

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1

Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس. سطيف 1

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département De Biologie Et Physiologie Animale. N° /SNV/2024

Mémoire

Présenté par

Bennais Ismail

Belhaouam Anfel Ayat Errahmane

Belatel Radjaa

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Physiologie Cellulaire Et Physiopathologie

THÈME

**Evaluation *in silico* et *in vitro* de l'activité
antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes
médicinales (*Eucalyptus globulus* et *Pinus pinaster*).**

Soutenu publiquement le : 30/06/2024

Devant le jury composé de :

Président : MOUHOUBI Djamila

MCA-UFAS1

Encadreur : BEDOUH Yazid

MRA-CRE

Co- Encadreur : BENSEBAA Fethi

MCA-UFAS1

Examineur : BELHADJ Hani

MCA-UFAS1

Année Universitaire : 2023/2024

Laboratoire de microbiologie appliquée

Remerciements

En Premier Lieu Et Avant Tout, Nous Remercions Notre Dieu, Allah, Le Tout Puissant, Pour Sa Grande Bonté Et Surtout Sa Gratification De Notre Bonne Santé, Du Courage Et De La Volonté Afin De Réaliser Et De Finir Ce Modeste Travail Dans Les Meilleures Conditions.

Nous Tenons A Exprimer Nos Remerciements Aux Membres Du Jury, Qui Ont Accepté D'évaluer Notre Travail.

Nous Tenons A Remercier Et A Exprimer Notre Profonde Gratitude Au Chef De Département Des Biologie et physiologie animal **Dr. Bensebaa Fethi** et a L'ensemble Des Enseignants Pour Leurs Encouragements Et Leurs Précieux Conseils.

Qu'il Nous Soit Permis De Remercier Profondément Notre Promoteur, **Dr. Bedouh Yazid**, Co-Promoteur, **Dr. Belhadj Hani** et **Dr. Hamoud Fares**.

Enfin, Merci A Tous Ceux Qui Ont Rendu Possible Ce Travail. Et Même S'ils Ne Se Retrouvent Pas Dans Cette Petite Liste, Ils Sont Dans Notre Pensée.

Merci Encore Une Fois.

DEDICACE

Je dédie ce travail à mes chers parents. Toute ma famille Bennais.

Mes camarades de la promotion 2019 et tous mes chers amis.

Bennais Ismail.

DEDICACE

Avec L'expression De Ma Reconnaissance, Je Dédie De Modeste Travail A Ceux
Qui, Quels Que Soient Les Termes Embrasses, Je N'arriverais Jamais A Leur
Exprimer Mon Amour Sincère.

A L'homme, Mon Précieux Offre Du Bon Dieu Allah, Qui Doit Ma Vie, Ma
Réussite Et Tout Mon Respect : Mon Cher Papa.

A La Femme Qui N'a Jamais Dit Non A Mes Exigences Et Qui N'a jamais
épargné Aucun Effort Pour Me Rendre Heureuse : Mon Adorable Maman.

Mes Très Chers Parents qui m'ont Soutenu Et Encouragé Durant Toute La
Période De Mes Etudes

A Mes Chers Frères Et Sœurs : Rahma, Soumia, Ilham, Abdullah
Mohammed El Habib Et Ahmed Yasser. Que Dieu Allah Les Donne Une Longue
Et Joyeuse Vie Pleine De Bonne Santé.

A Ma Grand Famille (Grand Peres Et Grand-Mères, Mes Oncles Et Mes
Tantes...) Que Dieu Allah Les Protège Et Leurs Offre La Sante Et Le Bonheur.

A Mes Meilleurs Amis Qui Je Les Trouve Toujours Derrière Nous Surtout Dans
Les Périodes Les Plus Difficiles (Fadoua, Wassila, Anfel, Chaima) Je Vous Aime
Tellement.

Belatel Radjaa

DEDICACE

Merci à Allah de nous guider à travers les ténèbres et de faire de nous ce que nous sommes aujourd'hui.

Aux mains de houx qui pris les coups de l'échec de mon chemin

A mon paradis, ma chère mère

Je ne saurai point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotes toujours été ma source de force.

A ma prunelle de mes yeux, mon cher père

Mon héros qui été toujours à mes coté pour me soutenir et m'encourager tout au long de mes études.

A la joie de ma vie mes petites frères Mouhamed et Mouad, ma petite princesse et le sucre de ma vie ma chère sœur Soundouss.

A ma chère tante Hanan qui écoutait tous mes histoires quand j'étais petite. A ceux qui sont loin de mes yeux et qui tiennent à mon cœur, la plus douce coincidence de l'université wassila et Radjaa et fadoua.

Puis Allah vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

Belhaouam Anfel Ayat Errahmane

Sommaire

Résumés	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Liste des abréviations	IV
Introduction	1

CHAPITRE I : Les plantes médicinales

1. Définition des plantes médicinales	3
2. L'utilisation des plantes médicinales dans la médecine traditionnelle	3
2.1 La médecine traditionnelle	3
2.2 Les parties utilisées des plantes médicinales.....	4
2.3 Les diverses méthodes d'utilisation des plantes.....	5
2.4 Utilisation en industrie pharmaceutique	7
3. Avantage et inconvénients	7
3.1 Les avantage	7
3.2 Les inconvénients	7
4. Les principaux éléments actifs des plantes.....	8
4.1 Les Alcaloïdes	8
4.2 Les Phénols	8
4.3 Les Glycosides	8
4.4 Les Résines	8
4.5 Les Diterpénoïdes	8
4.6 Les Tanins	9
5. Cas du sapin maritime <i>Pinus pinaster</i>	9
5.1 Description botanique et répartition	9
5.1.1 Genre <i>Pinus</i>	9
5.1.2 Description botanique du <i>Pinus pinaster</i>	9
5.1.3 Répartition géographique	10
5.2 Classification systématique et nomenclature	11
5.3 Composition biochimique	12
5.4 Propriétés thérapeutiques	12
6. Cas du sapin maritime <i>Eucalyptus globulus</i>	13
6.1 Classification systématique et nomenclature	13

6.2 Description botanique et répartition	13
6.2.1 <i>Description botanique</i>	13
6.2.2 <i>Répartition géographique</i>	14
6.3 Composition biochimique	15
6.3.1 <i>Les huiles essentielles</i>	15
6.4 Propriétés thérapeutiques	16
6. Les huiles essentielles	16
6.1 Généralités sur les huiles essentielles	16
6.2 Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles	17
6.3 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	17
6.3.1 <i>Extraction par enfleurage</i>	17
6.3.2 <i>Extraction par expression à froid</i>	18
6.3.3 <i>Extraction par hydrodistillation</i>	18
6.3.4 <i>Extraction par micro-ondes</i>	19
6.3.5 <i>Extraction par fluide supercritique</i>	20
6.3.6 <i>Extraction par solvant</i>	20
6.4 Relation composition chimique et activité biologique	21
6.4.1 <i>Les compositions chimiques des huiles essentielles</i>	21
6.4.1.1 <i>Les terpènes</i>	21
6.4.1.2 <i>Les monoterpènes</i>	21
6.4.1.3 <i>Les sesquiterpènes</i>	22
6.4.1.4 <i>Les composés aromatiques dérivés de phenylpropane</i>	22
6.4.2 <i>Activité biologique des huiles essentielles</i>	22
6.4.2.1 <i>Activité anti-infectieuse</i>	23
6.4.2.2 <i>Activité anti-inflammatoire</i>	23
6.4.2.3 <i>Activité antioxydante</i>	23
6.4.2.4 <i>Activité digestive</i>	23
6.4.2.5 <i>Activité antibactérienne</i>	23

CHAPITRE II : Bactéries et antibiotiques

1. Les bactéries	24
1.1 Définition	24
1.2 Structure des bactéries	24
1.3 La résistance bactérienne aux antibiotiques	26

1.3.1	<i>Résistance naturelle</i>	26
1.3.2	<i>Résistance acquise</i>	27
1.3.3	<i>Résistance chromosomique</i>	27
2.	Les antibiotiques	27
2.1	Définition	27
2.2	Classification des antibiotiques	27
2.3	Mode d'action	28
2.3.1	<i>Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne</i>	28
2.3.2	<i>Inhibiteurs de la membrane cytoplasmique</i>	29
2.3.3	<i>Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques</i>	29
2.3.4	<i>Inhibiteurs de la biosynthèse des protéines</i>	29
2.4	Principales cibles enzymatiques bactériennes	30

CHAPITRE III : Le Docking moléculaire

1.	Généralités sur le Docking moléculaire	31
1.1	Définition du Docking moléculaire	31
1.2	Principe de Docking moléculaire	31
1.3	Type de Docking moléculaire	31
1.3.1	<i>Docking rigide</i>	31
1.3.2	<i>Docking semi-flexible</i>	32
1.3.3	<i>Docking flexible</i>	32
1.4	Les outils du Docking moléculaire	32
1.4.1	<i>Récepteur</i>	32
1.4.2	<i>Ligand</i>	33
1.4.3	<i>Les logiciels du Docking</i>	33
2.	Le criblage moléculaire <i>in Silico</i>	34
2.1	Généralités sur le criblage virtuel	34
2.2	Chimiothèques	35
2.2.1	<i>Règles de Lipinski</i>	36
2.2.2	<i>Filtres ADME-Tox</i>	36
2.3	Méthodes de criblage	36
2.3.1	<i>Criblage virtuel « ligand-based »</i>	36
2.3.2	<i>Criblage virtuel « structure-based »</i>	37
3.	Rôle de la modélisation moléculaire dans l'industrie pharmaceutique	37

CHAPITRE IV : Matériel et méthodes

1. Détermination de l'activité antibactérienne	38
1.1 Activation des micro-organismes et Préparation de l'inoculum	38
1.2 Préparation des puits	38
1.3 Réalisation de l'aromatogramme	39
1.4 Lecture de l'antibiogramme	39
2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	39
3. Méthode du Docking moléculaire utilisée	40
3.1 Préparation des protéines	40
3.2 Préparation du ligand	41
3.3 Préparation du site actif (Grille)	41
3.4 Déroulement du Docking	42
3.5 Analyse et visualisation des résultats	42
3.6 Analyses drug-likeness et ADMET	42

CHAPITRE V : Résultats et discussion

1. Résultats de l'activité antibactérienne	43
1.1 Antibiogramme de référence	43
1.2 L'aromatogramme de <i>Pinus pinaster</i>	44
1.3 L'aromatogramme de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	45
1.4 Concentration minimale inhibitrice (CMI)	46
2. Résultats de Docking moléculaire	47
2.1 Validation de la méthode de Docking par le test RMSD	47
2.2 Analyse des énergies de liaison (ΔG)	47
2.3 Composés de <i>Pinus pinaster</i>	48
2.3.1 Docking avec la PBP1 de <i>S. aureus</i> (7O4B)	49
2.3.2 Docking avec la PBP2 d' <i>E. coli</i> (6G9S)	49
2.4 Composés d' <i>Eucalyptus globulus</i>	50
2.4.1 Docking avec la PBP1 de <i>S. aureus</i> (7O4B)	51
2.4.2 Docking avec la PBP2 d' <i>E. coli</i> (6G9S)	51
2.5 Analyse des interactions moléculaires	52
2.5.1 Interactions de l'Amoxicillin avec PBP1 (7o4b)	52
2.5.2 Interactions de la Cefazolin avec PBP1 (7o4b)	52

2.5.3 Interactions de l'Amoxicillin avec PBP2 (6g9s)	53
2.5.4 Interactions de la Cefazolin avec PBP2 (6g9s)	54
2.5.5 Interactions de α -Terpinen-7-al avec PBP1 (7o4b)	55
2.5.6 Interactions de α -Terpinen-7-al avec PBP2 (6g9s).....	56
2.5.7 Interactions de Eudesmol avec PBP1 (7o4b)	57
2.5.8 Interactions de l'Eudesmol avec PBP2 (6g9s)	58
2.6 Analyse de la Drug-likeness	59
2.6.1 Drug-likeness des composés de <i>Pinus pinaster</i>	59
2.6.2 Drug-likeness des composés de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	59
2.7 Analyse de l'ADME	62
2.7.1 ADME des composés de <i>Pinus pinaster</i>	62
2.7.2 ADME des composés de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	62
2.8 Prédiction de la toxicité	66
2.8.1 Toxicité des composés de <i>Pinus pinaster</i>	66
2.8.2 Toxicité des composés de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	66
Conclusions	67
Références bibliographiques	68

Résumés

Récemment, l'activité antimicrobienne potentielle des composés naturels présents dans les huiles essentielles (HE) a suscité un intérêt croissant. Dans cette étude, l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles (*Eucalyptus globulus* et *Pinus pinaster*) a été évaluée contre des souches bactériennes Gram-négatives et Gram-positives en utilisant la méthode de l'aromatogramme et en déterminant la concentration minimale inhibitrice. De plus, 20 composés naturels de ces HEs ont été évalués par Docking moléculaire pour leurs propriétés inhibitrices sur les PBP1 et PBP2, qui sont deux enzymes cibles cruciales pour le développement de nouveaux antibiotiques. La similarité médicamenteuse (Drug-likeness), l'analyse ADME et la prédiction du profil toxicologique de ces composés ont également été effectués. Les résultats obtenus ont révélé une activité antibactérienne modérée de l'HE de *P. pinaster* contre toutes les souches bactériennes testées, avec des zones d'inhibition allant de 11 à 15 mm. À propos de l'*E. globulus*, les zones d'inhibition obtenus variaient entre 11 et 15 mm contre les souches : *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, et *E. coli*. D'autre part, une forte activité antibactérienne contre *S. aureus* (24 mm) qui dépasse l'activité des deux antibiotiques de référence a été enregistrée. Les études de Docking moléculaire ont indiqué que l' α -Terpinen-7-al était le composé le plus puissant, car il était capable de se lier au plus grand nombre d'acides aminés au sein des sites actifs des enzymes cibles, avec des énergies de liaison de -9,5 kcal/mol avec PBP1 et de -7,3 kcal/mol avec PBP2. De plus, l'étude DFT, l'analyse ADMET et la similarité médicamenteuse ont identifié l' α -Terpinen-7-al comme le composé le plus prometteur. En conclusion, les deux huiles essentielles étudiées pourraient avoir une valeur dans des applications spécifiques, notamment en complément des traitements existants ou dans des situations de résistance aux antibiotiques. Par conséquent, Ces huiles pourraient être aussi une source significative de molécules naturelles avec des propriétés antibactériennes intéressantes, en particulier l' α -Terpinen-7-al, qui a le potentiel d'être développé en un traitement antibiotique.

Mots-clés : Activité antibactérienne, Huile essentielle, Docking moléculaire, Drug likeness, ADMET, CMI.

Abstract

Recently, the potential antimicrobial activity of natural compounds found in essential oils (EOs) has garnered increasing interest. In this study, the antibacterial activity of two essential oils (*Eucalyptus globulus* and *Pinus pinaster*) was evaluated against Gram-negative and Gram-positive bacterial strains using the aromatogram method and the minimum inhibitory concentration. Additionally, 20 natural compounds from these EOs were evaluated by molecular docking for their inhibitory properties on PBP1 and PBP2, which are crucial enzymes for developing new antibiotics. The Drug-likeness and ADMET predictions of these compounds were also studied. The results revealed moderate antibacterial activity of *P. pinaster* EO against all tested bacterial strains, with inhibition zones ranging from 11 to 15 mm. For *E. globulus*, the inhibition zones obtained ranged between 11 and 15 mm against the strains *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, and *E. coli*. Moreover, a strong antibacterial activity against *S. aureus* (24 mm), surpassing the activity of the two reference antibiotics, was recorded. Molecular docking studies indicated that α -Terpinen-7-al was the most potent compound, as it was able to bind to the greatest number of amino acids within the active sites of the target enzymes, with binding energies of -9.5 kcal/mol with PBP1 and -7.3 kcal/mol with PBP2. Furthermore, the DFT study, ADMET analysis, and Druglikeness identified α -Terpinen-7-al as the most promising compound. In conclusion, the two essential oils studied could have value in specific applications, particularly as supplements to existing treatments or in situations of antibiotic resistance. Therefore, these oils could also be a significant source of natural molecules with interesting antibacterial properties, especially α -Terpinen-7-al, which has the potential to be developed into an antibiotic treatment.

Keywords: Antibacterial activity, Essential oil, Molecular docking, Drug likeness, ADMET, CMI.

ملخص

مؤخرًا، أثار النشاط المضاد للميكروبات المحتمل للمركبات الطبيعية الموجودة في الزيوت الأساسية اهتمامًا متزايدًا. في هذه الدراسة، تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لزيوتين أساسيين *Eucalyptus globulus* و *Pinaster Pinus* ضد سلالات بكتيرية سالبة الجرام وموجبة الجرام باستخدام طريقة الأروماتوجرام والتركيز المثبط الأدنى. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم 20 مركبًا طبيعيًا من هذه الزيوت الأساسية بواسطة الإرساء الجزيئي لخصائصها المثبطة على PBP1 و PBP2، وهي إنزيمات حاسمة لتطوير مضادات حيوية جديدة. تم أيضًا دراسة التشابه الدوائي وتوقعات ADMET لهذه المركبات. كشفت النتائج عن نشاط مضاد للبكتيريا معتدل لزيت *P. pinaster* ضد جميع السلالات البكتيرية المختبرة، مع مناطق تثبيط تتراوح بين 11 إلى 15 ملم. بالنسبة لزيت *Eucalyptus globulus*، تراوحت مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها بين 11 و 15 ملم ضد سلالات *S. typhimurium* و *K. pneumoniae* و *E. coli*. بالإضافة إلى ذلك، تم تسجيل نشاط مضاد للبكتيريا قوي ضد *S. aureus* (24 ملم) متفوقًا على نشاط المضادات الحيوية المرجعية. أشارت دراسات الإرساء الجزيئي إلى أن α -Terpinen-7-al هو المركب الأكثر فعالية، حيث كان قادرًا على الارتباط بأكبر عدد من الأحماض الأمينية داخل المواقع النشطة للإنزيمات المستهدفة، مع طاقات ارتباط تبلغ 9.5 kcal/mol مع PBP1 و 7.3 kcal/mol مع PBP2. علاوة على ذلك، حددت دراسة DFT وتحليل ADMET والتشابه الدوائي α -Terpinen-7-al كمركب الأكثر وعدًا. في الختام، يمكن أن يكون للزيوتين الأساسيين المدروستين قيمة في تطبيقات محددة، خاصة كمكملات للعلاجات الحالية أو في حالات مقاومة المضادات الحيوية. لذلك، يمكن أن تكون هذه الزيوت أيضًا مصدرًا مهمًا للجزيئات الطبيعية ذات الخصائص المضادة للبكتيريا المثيرة للاهتمام، خاصة α -Terpinen-7-al، الذي لديه إمكانات التطوير كعلاج مضاد حيوي.

الكلمات الرئيسية : النشاط المضاد للبكتيريا، زيت أساسي، إرساء جزيئي، تشابه دوائي، ADMET.

Liste des figures

Figure 1 : Morphologie de <i>Pinus pinaster</i> . (A) Floraisons. (B) Une écorce en plaques se forme sur le tronc. (C) Les cônes. (D) Les aiguilles. (E) Les feuilles. (F) Les graines	10
Figure 2 : Structure chimique de quelques composés de l'huile essentielle du <i>Pinus pinaster</i>	12
Figure 3 : Morphologie de l' <i>Eucalyptus globulus</i> (A) Les écorce. (B) Les bourgeons. (C) Les feuilles. (D) Les fleurs. (E) Les fruits (F) Un arbre <i>Eucalyptus globulus</i>	14
Figure 4 : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	15
Figure 5 : Technique d'enfleurage pour l'extraction des huiles essentielles.....	17
Figure 6 : Représentation schématique de l'extraction par pression à froid	18
Figure 7 : Schéma du dispositif d'extraction par hydrodistillation	19
Figure 8 : Schéma présentant la configuration de l'extraction assistée par micro-onde.....	19
Figure 9 : Schéma du procédé de l'extraction par CO ₂ supercritique	20
Figure 10 : Schéma du Procédé d'extraction par solvant	21
Figure 11 : La structure chimique d'un certain nombre de monoterpènes	22
Figure 12 : La structure chimique d'un certain nombre de sesquiterpènes	22
Figure 13 : Morphologie bactérienne	25
Figure 14 : La structure globale d'une bactérie	26
Figure 15 : Principaux mécanismes d'action des antibiotiques	29
Figure 16 : Logiciels employés dans les publications du domaine de Docking entre 1990 et 2013	33
Figure 17 : Classement des techniques de criblage virtuel	34
Figure 18 : Structure 3D de la PBP1 d' <i>E. coli</i> en complexe avec PNM (Code PDB : 7O4B)	40

Figure 19 : Structure 3D de la PBP2 de <i>S. aureus</i> en complexe avec ET5 (Code PDB : 6G9S)	41
Figure 20 : AntibioGramme de référence de la Céfazoline (gauche) et l'amoxicilline (droite) a) <i>S. typhimurium</i> , b) <i>S. aureus</i> c) <i>K. pneumoniae</i> , d) <i>E. coli</i>	43
Figure 21 : L'aromatogramme de <i>Pinus pinaster</i> contre les souches bactériennes testées. a) <i>S. typhimurium</i> , b) <i>S. aureus</i> , c) <i>K. pneumoniae</i> , d) <i>E. coli</i>	44
Figure 22 : L'aromatogramme de l' <i>E. globulus</i> contre les souches bactériennes testées. a) <i>S. typhimurium</i> , b) <i>S. aureus</i> , c) <i>K. pneumoniae</i> , d) <i>E. coli</i>	45
Figure 23 : La concentration minimale inhibitrice de l' <i>E. globulus</i> contre les souches bactériennes testées. a) <i>S. typhimurium</i> , b) <i>S. aureus</i> , c) <i>K. pneumoniae</i> , d) <i>E. coli</i>	46
Figure 24 : Superposition des ligands redockés (en rouge) et des ligands natifs (en bleu). (a) PBP1 de <i>S. aureus</i> (7O4B), (b) PBP2 d' <i>E. coli</i> (6G9S)	47
Figure 25 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre Amoxicilline et PBP1 (7o4b)	52
Figure 26 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Cefazolin la PBP1 (7o4b)	53
Figure 27 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Amoxicillin la PBP2 (6g9s)	54
Figure 28 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Cefazolin la PBP2 (6g9s)	55
Figure 29 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand α -Terpinen-7-al et la PBP1 (7o4b)	56
Figure 30 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand α -Terpinen-7-al et la PBP2 (6g9s)	57
Figure 31 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Eudesmol et la PBP1 ...	58
Figure 32 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Eudesmol et la PBP2 ...	58

Liste des tableaux

<u>Tableau 1</u> : Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle dans le monde	4
<u>Tableau 2</u> : Distribution du <i>pinus pinaster</i> en Europe	11
<u>Tableau 3</u> : Classification systématique du <i>pinus pinaster</i>	11
<u>Tableau 4</u> : Classification systématique du <i>Eucalyptus globulus</i>	13
<u>Tableau 5</u> : La répartition mondiale des <i>Eucalyptus</i>	15
<u>Tableau 6</u> : Les bases de données de petites molécules les plus importantes et les plus connues	35
<u>Tableau 7</u> : PDB de protéines sélectionnées et leurs caractéristiques	40
<u>Tableau 8</u> : La boîte GRID BOX des enzymes	41
<u>Tableau 9</u> : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>P. pinaster</i>	44
<u>Tableau 10</u> : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	45
<u>Tableau 11</u> : Concentration minimale inhibitrice (CMI)	46
<u>Tableau 12</u> : Energies de liaison des composés de <i>Pinus punester</i> avec PBP1 (7o4b) et PBP2(6g9s)	48
<u>Tableau 13</u> : Energies de liaison des composés de l' <i>eucalyptus globulus</i> avec PBP1 (7o4b) et PBP2(6g9s)	50
<u>Tableau 14</u> : Analyse de la Druglikeness et ADME des composés de <i>Pinus pinaster</i>	60
<u>Tableau 15</u> : Analyse de la Druglikeness et ADME des composés de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	61
<u>Tableau 16</u> : Prédiction de la toxicité des composés de <i>Pinus pinaster</i> , calculée par ProTox-III	64
<u>Tableau 17</u> : Prédiction de la toxicité des composés de l' <i>Eucalyptus globulus</i> , calculée par ProTox-III	65

Liste des abréviations

ADME-Tox : Absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité.

J.-C : Jésus-Christ.

ARN : Acide ribonucléique.

CAM : Médecine complémentaire et alternative.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

GOLD : Genetic Optimisation for Ligand Docking.

MOE : Molecular Operating Environment.

HADDOCK : High Ambiguity Driven protein-protein DOCKing.

ICM : Internal Coordinate Mechanics.

FITTED : Flexibility Induced Through Targeted Evolutionary Description.

IUFRO : International Union of Forest Research Organizations.

Log P : Le coefficient de partition octanol / eau.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PBP : Penicillin-binding proteins.

PDB : Protein Data Bank.

PM : Poids moléculaire.

QSAR : Relation quantitative de structure à activité (*Quantitative Structure-Activity Relationship*).

RD-QSAR : Relation quantitative de structure à activité dépendante des récepteurs (*Receptor-Dependent Quantitative Structure-Activity Relationship*).

RMSD : L'écart quadratique moyen (Root Mean square Deviation).

RNM : Résonance magnétique nucléaire.

PBP1 : Protéine de liaison à la pénicilline (Penicillin-Binding Protein 1).

PBP2 : Protéine de liaison à la pénicilline (Penicillin-Binding Protein 1).

ΔG : Energie d'interaction.

kcal/mol : kilocalorie per mole.

ATCC : American Type Culture Collection.

Réf : Référence.

MW : Molecular weight.

CZ 30 : Céfazoline.

AMX120 : Amoxicilline.

Log Po/w (MLOGP) : Calculated by topological method of Moriguchi.

GI : Gastro Intestinale.

BBB : Blood–Brain Barrier.

Log Kp Peau : Perméation de la peau.

P-gp : La glycoprotéine P.

CYP : Famille de Cytochrome P450.

MH : Muller-Hinton.

°C : Degré celsius.

h : heure.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

SDF : Simulation Description Format.

PDBQT : Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T).

DLG : Docking LoG file.

Ki : Constante d'inhibition.

TPSA : Topological Polar Surface Area.

EOs : Essential Oils.

LD50 : Dose Létale Médiane.

DFT : Théorie de la fonctionnelle de la densité (*Density Functional Theory*).

HE : Huiles Essentielles.

Introduction

L'évolution constante des maladies et l'émergence de la résistance microbienne ont créé une situation critique nécessitant une réponse urgente dans le domaine médical. Les pathogènes, en constante mutation, défient continuellement les traitements existants, mettant en péril la santé publique et compromettant l'efficacité des stratégies thérapeutiques traditionnelles. De plus, la propagation rapide de la résistance microbienne, alimentée par une utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques, aggrave cette crise mondiale de santé **(Jamrozik et Selgelid, 2020)**.

Dans ce contexte, trouver de nouvelles molécules thérapeutiques capables de combattre ces défis devient une priorité absolue pour la communauté scientifique et médicale. La recherche de ces molécules implique une exploration minutieuse de diverses sources, notamment les plantes médicinales, afin de découvrir des composés efficaces et novateurs pour lutter contre les maladies infectieuses et résistantes. Les plantes médicinales ont toujours occupé une place prépondérante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Leur rôle en tant que réservoir naturel de molécules bioactives a été largement reconnu, offrant une vaste gamme de composés chimiques aux propriétés pharmacologiques diverses. En effet, l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales, transmise de génération en génération, témoigne de leur efficacité dans le traitement de nombreuses affections **(Farnsworth et al., 1986)**.

Parmi les multiples composants des plantes médicinales, les extraits et les huiles essentielles ont suscité un intérêt particulier en raison de leurs propriétés antimicrobiennes notables. Face à l'émergence de résistances aux antibiotiques et au besoin croissant de nouvelles alternatives thérapeutiques, les huiles essentielles se présentent comme des agents prometteurs. Leurs activités variées et souvent puissantes offrent une lueur d'espoir dans la lutte contre certaines pathologies pour lesquelles les options de traitement conventionnelles sont limitées **(Bouyahya et al., 2017)**.

Cependant, l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles ne se limite pas à une approche unidimensionnelle. Au contraire, elle nécessite une démarche multidisciplinaire, combinant des méthodes *in silico* et *in vitro*. Cette approche permet une compréhension approfondie des mécanismes d'action des huiles essentielles, de leur interaction avec les agents pathogènes et de leur potentiel thérapeutique.

Objectif du travail

Cette recherche vise à

- L'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de deux plantes (*Eucalyptus globulus* et *Pinus pinaster*) par l'utilisation des souches bactériennes de référence.
 - Détermination par l'*in silico* screening, les molécules bioactives impliquées dans l'activité antibactérienne.
 - La compréhension approfondie des interactions moléculaires entre les composés actifs des huiles essentielles et les cibles bactériennes, ainsi que la prédiction de leurs profils ADMET et Drug-likeness.
 - Sensibiliser les utilisateurs d'huiles essentielles à leur toxicité potentielle.
- Ce travail est axé sur cinq chapitres :

1- Les plantes médicinales : ce chapitre explore les diverses utilisations des plantes médicinales dans la médecine traditionnelle et l'industrie pharmaceutique moderne, ainsi que les avantages et les inconvénients associés à leur utilisation.

2- Bactéries et antibiotiques : Ce chapitre examine les aspects fondamentaux des bactéries et la problématique croissante de la résistance antibactérienne. Il se concentre également sur les antibiotiques, en explorant leurs modes d'action, les méthodes d'évaluation de leur activité *in vitro* et les principales cibles enzymatiques bactériennes.

