

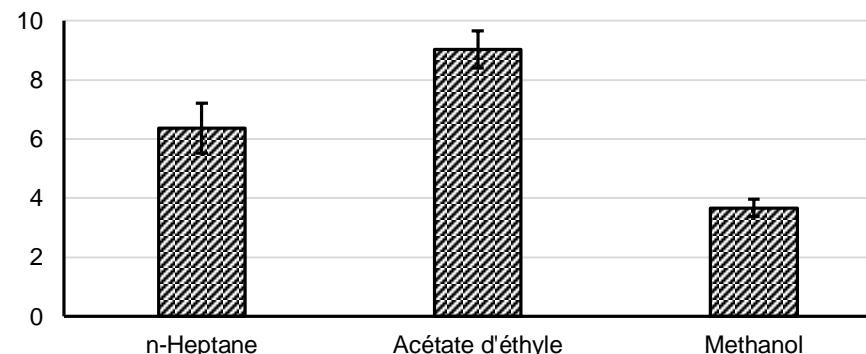
Masse totale de l'extrait (g)



Masse totale de l'extrait (g)

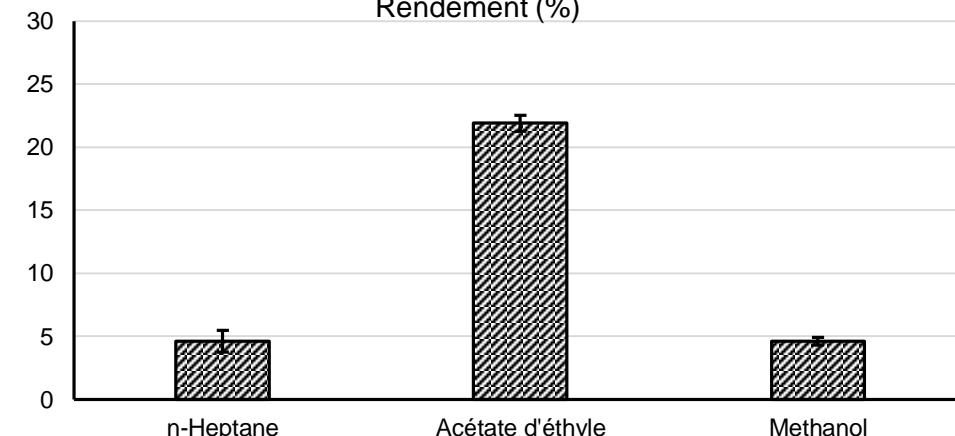


Rendement des extractions (%)



F. pinicola (Fopi-23b) - 225g of dried powder

Rendement (%)



F. betulina (Fobe-24) - 120g of dried powder

Activité antibactérienne

Méthode par diffusion sur disque

L'extrait à l'acétate d'éthyle a montré plus d'activité antibactérienne

Quantité déposé:

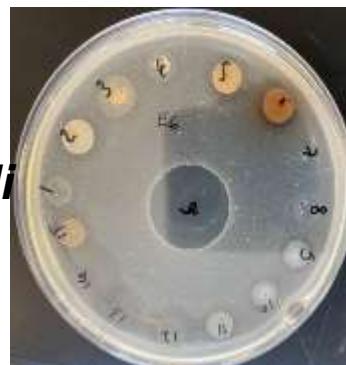
Extraits/fractions : 50µg

Contrôle positif : 20µg

S. aureus



E. coli



1. Fopi 23b Hep
2. Fopi 23b EtOAc
3. Fopi 23b MeOH
4. Fopi 14 Hep
5. Fopi 14 EA
6. Fopi 14 MeOH
- 7 .Fr 10%
- 8 .Fr 30%
- 9 .Fr 60%
10. Fr 80%
11. Fr EtOAc
12. Fr 5% MeOH
- 13.Fr MeOH
- 14.Gentamycin
15. Fopi 23b nMeOH
16. Vancomycin



S. aureus

Activité antibactérienne

Méthode par diffusion sur disque

Fopi -23b

Quantité déposée:

