

République algérien démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement supérieur et de Recherche scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université AbouBekr Belkaïd – Tlemcen
كلية العلوم الطبيعية و الحياة و علوم الأرض و الكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de Biologie



MEMOIRE
Présenté par :
REKKAB Fatima Zahra Fadwa
RAMDANI Sakina
En vue d'obtention du **Diplôme de MASTER**
En sciences biologiques
Option : Microbiologie Fondamentale

Thème

Etude *in silico* de l'activité antimicrobienne de *Laurus nobilis*

Soutenu le 23 Juin 2025, devant le Jury composé de

Président	MKEDDER Ilham	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	BOUALI Waffa	MCA	Université de Tlemcen
Examineur	ZERHOUNI Khadidja	MCB	Université de Tlemcen
Invitée d'honneur	LATTI Nawel	Doctorante	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2024 – 2025

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadrant Mme BOUALI Waffa, maitre de conférences classe « A », à l'université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, pour sa patience, sa confiance, ses conseils judicieux, son suivi et ses directives qui nous ont énormément servi pour la concrétisation de ce travail.

Nous tenons également à exprimer notre gratitude envers Mme LATTI Nawel doctorante en laboratoires de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédicale et à L'environnement (LAMAABE) pour son assistance. Nous avons eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances, de ses compétences remarquables, de ses précieux conseils et de son suivi tout au long de notre travail.

Un grand merci aussi pour Mme Mkedder Ilham maître de conférences A à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, et Mme Zerhouni Khadidja maître de conférences B à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen pour avoir consacré leur temps, leur expertise et leur attention à évaluer notre travail.

Un grand merci à toute personne ayant participé, de près ou de loin, à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leur soutien et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*Aux êtres les plus chers à mon cœur, MES PARENTS
qui n'ont, à aucun moment, cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

Je ne pourrai jamais vous en remercier.

*A mes chers frères Rafiq, Djamel Eddine et Youssouf pour leurs
encouragements permanents.*

A ma belle sœur Farah pour son soutien moral.

A mon binôme Sakina et à toute sa famille.

*A toutes mes amies qui m'ont soutenus et encouragée tout au long de la
réalisation de ce mémoire.*

Dédicaces

Je dédie cet humble travail

A vous, très chers parents

Papa, la première personne qui a attendu ces moments pour être fière de moi, toi qui a toujours été et restera toujours un exemple pour moi .Ta compréhension, tes encouragements et tes précieux conseils sont pour moi le soutien indispensable que tu as Toujours su m'apporter.

Maman, quoi que je dise ou quoi que je fasse, je ne saurai point te remercier assez pour tous les sacrifices que tu consens pour mon bien être, mon éducation et mon instruction. Ta bienveillance, ton assistance et ta présence à mes côtés ont toujours été ma force pour affronter les différents obstacles de la vie et ont guidé mes pas vers la réussite.

Aucune dédicace ne saurait être à la hauteur de vos mérites. Que Dieu, le tout puissant, vous préserve et vous accorde santé et longue vie.

A ma grande mère

Toi qui as été une seconde mère pour moi, mon soutien à chaque instant. Chaque veille passée avec toi, chaque histoire que tu m'as racontée, Chaque prière murmurée. Tous cela a été les graines de bonté qui sont aujourd'hui devenues un arbre de réussite, et ses feuilles sont ce diplôme que je détiens.

A mes chères sœurs et frère

Asma plus qu'une sœur, tu es ma première amie, ma partenaire de jeux, de rires et de larmes. Tu es une bénédiction au-delà de toute mesure. Tu mérites tout le bonheur de ce monde.

Mon petit frère Ismail, tu es mon compagnon de route dans la vie. Tu es la sécurité dans ce monde. Tu mérites tout le succès de ta vie et je suis fière de ta présence.

Merci d'avoir illuminé chaque étape de mon parcours.

A tous les membres de ma famille, Ramdani et Bouazza

A mes chères amies,

Fatima B et Rahma A (la femme de mon oncle), je vous remercie pour votre amour, votre soutien moral et pour vos encouragements sans cesse. Je vous souhaite beaucoup de succès et de Bonheur dans votre vie.

Sans oublier mon binôme Fatima, pour les instants de joie comme de peine partagés, pour le travail d'équipe dont on a fait preuve afin de concrétiser ce travail. Ce n'était pas facile mais aujourd'hui on a réussi et je suis fière de nous.

الملخص

نبات الرند، شجيرة عطرية تنتمي إلى فصيلة اللوراسات، تنتشر في جميع أنحاء حوض البحر الأبيض المتوسط وتستخدم على نطاق واسع كتوابل للطهي، فضلاً عن خصائصها الطبية التقليدية .

أجريت هذه الدراسة لتقييم النشاط المضاد للأغشية الحيوية لمركبين في الزيت العطري (السينول و الأوجينول) ومركب فينولي (الروتين) من لوروسنوبيليس ضد هدف بروتين ALS3 المشارك في الالتصاق وتكوين الأغشية الحيوية في المبيضات البيضاء، باستخدام أدوات المعلوماتية الحيوية، ولاسيما الالتحام الجزيئي.

كشفت النتائج التي تم الحصول عليها عن وجود تقارب كبير بين مركبات نبات الرند المدروسة و الهدف المختار، لاسيما الروتين الذي يشكل المركب الأكثر استقراراً مع بروتين ALS3 (-8.8 كيلو كال/مول). التفاعلات التي تم الحصول عليها هي في الأساس تفاعلات هيدروجينية وكارهة للماء مع الأحماض الأمينية في الموقع النشط .

وفي الختام، تُسلط هذه النتائج الضوء على الإمكانيات الدوائية لنبات الرند، الذي يتمتع بخصائص مثبطة مثيرة للاهتمام ضد الأغشية الحيوية الرقيقة للمبيضات البيضاء، وتشجع على إجراء المزيد من الدراسات التجريبية لتأكيد فعاليته في المختبر وفي الجسم الحي .

الكلمات المفتاحية: مركب فينولي، نشاط مضاد للأغشية الحيوية، الالتحام الجزيئي، زيت عطري، لوروسنوبيليس، المبيضات البيضاء.

Abstract

Laurus nobilis, an aromatic shrub, belongs to the Laureaceae family, widespread throughout the Mediterranean basin, widely used as a culinary condiment, as well as for its traditional medicinal properties.

This study was carried out to evaluate the antibiofilm activity of two essential oil compounds (cineole and eugenol) and a phenolic compound (rutin), of *Laurus nobilis* towards the ALS3 protein target involved in adhesion and biofilm formation in *Candida albicans* using bioinformatics tools, notably molecular docking.

The results obtained revealed a high affinity between the *Laurus nobilis* compounds studied and the selected target, notably rutin, which forms the most stable complex with the ALS3 protein (-8.8 kcal/mol). The interactions obtained are mainly hydrogen, hydrophobic interactions with the active site amino acids.

In conclusion, these results underline the pharmacological potential of *Laurus nobilis*, which shows interesting inhibitory capacities against *Candida albicans* biofilms, and encourage further experimental studies to confirm their efficacy *in vitro* and *in vivo*.

Key words: phenolic compound, antibiofilm activity, molecular docking, essential oil, *Laurus nobilis*, *Candida albicans*.

Résumé

Laurus nobilis, un arbuste aromatique, appartient à la famille des Lauracées, répandu dans tout le bassin méditerranéen, largement utilisées comme condiment culinaire, ainsi que pour ses propriétés médicinales traditionnelles.

Cette étude a été menée afin d'évaluer l'activité antibiofilm de deux composés de l'huile essentielle (cinéole et eugénol) et un composé phénolique (rutine) de *Laurus nobilis* vis-à-vis la cible protéique ALS3 impliquée dans l'adhésion et la formation du biofilm chez *Candida albicans* par l'utilisation des outils bio-informatiques, notamment le Docking moléculaire.

Les résultats obtenus ont révélé une forte affinité entre les composés étudiés de *Laurus nobilis* et la cible sélectionnée, notamment la rutine, forme le complexe le plus stable avec la protéine ALS3 (-8.8 kcal/mol). Les interactions obtenus sont principalement des interactions hydrogène, hydrophobe avec les acides aminées de site actif.

En conclusion, ces résultats soulignent le potentiel pharmacologique de *Laurus nobilis* qui montre des capacités inhibitrices intéressantes contre les biofilms de *Candida albicans*, aussi encouragent la poursuite d'études expérimentales pour confirmer leur efficacité *in vitro* et *in vivo*.

Mots clés : composé phénolique, activité antibiofilm, docking moléculaire, huile essentielle, *Laurus nobilis*, *Candida albicans*.

,

Liste des abréviations

- OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
- MT : Médecine Traditionnelle.
- ALS3 : Agglutinin-Like Sequence 3.
- MIC : concentration minimale inhibitrice.
- HE : Huile essentiel.
- QS : Quorum sensing.
- AHL : acylhomosérines lactones.
- PVC : polychlorure de vinyle.
- Saps : protéines aspartiques secrétées.
- SOD : superoxydes dismutases.
- PDB : Protein Data banque.
- Pdbqt: Protein Data Bank, Partial Charge, and Atom Type.
- RMN : résonance magnétique.
- GO : Gigaoctet.
- RCSB: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics.
- TIGIT: cellule T avec immunoglobuline et domaine ITIM
- NK : Natural killer
- T : Lymphocytes T
- SDF : Simple data format.
- TYR: Tyrosine.
- THR: Thréonine.
- VAL : Valine.
- ARG : Arginine.
- TRP : Tryptophane.
- PRO: Proline.
- MET : Méthionine.
- SER : Sérine.
- CMI : concentration minimale inhibitrice.
- SEM : microscope électronique à balayage.
- AFM : microscope à force atomique.
- α :Alpha.
- β :Béta.
- γ :Gamma.
- Kcal/mol: kilocalories par mole.
- Conf: Configuration.
- %: Pourcentage.
- °C: Degré Celsius.
- 2D: Bidimensionnel.
- 3D: Tridimensionnel.
- ADN: Acide désoxyribonucléique.

Liste des figures

Figure 1: Arbre de laurier en fleurs.....	5
Figure 2: Distribution des Lauracées à travers le monde	6
Figure 3: Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	6
Figure 4: Feuilles de laurier noble	7
Figure 5: les fruits de <i>Laurus nobilis</i> L.	8
Figure 6: Structure chimique de l'eugénol	10
Figure 7 : Structure chimique de 1,8-cinéole.....	10
Figure 8: Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de	11
Figure 9: Structure chimique de la rutine	12
Figure 10: Exemples de biofilms	17
Figure 11: les étapes du développement du biofilm bactérien	19
Figure 12: Biofilm de <i>C. albicans</i>	20
Figure 13: Composition de la matrice extracellulaire de biofilm des <i>C. albicans</i>	21
Figure 14: Mécanisme de formation de biofilm chez <i>C. albicans</i>	22
Figure 15: Docking de deux molécules.....	25
Figure 16: Docking récepteur-ligand.	25
Figure 17: Programme du docking	26
Figure 18: Docking rigide.....	28
Figure 19: Schéma de protocole général du docking.....	29
Figure 20: Etapes générales du docking moléculaire	30
Figure 21: Application du docking moléculaire	31
Figure 22: structure 3D de la protéine Als3.....	36
Figure 23: La cible après le nettoyage.....	36
Figure 24: la cible au format PDBQT.....	37
Figure 25: la rutine dans la chimio-thèque Pubchem.....	37
Figure 26: L'eugénol dans la chimio-thèque Pubchem.	38
Figure 27: La rutine sous format PDB.....	38
Figure 28: L'eugénol sous format PDB.....	39
Figure 29: La rutine sous format PDBQT.	39
Figure 30: L'eugénol sous format PDBQT.	40
Figure 31: Le fichier « conf » de la cible ALs3.	40
Figure 32: Lancement de docking.....	41
Figure 33: Structure 2D du complexe rutine-ALS3.....	45
Figure 34: Structure 3D du complexe rutine-ALS3	45

Figure 35: Structure 2D du complexe 1,8-cinéole-ALS3	46
Figure 36: Structure 3D du complexe 1,8-cinéole-ALS3	47
Figure 37: structure 2D du complexe eugénol-ALS3	48
Figure 38: structure 3D du complexe eugénol-ALS3	48

Liste des tableaux

Tableau 1: Dénomination internationale du <i>Laurus nobilis</i> L.	5
Tableau 2: Classification botanique du <i>Laurus nobilis</i> L.	8
Tableau 3 : Principaux composants des huiles essentielles de feuilles et de fruits de laurier	11
Tableau 4: Composition chimique des feuilles de laurier noble.....	12
Tableau 5: La structure 2D et 3D de la rutine, 1,8-cinéole et l'eugénol.....	35
Tableau 6: Les centres (x y z) et les dimensions du site actif de la cible	40
Tableau 7: Les différentes liaisons et l'affinité de l'ALS3 avec la rutine, l'eugénol et le 1,8-cinéole	43
Tableau 8: Interactions identifiées dans la position la plus stable	44

Table des matières

Remerciements	
Dédicace.....	
Abréviations :	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
Chapitre 01 : Présentation du <i>Laurus nobilis</i> L.....	3
1. Généralités	4
1.1. Définition et étymologie	4
1.2. Historique.....	4
1.3. Nomenclature	5
2. Répartition géographique.....	5
3. Caractérisation botanique et morphologique	6
3.1. Description générale.....	6
3.1.1. Les ports	6
3.1.2. L'écorce et les tiges	7
3.1.3. Les feuilles	7
3.1.4. Fleurs.....	7
3.1.5. Inflorescence.....	8
3.1.6. Fruits	8
3.2. Classification (taxonomie)	8
4. Multiplication et plantation.....	9
5. Exigences climatiques et édaphiques	9
6. Mesures de conservation du <i>Laurus nobilis</i> L.	9
7. Composition chimique.....	10
7.1. Huile essentielle	10

7.2.	Composition chimique des feuilles du laurier	11
8.	Usages traditionnels du <i>Laurus nobilis</i> L.	12
9.	Utilisation en parfumerie et cosmétique.....	13
10.	Propriétés pharmacologiques et activités biologiques.....	13
10.1.	Activité antimicrobienne	13
10.2.	Activité anti-inflammatoire	14
10.3.	Activité antioxydante	14
10.4.	Activité antidiabétique	14
11.	Etude toxicologique (toxicité)	14
Chapitre 02 : Les biofilms.....		16
1.	Généralités	17
1.1.	Qu'est-ce qu'un biofilm ?	17
1.2.	1.2. Formation et développement du biofilm microbien	18
1.3.	1.3. Quorum sensing.....	19
2.	Les biofilms chez <i>Candida albicans</i>	20
2.1.	Définition	20
2.2.	Composition du biofilm.....	20
2.3.	2.3. Mécanismes de formation de biofilm	21
2.3.1.	L'adhésion.....	21
2.3.2.	La prolifération	21
2.3.3.	La maturation.....	22
2.3.4.	La dispersion	22
2.4.	Résistance du biofilm de <i>Candida albicans</i>	23
2.5.	Impact du biofilm de <i>Candida albicans</i> sur la santé humaine.....	23
Chapitre 03 : Docking Moléculaire		24
1.	Définition	25
2.	Intérêt du docking moléculaire	26
3.	Objectifs du docking moléculaire	26

4.	Outils du docking moléculaire	27
4.1.	Ligand.....	27
4.2.	Récepteur	27
5.	5. Différents types du docking moléculaire	28
5.1.	Docking rigide.....	28
5.2.	Docking semi-flexible	28
5.3.	Docking flexible.....	28
6.	Etapes du docking moléculaire	29
6.1.	Docking moléculaire	29
6.2.	Scoring moléculaire.....	29
7.	Procédure du docking	29
7.1.	Première étape.....	29
7.2.	Deuxième étape	30
7.3.	Troisième étape	30
8.	Applications du docking moléculaire	30

Partie I I:Partie expérimentale

Matériel et Méthodes	32
1.Matériel.....	34
1.1 Ordinateur personnel	33
1.2. Les programmes	33
1.2.1. Discovery Studio 4.0 client.....	33
1.2.2. Autodock Vina	33
1.2.3. MGL Tools (Molecular Graphics Laboratory)	33
1.2.4. OpenBabel-3.1.1	33
1.3. Les banques de données.....	33
1.3.1. Protein Data banque (PDB)	33
1.3.2. Pubchem	34
1.4. Les cibles	34
1.5. Les ligands	34

1.5.1. La routine.....	34
1.5.2. Eugénole	35
1.5.3. 5.3. Cinéole	35
2. Méthodes.....	35
2.1. Préparation du docking.....	36
2.1.1. 1.1. Préparation de la protéine (la cible).	36
2.1.2. 1.2 Préparation des ligands.....	37
2.1.3. Création du fichier conf	40
2.1.4. Lancement de docking	42
Chapitre 05 : Résultats et Discussion	42
Résultats et Discussions	42
Conclusion générale.....	50
Références bibliographiques	52

Introduction générale

Les infections fongiques, particulièrement celles causées par *Candida albicans*, constituent un problème majeur de santé publique, notamment chez les patients immunodéprimés. La capacité de ce pathogène à former des biofilms, augmente sa résistance aux antifongiques conventionnels tels que les azoles et les échinocandines (**Taff et al., 2013; Pappas et al., 2018**). Dans ce contexte, l'exploration des sources naturelles, et plus particulièrement des plantes médicinales, représente une piste prometteuse pour développer de nouvelles stratégies thérapeutiques, notamment par la découverte de molécules antifongiques et antibiofilms (**Raut et al., 2013**).