3- Le Docking moléculaire : Ce chapitre se penche sur l'importance des outils utilisés dans le domaine du Docking moléculaire, ainsi que l'évaluation des propriétés ADME-Tox et de la Drug-likeness dans le processus de conception de médicaments.

4- Matériel et méthodes : représente les différentes techniques utilisées dans ce travail.

5- Résultats et discussion : ce chapitre expose l'essentiel des résultats obtenus avec une discussion.

Enfin, ce travail est clôturé par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I : Les plantes médicinales

1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des végétaux utilisés pour leurs propriétés thérapeutiques dans le traitement, la prévention ou l'atténuation de diverses affections et maladies. Elles peuvent être utilisées sous différentes formes, telles que des infusions, des décoctions, des extraits, des teintures ou des préparations topiques (**Jean, 2009**). Ces plantes contiennent souvent des composés bioactifs tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpènes ou des polyphénols, qui leur confèrent leurs effets thérapeutiques. Cela implique qu'au moins l'une de ses composantes (feuille, tige, racine, ...) peut être utilisée à des fins thérapeutiques (**Sanogo, 2006**).

Elle est utilisée en phytothérapie et en médecine traditionnelle. Il peut également être défini comme ayant un usage culinaire, médical ou vétérinaire. Cela comprend des plantes dont le nom est lié à des traitements classiques, tels que le pavot et la digitale, ainsi que des plantes utilisées quotidiennement, comme l'ail (**Karima, 2021**).

Environ 35 000 espèces de plantes sont utilisées à des fins médicales dans le monde, représentant la plus grande variété biologique utilisée par l'humanité. En conséquence, malgré l'ascendant grandissant du système de santé moderne, les plantes médicinales continuent de satisfaire une nécessité vitale (**Chabi et al., 2015**).

2. L'utilisation des plantes médicinales dans la médecine traditionnelle

2.1 La médecine traditionnelle

Avant la montée de la médecine moderne, la médecine traditionnelle représentait les connaissances acquises dans la plupart, sinon toutes les sociétés humaines au cours de l'histoire de la virilité. L'OMS définit la médecine traditionnelle comme l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques issues de diverses cultures, basées sur des théories, croyances et expériences, utilisées pour maintenir la santé et pour prévenir, diagnostiquer, améliorer ou traiter les maladies physiques et mentales (**Efferth et Greten, 2014**). Les remèdes à base de plantes, les thérapies manuelles, la diététique, les thérapies spirituelles et d'autres sont des exemples de pratiques traditionnelles. Les remèdes à base de plantes comprennent divers éléments, tels que les herbes (feuilles, fleurs, graines, fruits, racines, etc.), les dérivés d'herbes (huiles essentielles, jus frais, gommages et résines, etc.) et les préparations végétales (extraits liquides ou secs, teintures, décoctions et infusions, huiles, etc.) (**Efferth et Greten, 2014**).

Selon **Bensalek (2018)**, les estimations de l'OMS, plus de 80% de la population mondiale, en particulier dans les pays sous-développés, recours aux traitements traditionnels pour répondre à leurs besoins en matière de santé et de soins primaires.

Tableau 1 : Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle dans le monde (**OMS, 2002**).

Pays	Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle
Afrique	La médecine traditionnelle est utilisée par environ 80% de la population des États membres africains pour satisfaire leurs besoins en matière de soins de santé.
États-Unis	42% des personnes utilisent la médecine complémentaire.
France	La médecine traditionnelle est utilisée par 49% de la population.
Australie	48% de la population choisit de se soigner en utilisant la médecine traditionnelle.
Canada	Indique que 70% de la population a utilisé le CAM.
Chine	30% à 50% dans les systèmes de santé. Complètement incorporé aux systèmes de santé. Les unités de médecine traditionnelle sont présentes dans 95% des hôpitaux.

2.2 Les parties utilisées des plantes médicinales

Les feuilles, les fruits et les racines sont les parties des plantes médicinales les plus couramment utilisées. Les écorces sont également utilisées pour fabriquer des médicaments. Selon les résultats d'une enquête, les plantes médicinales utilisent le plus souvent les feuilles, qui représentent 62,6% de l'utilisation totale, suivies des tiges, qui représentent 19,8% de l'utilisation totale, tandis que les racines sont moins utilisées, représentant seulement 8,2% de l'utilisation totale. Les bulbes, les rhizomes, les écorces et les résines, entre autres composants, représentent 9,4% de l'utilisation totale (**Hamel et al., 2018**).

2.3 Les diverses méthodes d'utilisation des plantes

Les plantes peuvent être utilisées dans une variété d'applications thérapeutiques. Il existe :

➤ L'infusion

La préparation la plus connue est l'infusion. En général, il utilise les fleurs et les feuilles des plantes, mais il est parfois possible de faire infuser également les racines. La procédure est simple : il suffit de verser de l'eau bouillante sur la plante et la laisser s'infuser entre 5 à 10 minutes **(Nogaret, 2011)**.

➤ La macération

La macération est réalisée en laissant la plante dans un solvant froid tel que l'eau, l'alcool ou l'huile pendant une période adéquate, allant de quelques heures à plusieurs jours, voire plusieurs semaines. Un liquide appelé solvant retient les principes actifs de la plante. La macération doit être effectuée dans un récipient aéré et exposé à la lumière. Après le temps nécessaire, filtrer le mélange à l'aide d'un filtre en papier, puis conserver la macération dans un récipient hermétiquement fermé **(Mebarki et Abdelli, 2018)**.

➤ La Décoction

Cette technique est principalement utilisée pour les parties souterraines de la plante, telles que les racines et les écorces. Mesurer une cuillère à soupe de plantes par tasse. Hacher ou moudre les parties en utilisant un mixeur. Ensuite, déposer les parties dans une casserole et couvrir-les d'eau froide. Porter à ébullition et laisser mijoter pendant environ 20 minutes. Retirer du feu et laisser infuser (et refroidir) pendant une heure avant de filtrer **(Nogaret, 2011)**.

➤ Le cataplasme

C'est essentiellement le même principe que celui des compresses, à la différence que cette méthode utilise directement les herbes. Les plantes sont grossièrement hachées, puis chauffées dans une casserole avec un peu d'eau. Laisser frémir pendant 2 à 3 minutes. Presser les herbes, puis appliquer-les sur la zone à traiter. Couvrir avec une bande ou un morceau de gaze. Un cataplasme peut être conservé pendant trois ou quatre heures, en changeant les herbes toutes les heures si nécessaire **(Nogaret, 2011)**.

➤ Les crèmes

Les crèmes sont préparées en mélangeant de l'huile ou un autre corps gras avec de l'eau par un processus d'émulsion. Contrairement aux onguents, elles s'étalent facilement.

Elles ont un effet adoucissant tout en permettant à la peau de respirer et de transpirer naturellement. Cependant, elles se dégradent rapidement et doivent être conservées dans des pots hermétiques au réfrigérateur, à l'abri de la lumière (**Iserin P et al., 2001**).

➤ **Les gélules et poudres**

Les poudres, souvent sous forme de gélules, peuvent également être ajoutées aux aliments ou diluées dans eux. Elles peuvent être appliquées sur la peau, comme le talc, et combinées à des teintures pour créer des cataplasmes. Les gélules sont fabriquées en deux étapes :

- En versant de la poudre dans une soucoupe, les deux moitiés de la gélule sont assemblées en introduisant de la poudre à l'intérieur.
- Les deux moitiés de la gélule sont coulées l'une dans l'autre sans renverser la poudre (**Iserin P et al., 2001**).

➤ **Les teintures**

Dans la fabrication des teintures, on mélange la macération avec le solvant, puis on le presse pour en extraire le liquide. Les mélanges de solvants constitués de plusieurs substances permettent d'extraire les principes actifs de la macération de manière plus efficace que l'eau seule. Pour améliorer le processus de préparation, on peut prolonger le repos du mélange ou l'exposer davantage à la lumière solaire ou à la chaleur (**Lyons et Nambiar, 2000**).

➤ **Les sirops**

Pour faire un sirop, un mélange égal d'infusion ou de décoction et de miel ou de sucre non raffiné doit être cuit à feu doux. Les principes actifs doivent être abondants dans le liquide utilisé : pour les infusions et les décoctions, les plantes doivent infuser pendant quinze minutes. Les plantes doivent être pressées afin d'extraire autant de liquide que possible (**Iserin P et al., 2001**).

➤ **Les inhalations**

Ajouter quelques gouttes d'huile essentielle dans un grand bol avec un litre d'eau bouillante, puis bien mélanger pour la préparation. De plus 25 g de plante peuvent être infusés pendant 15 minutes dans 1 L d'eau. Ensuite, placez votre tête au-dessus du récipient et couvrez-la d'une serviette et inhalez la vapeur pendant 10 minutes. Les inhalations peuvent être utilisées pour traiter la sinusite et la bronchite (**Iserin P et al., 2001**).

2.4 Utilisation en industrie pharmaceutique

Les plantes fournissent des produits naturels qui ont des propriétés thérapeutiques et pharmacologiques diverses utilisées dans les remèdes traditionnels et même certains médicaments à cause de leur activité biologique contre les différents agents pathogènes (**Nasim et al., 2022**). L'industrie pharmaceutique moderne utilise les extraits (principes actifs) des plantes médicinales. Cette approche utilise l'industrialisation pour développer de nouveaux médicaments, ce qui accélère les processus de recherche et développement (**Chominot, 2000**).

3. Avantage et inconvénients

3.1 Les avantages

L'utilisation des plantes médicinales offre une multitude d'avantages à la fois pour la santé et pour l'environnement. Tout d'abord, ces plantes sont souvent disponibles à moindre coût, ce qui les rend accessibles à un plus grand nombre de personnes, en particulier dans les régions où les ressources médicales sont limitées. De plus, les composés naturels présents dans les plantes médicinales sont souvent mieux tolérés par l'organisme humain que les produits chimiques synthétiques, réduisant ainsi le risque d'effets secondaires indésirables (**Jean, 2009**). L'efficacité de certains médicaments classiques a diminué en raison d'effets indésirables et collatéraux, surtout sur les fonctions vitales. Cependant, les plantes médicinales offrent une large gamme de composés actifs qui peuvent être utilisés pour traiter une variété de conditions médicales, offrant ainsi une diversité thérapeutique précieuse (**Iserin P et al., 2001**).

3.2 Les inconvénients

Malgré l'efficacité de la phytothérapie, cette dernière peut engendrer des effets graves et indésirables sur la santé de l'organisme humain et ses fonctions vitales. Par ailleurs, l'utilisation incorrecte ou excessive de certaines plantes médicinales peut entraîner des effets secondaires indésirables, voire des interactions dangereuses avec d'autres médicaments (**Iserin P et al., 2001**). La standardisation des doses et la réglementation de la qualité des produits à base de plantes peuvent poser des défis, car la concentration des composés actifs peut varier d'une plante à l'autre et même d'une récolte à l'autre. Cela peut entraîner des problèmes de sécurité et d'efficacité, en particulier lorsque les plantes médicinales sont utilisées sans supervision médicale appropriée. De plus, le manque de contrôle de la qualité peut entraîner des risques pour la sécurité des consommateurs, notamment la contamination par des agents pathogènes ou des produits chimiques toxiques (**Jean, 2009**).

4. Les principaux éléments actifs des plantes

Les plantes contiennent une vaste gamme de composés actifs, chacun ayant des propriétés spécifiques et des effets sur le corps humain. Les éléments actifs des plantes incluent

4.1 Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés hétérocycliques contenant de l'azote qui ont généralement une forte activité et un goût amer. Ils sont rares dans la plante, et les caractéristiques cliniques des différents groupes diffèrent **(Bernhoft, 2010)**.

4.2 Les Phénols

Depuis les composés simples comme l'acide salicylique, qui est à l'origine de l'aspirine, jusqu'aux composés plus complexes comme les composés phénoliques associés aux glucosides, les phénols comprennent une grande variété de substances. Ils ont des effets anti-inflammatoires et antiseptiques. Les plantes peuvent produire ces composés pour se protéger des infections et des insectes dangereux **(Iserin P et al., 2001)**.

4.3 Les Glycosides

Les glycosides comprennent une variété de métabolites secondaires liés à un oligosaccharide ou à un acide uronique. Le glycone est la partie sacharidique ou acide uronique, et l'autre partie est l'aglycone. Les flavonoïdes sont également fréquemment présents sous la forme de glycosides. Les glycosides s'hydrolysent généralement dans le côlon après leur ingestion, ce qui augmente la capacité d'absorption de l'aglycone hydrophobe **(Bernhoft, 2010)**.

4.4 Les Résines

Les résines sont généralement volatiles et non volatiles, des mélanges complexes liposolubles. Les diterpénoïdes et les composés triterpénoïdes peuvent être présents dans la fraction non volatile, tandis que la fraction volatile est principalement composée de mono- et sequiterpénoïdes. Les résines sécrétées par les structures en bois sont les plus courantes. Bien que la plupart des résines aient des propriétés antimicrobiennes, leur efficacité dépend de la composition du mélange chimique **(Bernhoft, 2010)**.

4.5 Les Diterpénoïdes

Quatre unités d'isoprène (20 carbones) composent les diterpénoïdes. Ils ont tendance à avoir une forte saveur et sont très lipophiles, mais ils ne sont pas volatiles et donc inodores. Plusieurs plantes, y compris *la Coffea arabica*, contiennent des diterpénoïdes **(Bernhoft, 2010)**.

4.6 Les Tanins

Les tanins sont présents dans toutes les plantes à un niveau différent. Les composés donnent à l'écorce ou aux feuilles un goût amer et les rendent peu appétissantes pour les herbivores. Les tanins sont des polyphénols qui ont la capacité de contracter les tissus en se liant aux protéines et en les précipitant, d'où leur utilisation dans le tannage de la peau. Ils arrêtent les saignements et combattent les infections (**Iserin P et al., 2001**).

5. Cas du sapin maritime *Pinus pinaster*

5.1 Description botanique et répartition

5.1.1 Genre *Pinus*

Le genre *Pinus*, qui est le plus vaste de la famille des Pinaceae, regroupe plus de 110 espèces (**Lin et al., 2010**). Cette catégorie d'arbres se distingue par des aiguilles pointues, qu'elles soient longues ou courtes, et des graines ailées (**Chagné, 2004**).

5.1.2 Description botanique du *Pinus pinaster*

Le Pin maritime (*Pinus pinaster*) a une hauteur moyenne de 20 à 30 m, avec des pics exceptionnels de 40 m (**Viñas et al., 2016**). Le pin maritime se développe rapidement et atteint sa maturité entre 40 et 50 ans, avec une durée de vie pouvant atteindre 500 ans (**Amgar, 2023**). Il s'agit d'une espèce monoïque, ce qui signifie qu'il a des fleurs mâles et femelles distinctes sur le même arbre (**Chagné, 2004**).

Les Feuilles : Dans la vie de l'arbre, les feuilles jouent un rôle crucial en absorbant les substances essentielles de l'environnement et en les transformant en cellules qui constituent tout le végétal. Les feuilles du pin maritime sont hémicirculaires, coriaces, étroites et comportent des aigues. Ils peuvent avoir une taille variant de 10 à 20 cm en fonction de l'âge du sujet et des conditions favorables à sa croissance (**Samanos, 1864**).

Les graines : de forme ovale et aplatie, ont une longueur de 5 à 10 mm, sont de couleur noire d'un côté et gris taché de l'autre. L'embryon est entouré d'un tissu nourricier connu sous le nom de méga gamétophyte au sein de la graine (**Chagné, 2004**).

Les cônes : présentent une teinte brun clair. Une légère asymétrie est observée, avec une forme ovoïde et conique, et leur longueur s'élève à environ 15 cm (avec une plage de 8 à 22 cm). Leur pleine maturation survient deux ans après la pollination et leur ouverture survient le même été ou jusqu'à 10 ans plus tard (**Viñas et al., 2016**).

Le tronc : flexible et son écorce présente des teintes rouges et noires (**Rameau et al., 1989**).

Les aiguilles : elles sont solides et peuvent mesurer jusqu'à 20 cm de long, elles sont regroupées par deux dans une gaine de 2,5 cm de long, et elles sont bien plus denses à l'extrémité des branches (**Chagné, 2004**).

Les floraisons : Les périodes de floraison vont d'avril à mai, avec la pollinisation et la dispersion du vent (**Rameau et al., 1989**).



Figure 1 : Morphologie de *Pinus pinaster*.

(A) Floraisons. (B) Une écorce en plaques se forme sur le tronc. (C) Les cônes (**Viñas et al., 2016**). (D) Les aiguilles (<https://webetab.ac-bordeaux.fr/>). (E) Les feuilles (www.alsace.eu). (F) Les graines (www.viagallica.com).

5.1.3 Répartition géographique

La distribution du pin maritime (*Pinus pinaster*) s'étend de la Méditerranée occidentale jusqu'aux régions atlantiques du sud-ouest de l'Europe (**Pauly et al., 1973**). Ce sont les essences les plus courantes en France, avec une superficie d'environ 3 millions d'ha, comprenant la Gascogne, le Portugal et la Galice. En Aquitaine, la surface annuelle des reboisements s'élève à 17 000 ha (**Jambois et al., 2013**). On le retrouve dans la région de la péninsule ibérique, l'ouest de l'Italie, les îles de la Méditerranée, le nord du Maroc, l'Algérie et la Tunisie, ainsi qu'en Europe du Nord, comme le Royaume-Uni et la Belgique (**Viñas et al., 2016**).

Tableau 2 : Distribution du *Pinus pinaster* en Europe (Assmaa et al., 2011).

Pays	L'espace (ha)
France	1 000 000 ha
Sud-Est de la France	145 000 ha
Portugal	1 300 000 ha
Espagne	1 260 000 ha

5.2 Classification systématique et nomenclature

Le plus grand genre de conifères est le *Pinus*. Plus de 100 espèces de Pinaceae. Certains sont cultivés dans le monde. Le genre *Pinus* appartient à la famille Pinaceae et à la classe Pinopsida de la subdivision. Coniferophytina de la subdivision Gymnosperms, (Maimoona et al., 2011). La classification systématique complète du *pinus pinaster* est mentionné sur le tableau 3.

Tableau 3 : Classification systématique du *pinus pinaster* (Meullemiestre, 2014).

Règne	Plantae
Sous-règne	<i>Tracheobionata</i>
Embranchement	<i>Pinophyta ou conifère</i>
Sous-embranchement	<i>Gymnosperme</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Order	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Pinaceae</i>
Sous-Famille	<i>Pinoideae</i>
Genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinaster</i>

Le *Pinus pinaster*, ou pin maritime, est désigné selon la nomenclature suivante :

- Nom Latin : *Pinus pinaster*.
- Nom français : pin maritime.
- Nom anglais : on le désigne sous le nom de maritime pin ou cluster pine.
- Nom portugais : pinheiro bravo.
- Nom italien : pino marittimo.
- Nom espagnol : pino marítimo.
- Nom arabe : الصنوبر البحري (Scott, 1962).

5.3 Composition biochimique

La composition chimique des différentes parties du pin maritime (les aiguilles, les cônes, les écorces, etc.) est une riche source de polyphénols, tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les stilbènes et les tanins, dont les terpénoïdes (**Alonso-Esteban, 2022**). Selon les recherches de **Saadou (2008)**, les aiguilles du pin maritime ont une forte teneur en flavonoïdes.

Les huiles essentielles isolées des aiguilles de pin maritime comprennent : germacrene D et β -caryophyllene (**Hmamouchi, 2001**). **Ghanmi et al. (2007)** ont révélé que d'autres composés tels que le limonène, le camphène, le myrcène, le 3-carène et le pinène.

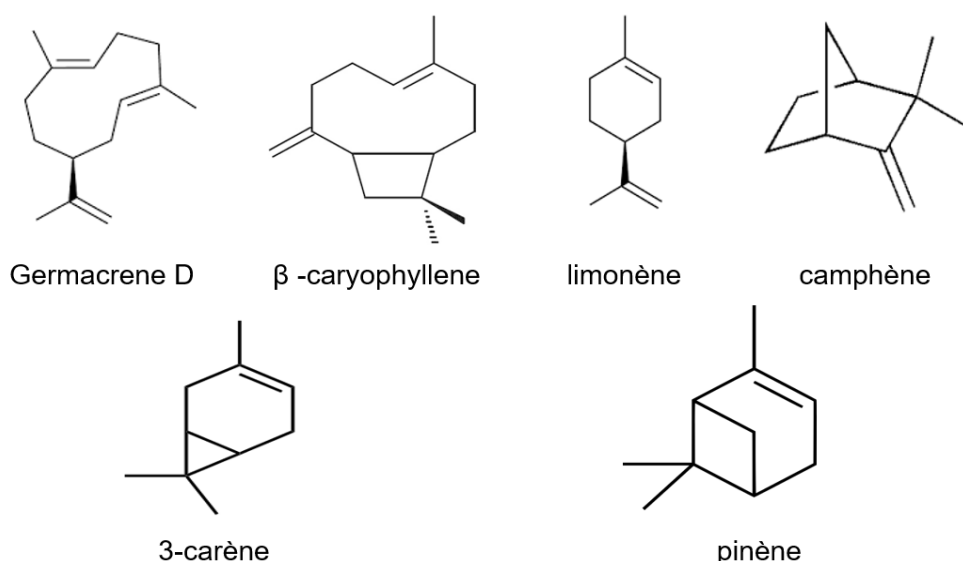


Figure 2 : Structure chimique de quelques composés de l'huile essentielle du *Pinus pinaster* (www.rcsb.org).

5.4 Propriétés thérapeutiques

À partir du IV^e siècle avant J.-C., Hippocrate, le père de la médecine, évoquait l'utilisation de l'écorce de *Pinus pinaster* pour soigner les affections inflammatoires (**Packer et al., 1999**). Les extraits de l'écorce de pin maritime renferment des concentrations élevées de polyphénols, en particulier de flavonoïdes et de proanthocyanidines. De plus, ces extraits possèdent une puissante activité antioxydante (**Cellhay, 2013**). L'écorce de pin maritime était employée dans le traitement de diverses affections qui sont désormais connues pour leur carence en vitamine C, comme le scorbut, les troubles de la peau et la cicatrisation des blessures (**Packer et al., 1999**). Selon **Edeas (2007)**, les sociétés pharmaceutiques qui ont exploité l'extrait d'écorce de pin ont créé des produits de beauté contenant des polyphénols ayant des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires afin de combattre de manière plus efficace la production de radicaux libres qui sont néfastes pour la santé et la beauté de la peau.

6. Cad du sapin maritime *Eucalyptus globulus*

6.1 Classification systématique et nomenclature

La classification systématique complète de l'*Eucalyptus globulus* est mentionnée sur le tableau.

Tableau 4 : Classification systématique du *Eucalyptus globulus* (Boukhatem et al., 2018).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Sous-règne	Tracheobionta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Order	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i>

Selon **Boukhatem et al., (2018)**, le mot « eucalyptus » provient des mots grecs eu, qui signifie « bon » ou « bien », et kalypto, qui signifie « couvrir », à cause de la fusion des pétales et des sépales. Le mot « gommier » est dérivé de la gomme cramoisie et collante qu'ils émettent quand ils sont blessés. L'*Eucalyptus globulus* est appelé de diverses manières :

- Nom français : eucalyptus, gommier bleu.
- Nom anglais : blue gum tree, tasmanian blue gum, Southern blue-gum.
- Nom allemand : Eukalyptus blatter, Blauer Eukalyptus.
- Nom italien : albero della febbre, eucalipto comune.
- Nom espagnol : eucalipto, eucaliptus.
- Nom arabe : kalitus, الكلاتوس (**Goetz et Ghedira, 2012**).

6.2 Description botanique et répartition

6.2.1 Description botanique

Le genre *Eucalyptus* appartient à la famille des Myrtacées, de l'ordre des Myrtales, et à la tribu ou section des Leptospermeae. Environ 90 genres, plus de 600 espèces et variétés, composent la famille des Myrtacées (**Joachim, 1999**). L'*Eucalyptus globulus*, un arbre à feuillage persistant qui pousse rapidement et peut atteindre une hauteur comprise entre 30 et 60 m (**Erau, 2019**).

Les feuilles : les feuilles, de couleur gris-vert, sont en forme de falciformes, alternes, pétiolées et peuvent mesurer jusqu'à 25 cm de longueur (**Koziol, 2015**).

Les fleurs : qui apparaissent au printemps, émergent à partir des aisselles des feuilles. Le calice prend la forme d'une toupie bosselée, avec une partie large recouverte par un opercule qui se détache lors de la floraison, révélant de nombreuses étamines (**Pan et al., 2020**).

Les bourgeons : qui ont une forme de toupie et sont côtelés, sont recouverts d'un opercule aplati portant un bouton central (**Boukhatem et al., 2018**).

Les fruits : les ligneux sont de 1,5 à 2,5 cm de diamètre et sont équipés d'une capsule très solide. Au moment de leur chute au sol, ils émettent les graines fécondées par des grains de pollen, principalement transportés par des insectes (**Boukhatem et al., 2018**).

Les écorce : les *eucalyptus* présentent fréquemment une écorce gris-blanc qui, au fil du temps, se détache en larges lames brunes (**Joachim, 1999**).

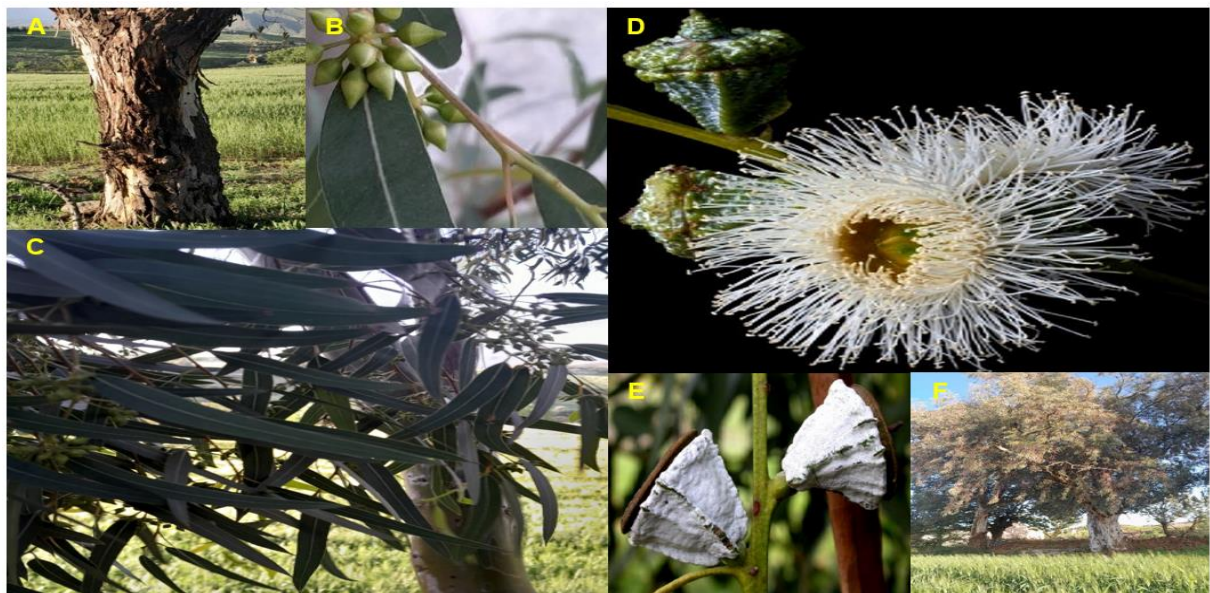


Figure 3 : Morphologie de l'*Eucalyptus globulus*.

(A) Les écorce. (B) Les bourgeons. (C) Les feuilles (**Bennais, 2024**). (D) Les fleurs. (E) Les fruits (**Boukhatem et al., 2018**). (F) Un arbre *Eucalyptus globulus* (**Bennais, 2024**).

6.2.2 Répartition géographique

La superficie des plantations d'eucalyptus a considérablement augmenté en Asie et en Amérique du Sud au cours des 20 dernières années. D'après les données de l'IUFRO, il était prévu de planter 14 millions d'hectares à travers le monde en 1997. Malgré l'introduction de plus de 150 espèces d'eucalyptus dans divers pays, moins de trente d'entre elles sont cultivées à grande échelle. Vers la fin des années 1980, 4 espèces (*E. globulus*, *E. tereticornis*, *E. grandis* et *E. camaldulensis*) constituaient plus de la moitié de la surface plantée (**Laadel, 2018**).

Tableau 5 : La répartition mondiale des *eucalyptus*. (Laadel, 2018).

Continents	Nombre de pays	Surface
Afrique	37	1513000 ha
Amérique centrale	7	54000 ha
Amérique du sud	13	6200000 ha
Asia	12	4737000 ha
Méditerranée	7	961000 ha
Pacifique	3	183000 ha

En Algérie, selon **Laadel (2018)**, les eucalyptus ont été replantés industriellement, surtout dans la région d'El Kala, dans l'est de l'Algérie, dans le but de produire de la pâte à papier avec une rotation courte (10 à 15 ans). Dans ces zones, le rendement annuel des eucalyptus, principalement *E. globulus* et *E. grandis*, se situe entre 10 et 13 m³/ha. Dans l'ensemble du pays, pas moins de 130 espèces ont été plantées. Le reboisement en eucalyptus a surtout concerné les régions de l'est (El Kala, Annaba, Skikda) dans les années 1960 et 1970. L'Ouest (Mostaganem) et le centre (Tizi-Ouzou, Baïnem) peuvent répondre aux besoins du pays en bois et en papier. L'ensemble du territoire est couvert d'eucalyptus.

