

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de

La Recherche Scientifique

UNIVERSITE DE CONSTANTINE 3 " SALAH BOUBNIDER "

FACULTE DE MEDECINE DR. BELKACEM BENSMAIL

Département de Pharmacie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de
Docteur en Pharmacie

THÈME

**EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE
DE LA PIPERINE ET L'HUILE ESSENTIELLE DU
POIVRE NOIR ET CONCEPTION IN SILICO DE
NOUVEAUX ANALOGUES ACTIFS**

Rédigé et présenté par :

- Houda Cherouana
- Raial Rezaiguia
- Manar Saada

Encadré par :

Dr. M. Gueroui

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. F. Dalia

Examineur : Pr. A. Lalouana

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2022 - 2023

TABLE DE MATIERE

REMERCIEMENT	i
DÉDICACE :	ii
LISTE DE FIGURES :	I
LISTE DE TABLEAUX :	V
ABRÉVIATIONS ET SYMBOLES :	VII
INTRODUCTION	1
PARTIE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE I : BACTÉRIE ET MALADIE INFECTIEUSE	5
1 Bactérie	6
1.1 Définition	6
1.2 Structure	6
1.2.1 Cytoplasme et structures cytoplasmiques	6
1.2.2 Membrane plasmique.....	7
1.2.3 Paroi bactérienne	8
1.2.4 Structures de surface bactériennes.....	9
1.2.5 Spores.....	10
2 Maladie infectieuses	10
2.1 Définition	10
2.2 Types des infections.....	11
2.2.1 Infection respiratoire.....	11
2.2.2 Infection urinaire	12
2.2.3 Infection neurologique	13
2.2.4 Infections sexuellement transmises	14
3 Antibiothérapie et résistance aux antibiotiques	14
3.1 Définition des antibiotiques.....	14
3.2 Généralité sur les antibiotiques	14

3.3	Mécanisme d'action selon la cible	15
3.3.1	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.....	15
3.3.2	Inhibition de la synthèse des protéines	16
3.3.3	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	17
3.3.4	Inhibition de la synthèse des folates	17
3.3.5	Perturbateur de la membrane cytoplasmique	18
3.4	Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	18
CHAPITRE II : POIVRE NOIR		19
1	Généralité	20
2	Etude botanique	20
2.1	Description botanique	20
2.2	Classification taxonomique	20
2.3	Caractères végétatifs	21
3	Profil chimique	21
3.1	Huile essentielle.....	22
3.2	Résine.....	23
4	Propriétés pharmacologiques de poivre noir	25
4.1	Activité antimicrobienne du poivre noir	25
4.2	Activité antioxydante du poivre noir	26
4.3	Activité anti cancéreuse du poivre noir.....	26
4.4	Activité anti-diarrhéique	27
4.5	Autres activités	27
CHAPITRE III : PIPERINE		28
1	Pipérine et ses isomères	29
1.1	Définition	29
1.2	Structure chimique.....	29
1.3	Dénomination	29

1.4	Les isomères de la pipérine	30
2	Synthèse de la pipérine.....	31
2.1	Biogénèse dans la plante	31
2.2	Synthèse chimique de la pipérine	31
3	Caractéristiques de pipérine	32
3.1	Caractères chimiques	32
3.2	Caractères physiques :.....	33
3.3	Caractéristiques spectrales	33
3.3.1	Spectroscopie UV-Visible de la pipérine.....	33
3.3.2	Spectroscopie infrarouge IR.....	33
3.4	Caractéristiques chromatographiques	34
3.4.1	Chromatographie liquide à haute performance HPLC	34
3.4.2	Chromatographie sur couche mince à haute performance HPTLC	35
4	Méthodes d'isolement de la pipérine à partir du poivre noir.....	37
4.1	Extraction par macération	37
4.2	Extraction par Soxhlet à l'aide de l'éthanol	37
4.3	Extraction par microondes	38
4.4	Technique d'extraction par fluide supercritique (SFE)	39
4.5	Extraction par liquide ionique (IL):	40
5	Pharmacologie de la pipérine.....	40
5.1	Activité antibactérienne	40
5.2	Activité antiparasitaire	40
5.3	Activité larvicide	41
5.4	Activité de la pipérine sur le microbiote intestinale	41
5.5	Activité antioxydant.....	41
5.6	Activité anti-inflammatoire	42
5.7	Activité anticancéreuse	43