Les plantes médicinales sont utilisées dans le traitement de différentes pathologies humaines, grâce à la richesse en principes actifs naturels comme les flavonoïdes et les composés phénoliques qui exercent diverses activités pharmacologique, telles que des effets antimicrobiens, antibiofilms, anti-inflammatoire et antioxydants (**Rates, 2001**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), jusqu'à 80 % de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle, notamment aux plantes médicinales, pour répondre à ses besoins sanitaires (**WHO, 2002**).

La flore algérienne, riche de plus de 3000 espèces d'origines méditerranéenne, saharienne et paléo-tropicale, compte 15 % d'espèces endémiques (**Gaussen et al., 1982**). Cette remarquable diversité constitue une ressource inestimable pour la médecine traditionnelle.

Parmi les plantes médicinales, le laurier noble (*Laurus nobilis*) se distingue par sa valeur aromatique et thérapeutique. Ses propriétés antimicrobiennes, dues à ses métabolites secondaires tels que la rutine (**Delaquis et al., 2002**), justifient son usage dans le traitement de nombreuses affections. Cependant, les mécanismes moléculaires de son activité antibiofilm contre *Candida albicans* restent insuffisamment explorés.

Aujourd'hui, les huiles essentielles de plantes aromatiques font l'objet de nombreuses études pour leurs diverses applications, qui dépassent leur rôle traditionnel. L'huile essentielle de *Laurus nobilis*, est particulièrement étudiée pour son potentiel dans les industries pharmaceutique, agronomique, alimentaire, cosmétique et de la parfumerie (**Chahal et al., 2017**).

Au cours de notre étude « *in silico* », nous avons utilisé le docking moléculaire pour analyser les propriétés antibiofilms de *Laurus nobilis*. Cet outil nous a permis de prédire les interactions potentielles entre ses principaux composés phytochimiques (rutine, eugénol et 1,8-cinéole) et la cible pathologique ALS3. Le docking moléculaire est une approche

reconnue pour orienter les stratégies de recherche, cette méthode prédictive est un outil essentiel pour guider le développement de nouvelles thérapies (**Asiamah et al., 2023**).

Le présent travail a pour objectif de caractériser le potentiel antibiofilm de composés bioactifs extraits de *Laurus nobilis*, notamment deux de son huile essentielle (cinéole, eugénol) et un composé phénolique (rutine) sur les biofilms de *Candida albicans*.

Ce travail est organisé en deux grandes parties :

La première partie est d'ordre théorique divisée en trois chapitres : le premier est réservé à la description générale d'espèce étudiée (*Laurus nobilis*), le deuxième chapitre sur les biofilms, tandis que le troisième chapitre sur le docking moléculaire.

La deuxième partie, d'ordre expérimental, regroupe deux chapitres: le premier chapitre sur la méthodologie de travail et le deuxième chapitre, consacré aux résultats et discussion permettra d'évaluer le score d'affinité des molécules sélectionnées dans ce travail mais surtout d'élucider les mécanismes d'interaction mis en jeu entre la cible et les ligands

Une conclusion générale avec des perspectives clôturera ce travail.

Chapitre 01:

Présentation du *Laurus*

***nobilis* L.**

1. Généralités

1.1.Définition et étymologie

La plante du laurier est passée par multiples appellations dont le laurier commun, le laurier d'Apollon ou laurier noble avant d'être connu comme Laurier-sauce.

Il s'agit d'un arbre vénéré par les romains ainsi que par les chrétiens lors des jeux pythiques grecs. A cet effet, les vainqueurs recevaient une couronne de laurier. Par ailleurs, le mot « Lauréat » désigne celui qui réussit ses examens. A ce propos, il recevait une couronne de laurier, pas seulement avec des feuilles, mais aussi garnie de baies (baccalauréat), d'où le mot « baccalauréat », ce qui signifie « baies de laurier » (**Hurtel, 2002**).

En outre, le nom latin « *Laurus* » qui signifie « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et « *nobilis* » du latin « fameux » (**Pariente, 2001**).

La plante possède plusieurs noms vernaculaires et « rand رند » est le nom le plus connu en Algérie.

1.2.Historique

Laurus nobilis L. est un arbre (figure 01) connu dans la mythologie grecque et romaine comme un emblème de la victoire et du succès. *Laurus nobilis* L. était consacré à Apollon, dieu grec de la lumière, et un symbole de la paix et de la victoire utilisé pour faire des couronnes des empereurs, des généraux et des poètes. A Rome, les feuilles de laurier étaient à la fois un médicament et une épice (**Leung et Foster, 1999**).

En infusion, ses feuilles étaient consommées pour leurs effets révulsifs et toniques sur l'estomac et la vessie, sous forme de cataplasme. Elles permettaient de soulager les piquûres de guêpes ou d'abeilles. Au 1^{er} siècle de notre ère, le médecin grec Dioscoride notait que l'écorce du laurier « brise les pierres dans les reins et soulage les affections du foie ». Lorsque les médecins grecs ont terminé leurs études, ils sont couronnés de branches de laurier appelé *Lauris baca*, et qui, plus tard, a donné naissance au « baccalauréat », terme qui désigne l'accomplissement d'un degré. En plus, l'huile de laurier ou du beurre, obtenu à partir des fruits (baies) de *Laurus nobilis* L. est un ingrédient essentiel de la pommade Laurin, une médecine populaire pour les rhumatismes et la goutte et pour le traitement de la rate et les maladies du foie. Il trouve aussi ses applications en médecine vétérinaire. L'huile de laurier, qui est l'ingrédient principal de la pommade Laurin, est obtenue à partir de fruits de laurier et est un médicament connu pour son efficacité dans le traitement des rhumatismes, de la goutte et des maladies de la rate et du foie. (**Conforti et al, 2006; Jesse, 2008; Ballabio et Goetz, 2010; Ochikh et al., 2011**).



Figure 1: Arbre de laurier en fleurs (Steven et Davis, 2001)

1.3.Nomenclature

Tableau 1: Dénomination internationale du *Laurus nobilis* L. (Fanit et Hadji, 2021)

Pays	Dénomination vernaculaire
Arabe	Rand رند m warakat sidna moussa ورقة سيدنا موسى, El- ghar الغار
Grande Bretagne	Laure oil, sweet bay, bay tree, bay, bay laurel, true laurel, roman laurel, noble laurel
France	Laurier, laurier-sauce, laurier d'Apollon, laurier commun, laurier franc, laurier noble

2. Répartition géographique

Le laurier noble se trouve en grande quantité dans les régions tempérées et subtropicales, surtout en Asie et dans les pays d'Amérique donnant sur l'Atlantique et en Afrique. Il envahit aussi tout le bassin méditerranéen ainsi que l'Europe. La plante se présente sous forme de petits arbres de 3 à 6 mètres de hauteur en formation dense (Sage, 2012).

En Algérie, le laurier est une espèce qui pousse naturellement dans les endroits humides et ombragés (Iserin, 2001). Il se trouve surtout dans les forêts dont le climat se caractérise par des précipitations concentrées durant l'hiver et qui vont du mois d'octobre au mois d'avril (Beloued, 1998; Mekious et Houamni, 2002).

C'est une espèce pionnière qui se régénère abondamment dans les vieux jardins, en particulier en sous-bois. Elle apprécie les terrains relativement fertiles et bien drainés (Iserin, 2001). En ce qui concerne les pays producteurs du Laurier noble, on pourrait citer principalement l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Syrie, l'Espagne, le Maroc, l'Albanie et la France, mais aussi le groupement des états indépendants (autre de la Mer noire) ainsi que

l'Amérique centrale et l'Amérique du Sud. Les pays du bassin méditerranéen, notamment la Turquie, la Syrie sont les principaux pays exportateurs de cette plante comme montre la figure 02 (Teuscher et al., 2005).



Figure 2: Distribution des Lauracées à travers le monde (Steven et Davis, 2001)

3. Caractérisation botanique et morphologique

3.1. Description générale

Laurus nobilis L. est un grand arbuste. Son écorce, de couleur grise, peut atteindre jusqu'à 6 mètres de haut et même 15 mètres à l'état sauvage. C'est pour cela qu'il est fréquemment taillé en arbrisseaux. Sa forme pyramidale présente un feuillage dense vert foncé et persistant. Il est connu généralement par sa croissance lente d'environ 5 à 6 mètres en vingt ans comme il peut facilement devenir centenaire (Geerts et al., 2002).

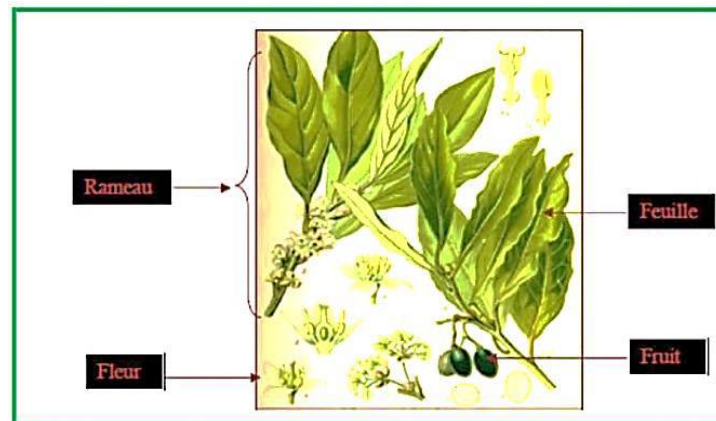


Figure 3: Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L. (Beloued, 2005)

1.1.1. Les ports

Il s'agit d'un arbrisseau aromatique de 8 m. il est dressé et fortement ramifié à la base. Il a une tête conique qui s'arrondit avec l'âge et qui supporte aisément la taille dioïque comme montre la figure 03 (Quezel et Santa, 1963).

1.1.2. L'écorce et les tiges

Le tronc a une écorce vert olive à noir au début de sa croissance. Elle devient grise par la suite et prend plusieurs années pour sa constitution. En revanche, les tiges sont de couleur verte et sont dirigées vers le haut (**Botineau et Pelt, 2015**).

1.1.3. Les feuilles

Le feuillage du *Laurus nobilis* L. est caractérisé par sa persistance et sa couleur vert foncée sur le dessus et plus clair en dessous. Ses feuilles sont allongées voire lancéolées ayant des extrémités pointues et un pétiole court. Le limbe a un bord ondulé légèrement épais et recourbé vers l'intérieur. Les feuilles mesurent environ 3 à 5 cm de large sur 10 cm de long. Velues au début, elles prennent ensuite un aspect brillant et glabre (figure 04).

En outre, les parois de la cellule imprégnées de lignine et l'enfoncement des stomates augmentent la résistance de la plante quant aux températures, basses ou élevées. Les feuilles ont également une odeur aromatique caractéristique quand elles sont froissées. Ceci est dû à la présence de grandes cellules sécrétrices situées dans le parenchyme palissadique (**Teuscher et al., 2005**).



Figure 4: Feuilles de laurier noble (**Arbia, 2012**)

1.1.4. Fleurs

Laurus nobilis L. possède de petites fleurs dioïques. Leur couleur est d'un blanc-crème virant au jaune. Elles sont odorantes et groupées par 4 à 5 ombelles axillaires pédonculées. Les fleurs du *laurus nobilis* L. apparaissent en Mars – Avril (**Neves et Valente, 1992**). Par ailleurs, les fleurs sont involuquées et périanthes pétaloïdes à 4 divisions obovales égales. A noter aussi que les fleurs mâles ont 8 à 12 étamines disposés sur 2 rangs et à anthères s'ouvrant de la base au sommet par des valvules. Elles ont un style court et épais, à stigmate

subcapité, un ovaire libre entouré de 2 à 4 staminodes tripartites; dupes ellipsoïdes noires, à une seule graine (Godron, 1990).

1.1.5. Inflorescence

Le laurier noble se caractérise par le fait qu'il est une plante dioïque, ce qui signifie que les fleurs mâles et femelles sont des pieds distincts. L'inflorescence se constitue de petites ombrelles de 4 à 5 fleurs axillaires. Sa couleur est blanc-crème à blanc verdâtre (Fanit et Hadji, 2021).

1.1.6. Fruits

Le fruit du laurier se présente sous forme d'une baie ovoïde, soutenue par le tube périanthaire peu dilaté de 2 cm de longueur à 1 cm de largeur. Il est noir vernissé et renferme une seule graine libre comme montre la figure 05 (Beloued, 2005). Le mésocarpe charnu renferme de l'huile et des cellules à huile essentielle. Les cotylédons, épais, sont également riches en lipides. Ils sont verts au début puis deviennent noirs bleutés à maturité (Myose et Paris, 1976).



Figure 5: Les fruits de *Laurus nobilis* L. (Beloued, 2005)

3.2. Classification (taxonomie)

Etant le seul arbuste comestible de la famille des Lauracées, la classification du *Laurus nobilis* L. se réfère à celle proposée par Quezel et Santa (1962), synthétisée ci-dessous.

Tableau 2: Classification botanique du *Laurus nobilis* L. (Quezel et Santa, 1962)

Règne	Plantes
Sous-règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L.

4. Multiplication et plantation

La plantation du laurier se fait de préférence en automne qui est considéré comme la période la plus propice pour le rempotage des sujets en pots (**Wizelis, 2011**). Sa multiplication se fait par semis en automne même si elle est probablement difficile à réussir (**Hurtel, 2002**), ou à partir des semences au printemps. La plantation se réalise dans un baquet qu'il faut rentrer après les premières gelées nocturnes afin de les conserver entre 4 et 6°C. L'arrosage doit être régulier tout en évitant l'accumulation d'eau. En mois d'avril, les plants peuvent être mis dans un endroit ensoleillé mais abrité (**Wizelis, 2011**).

En août, on procède à la multiplication par bouturage en terre bruyère et sable, avec des sujets vigoureux et à partir des boutures constituées de fragments de tiges portant 4 à 5 feuilles, mais aussi par marcottage et division des rejets (**Wizelis, 2011**).

5. Exigences climatiques et édaphiques

Le laurier est généralement rustique. Il résiste jusqu'à - 10°C ou - 15°C et supporte les embruns marins comme il supporte aussi la sécheresse et l'ombre. Il peut être exposé au plein soleil ou éventuellement mi-ombre. Néanmoins, il aime la lumière à l'abri des vents froids. En résumé, la plante supporte mal l'hiver (**Teuscher et al., 2005**).

Le laurier pousse également dans un sol riche, léger et sablonneux, acide à calcaire et bien drainé (**Wizelis, 2011**).

6. Mesures de conservation du *Laurus nobilis* L.

Vu la présence de la plus grande station de *Laurus nobilis* L., qui est une espèce protégée en Algérie et qui est aussi menacée par les coupes illicites, une protection plus vigoureuse serait nécessaire au niveau des forêts Algériennes.