Extraits/fractions : 50 µg

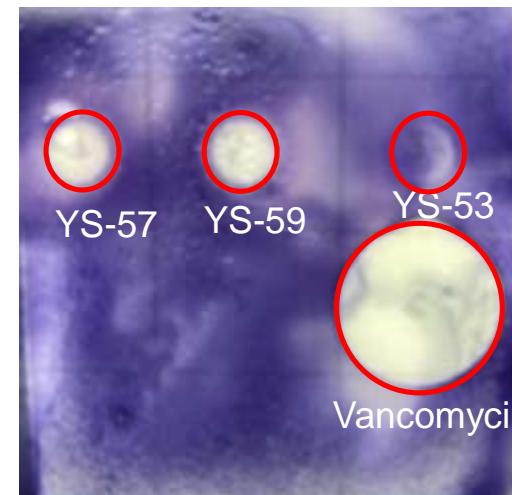
contrôle positif : 20 µg

Strains	Agar diffusion method, ø Zone of inhibition (mm)															
	Fopi 23b			Fopi 14			Fopi 23b (Fractions)						+ cont.		+ cont.	
	Hep	EtoAc	MeOH	Hep	EtoAc	MeOH	H/EA 10%	H/EA 30%	H/EA 60%	H/EA 80%	EA	EA/M 5%	MeOH	Van	Gen.	DMSO
<i>S. aureus</i> ATCC6538	0	12	9	0	12	11	0	0	10	10	10	12	14	20	23	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	4	13	12	0	13	12	0	0	9	9	10	14	17	20	20	0
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	0	13	0	0	12	12	0	0	10	10	10	12	15	21	16	0
<i>E. faecium</i> ATCC 19434	8	13	0	7	12	16	0	0	10	10	12	13	13	22	16	0
<i>E. faecium</i> DSM10663	6	10	0	0	10	14	0	0	9	9	10	12	14	22	17	0
<i>B. subtilis</i> ATCC 9372	5	10	6	0	6	11	7	7	10	9	10	14	16	20	23	0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	0	7	6	6	0	0	0	10	9	20	23	0
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	5	0	0	0	0	9	0	5	0	6	10	6	6	22	20	0

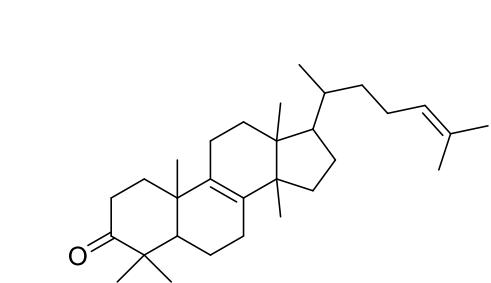
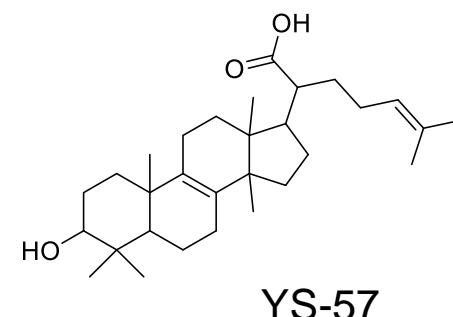
Activité antibactérienne de quelque composés isolés

Fomitopsis pinicola– Fopi-23b

Strains	YS-57	YS-59	YS-53	Van.	DMSO
<i>S. aureus</i> ATCC6538	+	+	+	+	-
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	+	+	+	+	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	+	+	-	+	-
<i>E. faecium</i> ATCC 19434	+	+	-	+	-
<i>E. faecium</i> DSM10663	+	+	-	+	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 9372	+	+	+	+	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	+	-	-	+	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	+	+	-	+	-