6.3 Composition biochimique

L'*Eucalyptus* possède des composants qui diffèrent d'une espèce à l'autre. La majorité du temps, il y a des éléments particuliers, et ce sont souvent eux qui sont à l'origine des bienfaits médicaux de l'*eucalyptus* (**Boukhatem et al., 2018**).

6.3.1 Les huiles essentielles

Elle est constituée d'oxydes terpéniques comme 1,8-cinéole, monoterpènes comme alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène, sesquiterpènes comme aromadendrone et sesquiterpénols comme globulol et lédol (**Reghaissia, 2020**).

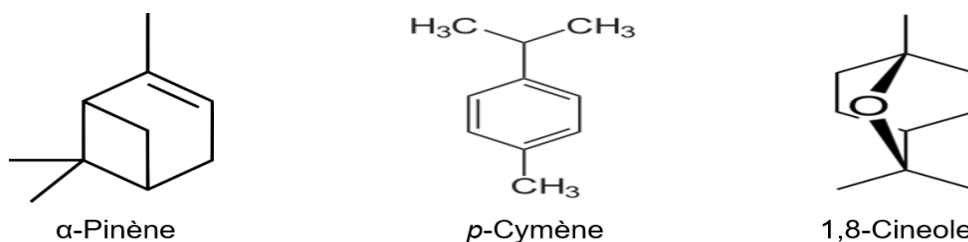


Figure 4 : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus* (Boukhatem et al., 2018).

6.4 Propriétés thérapeutiques

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* agit comme un antiseptique des voies respiratoires, un expectorant et un analgésique, et elle peut être employée à la fois en externe et en interne. Elle possède aussi des effets décongestionnants, hypoglycémiants, détoxifiants contre les toxines du tétanos et de la diphtérie, antimicrobiens contre les bactéries Gram+, antifongiques, anti-inflammatoires et améliore les tests de la fonction respiratoire. De plus, elle a une action mucolytique, antispasmodique bronchique, fébrifuge et un pouvoir asséchant puissant (**Duraffourd et Lapraz, 1997**).

Le composé à base de feuilles, l'eucalyptol, est la principale source des propriétés médicinales de l'eucalyptus. Le 1,8-cinéole de l'eucalyptus a été montré efficace pour les asthmatiques en diminuant la consommation simultanée de corticostéroïdes et en combattant les rhumes (**Juergens et al., 2003 ; Tesche et al., 2008**).

6. Les huiles essentielles

6.1 Généralité sur les huiles essentielles

Depuis l'Antiquité, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés bénéfiques. Les Égyptiens, il y a environ 4000 ans avant J.-C., ont découvert comment extraire l'essence de cèdre par distillation sèche. Ils ont également utilisé des huiles aromatiques pour momifier les morts, car ils ont remarqué qu'elles avaient des propriétés antiseptiques. Plus tard, au XIII^e siècle, le romarin a été mentionné dans des traités médicaux pour ses vertus curatives (**Nourachani, 2010**).

Les huiles essentielles, également connues sous le nom d'huiles volatiles, sont des substances odorantes qui sont huileuses, volatiles et peu solubles dans l'eau. Elles sont plus ou moins solubles dans l'alcool et l'éther, incolores ou jaunâtres. Présentent sous forme liquide à température normale ; certaines sont solides ou en partie cristallisées (**Nabil, 2011**). Sont obtenues à partir de matières végétales en séparant la phase aqueuse par des méthodes physiques telles que l'entraînement à la vapeur d'eau, des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals ou par distillation sèche (**Mayer, 2012**).

Il y a peu d'huiles essentielles dans les végétaux supérieurs (par exemple, la famille des labiées odorantes qui contient presque toutes une huile essentielle). Il est possible de les conserver dans tous les éléments végétaux, tels que les fleurs, les feuilles, et moins fréquemment les écorces, les bois, les racines, les rhizomes, les fruits et les algues.

En règle générale, on retrouve les huiles essentielles dans une quantité très limitée, allant de 1 à 2% de la matière sèche au maximum **(Couderc, 2001)**.

6.2 Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles stimulent la sécrétion biliaire, favorisent la cicatrisation, apaisent le système nerveux, relaxent les muscles, améliorent la digestion, renforcent l'estomac, combattent les pathogènes, réduisent l'inflammation, désinfectent les voies respiratoires et protègent contre les dommages oxydatifs. Les terpènes sont des composés chimiques qui contribuent à ces propriétés et, par conséquent, aux utilisations médicales des plantes aromatiques et médicinales, comme en témoigne l'utilisation de la listerine en médecine dentaire **(Bouhekrit, 2018)**.

6.3 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Selon **Besombes (2008)**, la méthode la plus ancienne et la plus fréquemment utilisée pour extraire les huiles essentielles est la distillation. D'autres approches plus récentes sont rarement employées. Parmi ces méthodes, on peut citer :

6.3.1 Extraction par enfleurage

Depuis l'Antiquité, l'enfleurage est une autre méthode d'extraction traditionnelle. La principale utilisation de cette méthode était d'extraire les huiles essentielles des fleurs, telles que le jasmin. On utilise cette méthode pour appliquer une graisse froide pure et sans odeur sur les végétaux (comme les fleurs, par exemple). Les fleurs libèrent des parfums qui se dissolvent finalement dans la graisse. Les fleurs déjà usées sont substituées par de nouvelles, et cette étape est répétée jusqu'à ce que la graisse soit absorbée. Ensuite, on collecte et extrait la graisse à l'aide d'alcool **(Stratakos et Koidis, 2016)**.

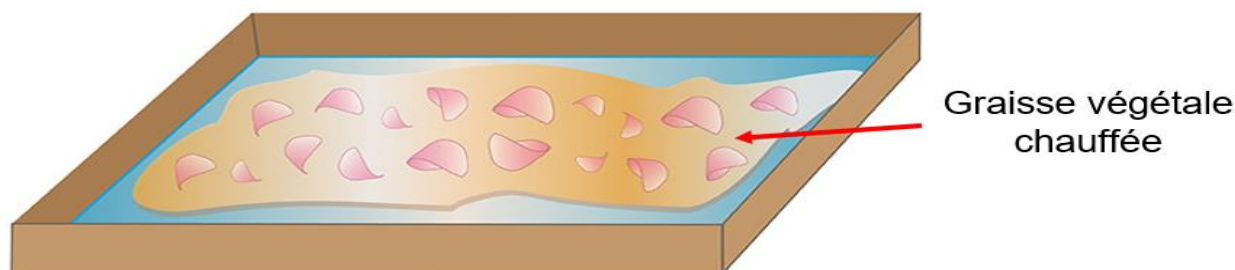


Figure 5 : Technique d'enfleurage pour l'extraction des huiles essentielles
(www.newdirectionsaromatics.com).

6.3.2 Extraction par expression à froid

La pression à froid est la méthode la plus basique, mais aussi la plus restrictive. Cette technique d'extraction extrait des essences d'agrumes des zestes (**Bousbia, 2011**). La technique de pressage mécanique à froid implique l'utilisation d'une pression ou d'une abrasion afin de déchirer les glandes d'huile, ce qui permet de retirer les huiles aromatiques des écorces d'agrumes. Ensuite, on extrait l'huile et on la purifie en utilisant un jet d'eau. Le terme « à froid » a récemment été utilisé pour décrire la production de produits biologiques ; ces produits sont généralement commercialisés sous le nom de produits spéciaux et sont très onéreux sur le marché (**Reyes-Jurado, 2015**).

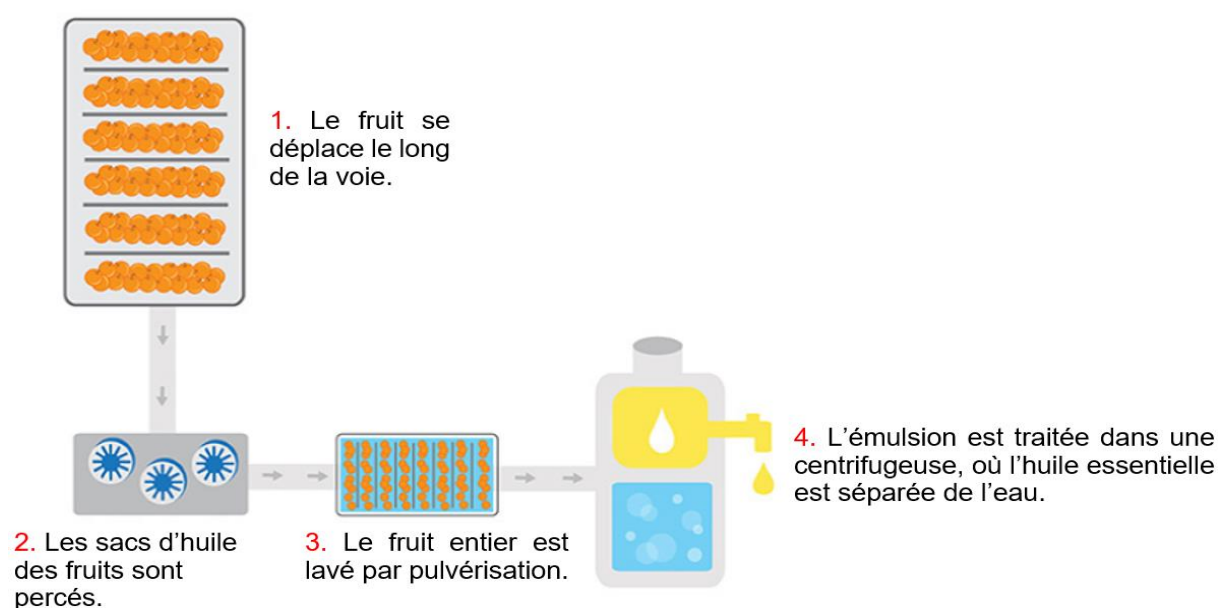


Figure 6 : Représentation schématique de l'extraction par pression à froid
(**Mishra et Parida, 2021**).

6.3.3 Extraction par hydrodistillation

Lorsqu'elles sont distillées, les plantes sont soumises à de l'eau bouillante ou à de la vapeur d'eau pour évaporer leur huile essentielle. Au fil du temps, la vapeur et les vapeurs d'huile essentielle se condensent et sont collectées et séparées dans un récipient communément appelé "fiolle florentine" (**Stratakos et Koidis 2016**). En utilisant un refroidissement indirect à l'eau, le mélange de vapeur d'eau et d'huile se condense ; le distillat s'écoule du condenseur vers un séparateur, où l'huile se sépare de l'eau (**Reyes-Jurado, 2015**).

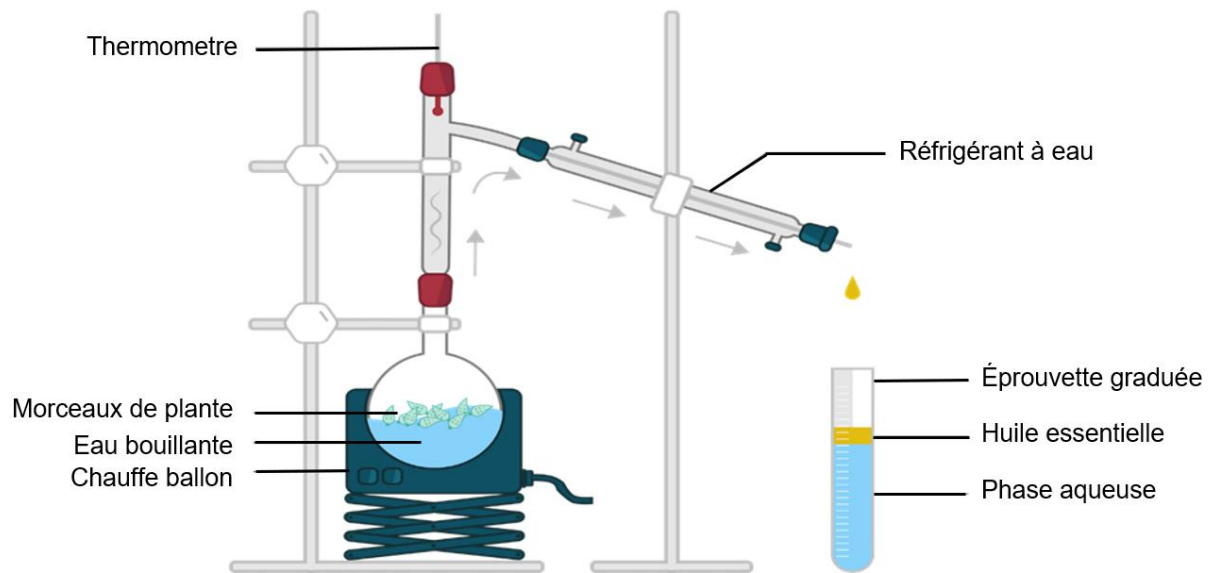


Figure 7 : Schéma du dispositif d'extraction par hydrodistillation (www.schoolmouv.fr).

6.3.4 Extraction par micro-ondes

Pour accélérer l'extraction et obtenir une huile essentielle de haute qualité, de nombreux auteurs ont également développé et documenté l'utilisation de l'irradiation par micro-ondes. Cette technique a également permis d'extraire les saponines de certaines plantes médicinales. En employant les micro-ondes afin de stimuler les molécules d'eau présentes dans les tissus végétaux, cette méthode entraîne la rupture des cellules, ce qui permet de libérer les huiles essentielles qui sont stockées dans les tissus extracellulaires de la plante (Lahlou 2004).

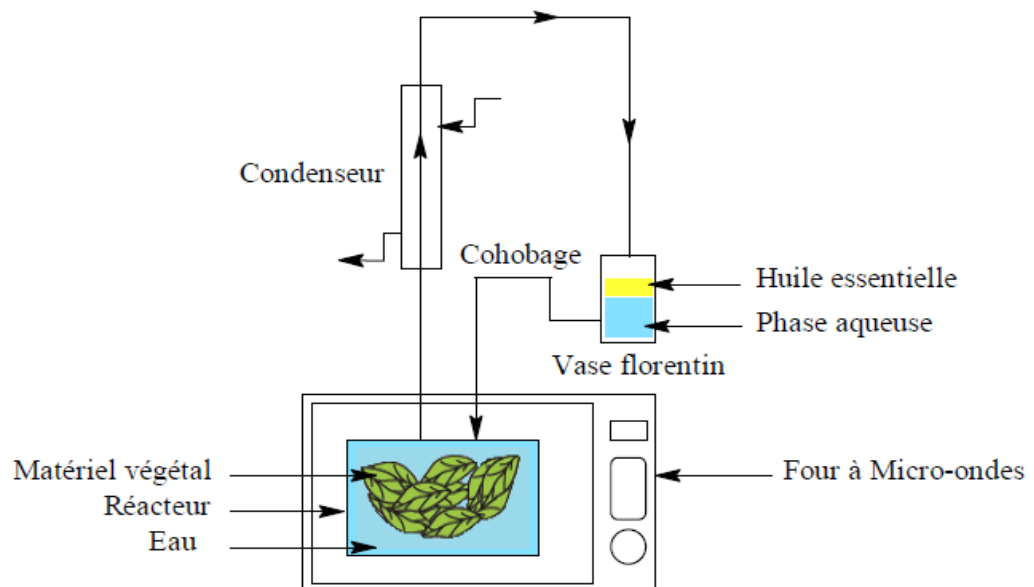


Figure 8 : Un schéma présentant la configuration de l'extraction assistée par micro-onde (Chenni et El Abed, 2017).

6.3.5 Extraction par fluide supercritique

Selon **Mishra et Marida (2021)**, la principale différence entre cette méthode et la méthode traditionnelle de distillation à la vapeur réside dans l'emploi du CO₂ comme solvant plutôt que de la vapeur. En interaction avec le CO₂, l'huile extraite et les restes de plantes acquièrent des teintes distinctes. Il est possible d'utiliser le dioxyde de carbone (CO₂) dans les processus de dissolution car il est facile à obtenir en raison de sa faible pression critique et de sa température critique relativement basse, et qu'il peut être facilement éliminé de l'extrait (**Chenni et El Abed, 2017**).

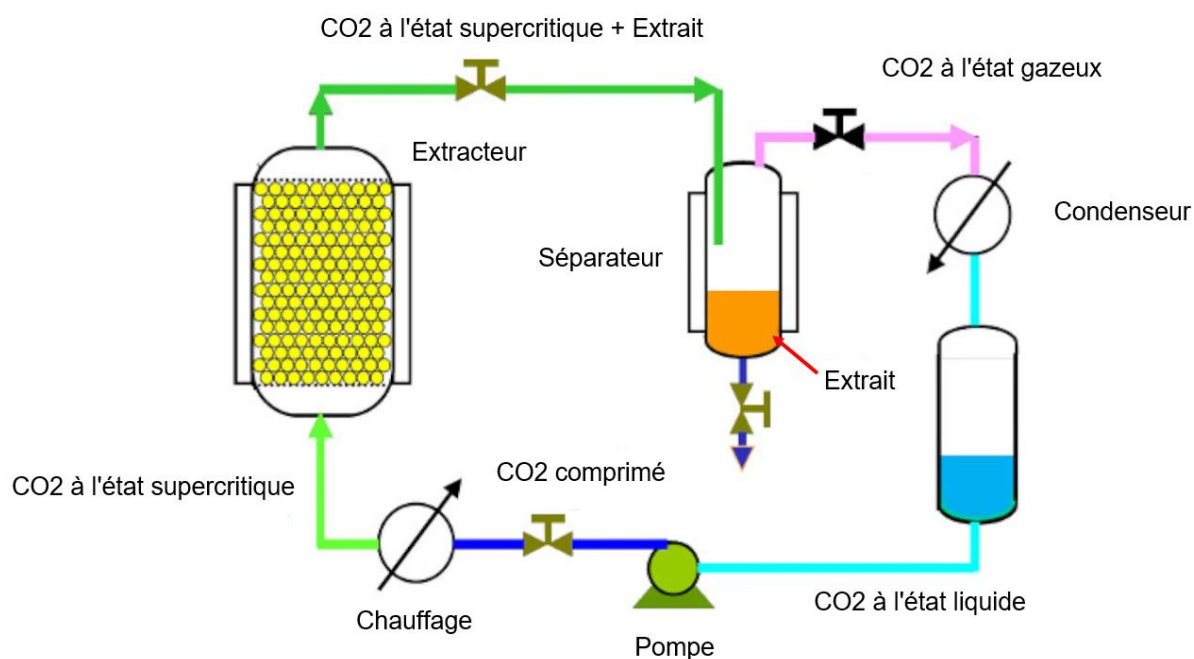


Figure 9 : Schéma du procédé de l'extraction par CO₂ supercritique (<https://www.extratex-sfi.com>).

6.3.6 Extraction par solvant

Lors de l'extraction par solvant, il est nécessaire de disposer un solvant volatil et le matériau végétal à traiter dans un extracteur. En passant par plusieurs lavages, le solvant se transforme en molécules aromatiques, puis est transporté vers un concentrateur où il est distillé à pression atmosphérique (**Boukhatem, 2019**). Cette approche emploie des substances chimiques comme l'hexane et l'éthanol pour extraire les huiles essentielles de différentes plantes. Cette méthode est utilisée lorsque les plantes contiennent une faible quantité d'huile essentielle (**Mishra et Parida, 2021**). Les composés chimiques présents dans l'huile sont employés pour la création de parfums ou pour les traitements d'aromathérapie (**Jyotirmayee et Mahalik, 2021**).

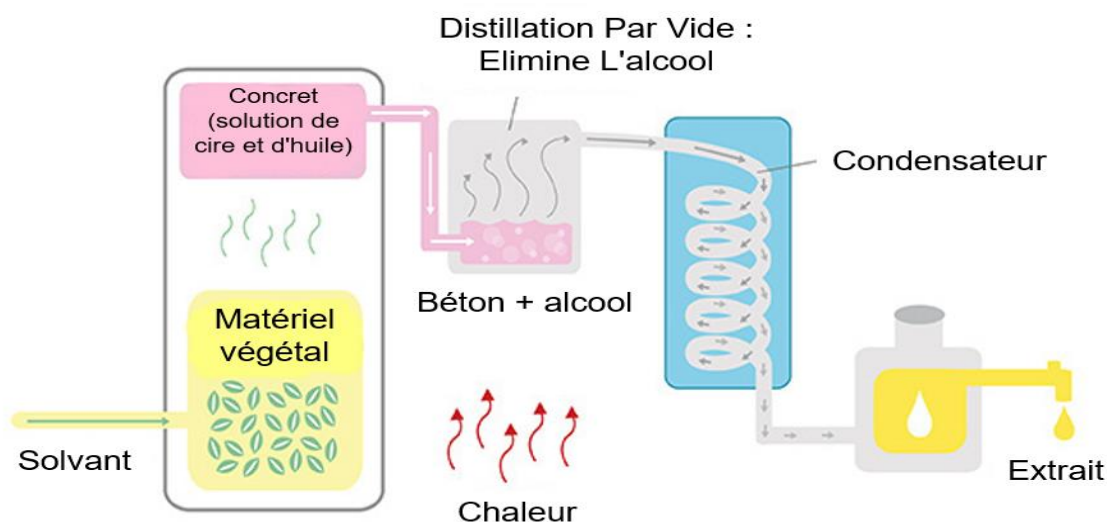


Figure 10 : Schéma du Procédé d'extraction par solvant.
(www.newdirectionsaromatics.com).

6.4 Relation composition chimique et activité biologique

6.4.1 Les compositions chimiques des huiles essentielles

Dans un ensemble complexe de composants hétérogènes, ces éléments sont presque exclusivement répartis en deux groupes distincts en termes d'origines biogénétiques : le groupe des terpènes et des terpénoïdes (y compris les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes) dérivés de l'isoprène (**Boucekrit, 2018**).

6.4.1.1 Les terpènes

Les terpènes sont classés en deux classes distinctes : structurelle et fonctionnelle. Ils sont constitués d'une combinaison de plusieurs unités à 5 bases de carbone (C5) connues sous le nom d'isoprène. Les monoterpènes (C10) et les sesquiterpènes (C15) sont les terpènes les plus courants, mais les hémiterpènes (C5), les diterpènes (C20), les triterpènes (C30) et les tétraterpènes (C40) sont également disponibles (**Bakkali et al., 2008**). La majorité des terpénoïdes, malgré les variations de leurs structures, sont biologiquement actifs et sont utilisés dans le traitement de nombreuses maladies dans le monde entier (**Perveen, 2021**).

6.4.1.2 Les monoterpènes

Sont constitués de 10 atomes de carbone avec une formule moléculaire C₁₀ H₁₆ et deux unités d'isoprène. Ils se trouvent naturellement dans les huiles essentielles et fixes des plantes et des sources connexes. Les composés monoterpènes sont structurellement classés en acycliques, monocycliques et bicycliques (**Perveen, 2021**).

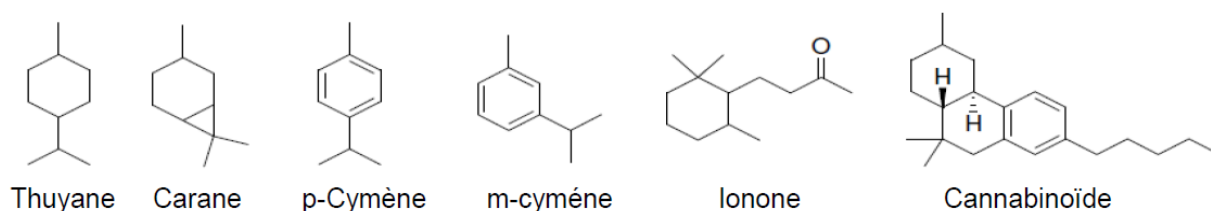


Figure 11 : La structure chimique d'un certain nombre de monoterpènes (Mabou et Yossa, 2021).

6.4.1.3 Les sesquiterpènes

Une classe de métabolites secondaires constituée de trois unités d'isoprène (C₅H₈), peuvent être linéaire, cyclique, bicyclique ou tricyclique. Les huiles essentielles, les composants aromatiques des plantes et de nombreux squelettes de base sont des sesquiterpènes (Mabou et Yossa, 2021).

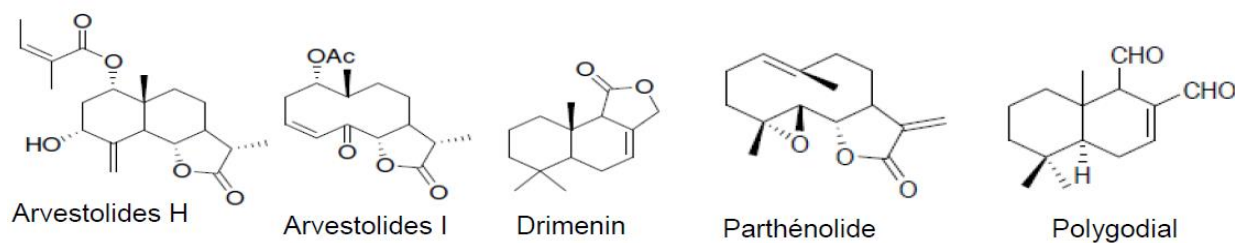


Figure 12 : La structure chimique d'un certain nombre de sesquiterpènes. (Mabou et Yossa, 2021).

6.4.1.4 Les composés aromatiques dérivés de phenylpropane

Selon Bakkali et al., 2008, les composés aromatiques sont moins courants que les terpènes, car ils sont dérivés du phénylpropane (C₆-C₃). En général, il s'agit d'allyle de propénylphénols et parfois d'aldéhydes de certaines huiles essentielles, comme l'huile essentielle de girofle (Eugénol) (Bouhekrit, 2018). Il y a diverses substances comme l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique qui proviennent de la cannelle, l'anéthol et l'aldéhyde anisique qui se trouvent dans la badiane, l'anis et le fenouil, ainsi que le safrole qui provient du sassafras (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

6.4.2 Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de multiples caractéristiques pharmacologiques qui les rendent appropriées pour un usage médical. Parmi ces caractéristiques :

6.4.2.1 *Activité anti-infectieuse*

Les huiles essentielles sont riches en molécules actives qui leur confèrent des propriétés anti-infectieuses. Elles sont connues pour leurs effets antibactériens, antiviraux et antifongiques, qui ont été largement étudiés et documentés (**Buckle, 2015**). Ils ont deux propriétés sur les microbes : elles peuvent les éliminer (effet bactéricide) et entraver leur reproduction (effet bactériostatique). Les phénols comme le thymol sont les produits les plus performants dans ce domaine et sont efficaces pour combattre les infections bactériennes, virales et parasitaires (**Buronzo, 2008**).

6.4.2.2 *Activité anti-inflammatoire*

Selon **Dongmo et al. (2008)**, les huiles essentielles pourraient constituer une alternative envisageable aux traitements naturels et susciter un espoir pour la médecine en raison de leur activité anti-inflammatoire. Toutes les huiles essentielles disponibles De nombreux aldéhydes qui possèdent des propriétés anti-inflammatoires sont diminués. Prenons l'illustration de la menthe poivrée, qui peut soulager les maux de tête, tandis que le clou de girofle peut apaiser les douleurs dentaires (**Buronzo, 2008**).

6.4.2.3 *Activité antioxydante*

Les composés bioactifs peuvent être trouvés dans les huiles essentielles, et de nombreuses études sont menées pour évaluer leur potentiel en tant qu'alternative aux antioxydants. L'utilisation de ces huiles comme agents de conservation s'avère être une alternative intéressante par rapport aux conservateurs synthétiques. Le rôle de ces essences en tant qu'antioxydants naturels est de plus en plus intéressant dans la prévention et le traitement du cancer, des maladies cardiovasculaires et d'autres maladies (**Ismaili, 2017**).

6.4.2.4 *Activité digestive*

Les huiles essentielles ont un impact significatif sur le système digestif. Les huiles essentielles de basilic, de sarriette et d'anis sont utiles pour réduire la formation de gaz dans le ventre. Elles favorisent la production de sucs gastriques nécessaires à la bonne digestion, tels que les huiles essentielles de cumin, d'estragon et de menthe poivrée (**Buronzo, 2008**).

6.4.2.5 *Activité antibactérienne*

L'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* favorise l'élimination de la souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline. Cette huile, qui est principalement composée de terpinèn-4-ol, a démontré d'excellents résultats in vitro pour empêcher la croissance du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (**Bouhekrit, 2018**).

Chapitre II : Bactéries et antibiotiques

1. Les bactéries

1.1 Définition

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, métaboliquement actifs, qui se divisent par fission binaire et ne possèdent pas de membrane nucléaire. En médecine, elles sont l'une des principales causes de maladie. À première vue, les bactéries semblent être des formes de vie très élémentaires, mais elles sont en fait très intelligentes et très adaptatives. De nombreuses bactéries se développent rapidement. Les micro-organismes peuvent se différencier et présenter des comportements complexes, comme le montre la recherche sur le développement microbien (**Dianzani et al., 1996 ; O'Toole et al., 2000**). Les bactéries sont omniprésentes dans la nature, présentes en grandes quantités dans le sol, l'eau et le système digestif des animaux. Grâce à leurs diverses combinaisons d'espace, de nourriture, d'humidité, de lumière, d'air, de température, de composés inhibiteurs et de créatures compagnes, les bactéries peuvent s'adapter physiologiquement pour vivre dans un large éventail d'environnements. Les bactéries se présentent sous la forme de petits microbes mesurant entre 1 et 2 micromètres de diamètre. Il s'agit d'un noyau procaryote, c'est-à-dire qu'il n'est pas coupé par une membrane qui le sépare du reste de la cellule. Il a les éléments essentiels pour la création de cellules nouvelles. L'ADN est cette substance ; il s'agit d'un filament dont les extrémités se rejoignent pour former un cercle. L'ADN contient les instructions requises pour la création de différents éléments cellulaires (**Hungate et al., 2023**).