Les sites de laurier pourraient, de ce fait, constituer un laboratoire pour des recherches surtout que nos connaissances sont préliminaires sur cette plante. Les études de cette espèce s'avèrent indispensables afin de comprendre sa valeur.

Son classement sur la liste RAMSAR permettra certainement d'y prévoir des mesures de conservation plus spécifiques et de dégager des financements pour réaliser des opérations de réhabilitation et de protection (**FDR, 2008**).

A noter enfin que le laurier est très résistant aux maladies mais facilement peut être contaminé par des cochenilles et/ou de la fumagine, ce qui lui donne un aspect disgracieux (**Ducatillion, 2010**).

7. Composition chimique

7.1. Huile essentielle

Sur les 1500 000 espèces végétales (selon les botanistes, 10% seulement sont des espèces aromatiques). Et les plantes supérieures sont les seules à contenir des huiles essentielles. Ces dernières, et selon la pharmacopée française de 1965, sont des extraits ayant une composition complexe qui contient les principes volatils des plantes qui, pendant le processus de préparation, subissent des modifications (**Robin, 2017**).

Les huiles essentielles sont définies comme étant des liquides aromatiques très concentrés renfermant des mélanges complexes des substances volatiles constituées de plusieurs dizaines de composés (figure 06 et 07) (**Ochoa, 2005**).

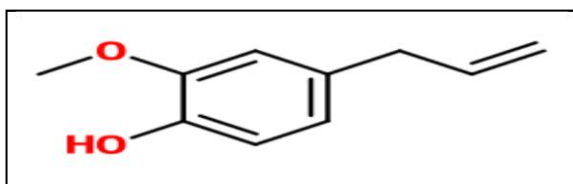


Figure 6: Structure chimique de l'eugénol (**Bouhalit, 2023**)

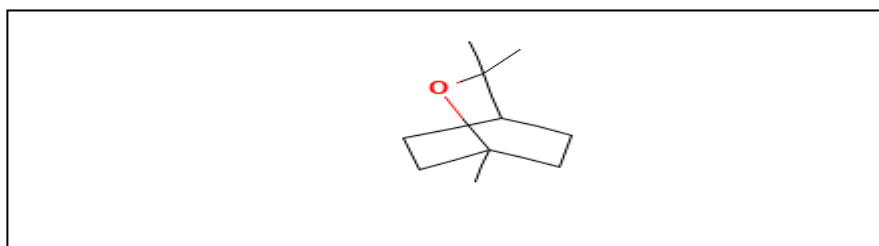


Figure 7 : Structure chimique de 1,8-cinéole (**NCBI, 2024**)

L'huile essentielle du laurier se caractérise par plusieurs vertus dont le fait d'être utilisée comme anti septique, diaphorétique, antirhumatismale, digestive et diurétique. En plus de cela, c'est un composant de parfum (**Simic et al., 2004**) ainsi qu'il est employé comme additif servant à conserver la viande, les fruits de mer et certains produits agricoles et ce en raison de ses activités antioxydants et antimicrobienne.

Finalement et pour son activité biologique, de ses attributs gustatifs et ses constituants aromatiques actifs, l'huile essentielle du laurier est largement utilisée comme additif dans les industries alimentaire et cosmétique (**Franco-Véga et al., 2019**). Les principaux composants des huiles essentielles issues d'échantillons de feuilles et de fruits de laurier provenant de diverses régions du monde sont présentés dans le tableau 03.

Tableau 3: Principaux composants des huiles essentielles de feuilles et de fruits de laurier (Ilić *et al.*, 2024)

Partie de la plante	Pays	Composants principaux
Feuilles	Espagne	1,8-cinéole (51.95%)
	Chine	Eugénol (44,13 %)
	Italie, Géorgie	1,8-cinéole, acétate de α -terpinyle, sabinène
	Grèce	1,8-cinéole, acétate de α -terpinyle, α -terpinéol
	Tunisie	1,8-cinéole, acétate de α -terpinyle, sabinène, α -pinène
	Turquie	1,8-cinéole (41,1 %), sabinène (6,96 %), α -pinène (5,94 %), acétate de α -terpinyle (5,72 %)
	Algérie	1,8-cinéole (30,1 %), acétate de α -terpinyle (21,6 %), méthyl eugénol (16,9 %)
	Albanie	Eucalyptol (41,8–48,2 %), linalool (8,8–11,9 %), sabinène (8,9–11,7 %), acétate de terpinyle (8,4–10,8 %), α -pinène (4,8–6,0 %)
	Croatie	1,8-cinéole (38,94–58,13 %), linalool (1,99–18,33 %)
Fruits	Turquie (mer Noire)	Eucalyptol (17,2 %), acétate de α -terpinyle (9,0 %), oxyde de caryophyllène (6,1 %)

7.2. Composition chimique des feuilles du laurier

Les parties les plus utilisées du *Laurus nobilis* L. sont surtout les feuilles fraîches (Messaoudi, 2008). Ces dernières sont principalement utilisées par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructation (Iserin, 2001). En médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été employées pour l'épilepsie et le parkinsonisme (AqiliKhorasani, 1992).

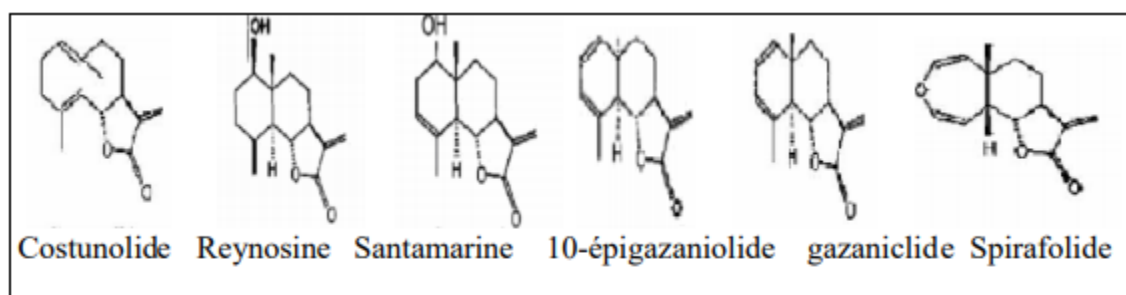


Figure 8: Structures chimiques de quelques composés identifiés dans les feuilles de *Laurus nobilis* L. (Fang *et al.*, 2005)

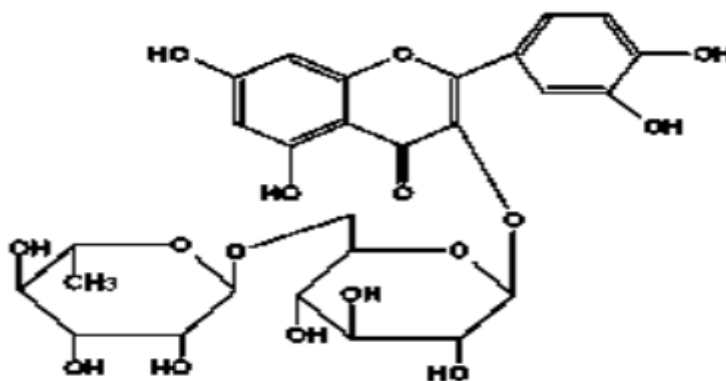


Figure 9: Structure chimique de la rutine (Hammamdia,2010)

Tableau 4: Composition chimique des feuilles de laurier noble

Classes	Composés	Références
Lactones sesquiterpéniques	La déhydrocostuslactone, érémantine, désacétyllaurénobiolide, laurénobiolide, reynosine, santamarine	(Yoshikawa <i>et al.</i> , 2000)
Alcaloïdes	Actinodaphonine, isodomecine, launobine, N-méthylactinodaphonine, nandigérine, néolitsine et réticuline.	(Brigitte et Bruneton, 1982)
Flavonoïdes	Principalement la rutine, l'isoquercitrine, l'hypéroside et kaempférol-3 rhamnoside et 3-arabinoside. Le kaempférol-3-rhamnoside, 2-p-coumaroyles.	(Fiorini <i>et al.</i> , 1998 ; Kang <i>et al.</i> , 2002).
Hétérosides de lignanes	Méthoxyisolaricirénol-9-O-xylosides, -O-sécoisolaricirénol-9-O-xylosides.	(Uchiyama <i>et al.</i> , 2002)
Acides phénoliques	Acide phénylacrylique, carbonique : libres ou estérifiés, acides p-coumarique, fénulique, sinapique, gentisique et vanillique.	(Barla <i>et al.</i> , 2007)

8. Usages traditionnels du *Laurus nobilis* L.

Le laurier est réputé pour ses multiples vertus médicinales. Il est utilisé pour traiter les troubles digestifs et les douleurs arthritiques, tout en stimulant l'appétit et les sécrétions gastriques. Traditionnellement, ses feuilles en infusion agissent comme un tonique pour l'estomac et la vessie, et en cataplasme, elles soulagent les piqûres d'insectes. L'écorce, quant à elle, aide à dissoudre les calculs rénaux et à soigner les affections du foie. Ajoutée à l'eau du bain, une décoction de feuilles apaise les membres endoloris (Larousse, 2001). La médecine traditionnelle turque valorise son extrait aqueux pour ses propriétés anti-hémorroïdales, antirhumatismales, diurétiques, et comme antidote contre le venin de serpent (Kivcak et Mert, 2002). Comme le soulignent Ferreira *et al.* (2006), au-delà de ses usages établis en

cuisine et en médecine traditionnelle, le profil de cette plante suggère un potentiel pour de nouvelles applications.

9.Utilisation en parfumerie et cosmétique

L'huile essentielle de feuilles est utilisée en cosmétique pour la parfumerie, les savons et les crèmes. Riches en acides gras, les baies servent à fabriquer des bougies ainsi que des savons parfumés traitant l'acné et les pellicules (Aquino *et al.*, 2024 ; Ekakitie,2024).

10.Propriétés pharmacologiques et activités biologiques

Laurus nobilis L.est une plante médicinale aromatique qui a des propriétés thérapeutiques en attribuant à la médecine traditionnelle et à la pharmacologie diverses propriétés anti-inflammatoires et antiseptiques grâce à ses composants (Bouchaale *et al.*, 2015).De multiples études ont été consacrées à l'utilisation large des feuilles, des baies et leurs huiles essentielles (Careda *et al.*, 2002;Kilie *et al.*, 2004).

10.1.Activité antimicrobienne

➤ Activité antifongique

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. présente une activité antifongique notable. Contre *Candida albicans*, sa CMI a été déterminée à 0,5 µg/mL par la méthode de micro dilution (Hou & Hunag, 2024). De même, une autre étude sur *Fusarium sporotrichioides* a confirmé ce fort pouvoir antifongique, atteignant un indice d'inhibition de 100 % à une concentration de 0,5 % (Salhi *et al.*, 2015).

➤ Activité antibactérienne

L'huile essentielle de laurier présente une forte activité antibactérienne contre de multiples espèces, tant à Gram positif qu'à Gram négatif (El Malti et Amrouch, 2009). Cette efficacité est principalement attribuée à sa teneur élevée en 1,8-cinéole, son composant majoritaire (Alejo-Armijo *et al.*, 2017).

➤ Activité anti biofilm

Les biofilms, définis comme des communautés microbiennes complexes et hautement résistantes aux antimicrobiens, constituent une menace majeure pour la santé publique, l'industrie agroalimentaire et les systèmes de distribution d'eau potable (Sanchez *et al.*, 2016). Face à ce défi, les huiles essentielles se révèlent être une stratégie prometteuse pour leur éradication et le contrôle de leur formation, agissant souvent en complément des antibiotiques et désinfectants. Le mécanisme d'action de l'huile essentielle de laurier illustre bien ce potentiel : son caractère hydrophobe lui permet d'altérer la perméabilité de la membrane

cellulaire bactérienne. Cette modification structurelle entraîne une cascade d'effets délétères, incluant la coagulation du cytoplasme, la fragmentation de l'ADN et l'inhibition du quorum sensing (QS). De plus, ces huiles perturbent les mécanismes de régulation de la croissance et de la nutrition bactériennes (El Tarabily *et al.*, 2021).

10.2. Activité anti-inflammatoire

L'extrait éthanolique (80%) de feuilles de laurier séchées, administré par voie orale à des rats (100 mg/kg), a inhibé de 19% l'œdème induit. Par ailleurs, les extraits à l'acétate d'éthyle et à l'hexane, appliqués par voie topique sur l'oreille de souris (20 µL/animal), se sont montrés actifs contre l'inflammation induite par l'acétate de phorboltétradécanoyle (TPA) (Olivier et Imael, 2017).

En 2005, l'équipe de Fang *et al.* a isolé et identifié six composés actifs à partir des fruits et des feuilles du *Laurus nobilis* L. Il s'agit de six lactones sesquiterpènes qui présentent diverses propriétés pharmacologiques, notamment un effet anti-inflammatoire.

10.3. Activité antioxydant

L'huile essentielle et l'extrait méthanolique d'huile de graine de *Laurus nobilis* L. ont démontré une activité antioxydant significative lors de tests utilisant le piégeage du radical DPPH et le β-carotène/acide linoléique (Simié, 2003; Ozcan *et al.*, 2010).

10.4. Activité antidiabétique

Les feuilles de *Laurus nobilis* L. (Laurier noble) possèdent des propriétés antidiabétiques et la capacité de renforcer la glutathion S-transférase hépatique. Une étude de Bechkri et Meslem (2018) a montré qu'un extrait éthanolique de ces feuilles, administré à des doses de 200 à 600 mg/kg, réduit significativement la glycémie. Une autre recherche a mis en évidence que son huile essentielle inhibe fortement (à plus de 90 %) l'alpha-glycosidase intestinale, et ce, dès une concentration de 7,5 µg/ml (Khan *et al.*, 2009).

11. Etude toxicologique (toxicité)

Laurus nobilis utilisé à des doses excessives provoque des effets narcotiques. A ce propos, une irritation cutanée légère peut apparaître lors d'une application locale (Aouadhi, 2010). Effectivement et avant toute expérience, il semblerait que les feuilles du laurier ainsi que son huile essentielle ne présentent pas une toxicité significative. Néanmoins, elles peuvent engendrer des réactions de sensibilisation, notamment des dermatites de contact allergiques car elles renferment des lactones sesquiterpéniques dont le costunalide. Ces derniers présentent un groupement méthyle exo cyclique, ce qui explique le potentiel de sensibilisation modéré exercé par la drogue.

Une fois cuit, le laurier garde toujours son caractère allergisant, ce qui conduit à des manifestations allergiques, en l'occurrence des inflammations buccale et/ou stomacale.

Par ailleurs, le fruit du laurier a toujours été utilisé à des fins rituelles et médicinales pour ses principes actifs distribués dans les feuilles, les fleurs, les racines et les baies. A noter, en plus, que ses principaux composés sont le 1.8- cinéole, l'eugénol et le géraniol. Pris à des doses variantes, il peut provoquer des hallucinations visuelles et auditives ainsi que des convulsions, des tremblements, de la léthargie, des confusions, du délire voire une psychose qui pourrait durer de deux à trois jours (**Fanit et Hadji,2021**).

Chapitre 02 :

Les biofilms

1. Généralités

1.1. Qu'est-ce qu'un biofilm ?

Un biofilm (ou film biologique) est défini comme un amas de divers micro-organismes assemblés et protégés par des glucides. Autrement dit, il s'agit de micro-organismes liés irréversiblement à une surface et enchâssés dans une matrice exo polymérique. Cette matrice est produite par des cellules composantes du biofilm. Les organismes associés aux biofilms diffèrent de ceux en phase planctonique en ce qui concerne le phénotype, le taux de croissance et les gènes transcrits (**Donlan, 2002; Donlan et Costerton, 2002**).

Les amas de cellules formés sont enveloppés d'une matrice extracellulaire s'adhérant sur les surfaces biotiques ou abiotiques (**Macias-Paz et al., 2023; Malinowska et al., 2023**). Cette structure tridimensionnelle garantit ainsi une protection contre les agents antimicrobiens, les cellules immunitaires et les conditions environnementales hostiles (**Bonhomme et d'Enfert, 2023**).

