Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques de l'Ingénieur

AVIS DE SOUTENANCE

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Mme : IKRAME ZEOUK

Discipline : Biologie

Spécialité : Biotechnologie

Sujet de la thèse : Recherche des molécules bioactives naturelles à effets leishmanicide et staphylococcique et valorisation de leurs pouvoirs trypanocide et amoebicide.

Formation Doctorale : Sciences et Génie de la matière, de la Terre et de la Vie.

Thèse présentée et soutenue le lundi 26 juillet 2021 à 10h au Centre de conférences devant le jury composé de :

Nom Prénom	Titre	Etablissement	
Lahsen EL GHADRAOUI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Président
Belkheir HAMMOUTI	PES	Faculté des Sciences Oujda	Rapporteur
Saad IBNSOUDA KORAICHI	PES	Centre Universitaire D'Innovation de Fès	Rapporteur
Rodrigo MORCHON GARCIA	PES	Université de Salamanca Espagne	Rapporteur
Veronica PINO ESTEVEZ	PES	Université de la Laguna Espagne	Examinateur
Naima EL GHACHTOULI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Examinateur
Khadija BEKHTI Jacob LORENZO-MORALES	PES PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès Université de la Laguna Espagne	Directeurs de thèse

Ignacio Antonio JIMENEZ	Université de la Laguna Iles Canaries	Invité
José ENRIQUE PINERO	Université de la Laguna Iles Canaries	Invité

Laboratoire d'accueil : Laboratoire de Biotechnologie Microbienne et Molécules Bioactives.

Etablissement : Faculté des Sciences et techniques de Fès.

Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques de l'Ingénieur

Titre de la thèse : Recherche des molécules bioactives naturelles à effets leishmanicide et staphylococcique et valorisation de leurs pouvoirs trypanocide et amoebicide.

Nom du candidat : Ikrame ZEOUK
Spécialité : Biotechnologie

Résumé de la thèse

La recrudescence des germes résistants aux antimicrobiens constitue un problème majeur de santé publique. La recherche de nouvelles molécules bioactives est donc un enjeu crucial. Dans ce contexte, des plantes supposées guérir les infections cutanées sont sélectionnées auprès des herboristes de la région Fès-Meknès. Les plantes retenues ont fait l'objet de fractionnements bioguidés pour identifier les composés actifs sur *Leishmania* spp. et *Staphylococcus aureus* fréquemment isolés dans ce type de pathologie dans la région d'étude.

64 espèces sont répertoriées, mais 15 plantes montrant un indice de fréquence de citation élevé et un apport bibliographique faible pour chaque germe cible sont évaluées quant à leurs propriétés antimicrobiennes. Le test qualitatif par macrodilution en milieu solide a révélé que l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* est le plus actif sur les souches de *S. aureus* alors que le test de microdilution a montré que l'extrait éthanolique d'*Inula viscosa* est le plus actif sur *Leishmania* spp.. Le fractionnement bioguidé et les analyses spectroscopiques et spectrométriques (RMN, EIMS et HREIMS) de l'extrait de *Rhamnus alaternus* a donné comme composés actifs **l'émodine** et **le kaempférol**. Toutefois l'émodine s'est avérée la plus active vis-à-vis des souches de staphylocoques avec des CMIs de 1,93 et 15,63 µg/ml et des valeurs de CC_{50}> 100 µg/ml témoignant la non-toxicité de ce composé. Le fractionnement bioguidé de l'extrait d'*Inula viscosa* par de multiples étapes chromatographiques impliquant des colonnes sur gel de silice et de sephadex LH-20, des chromatographies centrifuges et préparatives a permis d'identifier à l'aide des techniques spectroscopiques et de corrélation (RMN, HMBC, HSQC et ROESY) huit composés dont quatre (**8-epi-xanthatin-1β,5β-epoxide** et **inuloxin A**, **sakuranétine** et **taxifoline**) se sont révélés les plus actifs vis-à-vis des espèces cibles, *Leishmania amazonensis* et *Leishmania donovani* avec des CI_{50}s entre 9,53 et 86,45 µM pour les promastigotes, et entre 0,64 et 6,98 µM pour les amastigotes. Les quatre composés ont été évalués pour leur cytotoxicité sur une lignée cellulaire des macrophages murins (J774A.1) et le dosage fluorométrique par le réactif AlamarBlue a montré que les composés ne sont pas toxiques à la dose testée. Ces quatre composés anti-*Leishmania* se sont révélés également actifs vis à vis de *Trypanosoma cruzi* alors que *Naegleria fowleri* a été sensible à l'inuloxin A seulement. Le mécanisme d'action de ces quatre composés a été élucidé en utilisant les kits de viabilité cellulaire et de détection des évènements typiques de l'apoptose. Les résultats ont montré que ces composés ont induit des évènements de type apoptotique chez *L. amazonensis*, *L. donovani*, *T. cruzi* et *N. fowleri* par l'altération de la perméabilité membranaire (kit SYTOX Green), la condensation de la chromatine (double kit Hoechst 33342/PI), la perturbation du fonctionnement de la mitochondrie (sonde JC-1), et la réduction des niveaux de production de l'ATP (CellTiter-Glo) en plus de la régénération des ROS (kit CellROX) chez *L. amazonensis*, *T. cruzi* et *N. fowleri*.

Mots clés : Etude ethnobotanique, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania donovani*, Activité antistaphylococcique, Activité leishmanicide, Composés bioactifs, *Rhamnus alaternus*, *Inula viscosa*, Cytotoxicité, Mort cellulaire programmée, Apoptose.