E. Faecium
(DSM10663)



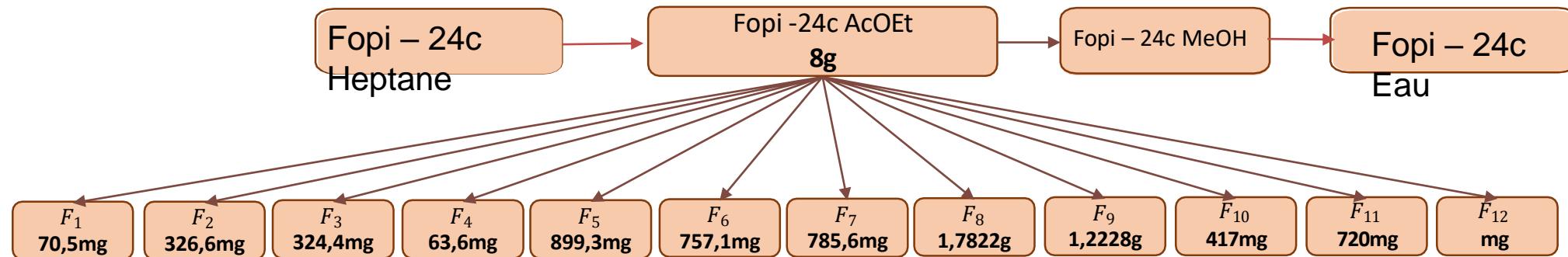
YS-59
YS-53

- Les composé isolés sont actifs contre au moins une souche de bactérie.
- YS-57 est active contre *E. coli*

Chromatographie Flash

Fractionnement de l'extrait de *Fomitopsis pinicola* - Fopi-24C

Chromatographie Flash - Polarité croissante de solvant heptane/EtOAc/MeOH



Legends for the fractions

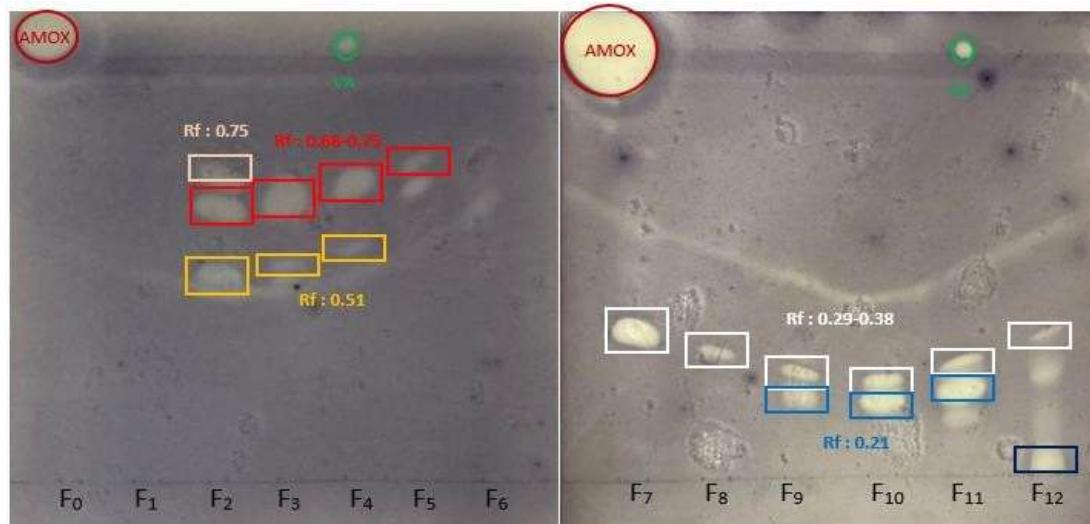
F_0 : Extrait AcOEt + silice
 F_1 : Extrait AcOEt/Heptane 10:90
 F_2 : Extrait AcOEt/Heptane 20:80
 F_3 : Extrait AcOEt/Heptane 25:75
 F_4 : Extrait AcOEt/Heptane 30:70

F_5 : Extrait AcOEt/Heptane 40:60
 F_6 : Extrait AcOEt/Heptane 50:50
 F_7 : Extrait AcOEt/Heptane 60:40
 F_8 : Extrait AcOEt/Heptane 70:30
 F_9 : Extrait AcOEt/Heptane 80:20

F_{10} : Extrait AcOEt/Heptane 90:10
 F_{11} : Extrait AcOEt/MeOH 95:5
 F_{12} : Extrait MeOH 100%

Activité antibactérienne – Méthode par bioautographie

Fractions de l'extrait à l'acétate d'éthyle de Fopi-24c



Bioautographie des fractions AcOEt de Glod-24b contre *S. aureus*.
Phase mobile : Chloroforme/MeOH 9:1 (v/v)