On peut citer, parmi les micro-organismes capables de former des biofilms, les bactéries, les algues, les protozoaires et les champignons. Les biofilms peuvent comprendre une seule espèce mais, en général, ils sont mixtes dans la nature. Les micro-organismes peuvent se développer sur une grande variété de surfaces dont les dispositifs médicaux, les canalisations des systèmes d'eau potable ou industrielle, les tissus vivants ou sur des supports qui se retrouvent dans le sol ou dans des milieux aquatiques (**Donlan, 2002**).

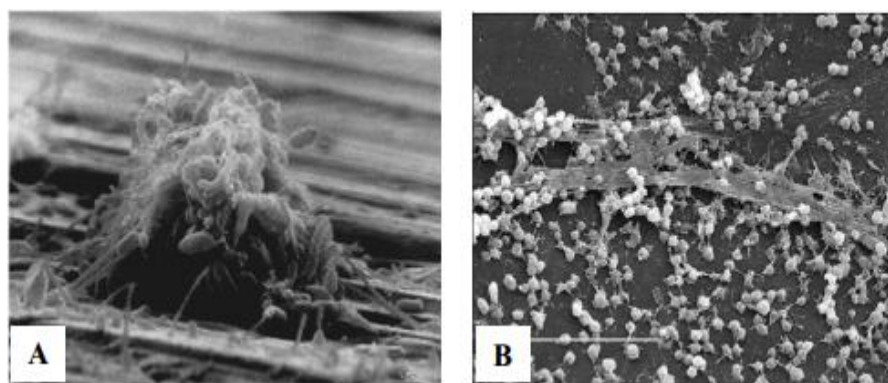


Figure 10: Exemples de biofilms (**Donlan et Costerton, 2002 ; Donlan, 2002**).

A – biofilm formé sur une surface métallique (**Donlan et Costerton, 2002**).

B – biofilm formé sur la surface d'un dispositif médical (**Donlan, 2002**).

Par ailleurs, il a été révélé que la croissance des micro-organismes sous forme de biofilm l'emporte sur tous les systèmes naturels, industriels ou médicaux (**Costerton et al., 1995**).

En dépit de la description des biofilms pour la première fois au XVII^{ème} siècle par Antonie Van Leeuwenhoek, la théorie des biofilms a été présentée et élaborée uniquement en 1978 par John William Costerton (**Costerton et al., 1978**).

Les biofilms sont responsables de graves problèmes dans divers secteurs de l'activité humaine où sont enregistrés 65% des infections bactériennes rencontrées en milieux hospitaliers (**Lewis, 2007**). Ils peuvent causer aussi dégâts importants dans l'industrie, l'agro-alimentaire (**Costerton et al., 1995**). A noter, en outre, qu'on a associé plusieurs infections et maladies humaines au développement des biofilms notamment les parodontites, la carie dentaire, la stomatite prothétique, la fibrose kystique, l'ostéomyélite et même les infections nosocomiales relevées aux implants médicaux (lentilles de contact, tubes endotrachéaux, cathéters, valves cardiaques artificielles ou prothèses articulaires (**Costerton et al., 1999; Fux et al., 2003; Richards et Melander, 2009; Filoche et al., 2010**).

Néanmoins, ces micro-organismes ont aussi des côtés positifs voire vitaux concernant les biofilms physiologiques. A ce propos, on notera que les biofilms sont utilisés dans les procédés de traitement des eaux usées et représentent même des agents géochimiques importants dans les environnements de surface (**Nicolella et al., 2000**). C'est ainsi que l'étude des biofilms et leur contrôle sont considérés comme primordiaux pour la société et constituent des enjeux de santé publique.

1.2. Formation et développement du biofilm microbien

Le développement d'un biofilm microbien s'effectue en plusieurs étapes. Dans un premier lieu, les cellules sont attachées aux surfaces qui ont des propriétés physicochimiques adéquates et ce à l'aide des appendices cellulaires tout en y adhérant irréversiblement en s'enrobant dans une matrice exopolymérique. Ensuite, le rassemblement des cellules constitue des micro colonies dont la différenciation mène à l'élaboration du biofilm (**Stoodley et al., 2002**). Dans le biofilm mature, les micro colonies sont séparées par des canaux aqueux permettant la circulation des nutriments et des gaz et par conséquent l'élimination des déchets (**Stoodley et al., 1994**). Finalement et en cas de carence nutritionnelle, les cellules se détachent du biofilm et reviennent au mode de croissance planctonique (**Stoodley et al., 2002**).

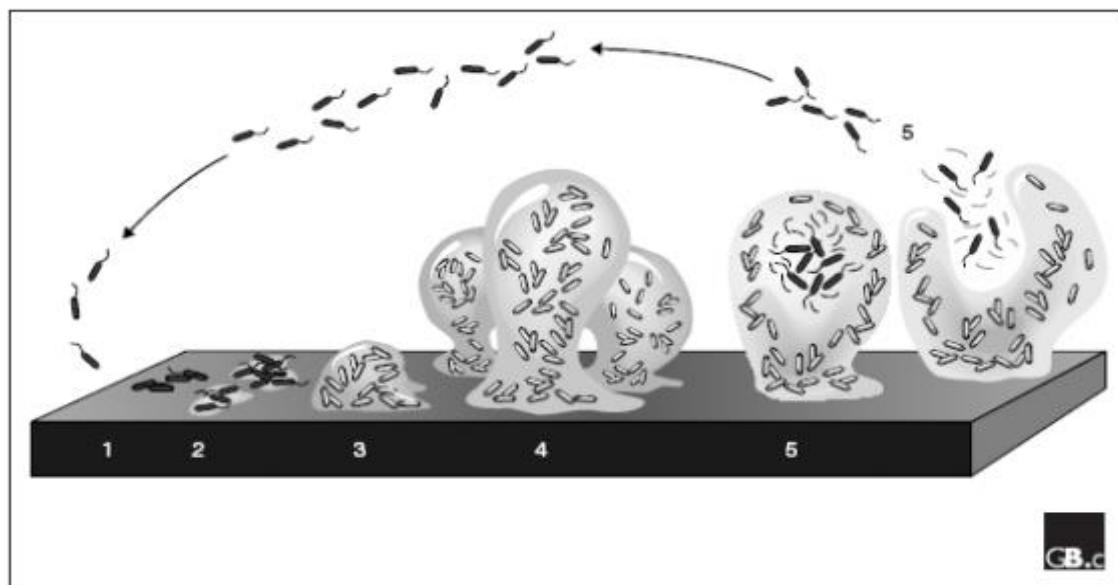


Figure 11: Les étapes du développement du biofilm bactérien (Stoodley *et al.*, 2002; Sauer, 2003)

Il faut savoir, par ailleurs, que les scientifiques se demandent toujours pourquoi les micro-organismes sont assemblés et vivent dans de telles communautés structurales complexes. Les études révèlent que les biofilms constituent une stratégie de survie et de prolifération microbienne. Les biofilms ont fait leur apparition il y a environ 3.25 milliards d'années et ont permis aux micro-organismes de survivre dans des milieux hostiles et de coloniser de nouvelles niches (Hall-Stoodley *et al.*, 2004). Ces communautés montrent une grande résistance aux traitements antimicrobiens et à l'immunité de l'hôte. Cette résistance est attribuée à la pénétration limitée des agents antimicrobiens dans la matrice exopolymérique ainsi qu'à la survie d'une petite sous population des cellules dormantes, les persistanceurs, qui recolonisent, par la suite, le biofilm (Fux *et al.*, 2003 ; Lewis, 2007, 2010).

Cependant et malgré leur résistance accrue, les biofilms ont des prédateurs naturels notamment les protozoaires, les bactériophages et les leucocytes polymorphonucléaires. De même que la compétition inter espèces peut se produire dans les biofilms mixtes (Donlan, 2002; Nadell *et al.*, 2009).

1.3. Quorum sensing

Les bactéries sont capables d'afficher une réponse collective à l'environnement tout en démontrant un même comportement quand elles sont mises dans certaines conditions environnementales. Il s'agit d'une indication de la communication entre les individus de la population (Riedel *et al.*, 2001). Quorum sensing (QS) est le nom donné à cette forme de communication qui dépend des signaux de densité cellulaire (Lamouri, 2020).

En général, maintes espèces bactériennes à Gram négatif utilisent les acylhomosérines lactones (AHL) en tant que molécule de signalisation alors que d'autres molécules n'ont pas encore été identifiées. Pour les bactéries à Gram positif, un traitement post-transcriptionnel des peptides est utilisé comme auto-inducteur ou des γ -butyrolactones (Xai-Leung et Bassler, 2009).

2. Les biofilms chez *Candida albicans*

2.1.Définition

Les *Candida albicans* se définissent comme étant des levures pathogènes se caractérisant par de multiples facteurs de virulence comme la transition morphologique, la sécrétion des enzymes hydrolytiques et la capacité à former un biofilm (Talapko *et al.*, 2021). Autrement dit, *Candida albicans* forment une espèce fongique souvent associée à la formation du biofilm. A signaler que les espèces de *Candida* sont responsables d'environ 20% des infections dues aux dispositifs médicaux qui sont implantés (Kojic et Darouiche, 2004).

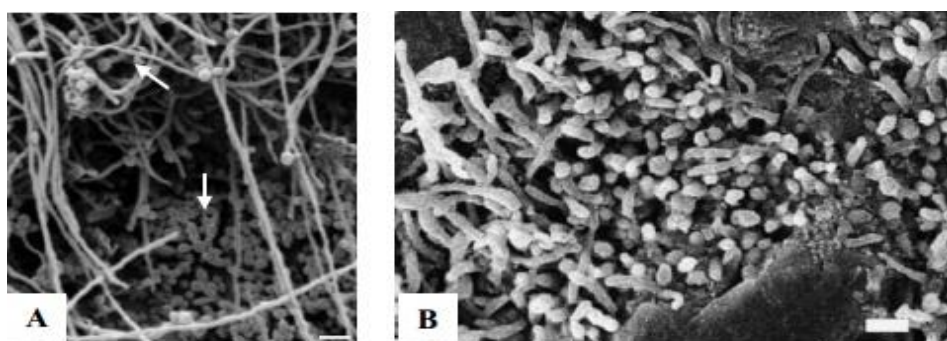


Figure 12: Biofilm de *C. albicans* (Douglas,2003; Ramage *et al.*,2004)

A- Micrographie électronique d'un biofilm de *C. albicans* formé sur un cathéter en PVC : on note l'aspect diphasique du biofilm couche basale de blastospores + une couche supérieure avec des formes filamenteuses, barre d'échelle = 10 μ m (Douglas, 2003)

B – Micrographie électronique d'un biofilm de *C. albicans* formé sur une prothèse dentaire d'un patient atteint d'une stomatite prothétique, barre d'échelle = 5 μ m (Ramage *et al.*,2004).

2.2. Composition du biofilm

Le biofilm se présente comme une architecture complexe tridimensionnelle. Cette architecture comprend des cellules de levures, des pseudo hyphes et des hyphes englobés dans une matrice extracellulaire (Lohse et Johnson, 2009).

➤ La matrice extracellulaire

C'est une barrière sélective qui sert à séparer les cellules contenues dans le biofilm et le compartiment externe. Sa composition (figure 13) est variable en fonction des changements

des conditions de croissance et la localisation de biofilm chez l'hôte (Wijaya *et al.*, 2023). La matrice extracellulaire se constitue majoritairement des glycoprotéines et des glucides, mais les polysaccharides qui dominent sont les mannanes α -1,2 ramifié et α -1,6 qui s'associent au β -1,6 glucane linéaire et à une petite quantité de β -1,3 glucane. Ceci confère la résistance aux antifongiques. La matrice possède, en plus, des molécules lipidiques et des acides nucléiques extracellulaires (Atriwal *et al.*, 2021).

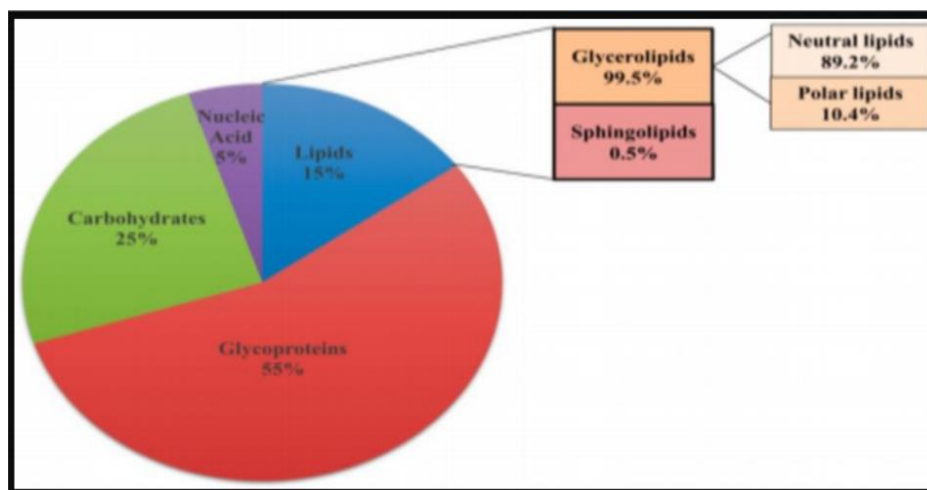


Figure 13: Composition de la matrice extracellulaire de biofilm des *C. albicans* (Alim *et al.*, 2018).

2.3. Mécanismes de formation de biofilm

La formation de biofilm chez *Candida albicans* est un processus complexe qui se déroule en quatre étapes essentielles (Rapala-Kozik *et al.*, 2019).

2.3.1. L'adhésion

Cette étape se caractérise par la fixation des cellules de levure flottantes à des surfaces vivantes, notamment les muqueuses, les vaisseaux sanguins, ou non vivantes comme les dispositifs médicaux. Cela se fait par les adhésines telle que la famille des séquences de type agglutinine (ALS), qui sont des glycoprotéines de la paroi cellulaire (Ponde *et al.*, 2021). Les protéines impliquées sont les ALS 1, ALS 3 et ALS 5 assurant les interactions entre les cellules, ce qui mène à la formation d'un agrégat cellulaire fixé sur la surface (Xu *et al.*, 2022).

2.3.2. La prolifération

Cette deuxième phase se caractérise par la croissance et l'augmentation du nombre de cellules de levure qui se propagent en vue de former la structure filamenteuse hyphale. Durant

ce processus, des enzymes de la famille hydrolase sont libérées par les *Candida albicans* en l'occurrence les protéines aspartiques secrétées (Saps) qui permettent aux cellules de biofilm de s'agréger et de communiquer entre elles (Rapala-Kozik *et al.*,2019).

2.1.3. La maturation

Cette étape aboutit à une structure tridimensionnelle formée d'un réseau complexe de plusieurs couches de cellules polymorphes, notamment des cellules hyphales, des cellules pseudo-hyphales et des cellules de levure rondes englobées dans une matrice extracellulaire. Durant cette organisation, de nombreux pores et canaux d'eau se forment pour assurer la circulation des molécules de quorum sensing permettant la communication entre le biofilm et son environnement (Ponde *et al.*,2021;Malinovska *et al.*,2023).

2.1.4. La dispersion

Cette quatrième étape concerne la description du processus qui permet aux cellules non adhérentes de se détacher pour coloniser un autre environnement favorable à la formation d'un nouveau biofilm. Ceci est assuré par la protéine de la paroi fongique qui est une glycoprotéine de la paroi cellulaire. Elle a des propriétés antiadhésives. A signaler enfin que les cellules dispersées se caractérisent par la capacité à former des filaments, une adhésion améliorée, une sensibilité réduite aux antifongiques ainsi qu'une capacité accrue à endommager les cellules endothéliales (Alim *et al.* ,2018; Ponde *et al.* , 2021; Malinovske *et al.* ,2023).