1.2 Structure des bactéries

Les bactéries ont longtemps été perçues comme des « sacs d'enzymes », car les éléments de leur structure ne pouvaient pas être observés au microscope optique. Les seules caractéristiques observées des bactéries étaient leur forme (sphérique, coccoïde, cylindrique, en bâtonnet, spirale ou hélicoïdale), leur taille (allant de 0,1 μm à 600 μm selon les espèces ; les Enterobacteriaceae, par exemple, mesurent 2 à 3 μm de long, tandis que certaines Spirochaeta mesurent entre 30 et 500 μm), et les configurations ou groupes qu'elles formaient entre elles (en grappes, en chaînes, en paires ou en diploé). Ces caractéristiques, qui déterminent la structure des bactéries, jouent un rôle essentiel dans leur identification et leur impact sur le diagnostic sont considérables (**Leclerc et al., 1995**).

L'adaptation et la survie des bactéries sont facilitées par les caractéristiques morphologiques. Elles peuvent être amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées, filamenteuses, et former des réseaux, des amas, des paires, des rosettes, des cubes ou des fructifications dans l'environnement aquatique ou terrestre (**Leclerc et al., 1995**).

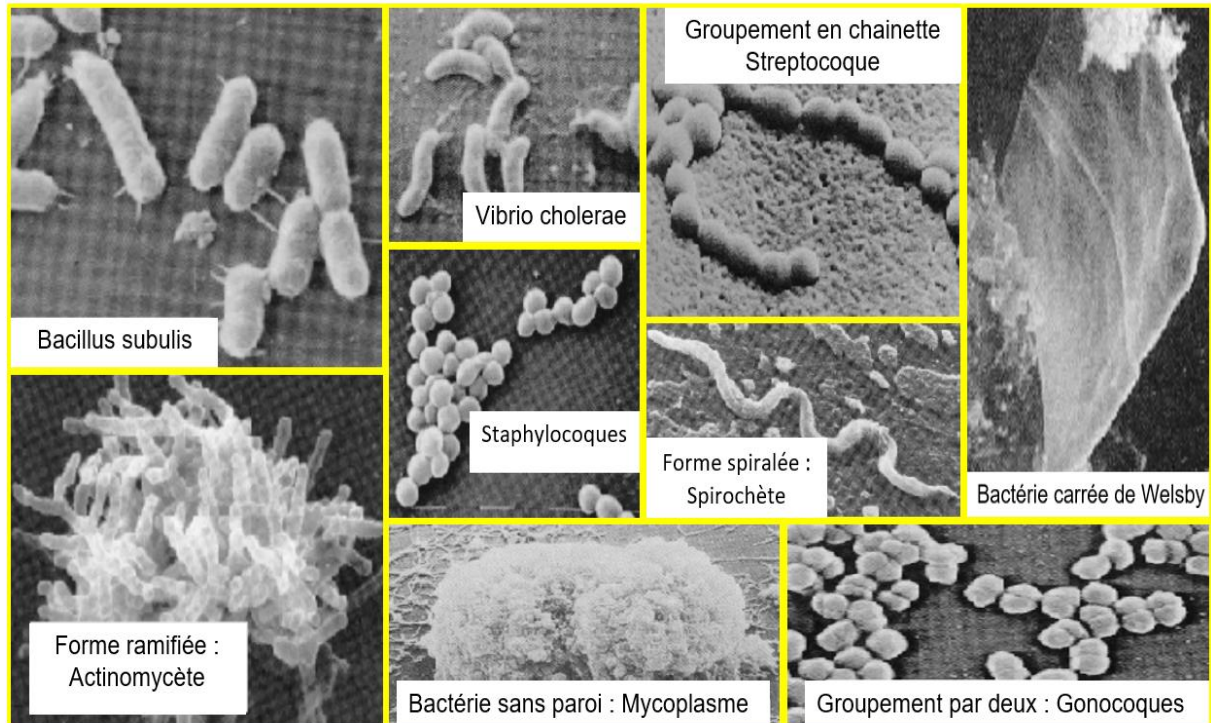


Figure 13 : Morphologie bactérienne (Benzeggouta, 2005).

La cellule possède une paroi solide qui lui confère sa force et sa forme. La paroi de la membrane cytoplasmique est plus fine et plus délicate, plus épaisse chez les bactéries Gram positif et plus fine chez les bactéries Gram négatif. Les membranes cytoplasmiques des bactéries gram-négatives se différencient des membranes internes par la présence d'une membrane supplémentaire, la membrane externe. Les éléments essentiels du cytoplasme sous-jacent sont les granules d'acide nucléique, les ribosomes et les matériaux de réserve tels que le glycogène. L'appareil nucléaire, qui occupe une grande partie de l'espace cellulaire et n'est pas articulé à une membrane, est fibrillaire et réticulé (**Leclerc et al., 1995**).

La microscopie électronique a révélé l'architecture interne des bactéries, qui fonctionne selon différentes méthodes, comme le montre la figure 14.

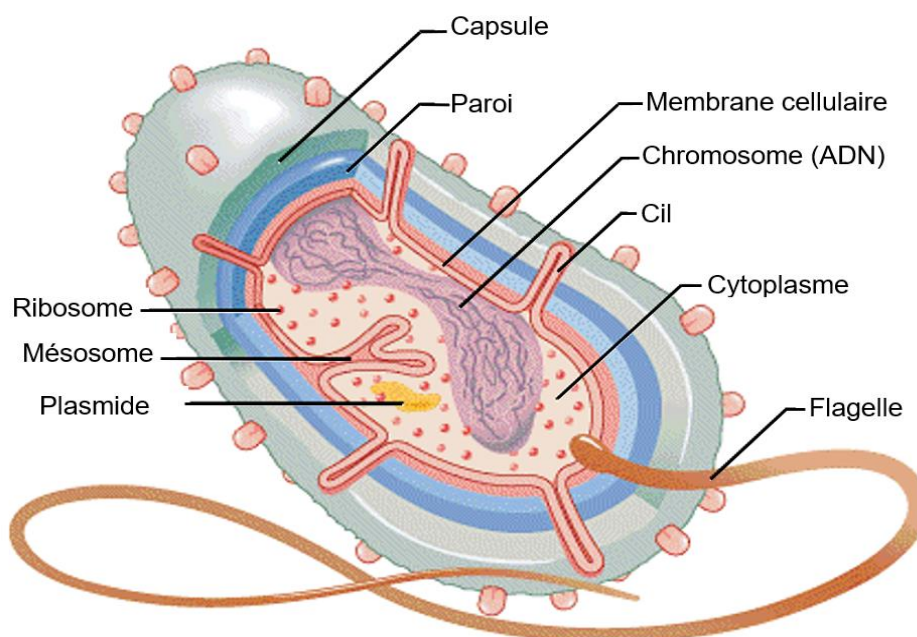


Figure 14 : La structure globale d'une bactérie (<http://croissbact.free.fr/bacterie.php>).

La présence d'autres composants, appelés éléments optionnels, est possible. Ces éléments comprennent le glycocalyx (un polymère polysaccharidique de surface), la capsule, les flagelles (qui assurent la motilité), les fimbriae (qui permettent l'attachement à d'autres cellules), et les pili sexuels (qui sont engagés dans des activités de conjugaison). Enfin, des éléments d'ADN circulaires ou mobiles extra chromosomiques, appelés plasmides, porteurs d'informations génétiques particulières (comme la résistance à certains antibiotiques) peuvent être présents chez certaines bactéries (**Leclerc et al., 1995**).

1.3 La résistance bactérienne aux antibiotiques

Ce terme désigne la capacité des bactéries à survivre et à se développer lorsqu'elles sont exposées à des concentrations d'antibiotiques bien supérieures à celles qui sont habituellement efficaces pour les souches de l'espèce en question. Les antibiotiques peuvent entraîner une résistance innée et une résistance acquise (**Podglajen, 2006**). On définit la résistance aux antibiotiques également comme l'absence d'effet d'un antibiotique pour lequel l'espèce bactérienne est naturellement sensible, pour laquelle on attend un effet thérapeutique lors d'un traitement à dose habituelle par voie générale (**Opatowski, 2020**).

1.3.1 Résistance naturelle

La résistance naturelle est une caractéristique de l'espèce qui concerne toutes les souches de l'espèce en question. Le support génétique fourni par le chromosome bactérien lui permet de rester stable et de se transmettre à la descendance (**Lozniewski et al., 2010**).

1.3.2 *Résistance acquise*

L'attribut appelé résistance acquise est restreint à quelques souches (ou parfois à de nombreuses souches) dans une espèce donnée. Malgré sa stabilité, elle se multiplie souvent au sein de la communauté bactérienne. Le capital génétique de la bactérie est modifié depuis le début de l'antibiothérapie, ce qui lui permet de résister à des concentrations d'antibiotiques plus élevées que celles qui inhibent les souches sensibles de la même espèce (**Lozniewski et al., 2010**).

1.3.3 *Résistance chromosomique*

Il s'agit d'une transformation. Une des principales raisons pour lesquelles l'association d'antibiotiques est justifiée est l'autonomie des mutations. La mutation de résistance n'est pas provoquée par les antibiotiques, mais elle est révélée par la promotion des micro-organismes mutants résistants. En raison de sa permanence et de sa transmission, elle possède une nature héréditaire (transfert vertical de la bactérie mère à la bactérie fille). Si l'on ne dispose pas d'antibiotiques, une bactérie mutante est souvent contre-sélectionnée, car toutes les mutations entraînent la perte ou l'altération d'une protéine structurale ou enzymatique (**Lozniewski et al., 2010**).

2. Les antibiotiques

2.1 Définition

Selon **Muylaert et Mainil (2013)**, en grec, anti signifie « contre » et bios signifie « vie ». Des composés antibactériens sont produits par certaines bactéries, certains champignons et certains microbes. Ils ont la capacité de bloquer de manière sélective des voies métaboliques bactériennes particulières et peuvent être biosynthétiques, synthétiques ou semi-synthétiques. En général, ils ne causent pas de dommages aux organismes supérieurs.

2.2 Classification des antibiotiques

Selon **Mohammedi (2010)**, la classification des antibiotiques peut se faire selon des différents critères, l'origine (naturelle, synthétique ou semi synthétique), le mode d'action (sur la paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques), le spectre d'activité (spectre étroit ou spectre large), la nature chimique (basée sur la structure de base (ex : cycle β lactame) et elle permet de classer les antibiotiques en familles).

Les grandes familles comprennent :

- **Polymyxins (colistine)** : est un bactéricide utilisés pour traiter les infections causées par des agents pathogènes à Gram négatif (**Tambadou et al., 2015**).
- **Lincosamides (clindamycine)** : sont des antibiotiques naturels isolés de *Streptomyces* utilisés comme médicaments cliniques. (**Mori et Abe., 2024**).
- **Les sulfamides** : à une classe importante de composés qui ont une activités biologiques antibactériennes, antivirales, diurétiques, hypoglycémiantes et récemment anti-covid-19 (**Alani et al., 2024**).
- **Oxazolidinones** : est un inhibiteur de la croissance des bactéries de Gram positive (**Ndukwe et al., 2023**).
- **Chloramphenicol** : un antibiotique à large spectre utilisé pour contrôler les infections bactériennes (**Liu et al., 2024**).
- **Nitromidazoles (métronidazole)** : est l'un des principaux antibiotiques utilisés pour l'éradication d'*Helicobacter* (**lee, 2024**).
- **Glycopeptides (vancomycin)** : sont des agents thérapeutiques effectives dans l'atténuation des infections à Gram positif (**Paritala et al., 2024**).
- **Beta-lactamines** : la particularité de cette famille réside dans la présence d'un cycle B-lactame, ainsi que d'autres cycles et chaînes latérales, qui influencent les caractéristiques pharmacocinétiques et le spectre d'action des divers produits (**Cavallo et al., 2004**).
- **Les aminosides** : les polypeptides sont une catégorie d'antimicrobiens qui ciblent une grande variété de bactéries Gram-positives et Gram-négatives. La bacitracine, la colistine et la polymyxine sont des polypeptides. Ces molécules de grande masse moléculaire présentent une structure Heptapeptidique comprenant une chaîne latérale polypeptidique (**Bladek et al., 2020**).

2.3 Mode d'action

Selon **Mohammedi (2010)**, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne en les inhibant (Bactériostatique) ou en les arrêtant (Bactéricide) d'une étape essentielle de leur développement (synthèse de leur paroi, de l'ADN, des protéines, production d'énergie).

2.3.1 Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne

La paroi cellulaire des bactéries est constituée de peptidoglycane, dont la formation est entravée par les β -lactamines et les glycopeptides. Antibiotiques contenant des lactamas : La PBP est la principale cible des β -lactamines.

La lyse bactérienne se produit lorsque la couche de peptidoglycane est rompue. Les glycopeptides sont liés à la sous-unité précurseur du peptidoglycane dans la partie D-alanyl D-alanine de la chaîne latérale du peptide. L'antibiotique à grosses molécules, la vancomycine, freine l'interaction de ce composant D-alanyl avec la PBP, ce qui diminue la formation de la paroi cellulaire **(Kapoor et al., 2017)**.

2.3.2 Inhibiteurs de la membrane cytoplasmique

Les acides gras constituent les membranes plasmiques bactériennes, qu'elles soient produites dans la cellule ou prélevées dans l'environnement. Les processus métaboliques impliqués dans la synthèse des acides gras et des phospholipides membranaires sont des cibles antimicrobiennes **(Kirmusaoğlu et al., 2019)**.

2.3.3 Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

La synthèse des protéines est entravée par les antibiotiques qui ciblent les sous-unités 30S ou 50S du ribosome bactérien. Tous les inhibiteurs de la sous-unité 30S sont les tétracyclines et les aminoglycosides. Le chloramphénicol, les macrolides et les oxazolidinones sont des inhibiteurs de la sous-unité 50S **(Kapoor et al., 2017)**.

2.3.4 Inhibiteurs de la biosynthèse des protéines

Les antibiotiques peuvent supprimer la multiplication, la transcription et la production de folate des micro-organismes. Les quinolones et la mitomycine C, toutes deux utilisées pour supprimer la réplication. La rifampicine, utilisée pour supprimer la transcription **(Kirmusaoğlu et al., 2019)**.

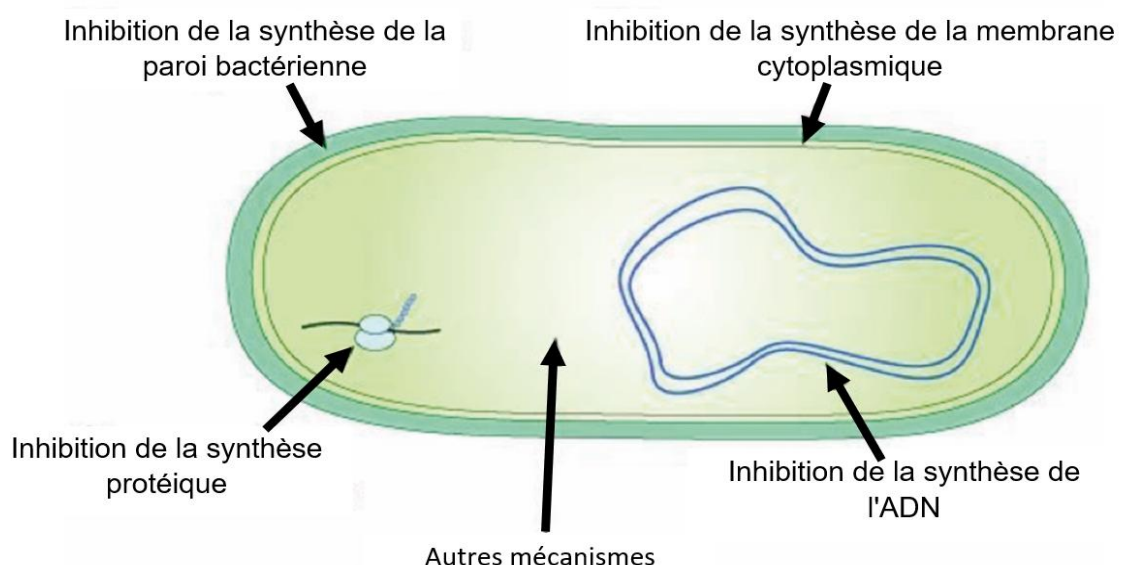


Figure 15 : Principaux mécanismes d'action des antibiotiques (<https://devsante.org>).

2.4 Principales cibles enzymatiques bactérienne

Les antibiotiques sont des agents chimiques qui ciblent spécifiquement les bactéries, souvent en interférant avec leurs processus métaboliques ou leur structure cellulaire. Voici quelques-unes des principales cibles enzymatiques bactériennes des antibiotiques :

ADN gyrase : C'est une enzyme essentielle pour la réplication de l'ADN bactérien. Les antibiotiques de la classe des fluoroquinolones, comme la ciprofloxacine et la lévofloxacine, ciblent l'ADN gyrase, ce qui perturbe la réplication de l'ADN et conduit à la mort cellulaire.

ARN polymérase : Cette enzyme est responsable de la transcription de l'ADN en ARN messager. Certains antibiotiques, comme les rifamycines (la rifampicine), inhibent l'ARN polymérase bactérienne, bloquant ainsi la synthèse des protéines et entraînant la mort cellulaire.

Transpeptidases : Ces enzymes sont impliquées dans la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne. Les antibiotiques bêtalactamines, tels que la pénicilline, les céphalosporines et les carbapénèmes, ciblent les transpeptidases, ce qui perturbe la synthèse de la paroi cellulaire et entraîne la lyse cellulaire (**Mainardi, 2015**).

Les ribosomes : ce sont des cibles importantes pour de nombreux antibiotiques. Ces antibiotiques, tels que les aminoglycosides (par exemple, la gentamicine) et les macrolides (par exemple, l'érythromycine), interfèrent avec la synthèse des protéines en se liant aux ribosomes bactériens et en bloquant la traduction de l'ARN messager en protéines. (**Archambaud, 2009**).

Folate réductase : Cette enzyme est nécessaire à la synthèse des cofacteurs de folate, indispensables à la synthèse de l'ADN. Certains antibiotiques, comme le triméthoprim, inhibent la folate réductase, perturbant ainsi la synthèse de l'ADN et inhibant la croissance bactérienne.

Chapitre III : Le Docking moléculaire

1. Généralité sur le Docking moléculaire

1.1 Définition du Docking moléculaire

Le Docking moléculaire est une simulation moléculaire appelée amarrage moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe récepteur-ligand. Le récepteur est généralement une protéine ou une molécule d'acide nucléique (ADN ou ARN), tandis que le ligand peut être une petite molécule, une autre protéine. On peut aussi la décrire comme un processus de simulation où la position d'un ligand est estimée dans un site de liaison prédéterminé (**Chevrollier, 2019**). Il est possible d'utiliser des simulations d'amarrage moléculaire pour reproduire des données expérimentales en utilisant des algorithmes de validation d'amarrage. Ces algorithmes permettent d'obtenir des conformations protéine-ligand ou protéine-protéine *in silico* et de les comparer aux structures obtenues par cristallographie aux rayons X ou par résonance magnétique nucléaire (**Dias et al., 2008**).

1.2 Principe du Docking moléculaire

On parle de Docking lorsque l'on place une molécule (ligand) sur le site actif de la protéine cible dans l'espace tridimensionnel (3D). Il est essentiel de prédire l'affinité du complexe protéine-ligand ainsi que l'emplacement optimal pour la liaison du ligand au site actif de la protéine (**Safa et Houyame, 2021**). Le Docking moléculaire se divise en deux étapes :

Dans la première étape (**Amarrage**), le ligand est introduit dans le site actif de la protéine et les différentes conformations, positions et orientations (poses) sont échantillonnées, en ne gardant que celles qui sont les modes d'interaction les plus bénéfiques (**Née Soufi, 2016**).

La deuxième étape (**Score**) implique de mesurer l'affinité entre le ligand et la protéine et d'attribuer un score aux poses obtenues lors de la phase d'amarrage. Ce score sert à sélectionner la position la plus avantageuse parmi celles proposées (**Née Soufi, 2016**).

1.3 Type de Docking moléculaire

1.3.1 Docking rigide

Le Docking rigide, où la protéine et le ligand sont traités comme étant complètement rigides. Donc, on ne cherche que les degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand par rapport au récepteur. Ce simple type revient à envisager un modèle de liaison de type « serrure-clé » où ni le ligand ni le récepteur ne sont réarrangés conformationnellement après leur interaction.

En règle générale, le Docking rigide est utilisé pour stabiliser deux macromolécules (Docking protéine-protéine ou protéine/acide nucléique structuré) où les degrés de liberté sont trop élevés pour effectuer un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calcul raisonnables (**Chevrollier, 2019**).

1.3.2 Docking semi-flexible

Le Docking semi-flexible, où seul le ligand est traité en termes de flexibilité, tandis que le récepteur reste rigide. L'analyse des degrés de liberté du ligand était donc ajoutée aux explorations translationnelles et rotationnelles. Ce genre de Docking est basé sur l'hypothèse d'ordre général que la structure du récepteur utilisée est capable de reconnaître le ligand (**Chevrollier, 2019**).

1.3.3 Docking flexible

Le Docking flexible prend en compte la souplesse du ligand et du récepteur. Il est possible de restreindre les niveaux de liberté conformationnelle de ce dernier à certaines chaînes latérales ou de considérer également des mouvements plus larges, tels que les différentes configurations possibles entre les domaines d'une protéine. L'approche de ce Docking est plus réaliste en prenant en compte des modèles de liaison du ligand au récepteur de type "ajustement induit" et/ou "sélection conformationnelle". D'autre part, la découverte de tous les degrés de liberté du ligand et du récepteur pose des problèmes majeurs en raison du temps de calcul requis pour exploiter de manière efficace le Docking flexible (**Chevrollier, 2019**).

1.4 Les outils du Docking moléculaire

Un programme d'ancrage moléculaire, une minuscule molécule appelée ligand et une cible protéique (récepteur) sont nécessaires pour le processus d'ancrage. Le programme détermine la configuration la plus avantageuse pour le ligand dans le récepteur sélectionné.

1.4.1 Récepteur

Un récepteur est un élément physique, cellulaire ou moléculaire qui reçoit des données. Un récepteur est une molécule spécialisée capable de se fixer de façon précise et réversible à une autre molécule, connue sous le nom de ligand. Les structures 3D que nous employons sont issues de la PDB (Protein Data Bank) (<https://www.rcsb.org/>) (**Martin, 2006**).

1.4.2 Ligand

Un ligand, qui vient du latin *ligandum*, qui signifie *lier*, est une molécule qui se lie à une macromolécule, une protéine ou un acide nucléique cible de manière réversible. Les ligands sont généralement impliqués dans la transmission de signaux, la stabilité structurale, la catalyse et la régulation de l'activité enzymatique. Dans la recherche sur les protéines, le mot est largement utilisé pour décrire les composés qui ont une interaction non covalente spécialisée avec les protéines et contribuent à leurs fonctions **(Safa et Houyame, 2021)**. En Docking moléculaire, la sélection des ligands joue un rôle essentiel dans la formation de la molécule. Il est important que cette décision soit en relation avec la particularité du site actif de la cible afin d'éviter d'utiliser des composés superflus **(Safa et Houyame, 2021)**.

1.4.3 Les logiciels du Docking

Les logiciels de Docking moléculaire sont des outils informatiques utilisés pour prédire et modéliser la façon dont les petites molécules interagissent avec une cible biologique, généralement une protéine. Ces outils sont largement utilisés dans le domaine de la recherche pharmaceutique pour la conception de médicaments. Ces outils sont essentiels pour accélérer le processus de découverte de médicaments en identifiant rapidement des composés candidats prometteurs pour des études expérimentales ultérieures **(Chen, 2015)**.

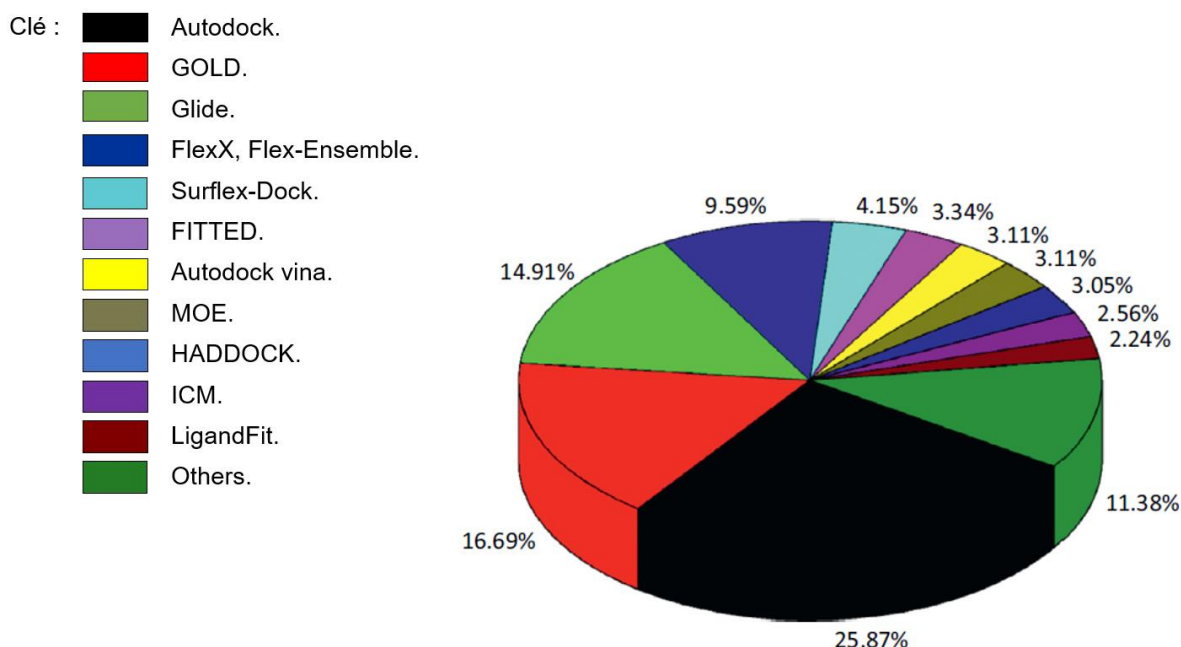


Figure 16 : Logiciels employés dans les publications du domaine de Docking entre 1990 et 2013 **(Chen, 2015)**.

Les programmes d'amarrage les plus fréquemment utilisés sont : AutoDock et AutoDock Vina, GOLD et Glide. Il s'agit uniquement de la popularité et de la reconnaissance ; il ne s'agit pas d'une déclaration sur la précision d'Autodock ou de GOLD par rapport à d'autres outils d'appui. Leur gratuité et leur création avant des systèmes d'ancrage plus modernes pourraient expliquer leur nombre élevé de citations. Il y a une multitude de logiciels ou de programmes de Docking moléculaire disponibles (Figure) (**Chen, 2015**).

2. Le criblage moléculaire *in Silico*

2.1 Généralités sur le criblage virtuel

Le criblage, qui devient de plus en plus pertinent dans la conception de médicaments grâce aux progrès de l'informatique et de la bio-informatique, comprend une variété d'outils informatiques destinés à étudier la base des composés afin de découvrir des molécules d'intérêt thérapeutique (**Leach et al., 2006**). Le criblage virtuel peut être comparé à un entonnoir dans lequel sont déversés un grand nombre (généralement entre cent mille et dix millions) de composés de la chimiothèque à cribler pour produire un nombre plus faible (quelques dizaines à quelques milliers) de composés qui seront ensuite testés expérimentalement (**Bencheikh, 2023**). Le but de cette méthode est de limiter sensiblement la chimiothèque originale à un groupe limité de substances les plus prometteuses. Cela conduit à une diminution significative du temps et des coûts. D'après leurs propriétés pharmacologiques, les procédés établis excluent les molécules considérées comme inactives ou indésirables, puis sélectionnent les composés les plus susceptibles d'être actifs en leur attribuant des scores d'affinité élevés pour la cible (**Bencheikh, 2023**).

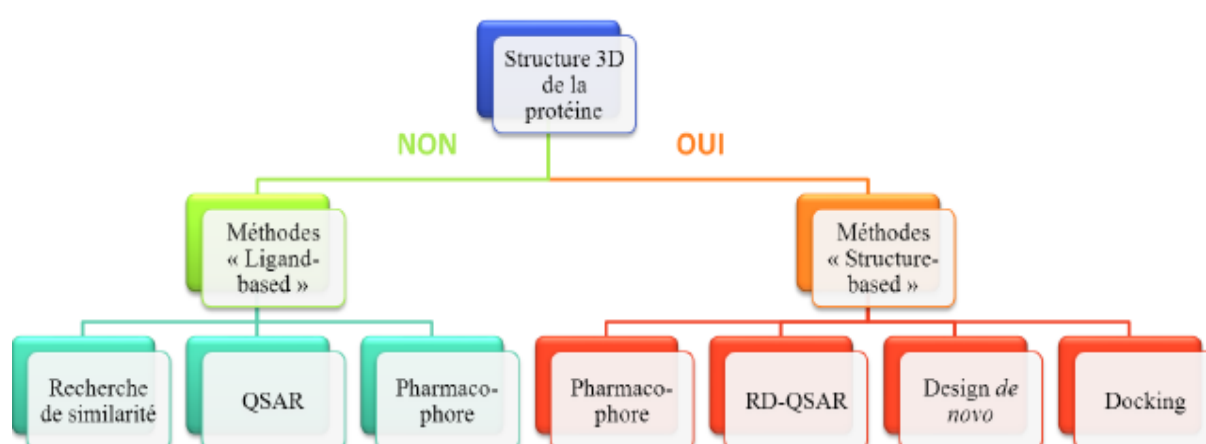


Figure 17 : Classement des techniques de criblage virtuel (**Lagarde, 2014**).