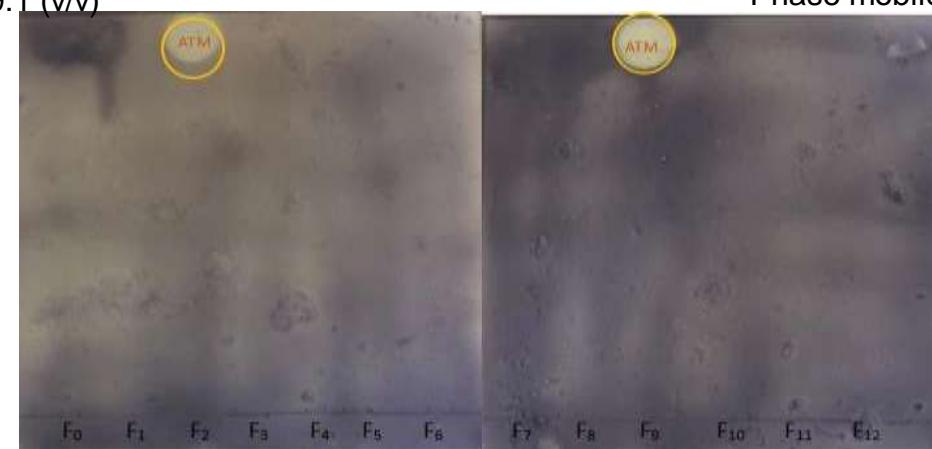
Bioautographie des fractions AcOEt de Glod-24b contre *S. epidermidis*.
Phase mobile : Chloroforme/MeOH 9:1 (v/v)

Quantité déposée :

Extraits : 20µg

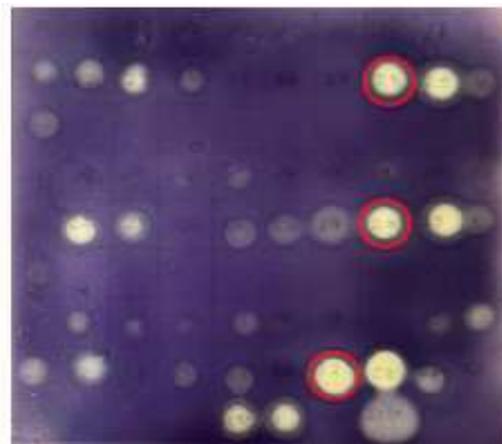
Aztréonam (ATM) : 0,06µg Amoxicilline

(AMOX) : 4ng Vancomycine (VA) : 0,01µg

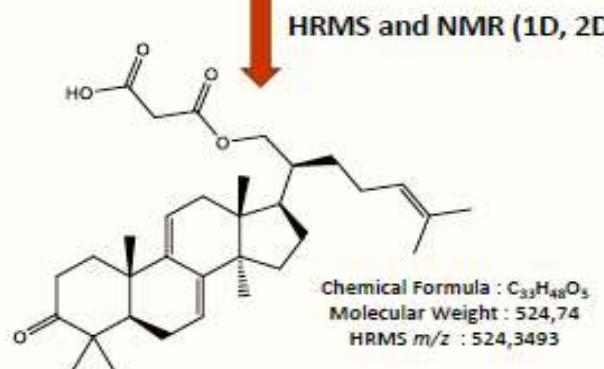


Bioautographie des fractions AcOEt de Glod-24b contre *E. coli*.
Phase mobile : Chloroforme/MeOH 9:1 (v/v)

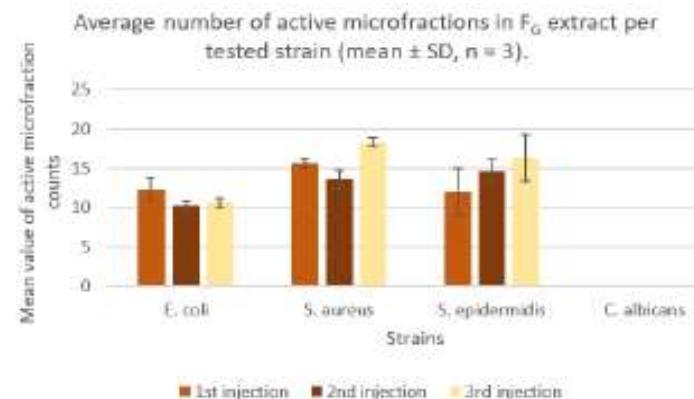
Resultats sur *Fomitopsis Pinicola* – Fopi-24c