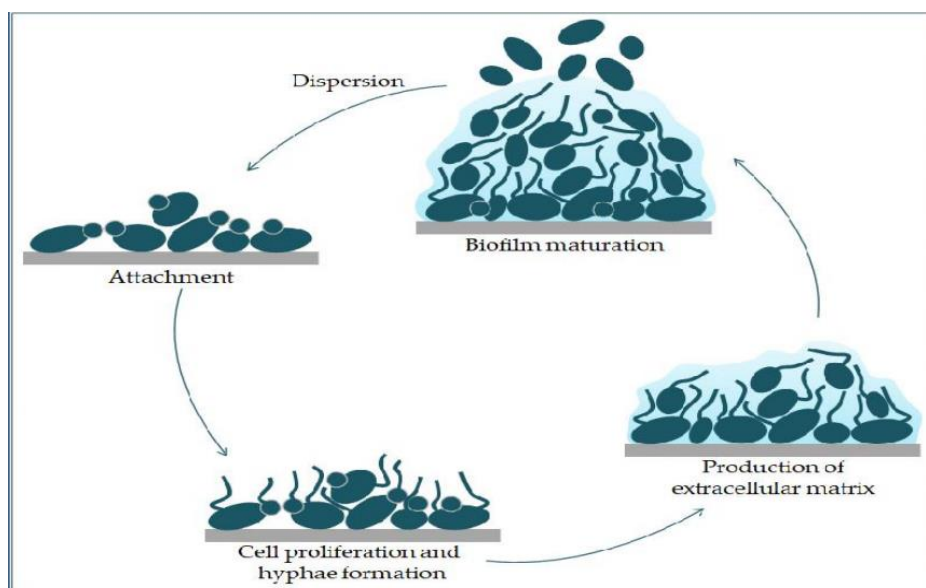


Figure 14: Mécanisme de formation de biofilm chez *C. albicans* (Talapko *et al.*, 2021).

2.4.Résistance du biofilm de *Candida albicans*

« Les cellules persistantes » est le nom donné à une population spécifique de cellules qui confèrent au biofilm une résistance majeure. Ce sont des variantes dormantes qui se détectent en présence d'antifongiques et se trouvent au fond d'un biofilm (**vila et Rozental, 2016**). Les cellules persistantes activent une réponse aux stress oxydatifs par la surexpression des super oxydes dismutases (SOD) permettant la protection des cellules. Elles expriment, en outre, une enzyme corrélée à la survie prolongée après l'exposition à l'amphotéricine B appelée « alkyle hydroxyde réductase » (**Wuyts et al., 2018**).

2.5.Impact du biofilm de *Candida albicans* sur la santé humaine

La formation de biofilm par les *Candida albicans* présente une contrainte non négligeable pour plusieurs secteurs comme l'environnement, l'agro-alimentaire voire les établissements hospitaliers (**Rodriguez et al., 2020**). Les biofilms peuvent facilement se former sur les tissus biologiques ou sur les matériaux médicaux (**Gulati et Nabile, 2016**). Ceci engendre des infections chroniques à savoir :

- ✓ La candidose vulvovaginale: une affection des voies génitales chez les femmes (**Fanou et al., 2022**).
- ✓ La candidémie: grave affection se développant sur les cathéters intravasculaires et veineux. Elle se caractérise par sa forte capacité d'endommager les tissus humains via la voie hématogène (**Akbari et kjellerup, 2015**).
- ✓ Le muguet: candidose caractérisée par son aspect blanchâtre et crémeux touchant surtout les surfaces muqueuses (**Fanou et al., 2022**).
- ✓ La stomatite : une inflammation locale ou générale des muqueuses.

Chapitre 03 : Docking Moléculaire

1. Définition

En 1980, la méthode du docking moléculaire a été utilisée dans le domaine de la conception de médicaments assistée par ordinateur. Il est basé sur le processus d'inspection basé sur la structure. Cette technologie est plus rapide et moins coûteuse que les méthodes expérimentales (Alla, 2020).

Le docking moléculaire ou L'amarrage moléculaire est une approche couramment utilisée en chimie pharmaceutique. Cette méthode permet de prédire la capacité d'interaction entre un ligand et une protéine, ou entre deux molécules entre elles (Rayar, 2017 ; Chrysanthi, 2021).

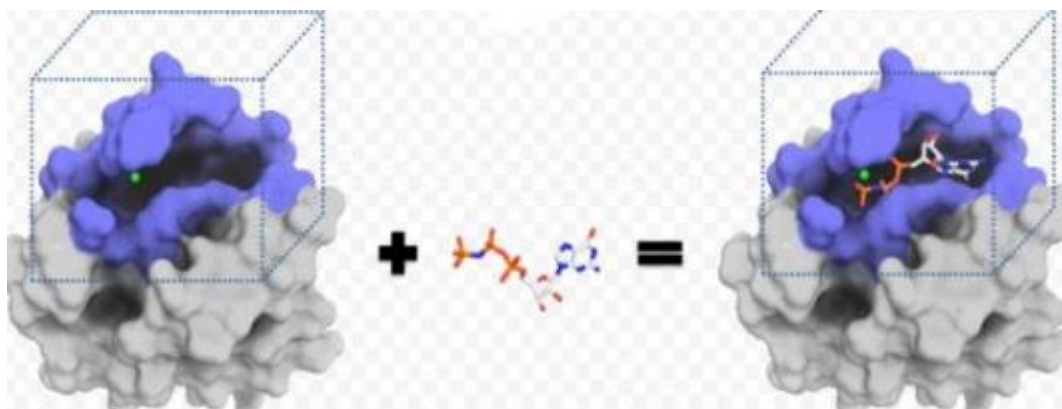


Figure 15: Docking de deux molécules (Arrault, 2007).

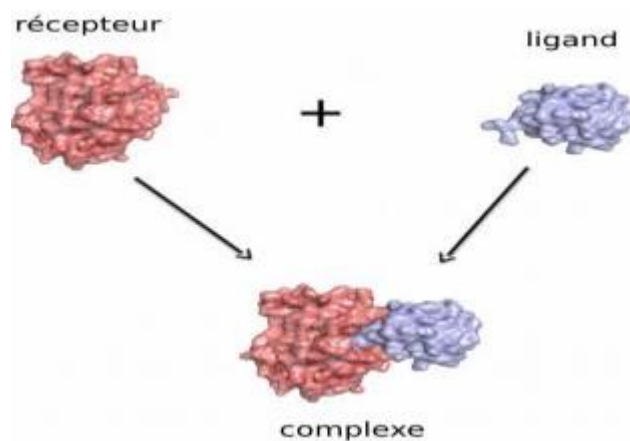


Figure 16: Docking récepteur-ligand (Hugo, 2018).

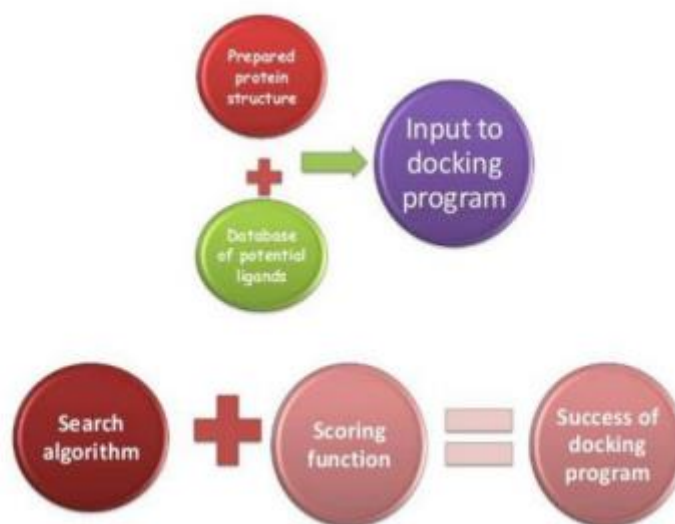


Figure 17: Programme du docking (Rahul, 2022).

2. Intérêt du docking moléculaire

Les techniques utilisées pour étudier expérimentalement la structure tridimensionnelle des complexes protéiques, telles que la cristallisation aux rayons X, la résonance magnétique nucléaire, la microscopie électronique et autres, sont devenues soumises à certaines restrictions liées à la taille et à la nature des protéines, ainsi qu'en termes de coût et de temps élevés. C'est pourquoi les scientifiques ont eu recours au développement d'une technologie d'amarrage moléculaire pour la rendre plus rapide, plus facile à appliquer et moins coûteuse (Férey *et al.*, 2009).

3. Objectifs du docking moléculaire

Le but du docking moléculaire est de déterminer la structure à partir de molécules simples. Il est également possible de prédire la direction d'une protéine vers un ligand afin d'obtenir un complexe plus stable, *in silico*. Cette méthode est donc plus simple, plus rapide et moins coûteuse que les méthodes expérimentales (Bouanane et Benloucif, 2015).

Il existe deux approches principales dans ce domaine pour prédire le modèle et le type d'interaction entre deux molécules :

- ✓ Une approche basée sur la complémentarité des surfaces
- ✓ Une approche basée sur des calculs énergétiques complexes

Les algorithmes d'amarrage moléculaire sont efficaces dans le domaine de la pharmacie, car ils sont largement utilisés dans la conception de médicaments et la découverte de composés biologiquement actifs. Ces algorithmes sont capables de déterminer le type

d'interaction entre de petites molécules (Ligands) avec une cible biologique (récepteur) et de produire une configuration tridimensionnelle (3D) (**Aurélien, 2007**).

4. Outils du docking moléculaire

Il est devenu indispensable d'appliquer le docking moléculaire dans les domaines médicales et pharmaceutique. C'est parce qu'il a un avantage thérapeutique et une importance.

4.1.Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule qui forme généralement un complexe avec un ou plusieurs atomes ou ions centraux pour servir un objectif biologique tel que la stabilité structurelle, la catalyse ou la modification de l'activité enzymatique ou la transduction du signal. Le mot ligand est dérivé du mot latin qui signifie se lier. Le ligand se lie à la protéine, modifiant ainsi sa structure tertiaire de manière spécifique et non covalente. Ce qui lui fait un rôle important dans ses fonctions

Il existe deux manières principales d'obtenir la structure du ligand :

- ✓ Utiliser des bibliothèques chimiques et des bases des données chimiques contenant des collections de molécules chimiques disponibles virtuellement ou dans le commerce. Tels que PubChem, ChEMBL, ZINC
- ✓ Concevoir et dessiner manuellement les ligands : Cette méthode nécessite des programmes de modélisation partielle tels que ChemDraw pour créer et améliorer la structure tridimensionnelle du ligand (**Dekkiche et Benaiche, 2018**).

4.2.Récepteur

Le récepteur est une macromolécule, Il possède une structure spéciale qui lui permet de se lier à une molécule spéciale appelée ligand. Il est généralement une protéine. Les structures 3D des protéines disponibles gratuitement dans la base de données PDB nous permettent d'obtenir les récepteurs. Les conformations 3D peuvent être lues à l'aide des logiciels de docking qui nous permettent d'accéder à une variété d'informations sur la protéine en question. La modélisation d'homologie est utilisée avec des protéines de séquences similaires lorsque la structure cible n'est pas disponible dans la PDB pour générer la structure 3D (**Tifourak, 2019**).

5. Différents types du docking moléculaire

5.1. Docking rigide

Dans ce type, l'amarrage entre le ligand et la cible est considéré comme l'action d'une clé et d'une serrure, où la clé (le ligand) a la taille et la forme pour ouvrir la serrure (la cible), où l'amarrage solide ne prend en compte que la rotation et la translation du ligand, ce qui limite la précision et la spécificité des résultats (Rayar, 2017).

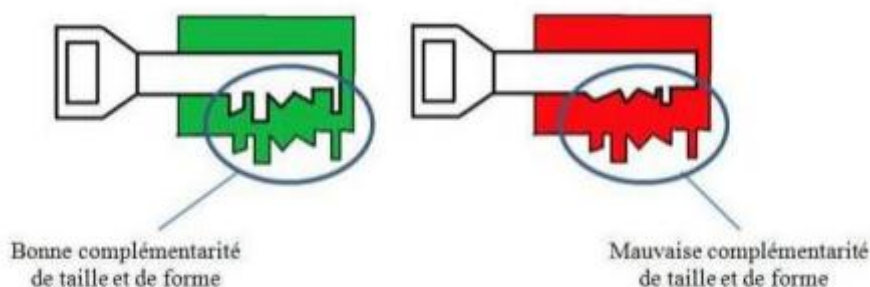


Figure 18: Docking rigide (Vuorinen et Schuster, 2015).

5.2. Docking semi-flexible

Dans le docking moléculaire, la protéine maintient sa rigidité tandis que le ligand est totalement ou partiellement flexible tout au long de ce processus (Chrysanthi, 2021).

5.3. Docking flexible

Le site actif ou la poche formé par des acides aminés ainsi que le ligand sont plus flexibles, et c'est la raison pour laquelle ce type de Docking prend un long temps pour le calcul, mais c'est le plus réaliste (Judith, 2011 ; Chrysanthi, 2021).

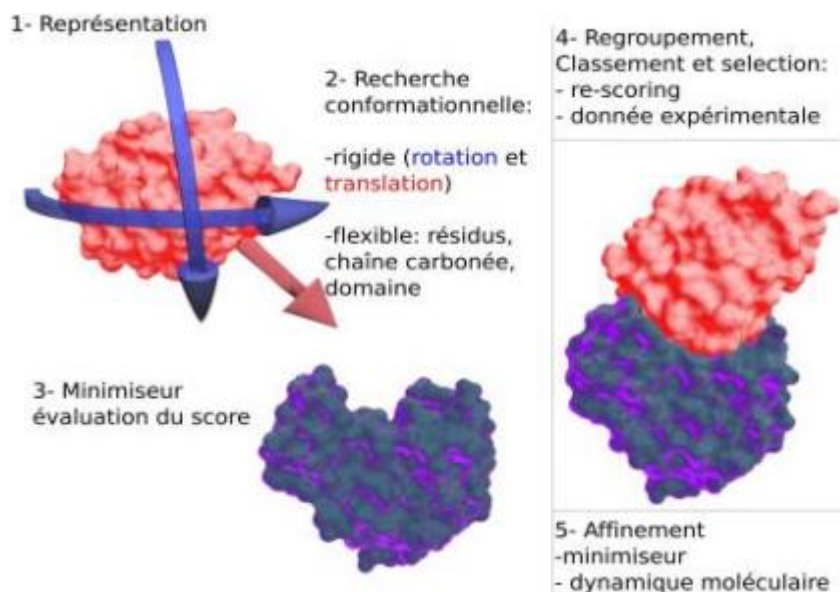


Figure 19: Schéma de protocole général du docking (Férey *et al.*, 2009).

6. Etapes du docking moléculaire

Le docking est réalisé en deux parties : une partie docking et une deuxième partie, le scoring (Daissa, 2019).

6.1. Docking moléculaire

Au cours de cette étape, les conformations les plus appropriées sont testées, au fur et à mesure que le récepteur est placé dans le site actif, puis en recherchons les correspondances. Cette étape est appelée la sélection (Daissa, 2019).

6.2. Scoring moléculaire

C'est ce qu'on appelle le classement. A ce stade, le degré auquel le ligand forme un complexe avec le récepteur est compté, puis chaque position obtenue lors du processus d'amarrage se voit attribuer un score. C'est généralement une estimation de l'affinité du ligand envers la cible qui détermine les positions les meilleures et les plus stables (Dekkiche et Benaiche, 2018).

7. Procédure du docking

Pour prédire les interactions entre un ligand et son récepteur, une procédure typique est appliquée, passant par plusieurs étapes (Aurélien, 2007).

7.1. Première étape

Plusieurs procédures ont lieu à ce stade. Premièrement, la structure du récepteur est représentée par cristallographie aux rayons X, modélisation moléculaire ou résonance

magnétique (RMN), après quoi les interactions cristallines sont vérifiées par un examen continu de la structure au niveau moléculaire (Aurélien, 2007).

7.2. Deuxième étape

A ce stade, certains des acides aminés qui composent le site actif peuvent être manquants ou flexibles, c'est pourquoi tous les acides aminés doivent être vérifiés car le docking moléculaire ne peut pas être précis dans ces cas (Aurélien, 2007).

7.3. Troisième étape

Enfin, après avoir saisi les informations nécessaires dans le programme d'amarrage moléculaire, celui-ci suggère les meilleures conformations possibles et attribue un score à chaque conformation (Aurélien, 2007).