2.2 Chimiothèques

Selon **Lagarde (2014)**, il est difficile de dénicher une substance capable de se fixer sur des cibles biologiques et de modifier leurs mécanismes, mais plus il y a de composés étudiés, plus il y a de chances d'en trouver un capable de le faire. Le criblage n'est cependant pas le moyen le plus efficace, car les chimiothèques criblées sont habituellement restreintes à environ deux millions de composés, ce qui rend difficile l'exploration de l'univers chimique dans son ensemble, à l'aune des capacités actuelles. Il serait possible d'améliorer la qualité des chimiothèques en utilisant des méthodes de synthèse basées sur la variété ou la biologie, ou en établissant des analogies avec des produits naturels, dont les squelettes sont très différents de ceux des molécules synthétiques (**Lagarde, 2014**).

Tableau 6 : Les bases de données de petites molécules les plus importantes et les plus connues (**Lavecchia et Di Giovanni, 2013**).

Chimiothèque	Type	Nombre de composés	Site web
Maybridge	Commerciale	56000	http://www.maybridge.com/
NCI database	Publique	265000	http://cactus.nci.nih.gov/ncidb2.2/
PubChem	Publique	30 millions	http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
ZINC	Publique	13 millions	http://zinc.docking.org/
ChemSpider	Publique	26 millions	http://www.chemspider.com/
ChemDiv	Commerciale	1,5 millions	http://eu.chemdiv.com/
Drug Discovery CenterCollection	Commerciale	340000	http://drugdiscovery.uc.edu/
ChemBridge	Commerciale	700000	http://www.chembridge.com
DrugBank	Publique	500000	http://www.drugbank.ca
eMolecules	Commerciale	7 millions	http://www.emolecules.com/

Selon **Bencheikh (2023)**, les chimiothèques commerciales font partie des différents types de chimiothèques. Elles s'intéressent à différentes familles de cibles biologiques. Il existe plusieurs chimiothèques commerciales, à savoir **Asinex** (Asinex Screening libraries 2016), **Life Chemicals** (Life Chemicals Screening libraries 2016) et **Timtec** (TimTec Screening libraries 2016). Il existe donc des chimiothèques de produits naturels, ces produits ont généralement une sélectivité importante par rapport à leurs cibles et possèdent de bonnes caractéristiques ADME-Tox.

2.2.1 Règles de Lipinski

La « règle de Lipinski », également connue sous le nom de « règle des 5 », a été créée en 1997 par Lipinski et ses collègues afin d'évaluer la biodisponibilité orale d'un composé chimique en utilisant sa structure bidimensionnelle (2D). Afin qu'un composé soit accessible par voie orale, il doit répondre à au moins trois des cinq exigences (3/5) suivantes :

- Le poids moléculaire (PM) ≤ 500 daltons (Da).
- Le nombre d'accepteurs de liaison hydrogène (O et N) ≤ 10 .
- Le nombre de donneurs de liaison hydrogène (OH et NH) ≤ 5 .
- Le nombre de liaisons rotatives < 15 .
- Le coefficient de partition octanol/eau ($\log P$) ≤ 5 (**Lipinski et al., 2012**).

2.2.2 Filtres ADME-Tox

Dans les années 1990, de nombreux médicaments candidats ont échoué au stade clinique en raison de leur faible biodisponibilité et de leurs caractéristiques pharmacocinétiques. En réponse, le secteur du développement des médicaments a commencé à mettre en œuvre des évaluations ADME-Tox (absorption, distribution, métabolisme, élimination - toxicité) à un stade précoce de la phase de recherche et de développement. Les taux de réussite ont augmenté de manière significative avec cette évolution vers l'évaluation des caractéristiques ADME et de toxicité avant la sélection des médicaments potentiels. En conséquence, en l'espace de dix ans, le taux d'échec imputable à une pharmacocinétique médiocre ou à une biodisponibilité limitée est passé de 40% à moins de 10%. Récemment, la toxicité médiocre et le manque d'efficacité sont les principales causes d'interruption du développement d'un médicament (**Kola et Landis, 2004**).

2.3 Méthodes de criblage

2.3.1 Criblage virtuel « ligand-based »

Selon **Lagarde (2014)**, l'utilisation du criblage virtuel basé sur les ligands ou « ligand-based » peut être réalisée lorsque l'on connaît au moins un ligand de la cible étudiée. Les techniques basées sur les ligands reposent toutes sur l'idée centrale que les composés ayant des caractéristiques similaires ont généralement des profils d'activité similaires. On peut mesurer le degré de similarité des molécules entre elles en utilisant des caractéristiques communes comme indicateurs de similarité. Différentes méthodes, telles que la recherche de similarités, le criblage pharmacophore et les méthodes QSAR, peuvent être employées en fonction de la quantité de ligands de référence pour la cible et du type de descripteurs utilisés.

2.3.2 Criblage virtuel « structure-based »

Grâce à ces méthodes, il est possible de découvrir de nouvelles substances actives en se basant sur la structure de la cible. On peut utiliser les méthodes basées sur la structure pour le criblage virtuel lorsque l'on connaît la structure tridimensionnelle de la cible biologique d'intérêt. Les deux méthodes expérimentales utilisées pour évaluer la structure tridimensionnelle d'une cible sont la cristallographie aux rayons X et la résonance magnétique nucléaire (RMN). Une autre possibilité est la modélisation homologique lorsque la structure tridimensionnelle expérimentale n'est pas résolue (**Bencheikh, 2023**). Selon **Bencheikh (2023)**, Suite à l'identification de la structure de la cible thérapeutique, il est possible d'utiliser différentes méthodes basées sur la structure afin de déterminer les composés actifs. On retrouve principalement les techniques RD-QSAR et Docking, la création de modèles pharmacophores et la création de ligands de nouvelle génération. Le site de liaison de la cible thérapeutique doit être identifié avant d'utiliser l'une de ces techniques.

3. Rôle de la modélisation moléculaire dans l'industrie pharmaceutique

La modélisation moléculaire et le Docking moléculaire sont des outils puissants utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour la conception, l'optimisation et la découverte de nouveaux médicaments, contribuant ainsi à accélérer le processus de développement de médicaments et à améliorer les résultats thérapeutiques pour les patients. En effet, la modélisation moléculaire permet de prédire la structure tridimensionnelle des molécules, notamment des médicaments potentiels. En comprenant la structure des cibles biologiques telles que les protéines impliquées dans les maladies, les chercheurs peuvent concevoir des médicaments pour interagir de manière spécifique avec ces cibles. Également, les modèles moléculaires aident les chercheurs à comprendre comment les médicaments interagissent avec leurs cibles biologiques et comment ces interactions peuvent être améliorées pour augmenter l'efficacité et réduire les effets secondaires (**Meng, 2011**).

Le Docking moléculaire est utilisé aussi pour prédire comment une petite molécule candidate se lie à une cible biologique spécifique, généralement une protéine. Cela permet d'identifier des composés prometteurs qui pourraient devenir de nouveaux médicaments. En utilisant la modélisation moléculaire et le Docking moléculaire, les chercheurs peuvent rationaliser le processus de découverte de médicaments en réduisant le nombre de composés à tester expérimentalement, ce qui économise du temps et des ressources. Ces techniques aident les chercheurs à comprendre comment les médicaments agissent au niveau moléculaire, ce qui est crucial pour optimiser leur efficacité et minimiser les effets indésirables (**Adelusi, 2022**).

Chapitre IV : Matériel et méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au laboratoire de recherche des sciences de la vie de l'Université Ferhat Abbas Sétif 1. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles extraites de deux plantes médicinales (*Eucalyptus globulus* et *Pinus pinaster*), choisies pour leur caractère médicinal.

Les huiles essentielles testées durant notre étude sont issues du commerce.

1. Détermination de l'activité antibactérienne

1.1 Activation des micro-organismes et Préparation de l'inoculum

Afin de déterminer l'activité antimicrobienne de nos huiles essentielles, trois souches de bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 7839, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883) et une souche Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 29523), sont régénérées dans l'eau physiologique. La densité des suspensions bactériennes a été mesurée à l'aide d'un Densitomètre (0.5 Mac Farland) pour chaque suspension. L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage selon les recommandations du CA-SFM (2012), en suivant les étapes suivantes :

- Couler préalablement le milieu MH (4 mm d'épaisseur) dans la boîte de Pétri, laisser la gélose se solidifiée.
- Trempez un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et imbibe-le.
- Retirez l'écouvillon du tube en l'essorant doucement sur la paroi du tube.
- Ensemencer la gélose en frottant l'écouvillon sur sa surface et retourner 3 fois de 60° la boîte pour assurer une bonne répartition de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes de pétri pendant 15 à 20 min.

Après l'ensemencement dans la gélose Muller-Hinton (boîte pétri) par écouvillonnage, la charge bactérienne a été incubée à 37°C pendant 24 h

1.2 Préparation des puits

Pour tester l'activité antibiotique des extraits, on a préparé des suspensions à partir des cultures jeunes des bactéries cibles dans l'eau physiologique (0.9% NaCl), et utilisées les pour l'inoculation de la gélose Muller-Hinton par écouvillonnage. Ensuite, des puits (6 mm de diamètre) est créés dans la gélose au centre de la boîte pétri par une pipette pasteur stériles,

chaque puits a été rempli par 100 µl de l'huile essentielle. Après, les boîtes ont été incubées pendant 2 h à température ambiante, puis à 37°C pendant 24 h. Après l'incubation, les cultures ont été examinées pour l'apparition des zones claires autour des puits.

1.3 Réalisation de l'aromatogramme

L'aromatogramme est un test de mesure *in vitro* qui permet d'analyser l'activité antibactérienne des huiles essentielles et plus précisément de sélectionner les huiles essentielles qui inhibent les bactéries pathogènes.

1.4 Lecture de l'antibiogramme

Après l'incubation, la lecture a été effectuée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition formées autour des disques à l'aide d'une règle. Trois essais ont été réalisés pour chaque test d'huile essentielle et le résultat est la moyenne des trois essais.

2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La CMI est définie comme la concentration minimale d'une huile essentielle Inhibe 90% de la croissance microbienne (**Skandamis et Nychas, 2001**). La technique de Multi-well diffusion été utilisée pour déterminer la CMI (**Benjlali et al., 1987**). Des boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton (MH) sont inoculées avec des suspensions standardisées de bactéries cibles (*Escherichia coli* ATCC 7839, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29523) par écouvillonnage. Ensuite, sur l'axe de la boîte de Pétri, des puits (6 mm) sont créés à l'aide d'une pipette Pasteur. Chaque puits est ensuite rempli avec 50 µl de l'extrait à tester. Les boîtes sont pré-incubées à température ambiante pendant 2 heures, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. La CMI est définie comme la plus faible concentration de l'extrait qui produit une zone d'inhibition de la croissance des bactéries testées autour du puits correspondant.

3. Méthode de Docking moléculaire utilisée

Dans cette étude, nous avons sélectionné deux protéines de liaison à la pénicilline : Penicillin Binding Protein-1 (PBP1) et Penicillin Binding Protein-2 (PBP2) présentes chez la plupart des bactéries qui sont également les principales cibles des antibiotiques. L'inhibition des PBPs entraîne des défauts dans la structure de la paroi cellulaire et les lésions conduisant à la mort et la lyse cellulaires (Miyachiro et *al.*, 2020).

3.1 Préparation des protéines

Les PDB des deux structures cristallines 3D des protéines cibles sélectionnée ont été téléchargés à partir de la RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) : PBP1 de *S. aureus* (PDB ID : 7O4B) et PBP2 d'*E. coli* (PDB ID : 6G9S), avec des résolutions de 2,59 et 2,00 Å, respectivement.

Tableau 7 : PDB de protéines sélectionnées et leurs caractéristiques.

Protéine	Espèce	Code PDB	Code de l'inhibiteur	Résolution (Å)	Nombre des chaines	Nombre d'acides aminés
(PBP1)	<i>S. aureus</i>	7O4B	PNM	2,59	2 (A, B)	650
(PBP2)	<i>E. coli</i>	6G9S	ET5	2.00	1 (A)	582

En utilisant le programme Discovery Studio 2024 nous avons enlevé les hétéroatomes (molécules d'eau et les différents ligands) ainsi que la chaîne en double, afin de faciliter l'amarrage moléculaire. Ensuite, la protéine préparée a été exportée sous format de fichier PDB.

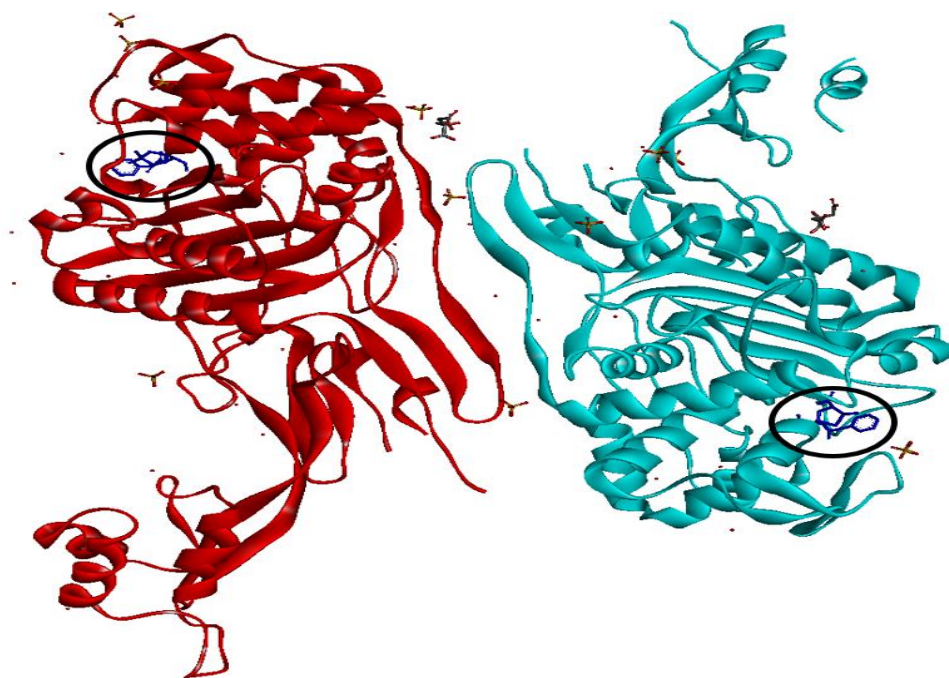


Figure 18 : Structure 3D de la **PBP1** d'*E. coli* en complexe avec PNM (Code PDB : 7O4B).



Figure 19 : Structure 3D de la **PBP2** de *S. aureus* en complexe avec ET5 (Code PDB : 6G9S).

3.2 Préparation du ligand

Les ligands ont été téléchargés à partir des bases de données Pubchem et Zinc, sauvegardés en tant que SDF, pour optimiser automatiquement les ligands en utilisant le logiciel Avogadro. La fonction de ce dernier est de réguler les mouvements du ligand en établissant les atomes aromatiques, les liaisons flexibles et les angles de torsion. Avant d'être utilisée, la molécule finale est enregistrée au format PDBQT. Cette étape a été effectuée en respectant ces consignes. Les structures sont illustrées dans l'annexe 1.

3.3 Préparation du site actif (Grinde)

Lors de la mise en place de Docking moléculaire, les récepteurs 7O4B et 6G9S sont plongés dans une grille tridimensionnelle qui englobe largement leur site actif, ce qui permet à leur ligand de se déplacer librement dans ce site. Le centre de cette boîte est déterminé par les coordonnées X, Y et Z. Les dimensions de la boîte se concentrent donc sur le ligand et sont en relation avec la taille de tous les ligands étudiés. Cette étape par logiciel AutoDockTools-1.5.6 a été réalisée en suivant ces instructions :

Tableau 8 : La boîte GRID BOX des enzymes.

Récepteur	Centre X (Å)	Centres Y (Å)	Centre Z (Å)
7O4B	17,764	4,383	63,465
6G9S	7,166	39,145	44,575

3.4 Déroulement du Docking

Les mécanismes d'interaction entre les biomolécules et les protéines cibles ont été évalués à l'aide de simulations de Docking avec le logiciel intégrale AMDock v1.5.2 sous Autodock Vina (**Valdés-Tresanco et al., 2020**), où le pH de la protéine a été fixé à 7,4. Le logiciel a généré 10 poses pour chaque ligand et la sélection de la meilleure pose a été effectuée en fonction de l'énergie de liaison minimale entre le ligand et la protéine cible.

Les prédictions des modes de liaison des structures testées ont été comparées avec les antibiotiques de référence utilisés dans la partie *in vitro*.

3.5 Analyse et visualisation des résultats

Les résultats de docking obtenus sont enregistrés dans un fichier de format DLG (Docking LoG file). Ce document comprend les 10 meilleures configurations simulées de chaque ligand étudié dans le site actif de l'enzyme, leurs énergies d'interaction en kcal/mol (leurs scores) et leurs constantes d'inhibition (K_i) en nM. Les diagrammes d'interaction Protéine-ligand en 2D ont été réalisés à l'aide de Discovery Studio 2024 Visualizer. Ce logiciel a été utilisé également pour visualiser les poses de Docking en 3D.

3.6 Analyses drug-likeness et ADMET

Le serveur en ligne SwissADME (**Daina et al., 2017**), a été utilisé pour obtenir les paramètres computationnels de similarité médicamenteuse (drug-likeness), pharmacocinétique et toxicologique des biomolécules testées. Ces paramètres prédits incluent le nombre de liaisons rotatives, le score de biodisponibilité, la surface polaire (TPSA), la solubilité dans l'eau, la lipophilicité, le niveau de solubilité, l'absorption gastro-intestinale (GI), la pénétration de la barrière hémato-encéphalique (BBB), la perméation cutanée, la prédiction de substrat de la P-glycoprotéine (P-gp) et l'inhibition des enzymes cytochrome P450. De plus, des analyses de similarité médicamenteuse ont été effectuées en utilisant les filtres de Lipinski. Le serveur web ProTOXIII (<https://tox.charite.de/protox3/>) a été utilisé pour calculer les valeurs de doses LD50, les classes de toxicité, et pour prédire l'hépatotoxicité, la cancérogénicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité et la cytotoxicité des composés (**Banerjee et al., 2018**).

Chapitre V : Résultats et discussion

1. Résultats de l'activité antibactérienne

1.1 Antibiotogramme de référence

L'antibiogramme est un test qui permet de déterminer la sensibilité des bactéries à divers antibiotiques. Les résultats sont exprimés en termes de diamètre de la zone d'inhibition, qui indique la capacité de l'antibiotique à inhiber la croissance bactérienne.

Les résultats obtenus (figure 20) des deux antibiotiques de référence indiquent que l'amoxicilline (AMX120) est efficace contre *S. typhimurium* (24 mm) et *S. aureus* (21 mm), montrant des zones d'inhibition assez larges, tandis que contre *E. coli* (16 mm), l'efficacité était moyenne. D'autre part, *K. pneumoniae* montre une résistance complète (0 mm), ce qui signifie que l'amoxicilline n'est pas efficace contre cette bactérie.

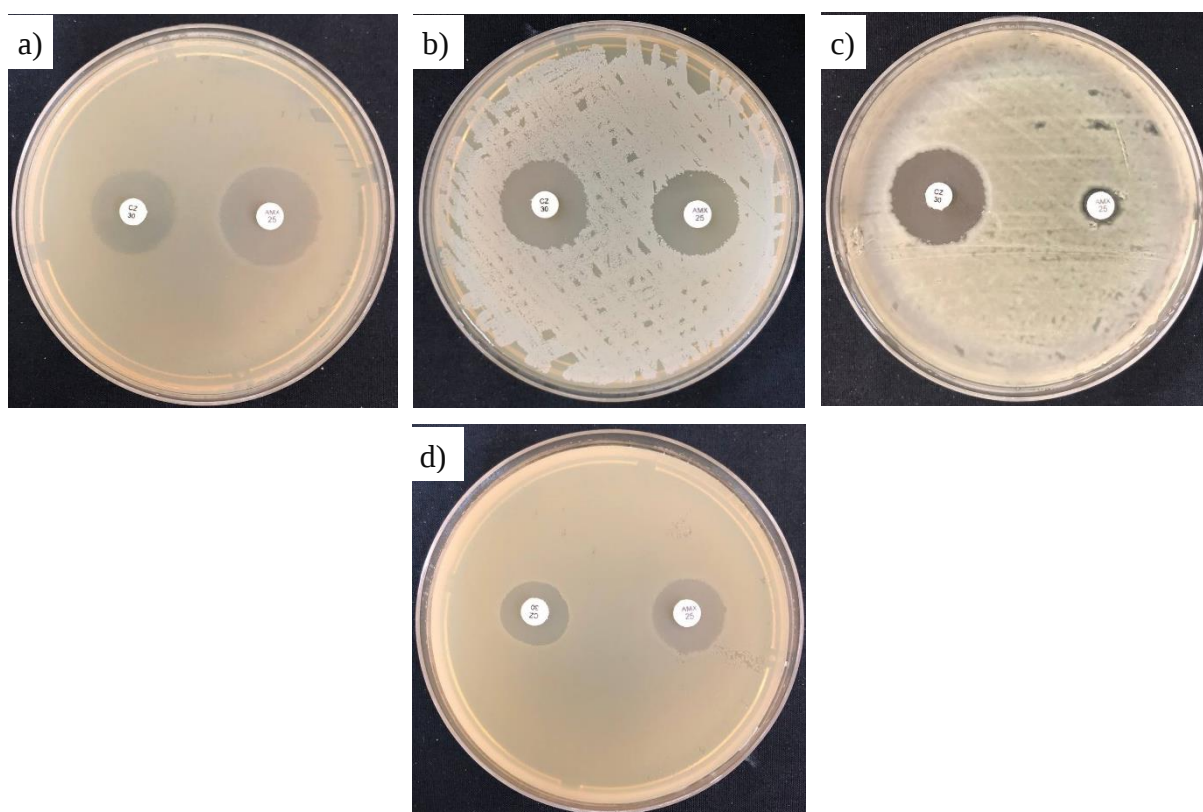


Figure 20 : Antibiotogramme de référence de la Céfazoline (gauche) et l'amoxicilline (droite)

a) *S. typhimurium*, b) *S. aureus* c) *K. pneumoniae*, d) *E. coli*.

En ce qui concerne la Céfazoline (CZ 30), les résultats montrent une efficacité contre *S. typhimurium* (21 mm), *S. aureus* (20 mm), et particulièrement contre *K. pneumoniae* (23 mm). Contre *E. coli* (15 mm), l'efficacité est comparable à celle de l'amoxicilline.

1.2 L'aromatogramme de *Pinus pinaster*

L'aromatogramme est une technique similaire à l'antibiogramme, mais elle utilise des huiles essentielles pour tester la sensibilité des bactéries.

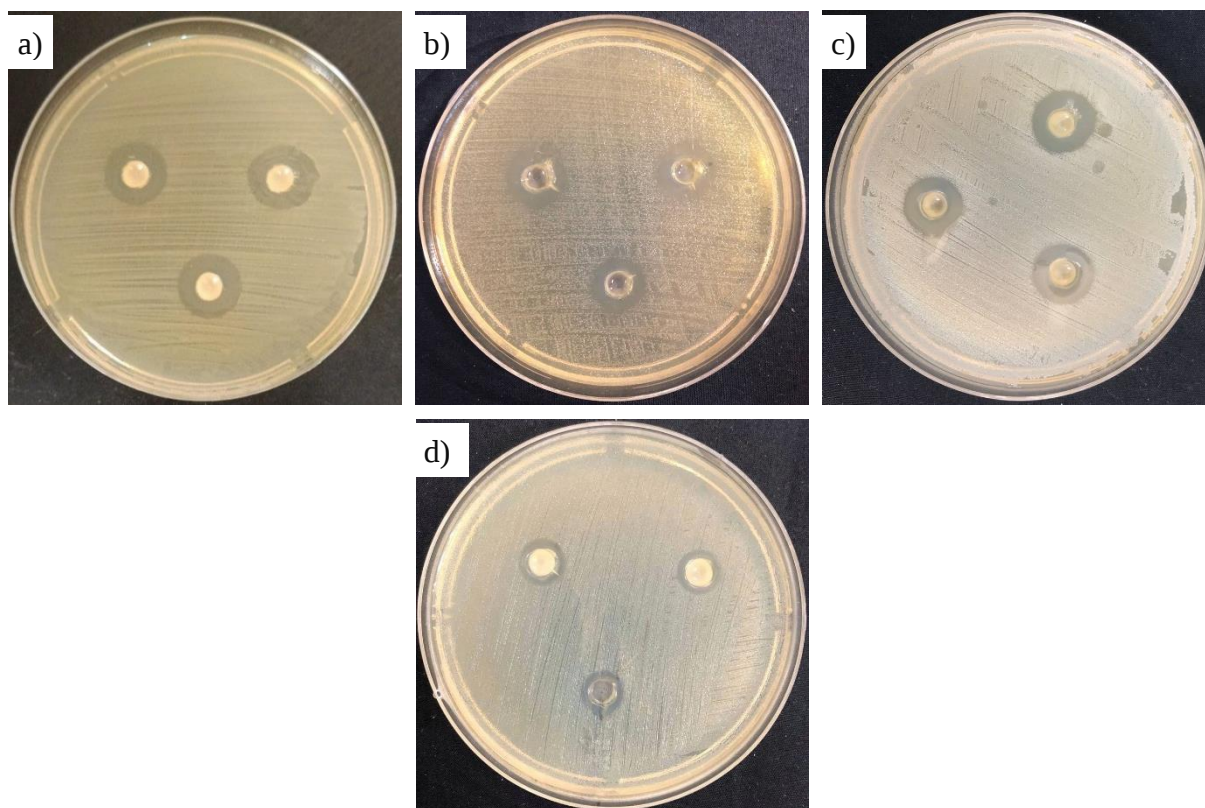


Figure 21 : L'aromatogramme de *Pinus pinaster* contre les souches bactériennes testées. a) *S. typhimurium*, b) *S. aureus*, c) *K. pneumoniae*, d) *E. coli*.

Les résultats obtenus de l'aromatogramme de *Pinus pinaster* contre *S. typhimurium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *E. coli* sont affichés sur la figure 21 et le tableau 9.

Tableau 9 : Activité antibactérienne (mm) de l'huile essentielle de *P. pinaster*.

		<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
Réf	AMX120	24 ±	21 ±	-	16 ±
	CZ 30	21 ±	20 ±	23 ±	15 ±
<i>P. pinaster</i>		15	14	13	10
		15	16	14	11
		14,5	14	14	11,5
Moyenne ± ET		14,83 ± 0,29	14,67 ± 1,15	13,67 ± 0,58	10,83 ± 0,76

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *P. pinaster* a une activité antimicrobienne contre toutes les bactéries testées enregistrant des zones d'inhibition de 15 mm contre *S. typhimurium*, 15 mm contre *S. aureus*, 14 mm contre *K. pneumoniae* et de 11 mm contre *E. coli*. Cette activité est relativement modeste par rapport aux antibiotiques conventionnels.

1.3 L'aromatogramme de l'*Eucalyptus globulus*

Les résultats obtenus de l'aromatogramme de l'*E. globulus* contre *S. typhimurium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *E. coli* sont affichés sur la figure 22 et le tableau 10.

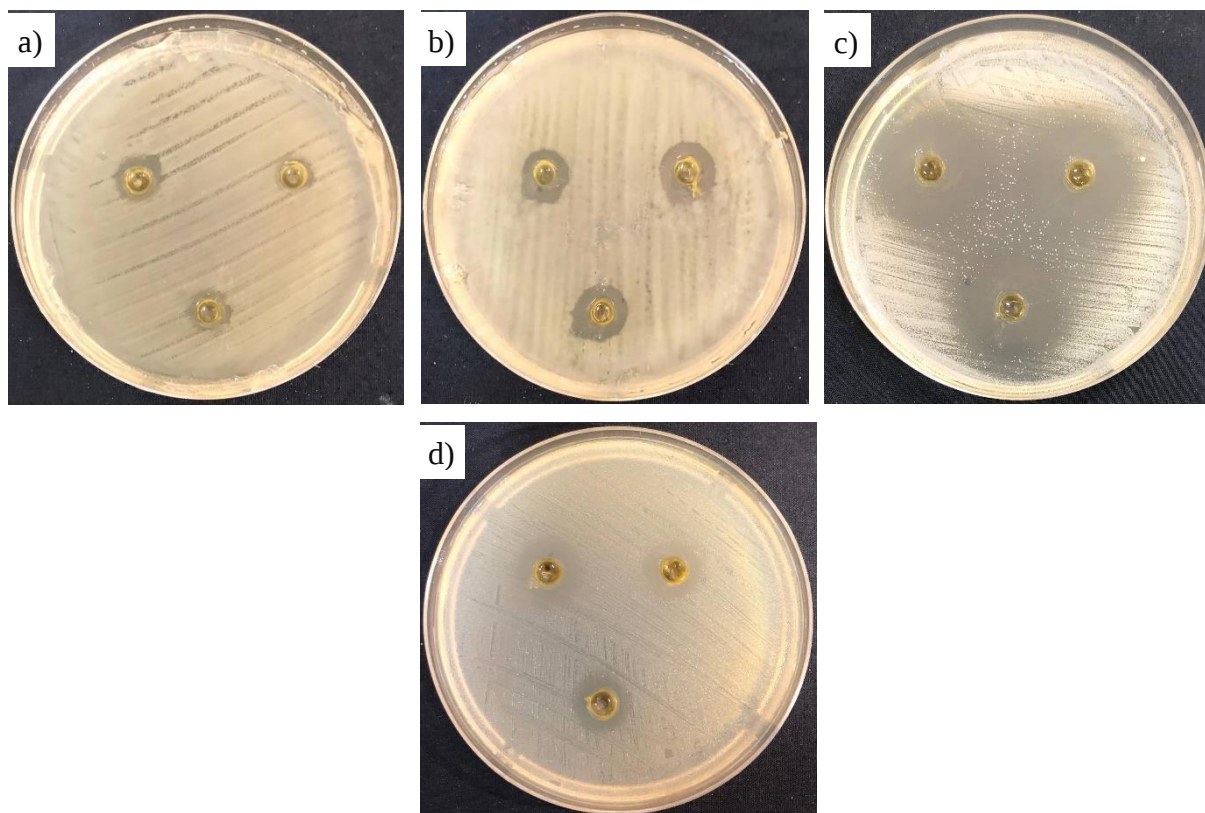


Figure 22 : L'aromatogramme de l'*E. globulus* contre les souches bactériennes testées.

a) *S. typhimurium*, b) *S. aureus*, c) *K. pneumoniae*, d) *E. coli*.