5.8	Activité sur les organes reproducteurs	44
6	Pharmacocinétique de la pipérine	44
6.1	Absorption	44
6.2	Distribution :	45
6.3	Métabolisme	45
6.4	Excrétion	45
7	Effet de la pipérine sur la biodisponibilité orale des médicaments et des composés thérapeutiques naturels	45
8	Toxicité de la pipérine	47
9	Préparations commerciales de pipérine	48
9.1	Formulation ayurvédique	48
9.2	Curcumine de Vista Nutrition avec pipérine (capsule)	48
9.3	Curcumine Zenith Nutrition avec Pipérine (Gélules)	48
	PARTIE 02 : PARTIE PRATIQUE	49
	MATERIALS ET MÉTHODES	50
1	Matériel végétal	51
2	Isolement de la pipérine	52
2.1	Matériel	52
2.2	Méthode	53
2.2.1	Extraction par la méthode chauffage à reflux	53
2.2.2	Extraction par la méthode Soxhlet	55
3	Synthèse de l'acide pipérique	57
3.1	Matériels	57
3.2	Méthode	57
4	Purification des produits par recristallisation	61
4.1	Matériel	61
4.2	Méthode	61

5	Extraction de l'huile du poivre noir	62
5.1	Matériel	62
5.2	Méthode	63
5.2.1	Extraction de l'huile brute du poivre noir	63
5.2.2	Extraction de l'huile essentielle du poivre noir	64
6	Identification de la pipérine et de l'acide pipérique	65
6.1	Matériels	66
6.2	Méthode	66
6.2.1	Caractérisation physique et chimique	66
6.2.1.1	Point de fusion	66
6.2.1.2	Test de solubilité	67
6.2.2	Caractérisation spectroscopiques	68
6.2.2.1	Spectrophotométrie d'absorption sous l'ultraviolet	68
6.2.2.2	Spectrophotométrie d'infrarouge (IR) par la technique de réflexion totale atténuée "ATR"	70
7	Evaluation de l'activité antibactérienne de la pipérine, de l'acide pipérique et de l'huile essentielle de poivre noir	71
7.1	Matériel	71
7.2	Microorganismes utilisés	71
7.3	Milieux de culture	72
7.4	Méthode	72
7.4.1	Méthode de diffusion sur disque	72
7.4.2	Méthode de diffusion sur puits	76
8	Conception in silico de nouveaux analogues actifs	77
8.1	Matériel	77
8.1.1	Micro Ordinateur	77
8.1.2	Programmes, banque de données et serveurs	77
8.2	Méthode	84
8.2.1	Prédiction ADMET	84

8.2.1.1	Détermination des propriétés physico-chimique des ligands.....	84
8.2.1.2	Détermination des propriétés pharmacocinétique des ligands	85
8.2.1.3	Détermination des propriétés toxicologique des ligands	85
8.2.2	Validation du protocole du docking	86
8.2.3	Docking moléculaire.....	86
8.2.3.1	Choix de la cible.....	86
8.2.3.2	Préparation de la cible.....	86
8.2.3.3	Préparation des ligands	88
8.2.3.4	Le docking moléculaire.....	90
RESULTAT ET DISCUSSION		91
1	Rendement de la pipérine, l'acide pipérique et l'huile essentielle	92
1.1	Détermination des rendements d'extraction.....	92
1.2	Détermination du rendement de l'acide pipérique	92
1.3	Détermination rendements d'Extraction de l'huile essentielle.....	93
2	Identification de la pipérine et de l'acide pipérique.....	93
2.1	Caractérisation organoleptique	93
2.1.1	Aspect de la pipérine.....	93
2.1.2	Aspect de l'acide pipérique	94
2.1.3	Aspect de l'huile essentielle.....	94
2.2	Caractérisation physico-chimique	94
2.2.1	Point de fusion.....	94
2.2.2	Test de solubilité.....	95
2.3	Caractérisation spectroscopiques.....	96
2.3.1	Spectrophotométrie d'absorption sous l'ultraviolet.....	96
2.3.2	Spectrophotométrie dans l'infrarouge IR.....	98
3	Etude de l'activité antibactérienne	101
3.1	Essai 01	101
3.1.1	Diffusion sur disque.....	101
3.1.2	Méthode de diffusion de puits	102