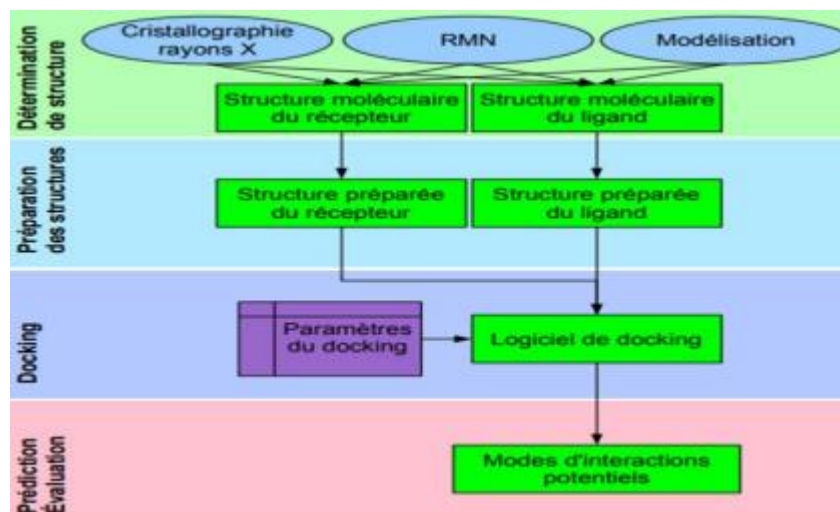


Figure 20: Etapes générales du docking moléculaire (Aurélien, 2007).

8. Applications du docking moléculaire

La conception de nouvelles molécules actives est une étape primordiale pour le développement d'un nouveau médicament ce qui peut avoir un impact positif sur la santé des patients

Les améliorations des techniques cristallographiques sont proportionnelles avec le nombre des structures résolues. Alors un tel filtrage semble important, étant donné que des milliers de molécules actives sont nécessaires pour avoir la chance qu'une d'entre elles devienne un principe actif. Les applications du docking moléculaire sont présentées ci-dessous (Aurélien, 2007) :

- ✓ Conception du médicament basée sur le docking des fragments.
- ✓ Criblage virtuel.

- ✓ Optimisation de lead et hits (analyse rétrospective pour différencier les « bons » et les « mauvais » ligands) (Chrysanthi, 2021).

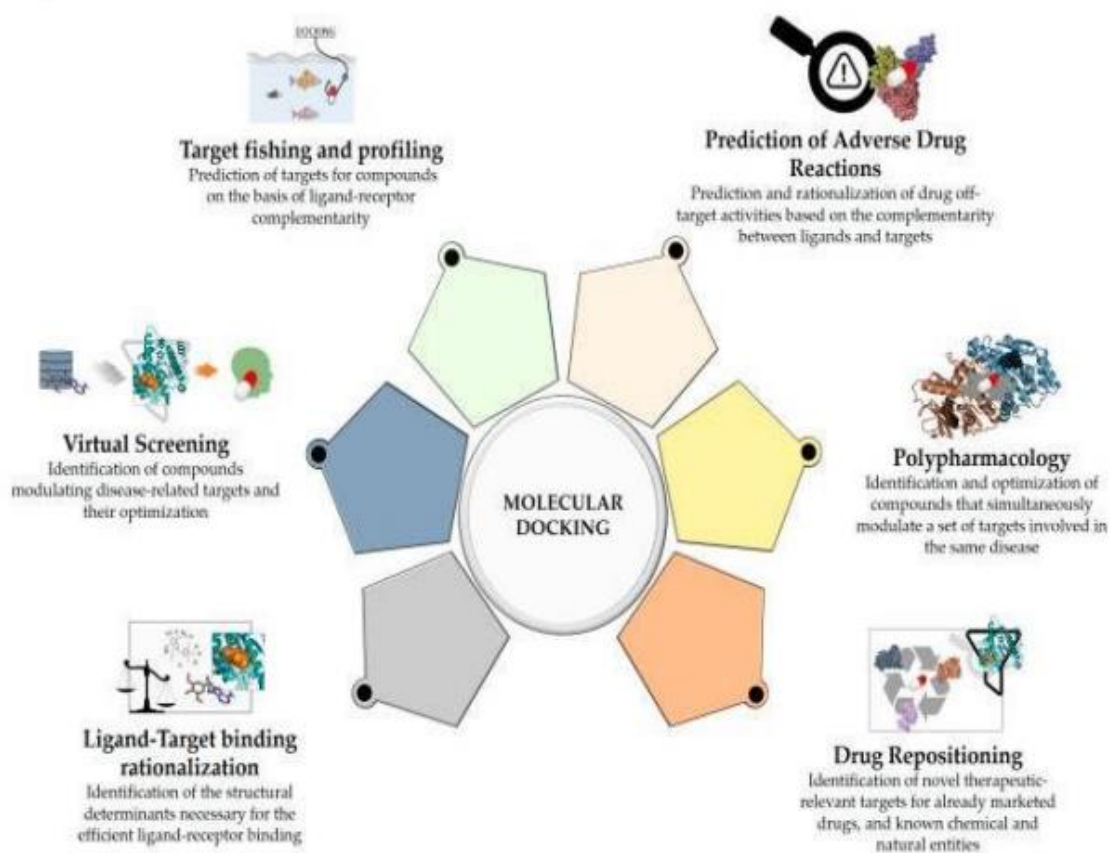


Figure 21: Application du dockingmoléculaire (Pinzi & Rastelli, 2019).

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Ordinateur personnel

Nous avons utilisé des ordinateurs personnels d'une mémoire de 4 Go sous le système d'exploitation 64 bits, pour charger les programmes dont nous avons besoin pour cette étude.

1.2. Les programmes

1.2.1. Discovery Studio 4.0 client

Un programme développé par la société BIOVIA, utilisé dans des nombreux domaines tels que la chimie computationnelle et également dans la conception et le développement des composés pharmaceutiques. Dans notre étude, nous l'utilisons pour générer des diagrammes 2D et 3D des interactions ligand-substrat et les imager à haute résolution (**Houhou et Djouama, 2023**).

1.2.2. Autodock Vina

Autodock_Vina_1_2_3_win32 est un logiciel le plus rapide et les plus utilisés pour faire le docking moléculaire, Ce programme a été initialement développé au laboratoire de micrographie par le Dr Oleg Trott. Il est désormais maintenu et développé par le laboratoire Furley du Scripps Research Institute (**Hosrom, 2023**).

1.2.3. MGL Tools (Molecular Graphics Laboratory)

MGLTools_win32_1.5.6 est un programme développé par l'institut de recherche Scripps qui est utilisé pour créer un fichier pdpqt pour le ligand et la cible qui contient des diagrammes tridimensionnels, des charges atomiques qui sont ensuite utilisées dans l'alignement moléculaire pour calculer l'énergie de liaison entre le substrat et le ligand et également pour déterminer la pose optimale (**Islam et al., 2017**).

1.2.4. OpenBabel-3.1.1

Openbabel est un logiciel de chimie expert développé par Geoffrey R. Hutchison qui est un professeur de chimie computationnelle, et à l'aide d'un groupe des chercheurs.

Il s'agit d'un système dont la tâche principale est de convertir les formats de fichiers chimiques et de traduire divers types de données moléculaires et chimiques. Il est donc utilisé dans des nombreux domaines tels que la modélisation moléculaire, la biochimie, la conception de médicaments et l'informatique chimique (**Hosrom, 2023**).

1.3. Les banques de données

1.3.1. Protein Data banque (PDB)

PDB (Protein Data Bank) est une base de données mondiale gratuite créée en 1971 sous l'égide du RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) qui aide les chercheurs en biologie structurale, les spécialistes de la conception de médicaments... car elle

est dédiée au stockage des structures tridimensionnelles des acides nucléiques, des protéines et d'autres biomolécules (**Antoine, 2006**)

1.3.2. Pubchem

Il s'agit d'une base de données chimique américaine qui fournit des informations gratuites sur plus de 110 millions de composés. Il s'appuie sur diverses sources de données pour obtenir ses informations. Il stocke un ensemble d'informations chimiques sur les essais cliniques, les structures moléculaires, les propriétés et les données spectrales, ce qui en fait une destination pour de nombreux chercheurs et également une ressource précieuse pour la découverte de médicaments et de molécules (**Kim et Bolton, 2023**).

1.4. Les cibles

✓ Agglutinin-Like Sequence 3

La séquence 3 de type agglutinine (Als3) fait partie de la famille des protéines Als chez *Candida albicans* et joue un rôle crucial dans l'adhésion et la pathogénicité. Elle contribue à l'évasion immunitaire en se liant au récepteur TIGIT des cellules NK et T (**Charpak-Amikam et al., 2022**).

1.5. Les ligands

1.5.1. La rutine

Quercétine-3-O-rutinoside est molécule composé d'un flavonol et d'un disaccharide, elle a inhibé la croissance de *Candida albicans* avec une concentration inhibitrice minimale de 37,5 µg/mL. Cependant, elle n'a pas montré de cytotoxicité envers les cellules hépatiques primaires, ce qui indique son potentiel comme candidat pour un traitement antifongique (**Ivanov et al., 2020**).

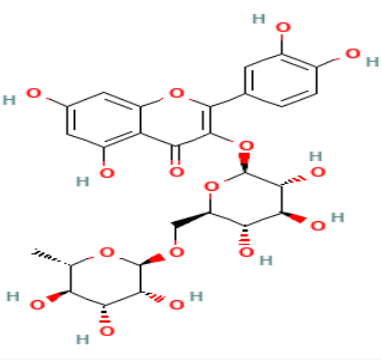
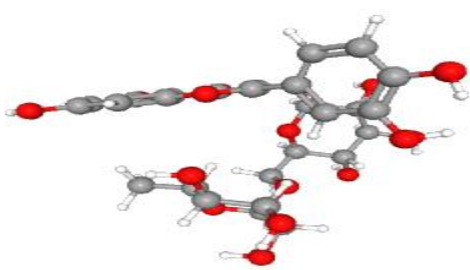
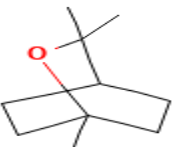
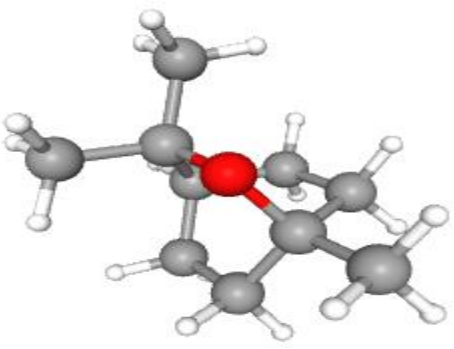
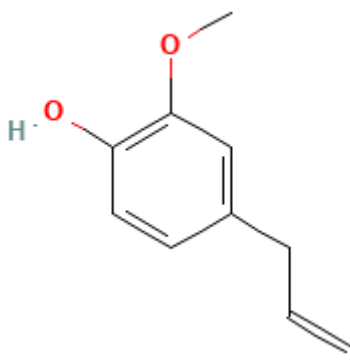
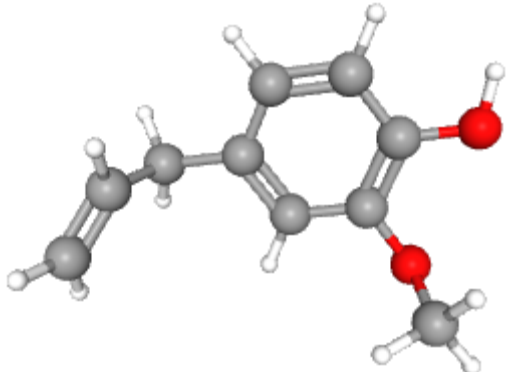
1.5.2. Eugénole

L'eugénol est un monoterpénoïde phénolique volatil présent dans des plantes aromatiques comme le clou de girofle et la cannelle. Il a des nombreuses applications dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique. Il est reconnu pour ses propriétés antimicrobiennes, anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires et analgésiques, mais peut entraîner des effets secondaires en cas d'excès (**Sharma et al., 2022**).

1.5.3. 1,8-cinéole

Le cinéole, également connu sous le 1,8-cinéole, est un monoterpène naturel présent dans diverses huiles essentielles de plantes. Ses propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et gastroprotectrices contribuent à son utilisation en phytothérapie traditionnelle et dans les produits de santé (**Ryma, 2023**).

Tableau 5: La structure 2D et 3D de la rutine, 1,8-cinéole et l'eugénol

Ligands	Structure chimique 2D	Structure 3D
Rutine		
1,8-Cinéole		
Eugénol		

2. Méthodes

2.1. Préparation du docking.

2.1.1. Préparation de la protéine (la cible).

Le téléchargement de la structure de la protéine utilisée a été réalisé sous forme PDB, à partir de la base de données Protéine Data Bank (<http://www.pdb.org>)

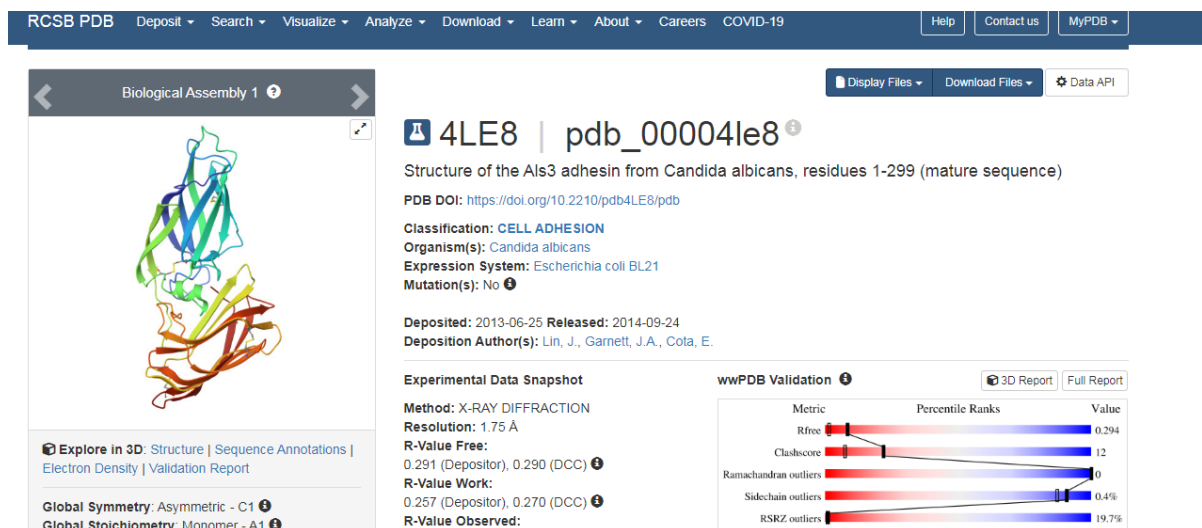


Figure 22: Structure 3D de la protéine Als3

Après avoir éliminé les molécules d'eau et les ligands en vue d'obtenir un modèle simplifié de la protéine, on a ajouté les atomes d'hydrogène en utilisant le logiciel Discovery Studio (figure 23). Les structures nettoyées ont été enregistrées ensuite au format PDBQT, par le logiciel Auto Dock Tools (figure 24).