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que l'huile essentielle d'*E. globulus* a une activité antimicrobienne variable selon les bactéries testées. La zone d'inhibition de 11 mm indique une faible efficacité de l'huile contre *S. typhimurium*. En revanche, les zones d'inhibition de 14 et 15 mm indiquent une efficacité modérée contre *K. pneumoniae* et *E. coli*.

L'huile de l'*E. globulus* a exercé une zone d'inhibition contre *S. aureus* de 24 mm, montrant une très bonne efficacité, ce qui indique une forte activité antibactérienne.

Tableau 10 : Activité antibactérienne (mm) de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus*.

		<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
Réf	AMX120	24 ±	21 ±	-	16 ±
	CZ 30	21 ±	20 ±	23 ±	15 ±
<i>E. globulus</i>		9,5	23	13	16
		12	23	14	14
		11	25	14	16
Moyenne ± ET		10,83 ± 1,26	23,67 ± 1,15	13,67 ± 0,58	15,33 ± 1,15

1.4 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'un agent antimicrobien (antibiotique, antifongique, antiviral, etc.) nécessaire pour inhiber visiblement la croissance d'un microorganisme après un temps d'incubation prédéterminé. Elle est exprimée en microgrammes par millilitre ($\mu\text{g/mL}$) ou en milligrammes par litre (mg/mL).

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques de référence et des huiles essentielles testées sont affichés sur la figure 23.

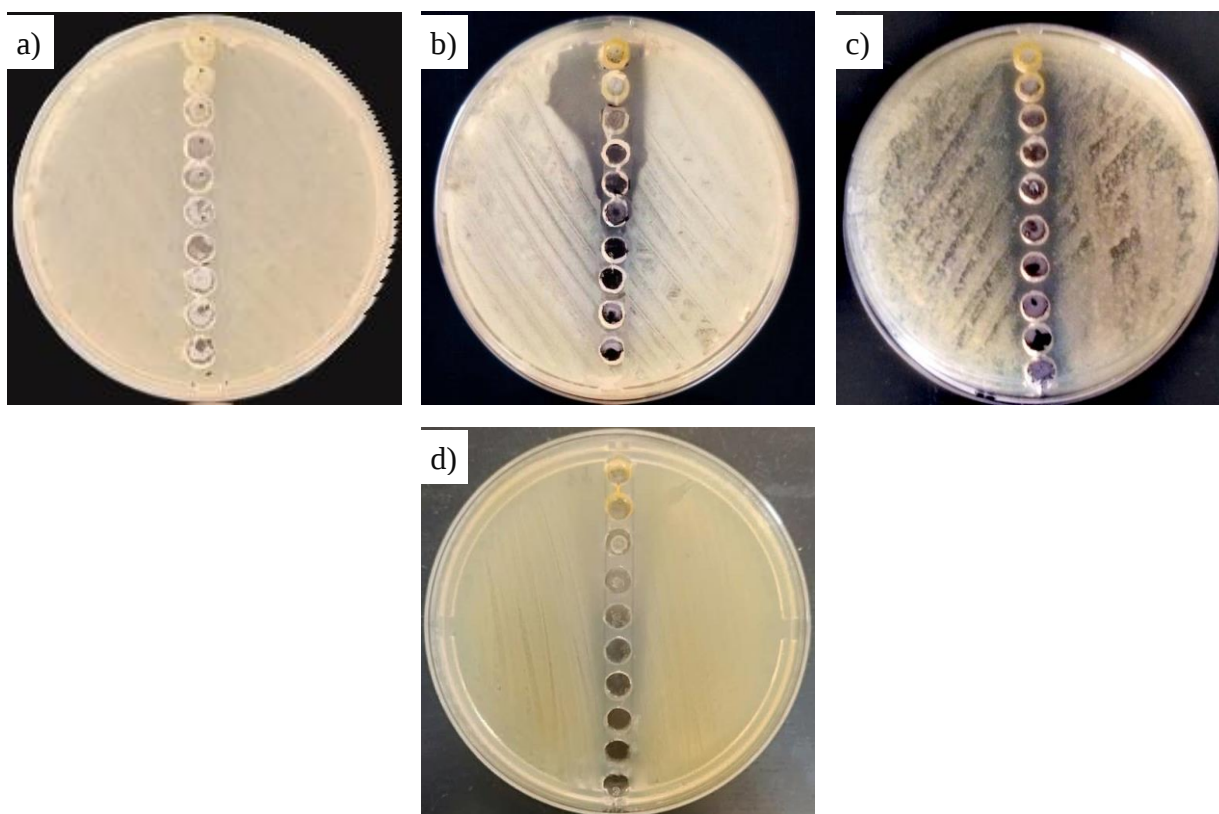


Figure 23 : La concentration minimale inhibitrice de l'*E. globulus* contre les souches bactériennes testées. a) *S. typhimurium*, b) *S. aureus*, c) *K. pneumoniae*, d) *E. coli*

Les résultats sur le tableau 11 montrent de la CMI de l'huile essentielle de l'*E. globulus*, des valeurs très réduites de CMI sont obtenues par la méthode de Multi Well Diffusion Assay contre *E. coli*, *K. pneumoniae* (3,52 et 1,76 mg/mL respectivement). Il apparaît que *S. aureus* exige une dose plus forte (28,16 mg/mL).

Tableau 11 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) (mg/mL).

	AMX120	CZ 30	<i>P. pinaster</i>	<i>E. globulus</i>
<i>E.coli</i>	0.004	1,0 à 4,0	-	3,52
<i>S. aureus</i>	0.001	0,25 à 1,0	-	28,16
<i>K. pneumoniae</i>	0.028	0.004	-	1,76
<i>S. typhimurium</i>	0.002	0.001 à 0.064	-	-

2. Résultats de Dockings moléculaires

2.1 Validation de la méthode de Docking par le test RMSD

La Root Mean Square Deviation (RMSD), ou Déviation Quadratique Moyenne, est une mesure essentielle en bio-informatique, notamment dans le contexte du Docking moléculaire. Elle permet d'évaluer la similitude structurale entre deux configurations de molécules, souvent entre une structure expérimentale de référence et une structure prédite ou entre différentes conformations de la même molécule (Yusuf et al., 2008).

Dans notre étude, les valeurs de la RMSD entre les positions des ligands redockés et les ligands natifs étaient de **0.403 Å** pour 7O4B et de **1,524 Å** pour 6G9S. Ces deux valeurs sont inférieures à la valeur limite admissible fixée à 2 Å, ce qui indique que nos paramètres de Docking sont fiables et notre modèle ressemble étroitement à la structure expérimentale.

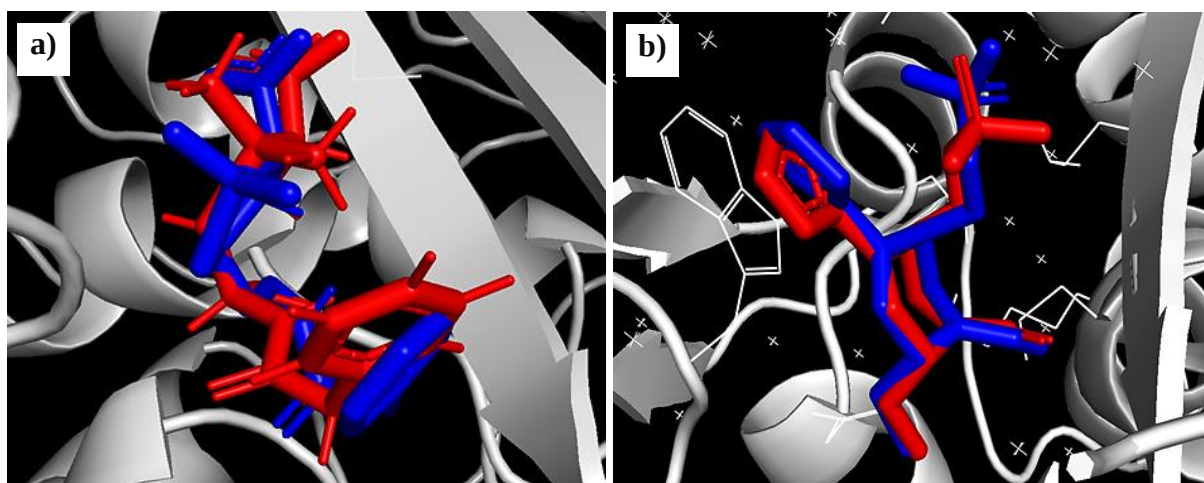


Figure 24 : Superposition des ligands redockés (en rouge) et des ligands natifs (en bleu).
(a) PBP1 de *S. aureus* (7O4B), (b) PBP2 d'*E. coli* (6G9S).

La figure montre une bonne superposition la pose simulée par l'Autodock Vina (colorées en rouge) et celles du ligand natif (colorées en bleu), Ce qui confirme la performance du logiciel choisi et la fiabilité de la méthode adoptée.

2.2 Analyse des énergies de liaison (ΔG)

L'énergie d'interaction (ΔG) représentent la variation d'énergie libre lors de l'interaction entre les composés (ligands) et la protéine cible. Elle vise à évaluer la liaison potentielle entre le ligand et le récepteur en utilisant des fonctions d'énergie et des algorithmes pour mesurer quantitativement l'affinité (binding affinity) entre les deux molécules (Li et al., 2021).

2.3 Composés de *Pinus pinaster*

Les résultats obtenus du Docking moléculaire de chaque composé de *P. pinaster* avec la PBP1 de *S. aureus* (7O4B) et la PBP2 d'*E. coli* (6g9s) sont affichés sur le tableau 12.

Tableau 12 : Energies de liaison des composés de *Pinus pinaster* avec PBP1 (7o4b) et PBP2(6g9s).

Composé		PBP1 de <i>S. aureus</i> (7o4b)		PBP2 d' <i>E. coli</i> (6g9s)	
		Énergie de liaison (kcal/mol)	Constante d'inhibition (μM)	Énergie de liaison (kcal/mol)	Constante d'inhibition (μM)
Réf	Amoxicillin	-8	1,37	-7,5	3,18
	Cefazolin	-8,9	299,41	-8	1,37
α-Pinène		-4,9	2600	-4,7	3600
Camphène		-4,8	3000	-4,6	4200
β-Pinène		-4,9	2600	-4,7	2600
Myrcène		-4,6	4200	-4,5	5000
α-Phéllandréne		-4,7	3600	-4,5	5000
Δ-3-Carène		-5,4	1100	-5,1	1800
α-terpinène		-5,1	1800	-5,1	1800
Limonène		-4,9	2600	-4,5	5000
δ-Terpinène		-5,4	1100	-5,3	1300
Terpinolène		-5,2	1500	-5,1	1800
cis-β-Terpineol		-5,5	93,00	-5,5	93.00
α-Terpineol		-5,3	1300	-5	2200
α-Terpinen-7-al		-9,5	180,45	-7,3	4,46
α-terpinyle Acétate		-6,4	20,36	-6,1	33,78
α-Longipinène		-6,6	14,53	-5,7	66,36
Longicyclène		-6,5	17,20	-5,8	56,05
β-Longipinène		-6,1	33,78	-5,7	66,36
Longifollène		-6,8	10,37	-5,9	47,35
Caryophyllène		-6,4	20,36	-5,7	33,36
Oxyde de caryophyllène		-6,5	17,20	-6,8	10,37

2.3.1 Docking avec la PBP1 de *S. aureus* (7O4B) :

En analysant les résultats des énergies d'interactions illustrées dans le Tableau 12, nous pouvons constater que les composés : α -Terpinen-7-al, Longifollène et α -Longipinène ont les plus faibles valeurs d'énergie d'interaction avec un ΔG de -9,5, -6,8 et -6,6 respectivement.

Ces valeurs indiquent une forte affinité pour la protéine cible ce qui est encourageant pour leur potentiel en tant qu'agents inhibiteurs de la PBP1.

D'autre part, le Myrcène et l' α -Phéllandrène affichent les plus élevés valeurs d'énergie d'interaction, par rapport aux autres, avec des ΔG de -4,6 et -4,7 respectivement. Ceci montre que ces complexes (ligand-protéine) sont les moins stables.

Nous remarquons que le composé α -Terpinen-7-al l'Energie de liaison la plus faible même par rapport aux ligands de référence. Il possède aussi la constante d'inhibition avec 180,45 μ M indiquant qu'il est très efficace pour inhiber l'activité de la protéine cible même à de faibles.

2.3.2 Docking avec la PBP2 d'*E. coli* (6G9S) :

En analysant les résultats des énergies d'interactions des composés de *Pinus punester* avec la PBP2 d'*E. coli* (Tableau 12), nous pouvons constater que les composés α -Terpinen-7-al et l'Oxyde de caryophyllène ont les plus faibles valeurs d'énergie de liaison, avec un ΔG de -7,3 et -6,8 respectivement. Ces valeurs indiquent une forte affinité pour la protéine cible, ce qui est encourageant pour leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de la PBP2.

D'autre part, le Myrcène, le Limonène et l' α -Phéllandrène affichent les valeurs d'énergie d'interaction les plus élevées, par rapport aux autres, avec des ΔG égaux à -4,5. Ceci montre que leurs complexes avec la protéine PBP2 sont les moins stables.

Nous remarquons que le composé α -Terpinen-7-al a l'énergie de liaison la plus faible, même par rapport au ligand de référence. Il possède aussi la constante d'inhibition le plus faible avec 4.46 μ M indiquant qu'il est très efficace pour inhiber l'activité de la protéine cible même à de faibles concentrations.

2.4 Composés d'*Eucalyptus globulus*

Les résultats obtenus du Docking moléculaire de chaque composé de l'*E. globulus* avec la PBP1 de *S. aureus* (7O4B) et la PBP2 d'*E. coli* (6g9s) sont affichés sur le tableau 13.

Tableau 13 : Energies de liaison des composés de l'*Eucalyptus globulus* avec PBP1 (7o4b) et PBP2(6g9s).

Composé		PBP1 de <i>S. aureus</i> (7o4b).		PBP2 d' <i>E. coli</i> (6g9s).	
		Énergie de liaison (kcal/mol)	Constante d'inhibition (μM)	Énergie de liaison (kcal/mol)	Constante d'inhibition (μM)
Réf	Amoxicillin	-8	1.37	-7.5	3.18
	Cefazolin	-8.9	299.41	-8	1.37
α-Pinène		-4.9	2600	-4.7	3600
1,8-Cineole		-5.2	1500	-4.8	3000
β-Pinène		-4.9	2600	-4.7	3600
Linalool		-4.9	2600	-4.9	2600
2-pinen-4-ol		-5.4	1100	-5.2	1500
4-Terpineol		-5.3	1300	-5.2	1500
P-Cymene		-5.3	1300	-5.4	1100
α-Terpineol		-5.6	78.56	-5.6	78.56
Carvacrol		-6.1	33.78	-5.9	47.35
Cuminal		-5.6	78.56	-5.6	78.56
E-Neral		-5	2200	-4.9	2600
Phellandral		-5.4	1100	-5.3	1300
d-Piperitone		-5.2	1500	-5.1	1800
Isoamyl isovalerate		-4.9	2600	-5	2200
β-Caryophyllene-oxide		-6.1	33.78	-5.9	47.35
Spathulenol		-6.4	20.36	-6.1	33.78
Globulol		-6.3	24.10	-6.3	24.10
Trans-Carveol		-5.5	93	-5.5	93
Eudesmol		-7	7.40	-6.6	14.53
2-pentanone-4-hydroxy-4- méthyl		-4.4	6000	-4.3	7000

2.4.1 Docking avec la PBP1 de *S. aureus* (7O4B) :

Après avoir examiné les résultats des énergies d'interactions présentées dans le tableau 13, il est évident que les composés Eudesmol, Spathulenol et Globulol présentent les valeurs d'énergie d'interaction les plus basses, avec un ΔG de -7, -6,4 et -6.3 kcal/mol respectivement. Ces valeurs indiquent une forte affinité pour la protéine cible ce qui est encourageant pour leur potentiel en tant qu'agents inhibiteurs de la PBP1. D'autre part, le 2-pentanone-4-hydroxy-4-méthyl affichent les plus élevés valeurs d'énergie d'interaction, par rapport aux autres, avec des ΔG de -4,4 kcal/mol. Ceci montre que ces complexes (ligand-protéine) sont les moins stables.

Nous remarquons que le composé Eudesmol l'énergie de liaison la plus faible même par rapport au ligand de référence. Il possède aussi la constante d'inhibition le plus faible avec 7.40 μM indiquant qu'il est très efficace pour inhiber l'activité de la protéine cible même à de faibles concentrations.

2.4.2 Docking avec la PBP2 d'*E. coli* (6G9S) :

En analysant les résultats des énergies d'interactions des composés d'*E. globulus* avec la PBP2 d'*E. coli* (Tableau 13), nous pouvons constater que les composés Eudesmol et Globulol ont les plus faibles valeurs d'énergie de liaison, avec un ΔG de -6,6 et -6,3 kcal/mol respectivement. Ces valeurs indiquent une forte affinité pour la protéine cible, ce qui est encourageant pour leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de la PBP2.

D'autre part, 2-pentanone-4-hydroxy-4-méthyl, α -Pinène et β -Pinène affichent les valeurs d'énergie d'interaction les plus élevées, par rapport aux autres, avec des ΔG égaux à -4,3 et -4,7 kcal/mol respectivement. Ceci montre que leurs complexes avec la protéine PBP2 sont les moins stables.

Nous remarquons que le composé Eudesmol a l'énergie de liaison la plus faible, même par rapport au ligand de référence. Il possède aussi la constante d'inhibition le plus faible avec 14,53 μM indiquant qu'il est très efficace pour inhiber l'activité de la protéine cible même à de faibles concentrations.

2.5 Analyse des interactions moléculaires

2.5.1 Interactions de l'Amoxicilline avec PBP1 (7o4b) :

Le docking moléculaire d'amoxicilline avec PBP1 (7o4b) entraîne une énergie d'interactions de -8,0 Kcal/mol. L'utilisation du programme Discovery Studio 2024 a été utilisée afin de visualiser et d'analyser le nombre et le type de liaisons qui composent le complexe Amoxicilline-PBP1 (7o4b) illustré dans la figure 25.

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre l'amoxicilline-PBP1 (7o4b) est stabilisé par sept liaisons hydrogène ASN370, LYS317, TYR566, THR516 (deux liaisons entre groupement amine primaire (NH₂) et atome de soufre (S)), SER368 (deux liaisons entre l'oxygène (O) de groupement carboxyle (COOH) et l'oxygène (O) de groupement hydroxyle (OH)). Le ligand est stabilisé aussi par trois liaisons hydrophobiques avec les résidus TRP351, TYR566 (deux liaisons entre atome de soufre (S) et groupement phényle).

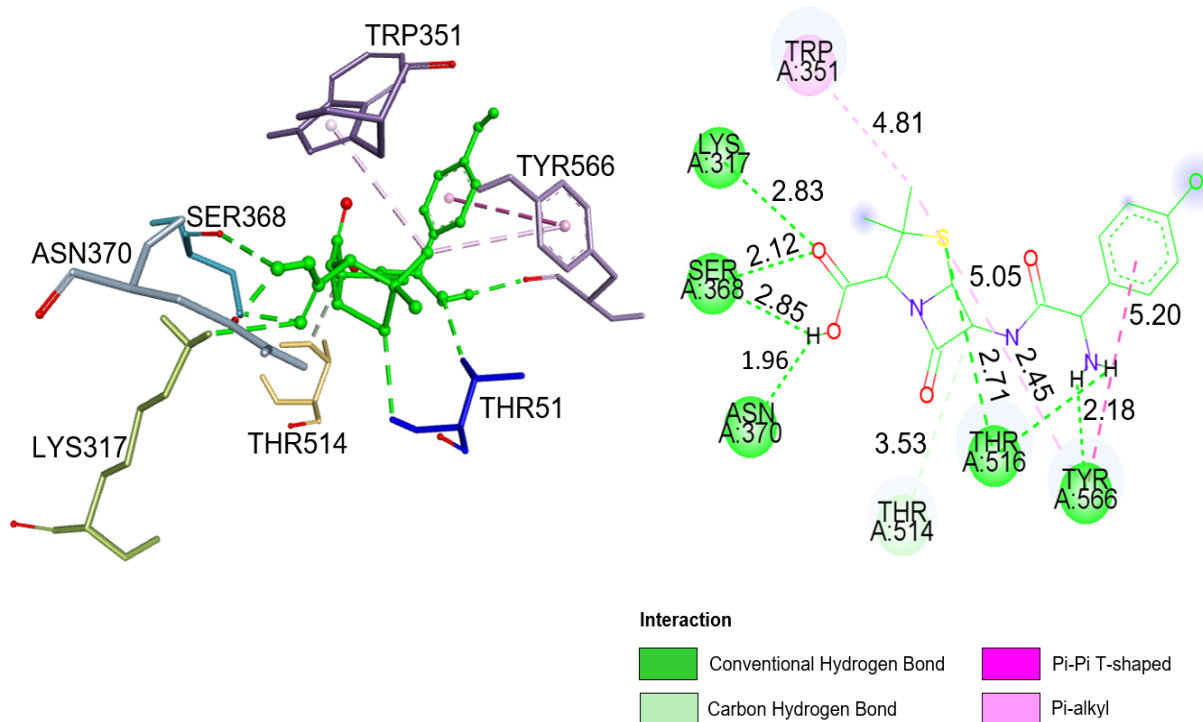


Figure 25 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre Amoxicilline et PBP1 (7o4b).

2.5.2 Interactions de la Cefazolin avec PBP1 (7o4b) :

Le Docking moléculaire du composé Cefazolin avec PBP1 (7o4b) entraîne une énergie d'interactions de -8.9 Kcal/mol. L'utilisation du programme Discovery Studio 2024 a été utilisée afin de visualiser et d'analyser le nombre et le type de liaisons qui composent le complexe Cefazolin-PBP1 (7o4b) illustré dans la figure 26.

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre la cefazolin-PBP1 (7o4b) est stabilisé par trois liaisons hydrogène SER368, LYS317 (liaisons entre l'oxygène (O) groupement carbonyle), GLN425 (liaisons entre l'azote (N) de cycle pyridazine). Le ligand est stabilisé aussi par trois liaisons hydrophobiques avec les résidus ALA500, VAL492, PHE423. La dernière liaison pi-soufre TYR466 entre atome de soufre (S).

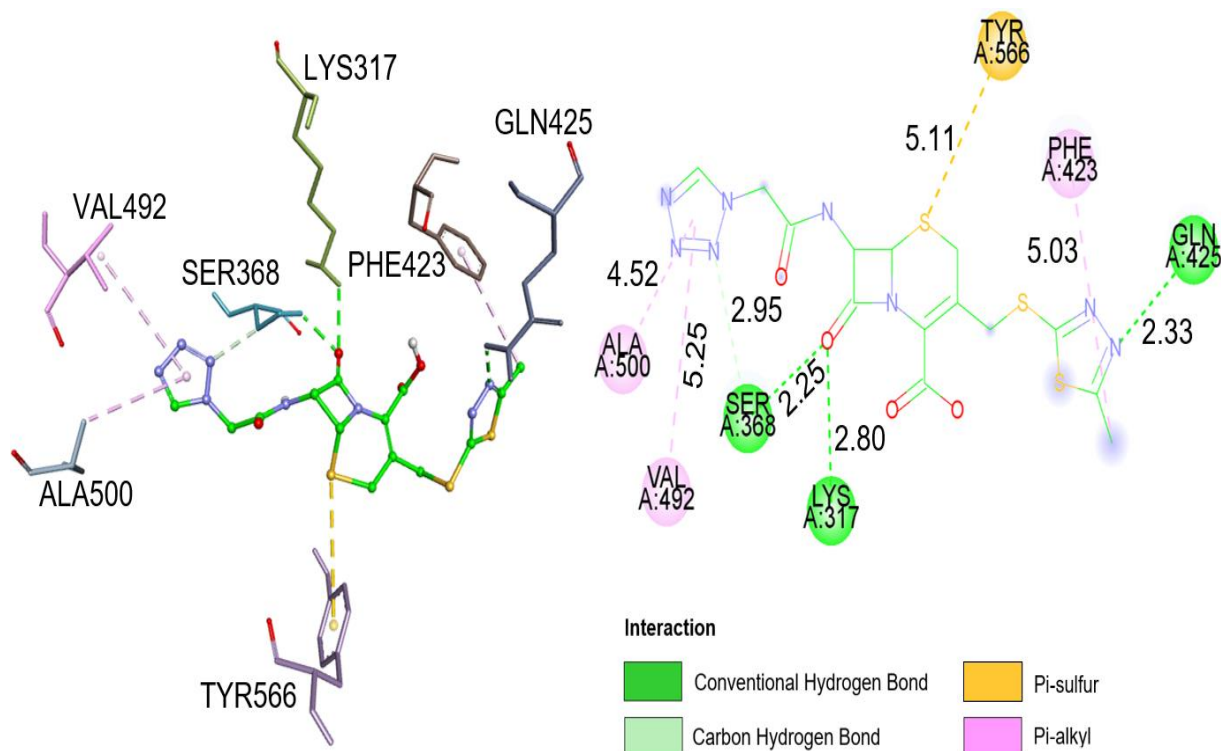


Figure 26 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Cefazolin la PBP1 (7o4b).

2.5.3 Interactions de l'Amoxicilline avec PBP2 (6g9s) :

Le Docking moléculaire d'amoxicilline avec PBP2 (6g9s) entraîne une énergie d'interactions de -7.5 Kcal/mol. L'utilisation du programme Discovery Studio 2024 a été utilisée afin de visualiser et d'analyser le nombre et le type de liaisons qui composent le complexe Amoxicillin-PBP2 (6g9s) illustré dans la figure 27.

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre la Amoxicillin-PBP2 (6g9s) est stabilisé par trois liaisons hydrogène SER330 (liaison entre groupement amine secondaire (NH)), LYS333, SER545 (liaison entre l'oxygène (O) de groupement carbonyle). Le ligand est stabilisé aussi par liaison hydrophobique avec les résidus TRP370 et la dernière liaison électrostatique avec les résidus ASP389 entre groupement phényle.

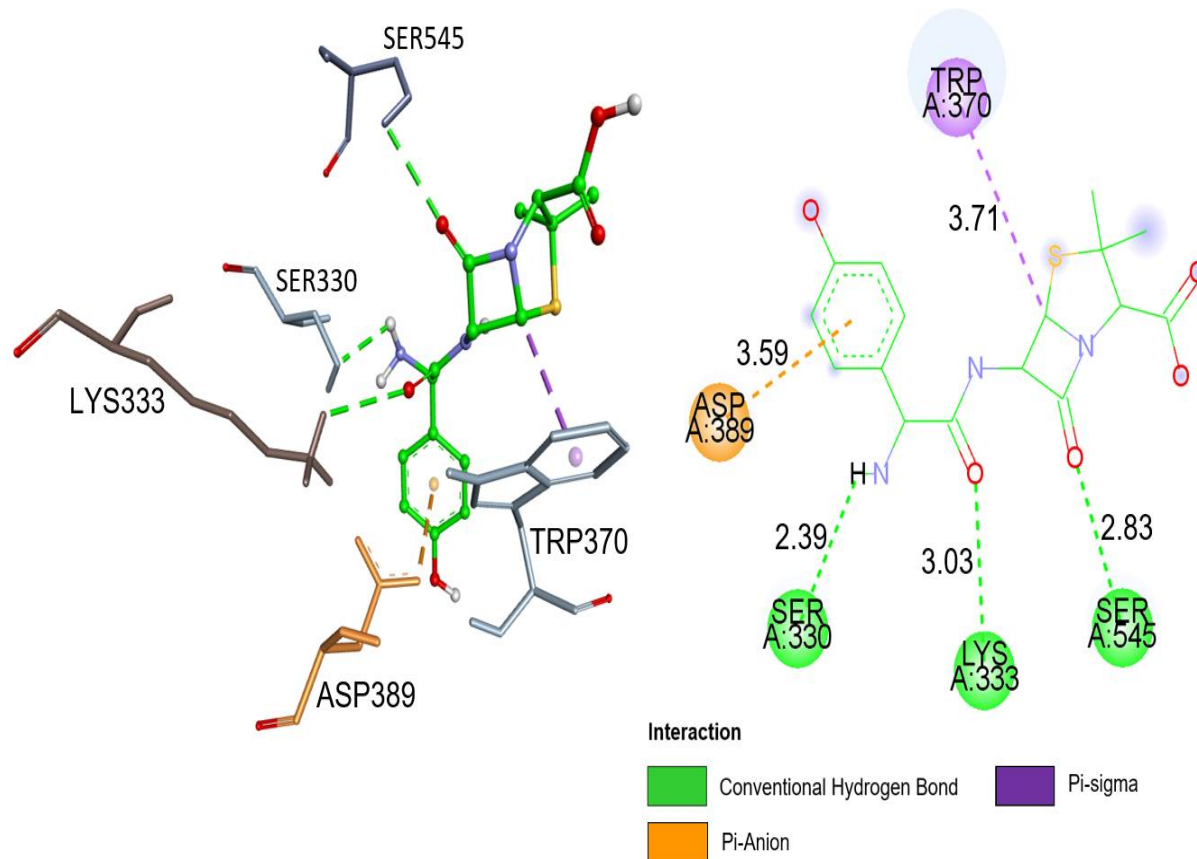


Figure 27 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Amoxicilline la PBP2 (6g9s).