3.2	Essai 02	103
4	Conception in silico de nouveaux analogues actifs	106
4.1	Prédiction ADMET	106
4.1.1	Détermination des propriétés physico-chimiques.....	106
4.1.2	Détermination des propriétés pharmacocinétique des ligands	107
4.1.3	Détermination de la toxicité des ligands	109
4.2	Validation du protocole	110
4.2.1	Analyse visuelle.....	110
4.2.2	RMSD (root mean square deviation)	110
4.3	Étude de Docking Moléculaire	111
4.3.1	Étude d'interaction de la pipérine et les ligands natifs	111
4.3.1.1	Avec 5lj3	111
4.3.1.2	Avec 3vsl.....	113
4.3.2	Analyse des résultats du docking avec la protéine 5L3J.....	114
4.3.2.1	Ligand 02 (pip-phenylalanine)	114
4.3.2.2	Ligand 03 (pip-tryptophane)	115
4.3.2.3	Ligand 04 (pip-Tyrosine)	116
4.3.3	Analyse des interactions des analogues avec la protéine 3VSL.....	117
4.3.3.1	Ligand 02 (pip-phenylalanine)	118
4.3.3.2	Ligand 03 (pip - tryptophane)	119
4.3.3.3	Ligand 04 (pip - Tyrosine)	120
	CONCLUSION	121
	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	124
	ANNEXE	135
	Résumé :	142

Résumé :

La pipérine est l'alcaloïde principal du poivre noir qui est connu par une multiplicité de propriétés pharmacologiques y compris l'activité antibactérienne. Cette activité est aussi prouvée dans l'aromathérapie du piper nigrum.

Deux méthodes sont utilisées pour l'extraction de la pipérine (soxhlet et chauffage à reflux) ainsi que la méthode référentielle de clevenger pour extraire l'huile essentielle. Cet alcaloïde est mis à profit dans l'hémi synthèse de l'acide pipérique. Après la purification de ces produits solides par recristallisation, l'analyse organoleptique et les contrôles physico-chimiques (point de fusion et solubilité) et spectraux (UV et IR) ont abouti à des résultats très satisfaisants.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de la pipérine, l'acide pipérique et l'huile essentielle, a été réalisée de deux manières : la méthode des puits et celle des disques qui ont donné des résultats négatifs.

Notre travail a été finalisé par une étude in silico, le docking moléculaire de la pipérine et ses 5 analogues envers le site actif des bactéries nous a permis d'évaluer leur score et de faire ressortir les composés suivants : **pipérine-tryptophane, pipérine-phénylalanine et pipérine-tyrosine**, le filtrage ADME/tox nous renseignent de manière positive sur ces composés qui se présentent comme de nouvelles molécules antibactériennes

Mots clés : poivre noire, pipérine, huile essentielle, extraction, activité antibactérienne, in silico.

Abstract :

Piperine is the main alkaloid in black pepper, known for its many pharmacological properties, including antibacterial activity. This activity is also proven in piper nigrum aromatherapy literature.

Two methods are used to extract piperine (soxhlet and reflux heating), as well as Clevenger's reference method to extract the essential oil. This alkaloid is used in the hemi-synthesis of piperic acid. After purification of these solid products by recrystallization, organoleptic analysis shows a pure crystalline appearance which the physico-chemical (melting point and solubility) and spectral (UV and IR) controls prove the effectiveness of both methods in the isolation of piperine.

Now, to confirm the published research results, we have tested the antibacterial activity of piperine, piperic acid and essential oil on 4 bacterial strains by two methods: diffusion on wells and disks, which gave negative results.

Our work is completed by an in silico design of active piperine analogues on two bacterial proteins 3vsl from *S. aureus* and 5l3j from *E. coli* after application of the 5 rules of lipinski and veber and determination of its physicochemical properties and toxicity.

The docking test showed that only the analogues (piperine-phenylalanine, tryptophan and tyrosine) had a lower interaction energy than piperine and the native ligand.

Key words: black pepper, piperine, essential oil, extraction, antibacterial activity, in silico.