TLC-bioautography of F_G microfractions (20 µg)
against *Staphylococcus epidermidis*
Positive control: amoxicillin (AMOX, 0.228 µg)
Negative control : MeOH



Known compound with no reported bioactivity³



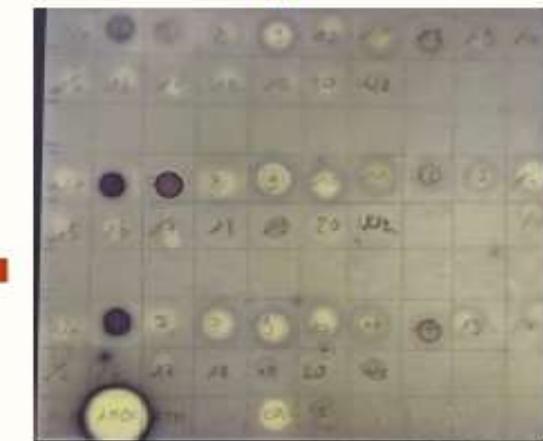
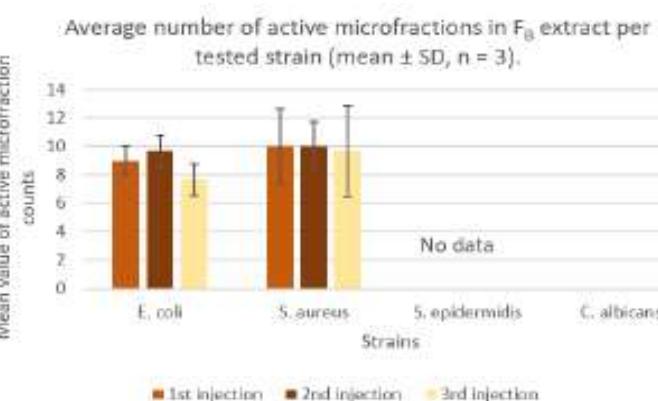
Microfractions from F_G

Microfractions from F_B

Analysis of the molecular composition of the active microfractions from F_B extract by HPLC-ESI-HRMS.

Proposed identification of the active microfractions from F_B extract				
Microfraction n°	m/z	Molecular formula	Error (ppm)	Hypothesis
15_1	438.3488	$C_{30}H_{46}O_2$	2.2	21-Hydroxylanosta-7; 9(11)-24-trien-3-one
16_2	440.3647	$C_{30}H_{46}O_2$	3.0	21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-one
13	454.3413	$C_{30}H_{46}O_3$	5.0	Pinolic acid A
15_2 / 16_1	498.3807	$C_{32}H_{50}O_4$	4.5	Tsugaric acid A

Pinolic acid A and Tsugaric acid A are active against *Bacillus subtilis*⁴



TLC-bioautography of F_B microfractions (20 µg)
against *S. aureus*
Positive control: amoxicillin (AMOX, 0.228 µg),
Negative control : MeOH



F_B and F_G yielded active subfractions, one of which has been fully elucidated, and four candidate molecules are under investigation.

- Des fractions ayant une activité antibactérienne ont été identifiées
- L'isolement des quelques composés ayant une activité antibactérienne a été réalisée
- La mycothèque a été agrandie

Perspectives

- Purification des autres molécules actives
- Evaluation des activités antibactérienne par d'autres méthodes complémentaire
- Identification du mécanisme d'action

Remerciements



DSA Department

Les Stagiaires: Maria
MEIDANI

PEPAN Doctorant: Théo Ozga
Gaëlle

Equipe CAMBAP sans distinction



Pour le financement
IdEx 2024

Merci à vous
tous!



Merci pour votre attention!