2.5.4 Interactions de la Cefazolin avec PBP2 (6g9s) :

Le Docking moléculaire Cefazolin avec PBP2 (6g9s) entraîne une énergie d'interactions de -8 Kcal/mol. L'utilisation du programme Discovery Studio 2024 a été utilisée afin de visualiser et d'analyser le nombre et le type des liaisons qui composent le complexe Cefazolin-PBP2 (6g9s) illustré dans la figure 28. L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre la Cefazolin-PBP2 (6g9s) est stabilisé par trois liaisons hydrogène LYS333, THR547 (liaison entre l'oxygène (O) de groupement carbonyle), TYR533 (liaison entre l'azote (N) de cycle pyridazine).

Le ligand est stabilisé aussi par deux liaisons hydrophobiques avec les résidus ILE453, ALA329. Cette dernière liaison électrostatique avec les résidus LYS532 entre le cycle pyridazine.

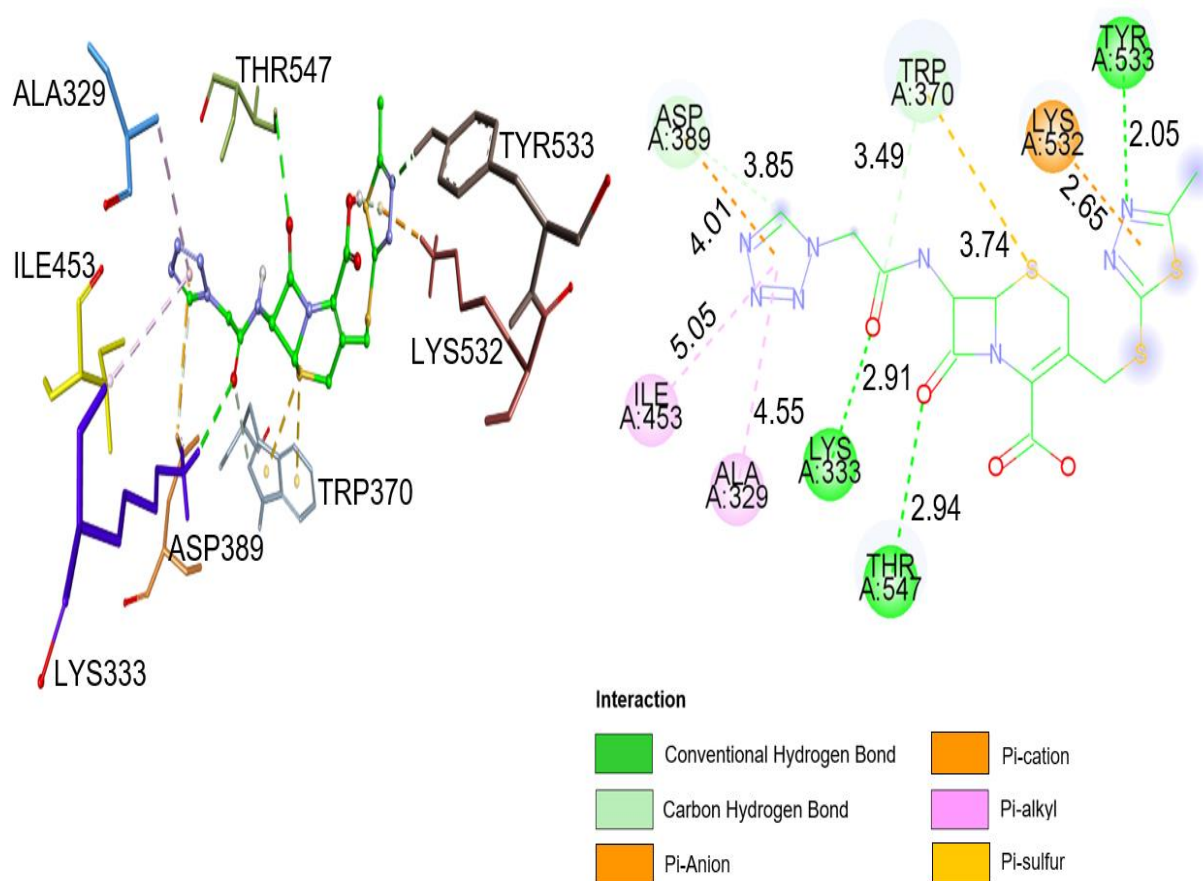


Figure 28 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Cefazolin la PBP2 (6g9s).

2.5.5 Interactions de α -Terpinen-7-al avec PBP1 (7o4b) :

À l'issue du test, le Docking moléculaire, nous avons sélectionné le composé α -Terpinen-7-al qui a révélé la meilleure énergie d'interactions de -9.5 kcal/mol parmi les 20 composés étudiés. Le logiciel Discovery Studio 2024 a été employé pour représenter et étudier le nombre et le type de liaisons qui constituent le complexe α -Terpinen-7-al-PBP1 (7o4b) présenté dans la figure 29.

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre la α -Terpinen-7-al-PBP1 (7o4b) est stabilisé par cinq liaisons hydrophobiques avec les résidus PHE423, TYR566, ILE348, TTYR543, TRP351.

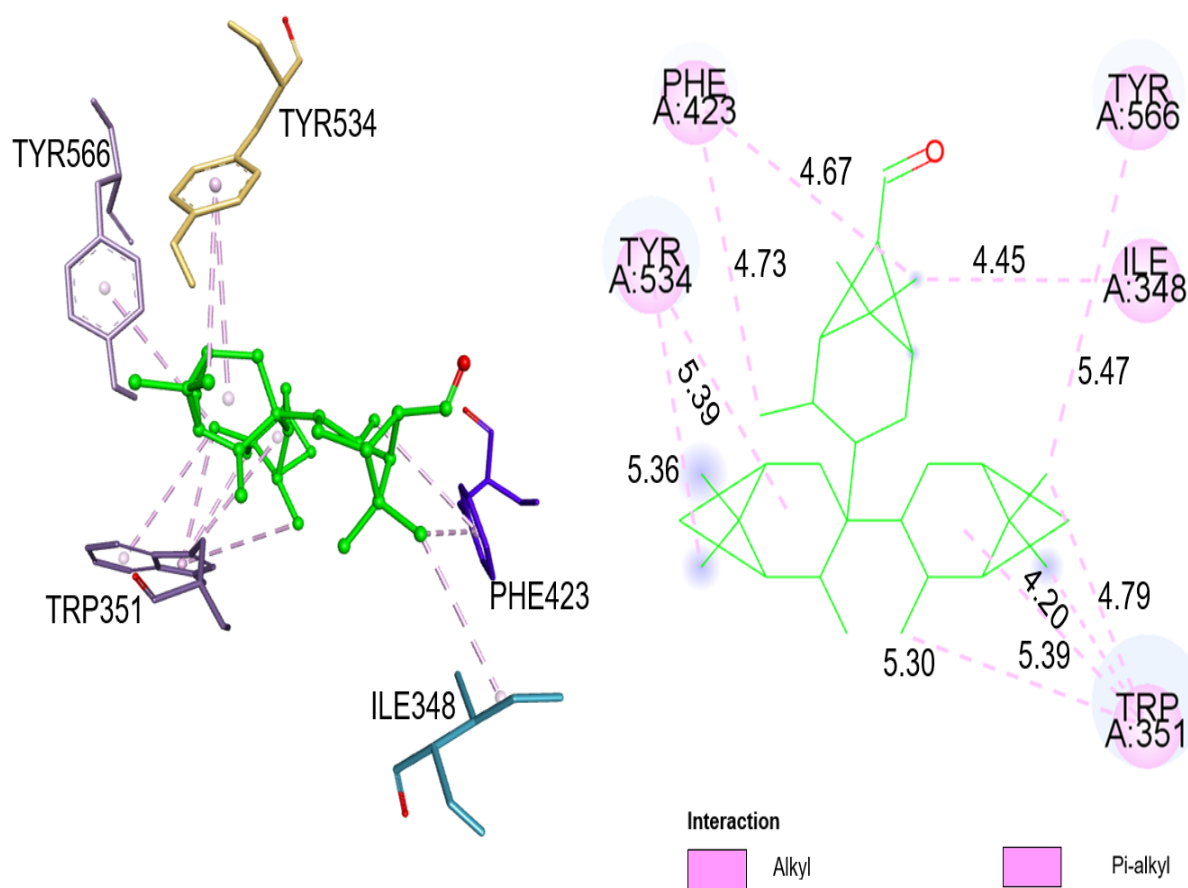


Figure 29 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand α -Terpinen-7-al et la PBP1 (7o4b).

2.5.6 Interactions de α -Terpinen-7-al avec PBP2 (6g9s) :

À l'issue du test, le Docking moléculaire, nous avons sélectionné le composé α -Terpinen-7-al qui a révélé la meilleure énergie d'interactions de -7.3 kcal/mol parmi les 20 composés étudiés. Le logiciel Discovery Studio 2024 a été employé pour représenter et étudier le nombre et le type de liaisons qui constituent le complexe α -Terpinen-7-al-PBP2 (6g9s) présenté dans la figure 30.

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre la α -Terpinen-7-al-PBP2 (6g9s) est stabilisé par trois liaisons hydrophobiques avec les résidus TYR533, TRP370, LYS572.

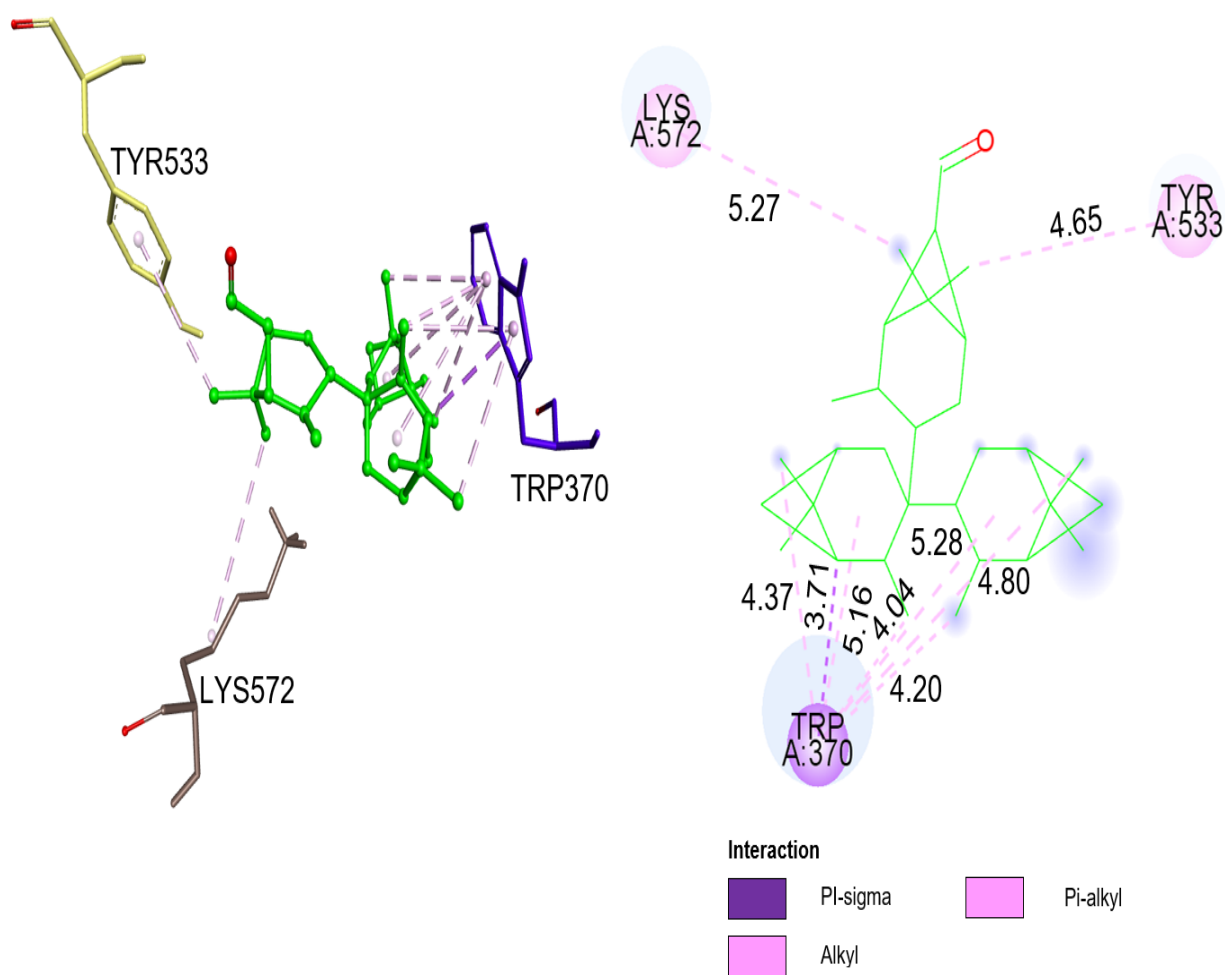


Figure 30 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand α -Terpinen-7-al et la PBP2 (6g9s).

2.5.7 Interactions de Eudesmol avec PBP1 (7o4b) :

À l'issue du test Le docking moléculaire, nous avons sélectionné le composé α -Terpinen-7-al qui a révélé la meilleure énergie d'interactions de -7 kcal/mol parmi les 20 composés étudiés. Le logiciel Discovery Studio 2024 a été employé pour représenter et étudier le nombre et le type de liaisons qui constituent le complexe Eudesmol-al-PBP1 (7o4b) présenté dans la figure 31.

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre la Eudesmol-al-PBP1 (7o4b) est stabilisé par une seule liaison hydrophobique avec les résidus TRP351. Le ligand est stabilisé aussi par deux liaisons hydrogène SER314 et ASN370 entre atome (H) de groupement hydroxyle (OH).

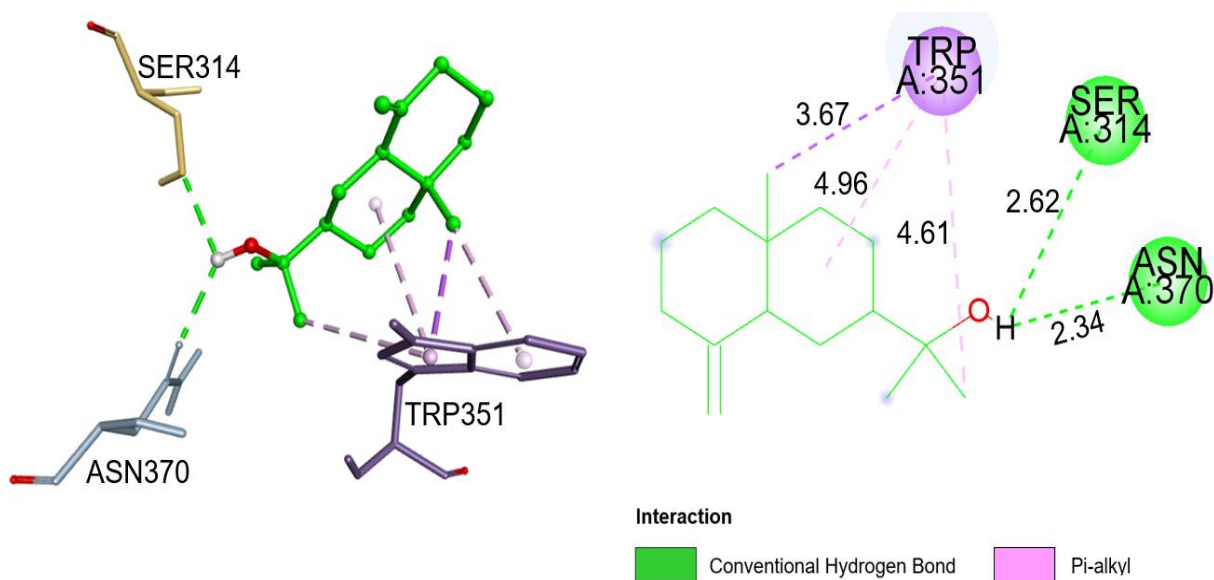


Figure 31 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Eudesmol et la PBP1.

2.5.8 Interactions de l'Eudesmol avec PBP2 (6g9s) :

À l'issue du test Le docking moléculaire, nous avons sélectionné le composé Eudesmol qui a révélé la meilleure énergie d'interactions de -6,6 kcal/mol parmi les 20 composés étudiés. Le logiciel Discovery Studio 2024 a été employé pour représenter et étudier le nombre et le type de liaisons qui constituent le complexe Eudesmol-al-PBP2 (6g9s) présenté dans la figure 32. L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre la Eudesmol-al-PBP2 (6g9s) est stabilisé par une seule liaison hydrophobique avec les résidus TRP370. Le ligand est stabilisé aussi par deux liaisons hydrogène SER330 entre atome l'oxygène (O) de groupement hydroxyle (OH) et THR547 entre atome (H) de groupement hydroxyle (OH).

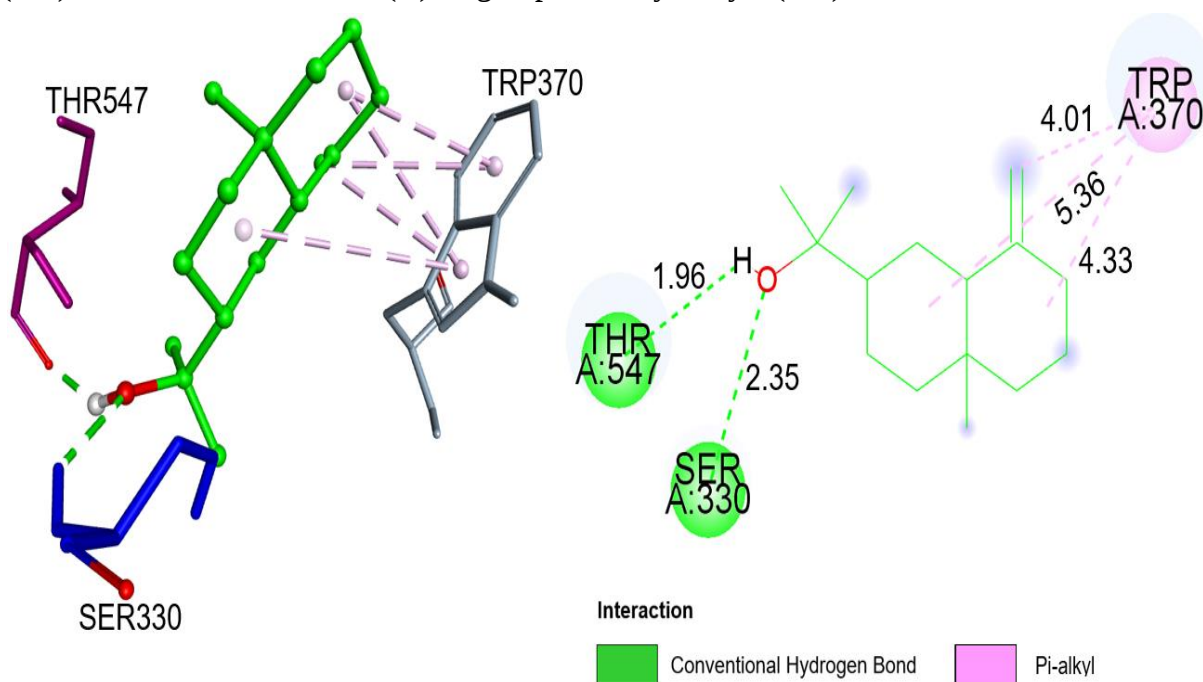


Figure 32 : Visualisation 2D et 3D des interactions entre le ligand Eudesmol et la PBP2.

2.6 Analyse de la Drug-likeness

L'analyse de la « Drug-likeness » (potentialité médicamenteuse) est cruciale dans le domaine de la conception de médicaments *in silico* et de la modélisation. En se basant sur des règles telles que la règle de Lipinski (Rule of Five), nous pouvons rapidement évaluer si un composé a des propriétés physico-chimiques favorables à une bonne biodisponibilité orale, comme le poids moléculaire, le nombre de donneurs et d'accepteurs de liaisons hydrogène, la lipophilie, etc.

2.6.1 Druglikeness des composés de *Pinus pinaster* :

En analysant les résultats obtenus, nous remarquons que 50% des composés de *P. pinaster* étudiés (Myrcène, α -Phéllandrène, α -terpinène, Limonène, δ -Terpinène, Terpinolène, cis- β -Terpineol, α -Terpineol, acétate terpinyle, et l'Oxyde de caryophyllène) répondent aux critères de la règle de Lipinski. Les autres molécules ont répondu à toutes les règles, sauf Log Po/w (MLOGP) qui étaient supérieures à 4.15. Cette forte lipophilie ($\log P > 4.15$) peut poser des défis en termes de biodisponibilité orale, de distribution dans l'organisme et de potentiel de toxicité. Il serait donc nécessaire de procéder à des études supplémentaires pour évaluer ses propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques plus en détail.

2.6.2 Druglikeness des composés de *Eucalyptus globulus* :

En examinant les résultats obtenus, nous remarquons que 50% des composés de *E. globulus* étudiés (1,8-Cineole, Linalool, 2-pinen-4-ol, 4-Terpineol, p-Cymene, α -Terpineol, Carvacrol, Cuminal, E-Neral, Phellandral, d-Piperitone, Isoamyl isovalerate, Spathulenol, Globulol, trans-Carveol, Eudesmol et 2-pentanone-4-hydroxy-4-méthyl) répondent aux critères de la règle de Lipinski. Les autres molécules ont répondu à toutes les règles, sauf Log Po/w (MLOGP) qui étaient supérieures à 4.15. Cette forte lipophilie ($\log P > 4.15$) peut poser des défis en termes de biodisponibilité orale, de distribution dans l'organisme et de potentiel de toxicité. Il serait donc nécessaire de procéder à des études supplémentaires pour évaluer ses propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques plus en détail.

Tableau 14 : Analyse de la Druglikeness et ADME des composés de *Pinus pinaster*.

Composés	Druglikeness					Absorption et distribution					Métabolisme				
	MW (g/mol) ≤ 500	Log $P_{o/w}$ (MLOGP) ≤ 4.15	N. H- bond acceptors ≤ 10	N. H- bond donors ≤ 5	Règle de Lipinski	Hydro- solubilité	GI	BBB	Log K_p Peau cm/s	P-gp	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
α -Pinène	136.23	4.29	0	0	Non	Soluble	Faible	Oui	-3.95	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
Camphène	136.23	4.29	0	0	Non	Soluble	Faible	Oui	-4.13	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
β -Pinène	136.23	4.29	0	0	Non	Soluble	Faible	Oui	-4.18	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
Myrcène	136.23	3.56	0	0	Oui	Soluble	Faible	Oui	-4.17	Non	Non	Non	Non	Non	Non
α -Phéllandrène	136.23	3.27	0	0	Oui	Soluble	Faible	Oui	-4.85	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Δ -3-Carène	136.23	4.29	0	0	Non	Soluble	Faible	Oui	-4.97	Non	Non	Non	Non	Non	Non
α -terpinène	136.23	3.27	0	0	Oui	Soluble	Faible	Oui	-4.11	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Limonène	136.23	3.27	0	0	Oui	Soluble	Faible	Oui	-3.89	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
δ -Terpinène	136.23	3.27	0	0	Oui	Soluble	Faible	Oui	-3.94	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Terpinolène	136.23	3.27	0	0	Oui	Soluble	Faible	Oui	-3.96	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
cis- β -Terpineol	154.25	2.30	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.45	Non	Non	Non	Non	Non	Non
α -Terpineol	154.25	2.30	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-4.83	Non	Non	Non	Non	Non	Non
α -Terpinen-7-al	432.68	6.82	1	0	Non	Moyenne	Faible	Non	-4.84	Non	Non	Non	Non	Non	Non
α -Acétate terpinyle	196.29	2.65	2	0	Oui	Soluble	Haute	Oui	-4.69	Non	Non	Non	Non	Non	Non
α -Longipinène	204.35	5.65	0	0	Non	Moyenne	Faible	Non	-4.27	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non
Longicyclène	204.35	5.80	0	0	Non	Moyenne	Faible	Oui	-3.99	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Non
β -Longipinène	204.35	5.65	0	0	Non	Moyenne	Faible	Non	-4.10	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non
Longifollène	204.35	5.65	0	0	Non	Moyenne	Faible	Non	-3.94	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non
Caryophyllène	204.35	4.63	0	0	Non	Soluble	Faible	Non	-4.44	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non
Oxyde de caryophyllène	220.35	3.67	1	0	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.12	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non

Tableau 15 : Analyse de la Druglikeness et ADME des composés de l'*Eucalyptus globulus*.

Composé	Druglikeness					Absorption et distribution					Métabolisme				
	MW (g/mol) ≤ 500	Log $P_{o/w}$ (MLOGP) ≤ 4.15	N. H- bond acceptors ≤ 10	N. H- bond donors ≤ 5	Règle de Lipinski	Hydro- solubilité	GI	BBB	Log K_p Peau cm/s	P-gp	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
α-Pinène	136.23	4.29	0	0	Non	Soluble	Faible	Oui	-3.95	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
1,8-Cineole	154.25	2.45	1	0	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.30	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
β-Pinène	136.23	4.29	0	0	Non	Soluble	Faible	Oui	-4.18	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
Linalool	154.25	2.59	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.13	Non	Non	Non	Non	Non	Non
2-pinen-4-ol	152.23	2.30	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-4.99	Non	Non	Non	Non	Non	Non
4-Terpineol	154.25	2.30	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-4.93	Non	Non	Non	Non	Non	Non
p-Cymene	134.22	4.47	0	0	Oui	Soluble	Faible	Oui	-4.21	Non	Non	Non	Non	Oui	Non
alpha-Terpineol	154.25	2.30	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-4.83	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Carvacrol	150.22	2.76	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-4.74	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Cuminal	148.20	2.40	1	0	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.52	Non	Oui	Non	Oui	Non	Non
E-Neral	152.23	2.49	1	0	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.08	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Phellandral	152.23	2.20	1	0	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.32	Non	Non	Non	Non	Non	Non
d-Piperitone	152.23	2.20	1	0	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.21	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Isoamyl isovalerate	172.26	2.58	2	0	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.17	Non	Non	Non	Non	Non	Non
β-Caryophyllene-oxide	204.35	4.63	0	0	Non	Soluble	Faible	Non	-4.44	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non
Spathulenol	220.35	3.67	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.44	Non	Non	Oui	Non	Non	Non
Globulol	222.37	3.81	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.00	Non	Non	Oui	Non	Non	Non
trans-Carveol	152.23	2.20	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.01	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Eudesmol	222.37	3.67	1	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-5.00	Non	Non	Non	Oui	Non	Non
2-pentanone-4-hydroxy-4-methyl	116.16	0.46	2	1	Oui	Soluble	Haute	Oui	-7.14	Non	Non	Non	Non	Non	Non

2.7 Analyse de l'ADME

2.7.1 ADME des composés de *Pinus pinaster* :

En ce qui concerne l'analyse de l'ADME, les résultats obtenus indiquent que la plupart des composés sont caractérisés par une bonne Hydrosolubilité. L'absorption intestinale de tous les composés était faible sauf le cis- β -Terpineol, α -Terpineol et l' α -Acétate terpinyle qui se caractérisés par une haute absorption.

L'étude a montré que la majorité des composés de *Pinus pinaster* sont capables de traverser la barrière hémato-encéphalique. D'autre composé notamment : β -Caryophyllène-oxide, α -Longipinène, β -Longipinène, Longifollène et Caryophyllène sont avérés non capables de traverser cette barrière.

La P-gp joue un rôle essentiel dans l'ADME des médicaments en influençant leur absorption, distribution, métabolisme et excrétion. Une analyse approfondie des interactions des médicaments avec la P-gp est cruciale pour le développement de nouveaux médicaments, la compréhension de leur pharmacocinétique, et l'optimisation des thérapies, notamment dans le contexte de la résistance aux médicaments et des interactions médicamenteuses. Les résultats de cette étude montrent qu'aucun composé issu de *Pinus pinaster* n'affecte cette enzyme.

Les cytochromes P₄₅₀ (CYP₄₅₀) sont une famille d'enzymes importantes impliquées dans le métabolisme de nombreux médicaments et substances endogènes. Si une molécule interagit avec ces enzymes, cela peut entraîner des interactions médicamenteuses ou affecter la vitesse à laquelle la molécule est dégradée et éliminée de l'organisme. Les résultats obtenus indiquent que tous les composés étudiés n'affectent pas la sous-famille de Cytochrome P₄₅₀ CYP1A2 sauf Longicyclène. De la même manière, aucun composé n'affecte la CYP2C19 sauf α -Longipinène, Longicyclène, β -Longipinène, Longifollène, Caryophyllène et l'Oxyde de caryophyllène.

Également, tous les composés affectent la CYP2C9 sauf α -Phéllandrène, Δ -3-Carène, α -terpinène, δ -Terpinène, cis- β -Terpineol, α -Terpineol, α -Terpinen-7-al et α -Acétate terpinyle. Il a été remarqué que les CYP2D6 et CYP3A4 ne sont pas affectés par aucun composé.