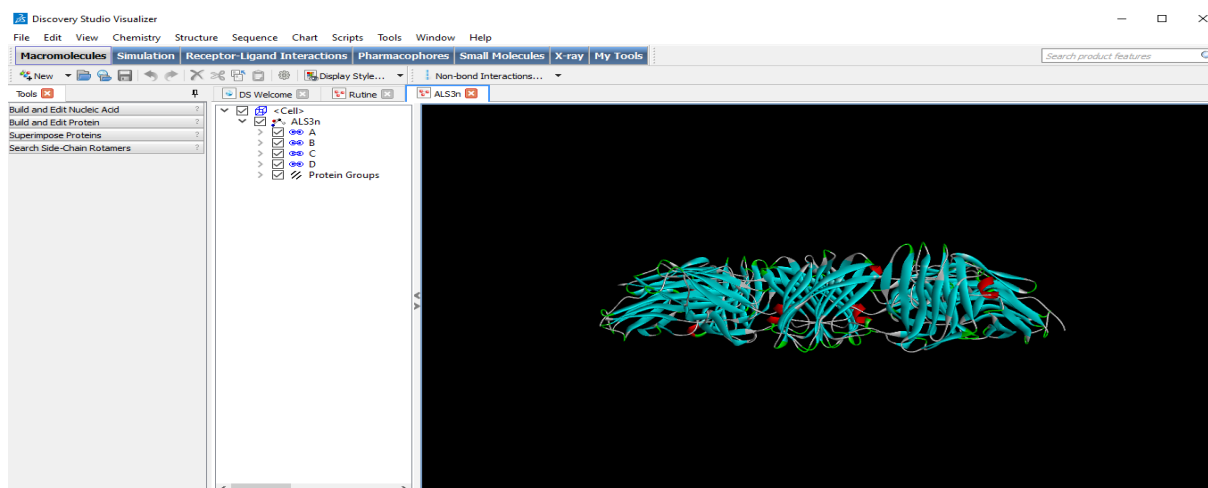


Figure 23: La cible après le nettoyage.

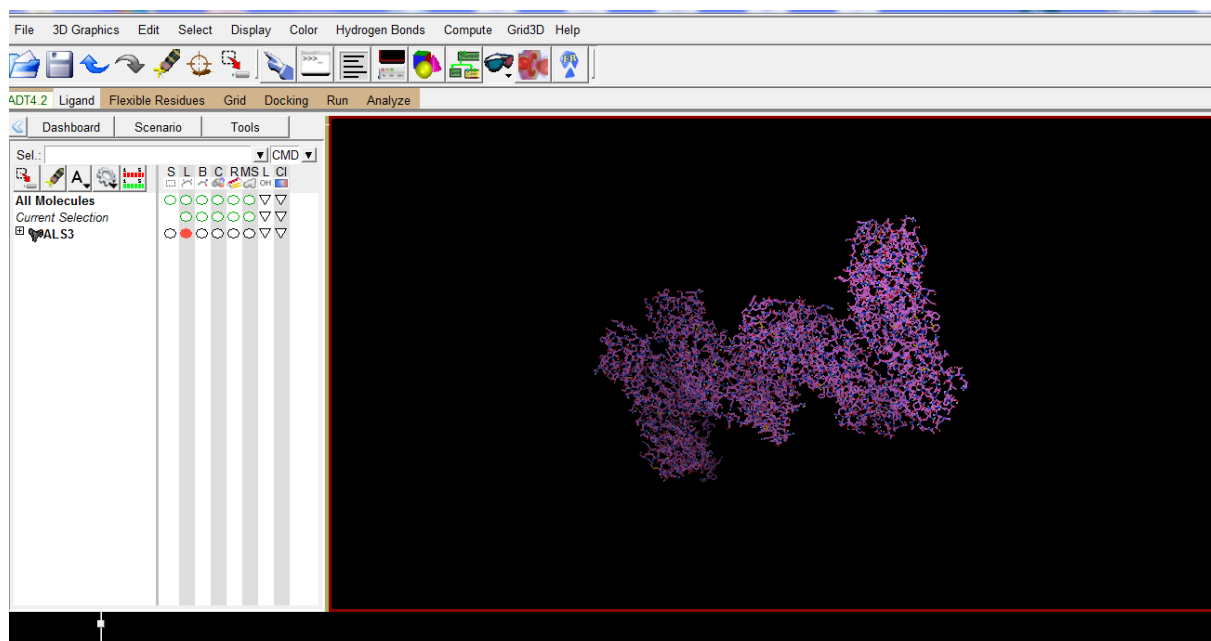


Figure 24: la cible au format PDBQT.

2.1.2. Préparation des ligands.

Le téléchargement des ligands a été réalisé via la chimio-thèque PubChem afin de s'assurer des résultats fiables et reproductibles (figure 25 et 26). On les a convertis ensuite du format SDF au format PDB par l'utilisation du logiciel Open Babel (figure 27 et 28)

PubChem Rutin (Compound)

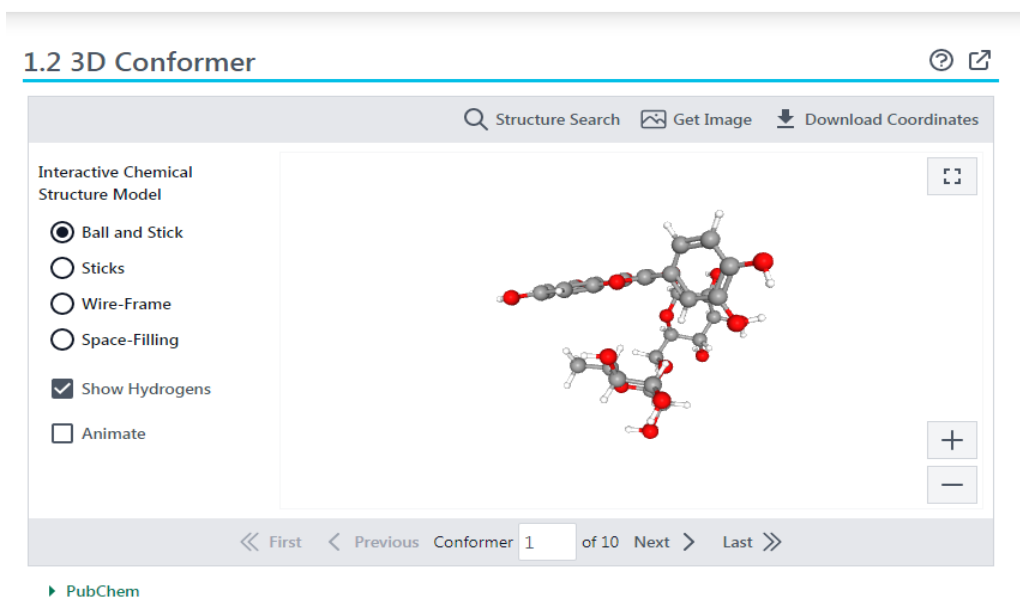


Figure 25: La routine dans la chimio-thèque Pubchem.

1.2 3D Conformer

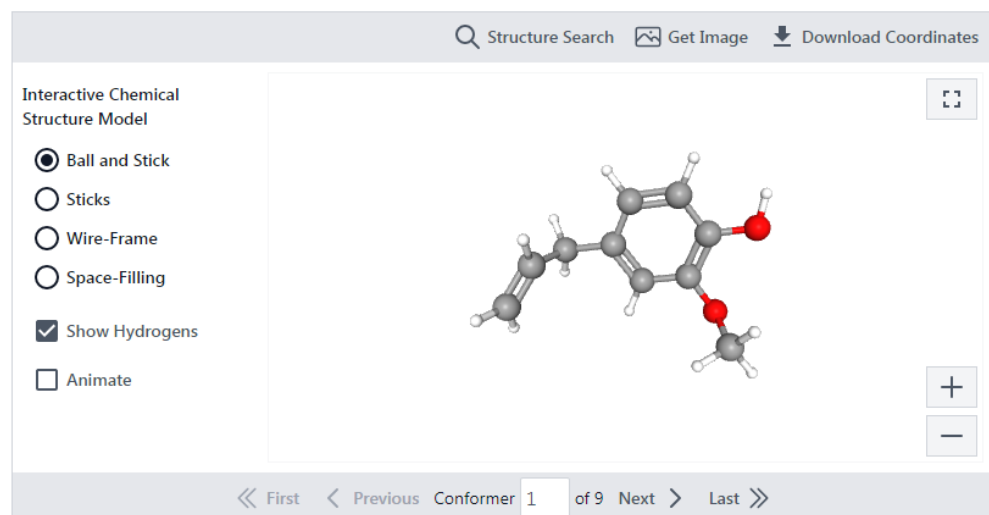


Figure 26: L'eugénol dans la chimio-thèquePubchem.

OpenBabelGUI

File View Plugins Help

---- INPUT FORMAT ----

sdf -- MDL MOL format

☐ Use this format for all input files (ignore file extensions)

C:\Users\Micro-Tech\Downloads\

Conformer3D_COMPOUND_CID_5280805 (1).sdf

☐ Input below (ignore input file)

5280805
-OEChem-03182517183D

73 77 0 1 0 0 0 0 0999 V2000
0.9151 -0.1224 1.7544 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
0.8004 2.5595 1.0179 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
-1.3404 3.5102 0.6376 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
3.0158 2.1502 3.7129 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
4.8927 0.1836 2.7303 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
1.1682 -2.3514 1.1129 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
3.6097 -2.4618 2.5396 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
-0.0283 5.4197 -1.0632 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
0.3419 3.6182 -3.1519 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
-1.8002 1.8138 -2.6027 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
-1.4889 -1.5897 -1.3258 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
-1.1239 -2.2225 2.6830 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
-3.6961 -1.8590 2.9805 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
-6.1692 -0.8904 -0.9552 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
3.2656 0.3677 -3.2321 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0
3.9451 -2.0203 -4.4801 O 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

CONVERT

☐ Start import at molecule # specified
☐ End import at molecule # specified
☐ Continue with next object after error, if possible
☐ Compress the output with gzip
☐ Decompress the input with gzip
☐ Attempt to translate keywords
☐ Delete hydrogens (make implicit)
☐ Add hydrogens (make explicit)
☐ Add hydrogens appropriate for this pH
☐ Convert dative bonds e.g. -[N+]=O to -N(=O)=O
☐ Make dative bonds e.g. -[N+](O)=O from -N(=O)=O
☐ Remove all but the largest contiguous fragment
☐ Center Coordinates
☐ Combine mols in first file with others by name
☐ Convert only if match SMARTS or mols in file:

Filter: convert only when tests are true:

☐ Add properties from descriptors
☐ Delete properties in list
☐ Append properties or descriptors in list to title:

☐ Join all input molecules into a single output molecule
☐ Output disconnected fragments separately
☐ Add or replace a property (SDF)
☐ Add or replace molecule title
☐ Append text to title
☐ Output multiple conformers separately
☐ Append output index to title
☐ Additional file output

---- OUTPUT FORMAT ----

pdb -- Protein Data Bank format

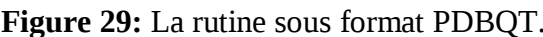
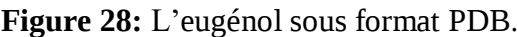
Output file

☒ Output below only (no output file) ☐ Display in firefox

1 molecule converted

COMPND 5280805
AUTHOR GENERATED BY OPEN BABEL 2.4.1
HETATM 1 O UNL 1 0.915 -0.122 1.754 1.00 0.00
O
HETATM 2 O UNL 1 0.800 2.559 1.018 1.00 0.00
O
HETATM 3 O UNL 1 -1.340 3.510 0.638 1.00 0.00
O
HETATM 4 O UNL 1 3.016 2.150 3.713 1.00 0.00
HETATM 5 O UNL 1 4.893 0.184 2.730 1.00 0.00
HETATM 6 O UNL 1 1.168 -2.351 1.113 1.00 0.00
O
HETATM 7 O UNL 1 3.610 -2.462 2.540 1.00 0.00
O
HETATM 8 O UNL 1 -0.028 5.420 -1.063 1.00 0.00
O
HETATM 9 O UNL 1 0.342 3.618 -3.152 1.00 0.00
O
HETATM 10 O UNL 1 -1.800 1.814 -2.603 1.00 0.00
O
HETATM 11 O UNL 1 -1.489 -1.590 -1.326 1.00
0.00
O
HETATM 12 O UNL 1 -1.124 -2.223 2.683 1.00 0.00
O
HETATM 13 O UNL 1 -3.696 -1.859 2.981 1.00 0.00
O
HETATM 14 O UNL 1 -6.169 -0.890 -0.955 1.00
0.00
O
HETATM 15 O UNL 1 3.266 0.368 -3.232 1.00 0.00
O

Figure 27: La routine sous format PDB.



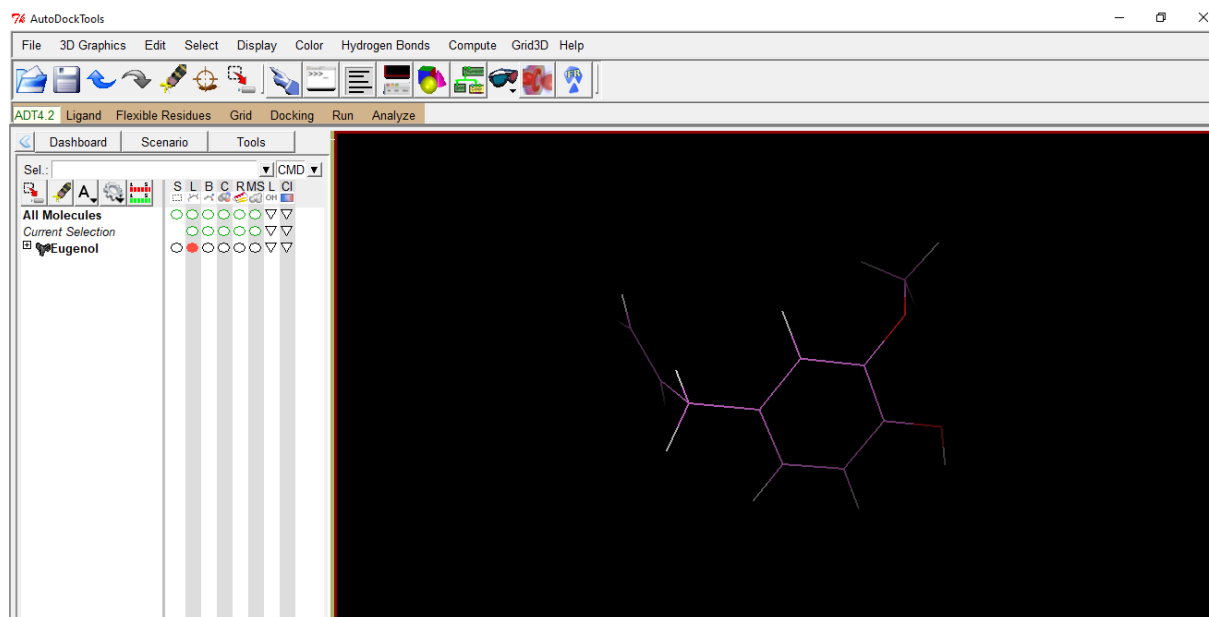


Figure 30: L'eugénol sous format PDBQT.

2.1.3. Création du fichier conf

On a procédé à la création (tableau 06) des fichiers de configuration qui représentent les coordonnées du centre de la boîte pour chaque cible. Il est de même pour les informations structurales des ligands potentiels dans l'espace entourant des sites actifs des protéines cibles.