2.7.2 ADME des composés de *Eucalyptus globulus* :

En ce qui concerne l'analyse de l'ADME, les résultats obtenus indiquent que la plupart des composés sont caractérisés par une bonne Hydrosolubilité. L'absorption intestinale de tous les composés était faible sauf le 1,8-Cineole, Linalool, 2-pinen-4-ol, 4-Terpineol, alpha-

Terpineol, Carvacrol, Cuminal, E-Neral, Phellandral, d-Piperitone, Isoamyl isovalerate, Spathulenol, Globulol, trans-Carveol, Eudesmol et 2-pentanone-4-hydroxy-4-methyl qui se caractérisés par une haute absorption.

L'étude a montré que la majorité des composés de l'*Eucalyptus globulus* sont capables de traverser la barrière hémato-encéphalique. D'autre composé notamment : β -Caryophyllène-oxide sont avérés non capables de traverser cette barrière.

La P-gp joue un rôle essentiel dans l'ADME des médicaments en influençant leur absorption, distribution, métabolisme et excrétion. Une analyse approfondie des interactions des médicaments avec la P-gp est cruciale pour le développement de nouveaux médicaments, la compréhension de leur pharmacocinétique, et l'optimisation des thérapies, notamment dans le contexte de la résistance aux médicaments et des interactions médicamenteuses. Les résultats de cette étude montrent qu'aucun composé issu de l'*Eucalyptus globulus* n'affecte cette enzyme.

Les cytochromes P450 (CYP450) sont une famille d'enzymes importantes impliquées dans le métabolisme de nombreux médicaments et substances endogènes. Si une molécule interagit avec ces enzymes, cela peut entraîner des interactions médicamenteuses ou affecter la vitesse à laquelle la molécule est dégradée et éliminée de l'organisme. Les résultats obtenus indiquent que tous les composés étudiés n'affectent pas la sous-famille de Cytochrome P450 CYP1A2 sauf Carvacrol et Cuminal. De la même manière, aucun composé n'affecte la CYP2C19 sauf β -Caryophyllène-oxide, Spathulenol, Globulol. De même, aucun composé n'a d'influence de la CYP2C9 sauf α -Pinène, 1,8-Cineole, β -Pinène, Cuminal, β -Caryophyllène-oxide, Eudesmol. De plus, il n'y a aucun composé qui ait un impact sur la CYP2D6, à l'exception d'un composé P-Cymène. Il a été remarqué que les CYP3A4 ne sont pas affectées par aucun composé.

Tableau 16 : Prédiction de la toxicité des composés de *Pinus pinaster*, calculée par ProTox-III.

Composé	DL50 mg/kg	Classe	Hépatotoxicité		Cancérogénicité		Immunotoxicité		Mutagénicité		Cytotoxicité	
			Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité
α -Pinène	3700	5	Inactif	0.86	Inactif	0.60	Inactif	0.99	Inactif	0.93	Inactif	0.75
Camphène	5000	5	Inactif	0.79	Inactif	0.56	Inactif	0.95	Inactif	0.91	Inactif	0.76
β -Pinène	4700	5	Inactif	0.80	Inactif	0.66	Inactif	0.97	Inactif	0.95	Inactif	0.71
Myrcène	5000	5	Inactif	0.77	Inactif	0.60	Inactif	0.99	Inactif	0.98	Inactif	0.75
α -Phéllandréne	5700	6	Inactif	0.83	Inactif	0.52	Inactif	0.88	Inactif	0.92	Inactif	0.80
Δ -3-Carène	4800	5	Inactif	0.75	Inactif	0.68	Active	0.72	Inactif	0.70	Inactif	0.71
α -terpinène	1680	4	Inactif	0.78	Inactif	0.75	Inactif	0.95	Inactif	0.85	Inactif	0.85
Limonène	4400	5	Inactif	0.76	Inactif	0.65	Inactif	0.95	Inactif	0.97	Inactif	0.82
δ -Terpinène	2500	5	Inactif	0.83	Inactif	0.60	Inactif	0.98	Inactif	0.92	Inactif	0.82
Terpinolène	4390	5	Inactif	0.82	Inactif	0.77	Inactif	0.98	Inactif	0.87	Inactif	0.82
cis- β -Terpineol	2000	4	Inactif	0.75	Inactif	0.75	Inactif	0.98	Inactif	0.90	Inactif	0.89
α -Terpineol	2830	5	Inactif	0.72	Inactif	0.76	Inactif	0.99	Inactif	0.90	Inactif	0.64
α -Terpinen-7-al	15000	6	Inactif	0.72	Inactif	0.65	Inactif	0.71	Inactif	0.85	Inactif	0.78
α -Acétate terpinyle	4800	5	Active	0.53	Inactif	0.66	Inactif	0.97	Inactif	0.94	Inactif	0.80
α -Longipinène	3700	5	Inactif	0.83	Inactif	0.77	Inactif	0.93	Inactif	0.85	Inactif	0.70
Longicyclène	15380	6	Inactif	0.86	Inactif	0.70	Inactif	0.95	Inactif	0.65	Inactif	0.68
β -Longipinène	5000	5	Inactif	0.82	Inactif	0.74	Inactif	0.58	Inactif	0.88	Inactif	0.68
Longifollène	5000	5	Inactif	0.83	Inactif	0.67	Inactif	0.91	Inactif	0.83	Inactif	0.73
Caryophyllène	5300	5	Inactif	0.80	Inactif	0.70	Active	0.54	Inactif	0.95	Inactif	0.75
Oxyde decaryophyllène	5000	5	Inactif	0.80	Inactif	0.57	Inactif	0.83	Active	0.88	Inactif	0.79

Classe : 1 : Extrêmement toxique (<5mg /kg), 2 : Très toxique (5-50 mg/kg), 3 : Modérément toxique (50-500 mg/kg), 4 : Légèrement toxique (500-5000 mg/kg), 5 : Pratiquement non toxique (5000-15000 mg/kg), 6 : Relativement inoffensif (>15000 mg/kg).

Tableau 17 : Prédiction de la toxicité des composés de l'*Eucalyptus globulus*, calculée par ProTox-III.

Composé	DL50 mg/k g	Classe	Hépatotoxicité		Cancérogénicité		Immunotoxicité		Mutagénicité		Cytotoxicité	
			Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité	Prédiction	Probabilité
α-Pinène	3700	5	Inactif	0.86	Inactif	0.60	Inactif	0.99	Inactif	0.93	Inactif	0.75
1,8-Cineole	2480	5	Inactif	0.86	Inactif	0.68	Inactif	0.99	Inactif	0.96	Inactif	0.75
β-Pinène	4700	5	Inactif	0.80	Inactif	0.66	Inactif	0.97	Inactif	0.95	Inactif	0.71
Linalool	2200	5	Inactif	0.76	Inactif	0.64	Inactif	0.99	Inactif	0.95	Inactif	0.82
2-pinen-4-ol	2340	5	Inactif	0.79	Inactif	0.61	Inactif	0.90	Inactif	0.93	Inactif	0.77
4-Terpineol	1016	4	Inactif	0.80	Inactif	0.72	Inactif	0.99	Inactif	0.83	Inactif	0.88
p-Cymene	3	1	Inactif	0.87	Active	0.67	Inactif	0.99	Inactif	0.98	Inactif	0.89
alpha-Terpineol	2830	5	Inactif	0.72	Inactif	0.76	Inactif	0.99	Inactif	0.90	Inactif	0.64
Carvacrol	810	4	Inactif	0.75	Inactif	0.60	Inactif	0.96	Inactif	0.99	Inactif	0.89
Cuminal	1320	4	Inactif	0.71	Inactif	0.52	Inactif	0.96	Inactif	0.97	Inactif	0.89
E-Neral	500	4	Inactif	0.69	Inactif	0.88	Inactif	0.99	Inactif	0.98	Inactif	0.82
Phellandral	2300	5	Inactif	0.66	Inactif	0.77	Inactif	0.97	Inactif	0.93	Inactif	0.82
d-Piperitone	2450	5	Inactif	0.64	Inactif	0.79	Inactif	0.92	Inactif	0.93	Inactif	0.87
Isoamyl isovalerate	5000	5	Inactif	0.75	Inactif	0.52	Inactif	0.99	Inactif	0.99	Inactif	0.78
β-Caryophyllene-oxide	5300	5	Inactif	0.80	Inactif	0.70	Active	0.54	Inactif	0.95	Inactif	0.75
Spathulenol	3900	5	Inactif	0.86	Inactif	0.61	Inactif	0.52	Inactif	0.73	Inactif	0.91
Globulol	2000	4	Inactif	0.77	Inactif	0.69	Inactif	0.87	Inactif	0.75	Inactif	0.89
trans-Carveol	3000	5	Inactif	0.73	Inactif	0.78	Inactif	0.98	Inactif	0.94	Inactif	0.87
Eudesmol	2000	4	Inactif	0.81	Inactif	0.72	Inactif	0.94	Inactif	0.93	Inactif	0.50
2-pentanone-4-hydroxy-4- methyl	2520	5	Inactif	0.69	Active	0.51	Inactif	0.99	Inactif	0.95	Inactif	0.83

2.8 Prédiction de la toxicité

2.8.1 Toxicité des composés de *Pinus pinaster* :

À la lumière des résultats obtenus, il ressort que les DL50 des composés de *Pinus pinaster* prédites varient de 1680 à 15380 mg/kg. L'ensemble de ces composés a été retrouvé sans aucune cytotoxicité ni cancérogénicité. Cependant, l' α -acétate de terpinyle a été prédit hépatotoxique et l'oxyde de caryophyllène a été prédit mutagène. Concernant l'immuno-toxicité, seuls les composés Δ -3-carène et caryophyllène ont été retrouvés actifs.

2.8.2 Toxicité des composés de *Eucalyptus globulus* :

À la lumière des résultats obtenus, il ressort que les DL50 des composés de *Eucalyptus globulus* prédits varient de 3 à 4700 mg/kg. L'ensemble de ces composés a été retrouvé sans aucune hépatotoxicité ni cytotoxicité ni mutagénicité. Cependant, p-Cymene et 2-pentanone-4-hydroxy-4-methyl a été prédit Cancérogénicité. Concernant l'immuno-toxicité, le composé β -Caryophyllene-oxide a été retrouvé actif.

Conclusion

L'huile essentielle de *Pinus pinaster* montre une activité antimicrobienne modérée contre *S. typhimurium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, et *E. coli*. Bien que cette activité soit moins puissante que celle des antibiotiques traditionnels, elle pourrait avoir une valeur dans des applications spécifiques, notamment en complément des traitements existants ou dans des situations de résistance aux antibiotiques.

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* montre une excellente efficacité contre *S. aureus*, une efficacité modérée contre *K. pneumoniae* et *E. coli*, et une faible efficacité contre *S. typhimurium*. Ces résultats suggèrent que cette huile essentielle pourrait être particulièrement utile dans le traitement des infections causées par *S. aureus* et potentiellement en complément pour d'autres infections bactériennes. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre ses applications cliniques et optimiser son utilisation.

En plus, les résultats obtenus indiquent que α -Terpinen-7-al est un candidat prometteur pour inhiber la protéine cible (PBP1) grâce à : Une interaction stable et favorable avec la protéine (énergie de liaison faible -9,5 kcal/mol). Une grande efficacité à de faibles concentrations (K_i très faible).

Ces caractéristiques sont encourageantes pour le développement potentiel de α -Terpinen-7-al en tant qu'inhibiteur thérapeutique de la PBP1.

Références bibliographiques

- Adelusi, T. I., Oyedele, A. Q. K., Boyenle, I. D., Ogunlana, A. T., Adeyemi, R. O., Ukachi, C. D., ... & Abdul-Hammed, M. (2022).** Molecular modeling in drug discovery. *Informatics in Medicine Unlocked*, 29, 100880.
- Alani, B. G., Salim, K. S., Mahdi, A. S., & Al-Temimi, A. A. (2024).** Sulfonamide derivatives: Synthesis and applications. *Int. J. Front. Chem. Pharm. Res*, 4, 1-15.
- Alonso-Esteban, J. I., Carrocho, M., Barros, D., Velho, M. V., Heleno, S., & Barros, L. (2022).** Chemical composition and industrial applications of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) bark and other non-wood parts. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 21(3), 583-633.
- Amgar, J. (2023).** Valorisation de l'oléorésine du Pin maritime. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux, France.
- Archambaud, M. (2009).** Les antibiotiques contre les bactéries à Gram positif et négatif. *Cour. Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse*.
- Assmaa, D. A., Said, D. L., & Najib, P. G. (2011).** Production, croissance et modèles de conduite sylvicoles des principales essences (le pin maritime et le pin d'Alep) de reboisement au Maroc. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11(1), 68-84.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K., & Preissner, R. (2018).** ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic acids research*, 46(W1), W257-W263.
- Bencheikh, B. (2023).** C riblage in silico des inhibiteurs du SARS CoV 2 par Docking moléculaire et QSAR. Thèse de Doctorat, Université 8 Mai 1945 Guelma, Algeria.
- Benjlali, B., Hammoumi, M., & Richard, H. (1987).** Chemical polymorphism of Moroccan thyme essential oils. 1. Coumpounds characterization. *Sciences des Aliments (France)*, 7(1).
- Bensalek F.E 2018.** L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des troubles fonctionnels intestinaux dans le contexte marocain. Thèse de Doctorat, université de Marrakech, Maroc.
- Benzeggouta, N., (2005).** Etude de l'activité antibacterienne des huiles infusées de quatre plantes medecinales connues comme aliments. Thèse de Magister, Université Mentouri de Constantine, Algeria.

- Bernhoft, A. J. A. B. (2010).** A brief review on bioactive compounds in plants. *Bioactive compounds in plants-benefits and risks for man and animals*, 50, 11-17.
- Besombes, C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, France.
- Bladek, T., Szymanek-Bany, I., & Posyniak, A. (2020).** Determination of polypeptide antibiotic residues in food of animal origin by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Molecules*, 25(14), 3261.
- Boucsekrit, M. (2018).** Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux *apiaceae* *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. Et *Margotia gummifera* (Desf.) Lange. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie. P16.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat, Université d'Avignon, France.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), 173-183.
- Buckle, J. (2015).** Clinical Aromatherapy. Essential oils in Healthcare. Chap. 7 Infection. 3 e Ed Elsevier Inc, Pp : 130-167.
- Buronzo, A. (2008).** *Grand guide des huiles essentielles*. Hachette Pratique.
- CA-SFM (2012).** Recommendations 2012. Committee for Antibiotic Susceptibility Testing of the French Society of Microbiology.
- Cavallo, J. D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., & Garrabé, E. (2004).** Bêtalactamines. *EMC-Maladies infectieuses*, 1(3), 129-202.
- Celhay, C. (2013).** Fractionnement de coproduits de pin maritime (*Pinus pinaster*) et de peuplier (*Populus tremula*) pour l'obtention d'extraits polyphénoliques à activité antioxydante : procédé d'extraction aqueuse en extracteur bi-vis et étude des conditions subcritiques. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse-INPT, France.

- Chabi, N. W., Konfo, C. T., Adjagba, M., Moussedikou, L., Ahoussi-Dahouenon, E., Laleye, A., ... & Soumanou, M. M. (2015).** Evaluation of the toxicity of *Hemizygia bracteosa* (Benth) plant used in traditional medicine for the treatment of diabetes mellitus in Benin. *Am. J. Biomed. Res*, 3, 40-44.
- Chagné, D. (2004).** Développement de marqueurs moléculaires chez le pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.) et cartographie génétique comparée des conifères. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré Nancy 1, France.
- Chen, Y. C. (2015).** Beware of docking! *Trends in pharmacological sciences*, 36(2), 78-95.
- Chenni, M., El Abed, D. (2017).** Processes for extracting bioactive products (Procédés d'extraction des produits bioactifs). *Phytochem & Biosub Journal*, Vol. 11(1).
- Chevrollier, N. (2019).** Développement et application d'une approche de Docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Thèse de Doctorat, Université Paris-Saclay, France.
- Chominot, A. (2000).** Valorisation des plantes médicinales par l'industrie pharmaceutique : complémentarités et contradictions. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, (40), 19-26.
- Couderc, V. (2001).** Toxicité des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université Paul-Sabatier de Toulouse, France.
- Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 22-25.
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017).** SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7(1), 42717.
- Dianzani, F., Albrecht, T., Baron, S., & Gelderblom, H. R. (1996).** Introduction to virology. *Medical Microbiology*. 4th ed. Galveston, Tex: The University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Dias, R., de Azevedo, J., & Walter, F. (2008).** Molecular docking algorithms. *Current drug targets*, 9(12), 1040-1047.
- Dongmo, P. M. J., Kuate, J., Ngouana, V., Damesse, F., Sonwa, E. T., Zollo, P. H. A., & Menut, C. (2008).** Comparaison des propriétés antiradicalaires et antiinflammatoires des huiles essentielles de *Citrus reticulata* var. Madagascar et *Citrus sinensis* var. Casagrande du Cameroun. *Fruits*, 63(4), 201-208.

- Duraffourd, C., & Lapraz, J. C. (1997).** Les règles d'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique. *La plante médicinale, de la tradition à la science, textes réunis par les docteurs Duraffourd C, Lapraz JC et le Pr. Chemli R : 1er Congrès International-Tunis, De l'Usage Empirique à la Phytothérapie Clinique.*
- Edeas, M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.
- Efferth, T., & Greten, H. J. (2014).** Traditional medicine with plants-present and past. *Med Aromat Plants*, 3(3), 1-3.
- Erau, P. (2019).** *L'eucalyptus : botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine.* Thèse de Doctorat, Faculté de Pharmacie de Marseille, France.
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1986).** Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin of the World Health Organization*, 64(2), 159.
- Ghanmi, M., Satrani, B., Chaouch, A., Aafi, A., Abid, A. E., Ismaili, M. R., & Farah, A. (2007).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus hale-pensis*) du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 154(2), 293-300.
- Goetz, P., & Ghedira, K. (2012).** *Eucalyptus globulus Labill.* (Myrtaceae): Eucalyptus. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 271-279). Springer, Paris.
- Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdar, S., & Boulemtafes, A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 65-70.
- Hmamouchi, M., Hamamouchi, J., Zouhdi, M., & Bessiere, J. M. (2001).** Chemical and antimicrobial properties of essential oils of five Moroccan Pinaceae. *Journal of Essential Oil Research*, 13(4), 298-302.
- Hungate, R. E., Halvorson, H. O., Hutchison, K., & Orrego, C. (2023).** Bacteria.
- Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., ... & Botrel, A. (2001).** Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. *Editions Larousse, Paris*, 15.
- Ismaili, R., Houbairi, S., Sanâa, L., Khadija, M., & Abdeslam, L. (2017).** Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines. *European Scientific Journal, ESJ*, 13(12), 323.

- Jambois, A., Pastuszka, P., Raffin, A., Colinet, L., & Gaunand, A. (2013).** *Amélioration du pin maritime* (Doctoral dissertation, auto-saisine).
- Jamrozik, E., & Selgelid, M. J. (2020).** Drug-resistant infection: Causes, consequences, and responses. *Ethics and drug resistance: Collective responsibility for global public health*, 3-18.
- Jean, B. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier. 1292 pages.
- Joachim, D. G. (1999).** Huiles essentielles de quelques plantes aromatiques des genres *Eucalyptus* et *Melaleuca* (myrtacees) et *chenopodium* (chenopodiacees) du benin : variations inter et intraspecifiques du rendement et de la composition chimique et propriétés pharmacodynamiques. Thèse de Doctorat, Université nationale du Bénin, Bénin.
- Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R., & Vetter, H. (2003).** Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory medicine*, 97(3), 250-256.
- Jyotirmayee, B., & Mahalik, G. (2021).** Essential Oils Extracted from CO. AND ITS BENEFITS, 85.
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017).** Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 33(3), 300-305.
- Karima, Y. 2021.** Etude floristique et Ethnobotanique des plantes médicinales dans le Tell Sétifien (forêt de Tamntout, Beni Aziz), Essai de caractérisation biologique et pharmacopée de l'espèce *Erica arborea* L. Thèse de Doctorat, Université de Sétif, Algérie.
- Kirmusaoğlu, S., Gareayaghi, N., & Kocazeybek, B. S. (2019).** Introductory chapter: the action mechanisms of antibiotics and antibiotic resistance. In *Antimicrobials, antibiotic resistance, antibiofilm strategies and activity methods*. IntechOpen.
- Kola, I., & Landis, J. (2004).** Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nature reviews Drug discovery*, 3(8), 711-716.
- Kozioł, N. (2015).** Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora*: qualité, efficacité et toxicité.
- Laadel, N. (2018).** Impact de la faune entomologique sur le dépérissement de l'eucalyptus camaldulensis dans les régions de Sétif et Bordj Bouarreridj. Thèse de Magister, Université de Sétif, Algérie.

- Lagarde, N. (2014).** Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de Doctorat, CNAM, France.
- Lahlou, M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448.
- Lavecchia, A., & Di Giovanni, C. (2013).** Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. *Current medicinal chemistry*, 20(23), 2839-2860.
- Leach, A. R., Shoichet, B. K., & Peishoff, C. E. (2006).** Prediction of protein– ligand interactions. Docking and scoring: successes and gaps. *Journal of medicinal chemistry*, 49(20), 5851-5855.
- Leclerc, H., Gaillard, J. L., & Simonet, M. (1995).** *Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien*. Doin.
- Lee, S. M. (2024).** Metronidazole. In *Helicobacter pylori* (pp. 517-526). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Li, H., Sze, K. H., Lu, G., & Ballester, P. J. (2021).** Machine-learning scoring functions for structure-based virtual screening. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 11(1), e1478.
- Lin, C. P., Huang, J. P., Wu, C. S., Hsu, C. Y., & Chaw, S. M. (2010).** Comparative chloroplast genomics reveals the evolution of Pinaceae genera and subfamilies. *Genome biology and evolution*, 2, 504-517.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2012).** Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 4-17.
- Liu, X., Zhu, H., Song, W., Rao, Q., & Xu, X. (2024).** Mineralization and residue characteristics of chloramphenicol in aerobic soils: evidence from a carbon-14 study. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-8.
- Lozniewski, A., & Rabaud, C. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux-Infections associées aux soins, CCLIN, Sud-Est, Nancy*, 4.

Lyons, L., & Nambiar, D. (2000). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. *Publié par le Réseau communautaire d'info-traitements sida (CATIE).*

Mabou, F. D., & Yossa, I. B. N. (2021). TERPENES: Structural classification and biological activities. *IOSR J. Pharm. Biol. Sci. e-ISSN, 16*, 2319-7676.

Maimoona, A., Naeem, I., Saddique, Z., & Jameel, K. (2011). A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract. *Journal of ethnopharmacology, 133*(2), 261-277.

Mainardi, J. L. (2015). Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques/Session interactive autour de l'antibiogramme. *Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Faculté et Université Paris René Descartes.*

Martin, L. (2006). Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK. Thèse de Doctorat, Université Montpellier 2. France.

Mayer, F. (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, France.

Mebarki S, Abdelli A (2018). Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la ville de Saïda (Algérie). Mémoire de master, Université de Saïda, Algérie.

Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design, 7*(2), 146-157.

Meullemiestre, A. (2014). Valorisation des déchets de la filière « bois » en deux étapes : isolation des molécules extractibles puis fabrication de charbon actif : cas du pin maritime. Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle, France.

Mishra, A., & Parida, S. (2021). Extraction Methods of Essential Oils from Aromatic Plants. *AND ITS BENEFITS*, 71-83.

Miyachiro, M. M., Contreras-Martel, C., & Dessen, A. (2019). Penicillin-binding proteins (PBPs) and bacterial cell wall elongation complexes. *Macromolecular Protein Complexes II : Structure and Function*, 273-289.

Mohammedi, D. (2010). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Pages (3-10).*

- Mori, T., & Abe, I. (2024).** Lincosamide Antibiotics: Structure, Activity, and Biosynthesis. *ChemBioChem*, e202300840.
- Muylaert, A., & Mainil, J. (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur "contagiosité". In *Annales de Médecine vétérinaire* (Vol. 156). ULg-Université de Liège, Liège, Belgium.
- Nabil, B. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de Doctorat, Université d'Avignon, France.
- Nasim, N., Sandeep, I. S., & Mohanty, S. (2022).** Plant-derived natural products for drug discovery: current approaches and prospects. *The Nucleus*, 65(3), 399-411.
- Ndukwe, A. R., Qin, J., Wiedbrauk, S., Boase, N. R., Fairfull-Smith, K. E., & Totsika, M. (2023).** In Vitro Activities of Oxazolidinone Antibiotics Alone and in Combination with C-TEMPO against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Antibiotics*, 12(12), 1706.
- Née Soufi, M. L. W. (2016).** Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules : Cas de la Maladie de Parkinson. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, Algeria.
- Nogaret, A. S. (2011).** La phytothérapie : Se soigner par les plantes. *Editions Eyrolles*.
- Nourachani, I. (2010).** Caractérisation physico-chimique et biologique de l'huile essentielle des écorces de *Cryptocarya crassifolia* (LAURACEAE). Thèse de doctorat, Biochimie Appliquée aux Sciences Médicales, Université D'Antananarivo, Madagascar.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2000).** Traditional Medicine Strategy 2002-2005. WHO. Geneva, 2002. Amsterdam.
- Packer, L., Rimbach, G., & Virgili, F. (1999).** Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, pycnogenol. *Free radical biology and medicine*, 27(5-6), 704-724.
- Pan, M., Lei, Q., & Zhang, H. (2020).** Prediction and confirmation of active ingredients in Eucalyptus globulus Labill leaves. *Industrial Crops and Products*, 154, 112631.
- Paritala, S. T., Gandhi, G., Agrawal, K., Sengupta, P., & Sharma, N. (2024).** Glycopeptides: Insights Towards Resistance, Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Indian Journal of Microbiology*, 1-19.

- Pauly, G., Gleizes, M., & Bernard-Dagan, C. (1973).** Identification des constituants de l'essence des aiguilles de *Pinus pinaster*. *Phytochemistry*, 12(6), 1395-1398.
- Perveen, S., & Al-Taweel, A. (Eds.). (2018).** Terpenes and terpenoids. *BoD–Books on Demand*.
- Rameau, J. C., Mansion, D., & Dumé, G. (1989).** Flore forestière française : Plaines et collines (Vol. 1). Forêt privée française.
- Reghaissia, I (2020).** Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de l'Eucalyptus Globulus : Application comme insecticide. Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 Guelma, Algeria.
- Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., & López-Malo, A. (2015).** Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. *Food Engineering Reviews*, 7, 275-297.
- Saadou, N. (2008).** Etude et caractérisation chimique des huiles essentielles du genre pinus, dans le parc national d'el kala (PNEK). Thèse de magister, Université de Annaba-Badji Mokhtar, Algeria.
- Safa, L. Z., & Houyame, C. H. A. D. I. (2021).** Prédiction *in silico* de la structure 3D et étude d'amarrage moléculaire de la xanthine oxydoréductase, Mémoire de master, Université center of abdalhafid boussouf-mila, Algeria.
- Samanos, E. (1864).** Traité de la culture du pin maritime : comprenant des études sur la création des forêts, leur entretien, leur exploitation et la distillation des produits résineux. *Librairie agricole de la Maison rustique*.
- Sanogo, R. (2006).** Le rôle des plantes en médecine traditionnelle. *Développement, environnement et santé. 10e Ecole d'Eté de l'IEPF et du SIFEE, Bamako, du, 6*.
- Scott, C. W. (1962).** A summary of information on *Pinus pinaster*.
- Skandamis, P. N., & Nychas, G. J. (2001).** Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, 91(6), 1011-1022.
- Stratakis, A. C., & Koidis, A. (2016).** Methods for extracting essential oils. *In Essential oils in food preservation, flavor and safety* (pp. 31-38). Academic Press.

Tambadou, F., Caradec, T., Gagez, A. L., Bonnet, A., Sopéna, V., Bridiau, N., ... & Chevrot, R. (2015). Characterization of the colistin (polymyxin E1 and E2) biosynthetic gene cluster. *Archives of microbiology*, 197, 521-532.

Tesche, S., Metternich, F., Sonnemann, U., Engelke, J. C., & Dethlefsen, U. (2008). The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis: Results of a double-blind, randomised, controlled trial. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 265(11), 1355-1359.

Valdés-Tresanco, M. S., Valdés-Tresanco, M. E., Valiente, P. A., & Moreno, E. (2020). AMDock: a versatile graphical tool for assisting molecular docking with Autodock Vina and Autodock4. *Biology direct*, 15, 1-12.

Viñas, R. A., Caudullo, G., Oliveira, S., & De Rigo, D. (2016). *Pinus pinea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European atlas of forest tree species*, 204.

Yusuf, D., Davis, A. M., Kleywegt, G. J., & Schmitt, S. (2008). An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs RMSD. *Journal of chemical information and modeling*, 48(7), 1411-1422.

Sites WEB

https://viagallica.com/v/pin_maritime.htm

<https://webetab.ac-bordeaux.fr/college-danielle-mitterrand/index.php?id=13034>

https://www.alsace.eu/aides-et-services/environnement/arbres_remarquables/fiche-essence-pin-maritime/

<https://www.extratex-sfi.com/fr/supercritical>

<https://www.newdirectionsaromatics.com/blog/articles/how-essential-oils-are-made.html>

<https://www.newdirectionsaromatics.com/blog/articles/how-essential-oils-are-made.html>

<https://www.rcsb.org/>

<https://www.schoolmouv.fr/savoir-faire/realiser-une-hydrodistillation/fiche-pratique>

<http://croissbact.free.fr/bacterie.php>

<https://devsante.org/articles/antibiotiques-modes-d-action-mecanismes-de-la-resistance/>