Tableau 6: Les centres (x y z) et les dimensions du site actif de la cible

Code PDB	Centres X Y Z	Dimension du Grid box(°A)
Als3	X= 18	36
	Y= 8	28
	Z= 67	30

```

receptor = ALS3.pdbqt
ligand = Rutine.pdbqt

center_x = 18
center_y = 8
center_z = 67

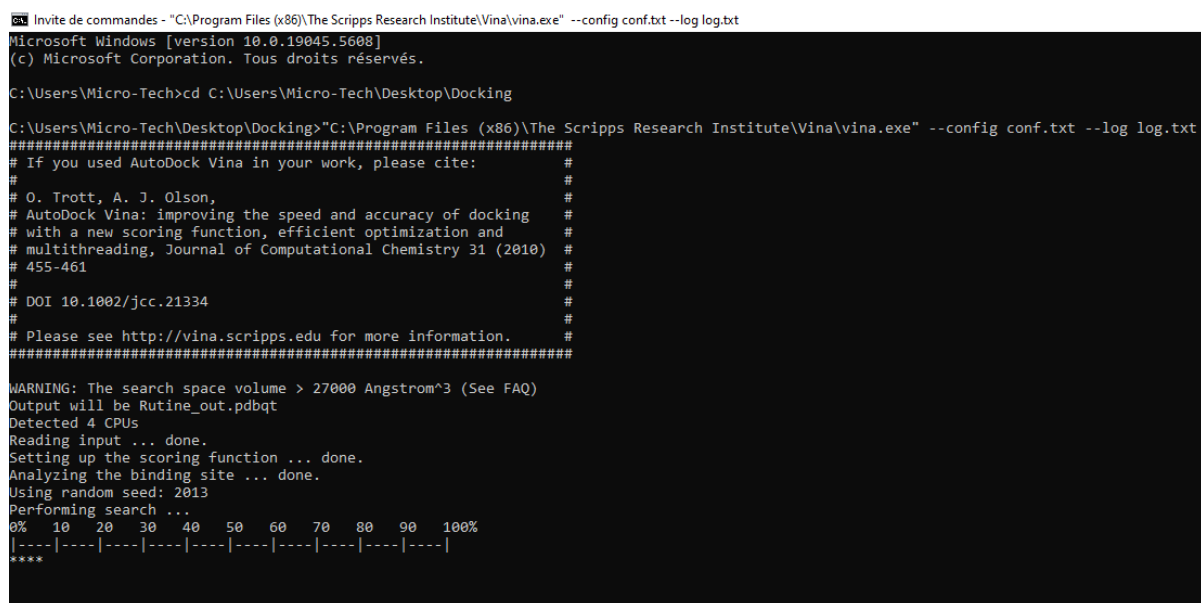
size_x = 36
size_y = 28
size_z = 30

seed = 2013
  
```

Figure 31: Le fichier « conf » de la cible ALs3.

2.2.Lancement de docking

On a ouvert l'invite de commande afin d'exécuter le calcul (figure 32) permettant de fournir des informations sur les distances entre les atomes du ligand et ceux des résidus du site actif de la protéine. Ces dernières (les distances) sont fondamentales pour définir la qualité de l'interaction ainsi que les énergies de liaison ou les scores qui indiquent la force de l'interaction entre le ligand et la protéine.



```

C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute\Vina\vina.exe" --config conf.txt --log log.txt
Microsoft Windows [version 10.0.19045.5608]
(c) Microsoft Corporation. Tous droits réservés.

C:\Users\Micro-Tech>cd C:\Users\Micro-Tech\Desktop\Docking

C:\Users\Micro-Tech\Desktop\Docking>"C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute\Vina\vina.exe" --config conf.txt --log log.txt
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:      #
#                                                         #
# O. Trott, A. J. Olson,                                    #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and    #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461                                                    #
# DOI 10.1002/jcc.21334                                     #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.   #
#####
WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Output will be Routine_out.pdbqt
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 2013
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|
***

```

Figure 32: Lancement de docking.

Résultats et Discussion

Cette étude nous a permis d'analyser l'affinité des liaisons ainsi que les types d'interactions formées entre les ligands (rutine, cinéole et eugénol) et le site actif de la protéine ALS3 impliquée dans l'adhésion et la formation du biofilm chez *Candida albicans* (Deng *et al.*, 2021), à l'aide de programme Discovery Studio. Les résultats sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7: Les différentes liaisons et l'affinité de l'ALS3 avec la rutine, l'eugénol et le 1,8-cinéole

Les ligands	Acides aminés Du site actif	Nom de liaison	Interaction	L'affinité
Rutine	TYR A:166 THR A:168 THR A:296 TYR A:21 VAL A:268	H-bond	Hydrogène	-8.8 kcal/mol
	ARG A:171	Carbone H-bond	Hydrophobe	
	TRP A:295	Pi-Pi T-shaped	Hydrophobe	
1,8-cinéole	VAL A:172 ARG A:171 PRO A:29 MET A:59	Alkyle	Hydrophobe	-5.5 kcal/mol
Eugénol	TYR A:21	H-bond	Hydrogène	-5.4 kcal/mol
	SER A:170	Carbone H-bond	Hydrophobe	
	PRO A:21 VAL A:116 ARG A:171	Alkyle	Hydrophobe	
	MET A:59 VAL A:172	Pi-Alkyle	Hydrophobe	

Après l'analyse de la liaison entre la rutine et le site actif de la protéine ALS3, les résultats de notre étude ont révélé une affinité particulièrement élevée, avec une énergie de $-8,8$ kcal/mol (Tableau 07), valeur la plus faible parmi l'ensemble des ligands testés, indiquant une interaction thermodynamiquement très favorable. Plusieurs facteurs structuraux et électroniques propres à la molécule de rutine expliquent cette interaction remarquable.

Tout d'abord, la rutine est riche en groupements hydroxyles, situés tant sur le noyau flavonoïde (Verma et Goyal, 2023). Ces groupements sont à l'origine de multiples liaisons hydrogène stabilisantes avec des acides aminés de la protéine ALS3, notamment THR168, TYR166, THR296, TYR21 et VAL268 (Tableau 08). Ces interactions permettent la stabilité le complexe formé (Figure 33).

Par ailleurs, une interaction pi–pi de type T-shape a été observée entre le cycle aromatique de la rutine et le résidu TRP295 (figure 33). L'interaction aromatique joue un rôle crucial dans la reconnaissance ligand-protéine. Ces interactions, caractérisées par des paramètres de distance et d'angle spécifiques, améliorent l'affinité et la spécificité de liaison (Brylinski, 2018). Ce type des liaisons sont des stabilisateurs clés dans les environnements hydrophobes comme les sites actifs des protéines (Calinsky et Levy, 2024).

En outre, la liaison hydrogène -carbone identifiée entre le résidu ARG 171 et la rutine (Tableau 08) contribue en tant qu'une force stabilisatrice importante dans le complexe moléculaire, en particulier dans les environnements hydrophobes ou confinés dans les sites de liaison enzymatique, soulignant leur importance dans les processus moléculaires biologiques (Lv et al., 2024).

Enfin, la rutine présente une complémentarité stérique optimale avec le site actif de la protéine, cette complémentarité associée à la flexibilité des chaînes glucidiques de la rutine qu'elle est influencée par l'encombrement stérique, avec 17 liaisons rotatives identifiées. Six d'entre elles affectent significativement l'énergie de conformation, Cette adéquation structurelle favorise l'interaction avec plusieurs cibles biologiques (Matteini et al., 2010).

L'ensemble de ces caractéristiques justifie la valeur très basse de l'énergie de liaison et confère à la rutine une capacité unique à former des interactions spécifique, aussi les protéines de la matrice extracellulaire du biofilm jouent un rôle important dans l'adhésion de surface, la transformation morphologique, la maturité, la dissociation et la stabilité structurelle des cellules de *C. albicans*, comme la protéine Als3 associée à réguler l'adhésion de elles à différents substrats hôtes (Xu et al., 2022), donc l'interaction rutine-Als3 justifie l'activité antibiofilm de la rutine par limitation de l'initiation du biofilm et blocage des sites d'adhésion.

Tableau 8: Interactions identifiées dans la position la plus stable

Résidu ALS3	Type d'acide aminé	Nom des liaisons
TYR A:166	Aromatique/polaire	Liaison hydrogenconventionnelle
THR A:168	Polaire	Liaison hydrogen conventionnelle
THR A:296	Polaire	Liaison hydrogen conventionnelle
TYR A:21	Aromatique/polaire	Liaison hydrogen conventionnelle
VAL A:268	Hydrophobe	Liaison hydrogen conventionnelle
ARG A:171	Basique/Polaire	Liaison hydrogen-Carbone
TRP A:295	Aromatique	Interaction pi–pi T-shaped

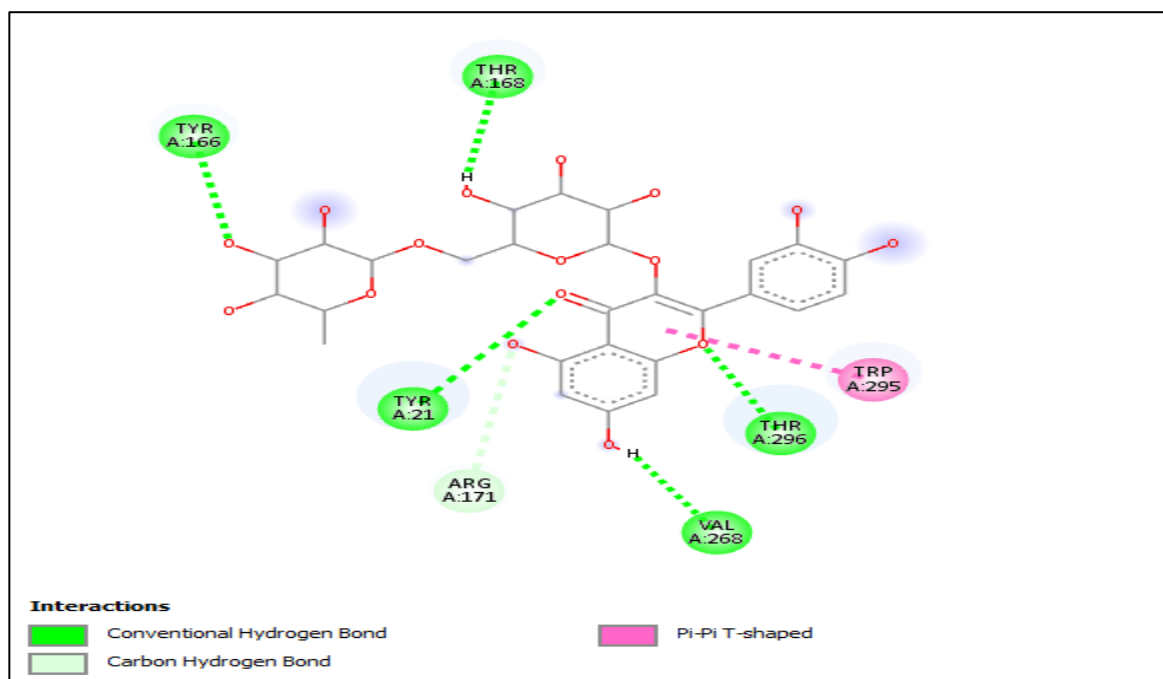


Figure 33: Structure 2D du complexe rutine-ALS3.

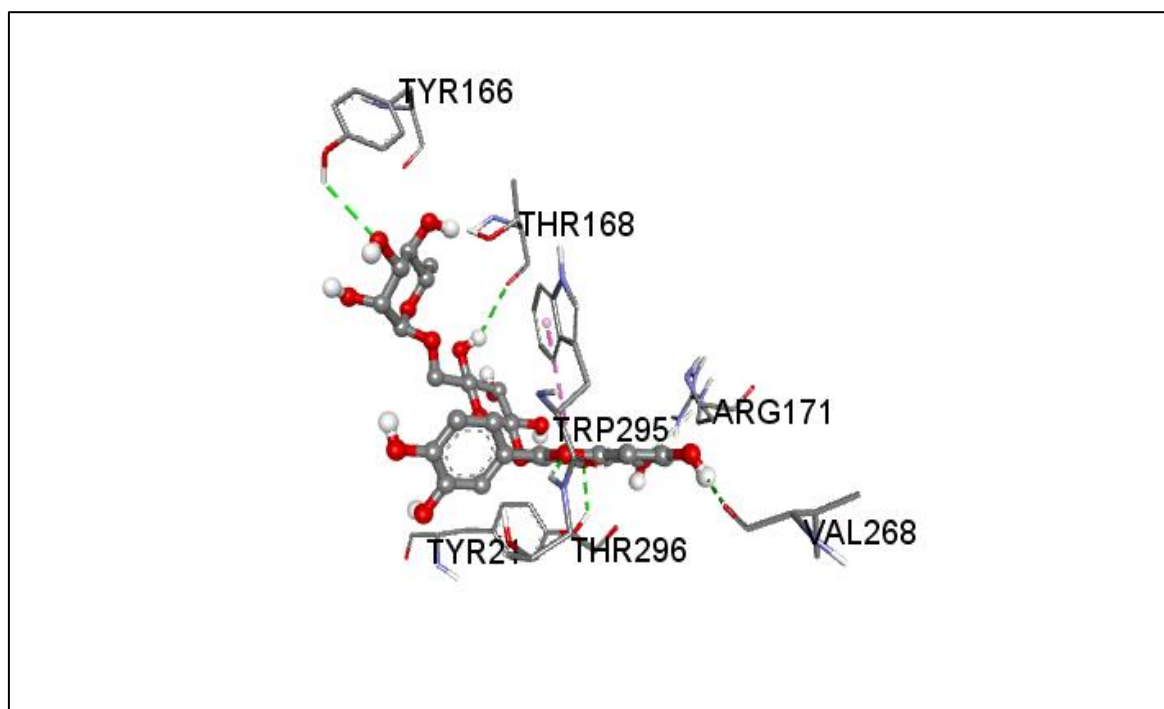


Figure 34: Structure 3D du complexe rutine-ALS3

L'analyse de la liaison entre le cinéole et la protéine ALS3 a révélé une affinité particulièrement faible, avec une énergie de liaison estimée à $-5,5$ kcal/mol (Tableau 07). D'après les résultats du docking présente dans la figure35, le cinéole établit plusieurs

interactions hydrophobes (de type Alkyle) avec certains résidus de la ALS3 : VAL172, ARG171, PRO29, MET59, ce qui limite fortement la stabilité du complexe.

La structure du cinéole, très compacte et peu fonctionnalisée, ne contient ni groupements hydroxyles ni cycles aromatiques, ce qui empêche la formation d'interactions électrostatiques fortes ou de liaisons pi-pi. Cela restreint sa capacité à s'ancrer solidement dans le site actif de la protéine

De plus, L'interaction entre le cinéole et l'ALS3 n'établit aucune liaison hydrogène spécifique ce qui traduit la réduction de l'affinité de liaison, le moins des positions favorables, ainsi le moins de la complémentarité structurale. Cette perturbation peut entraîner une diminution de l'activation du récepteur et une altération des effets pharmacologiques du ligand (Kržan *et al.*, 2020)

En outre, L'absence de la formation d'interactions électrostatiques fortes ou de liaisons pi-pi revient à la structure du cinéole éther cyclique et un mono terpène qui ne contient ni groupements hydroxyles ni cycles aromatiques qui limite les interactions spécifiques avec le site actif de la protéine Als3, principalement dominées par des interactions hydrophobes et hydrophiles faibles (El-baz *et al.*, 2021) et cela aussi restreint sa capacité à s'ancrer solidement dans le site actif de la protéine.

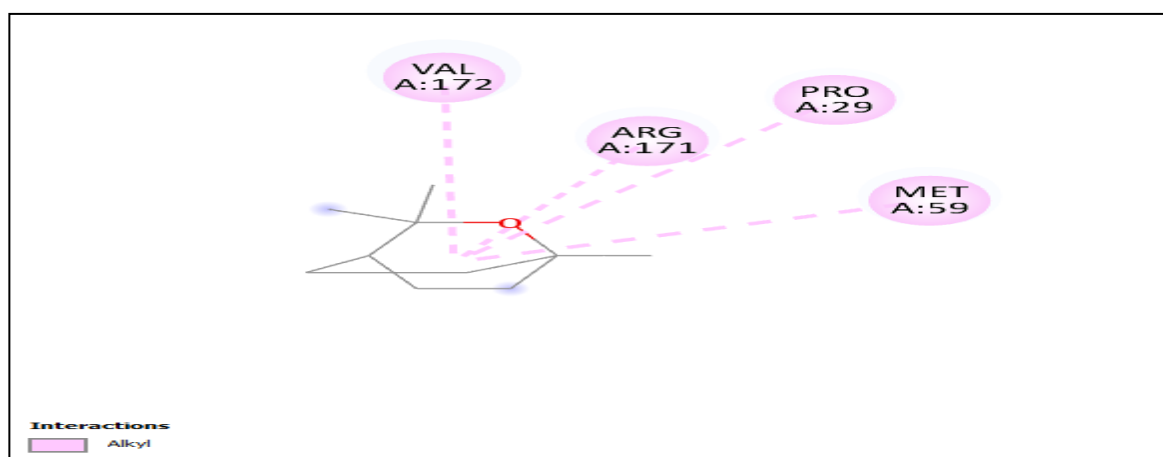


Figure 35: Structure 2D du complexe 1,8-cinéole-ALS3

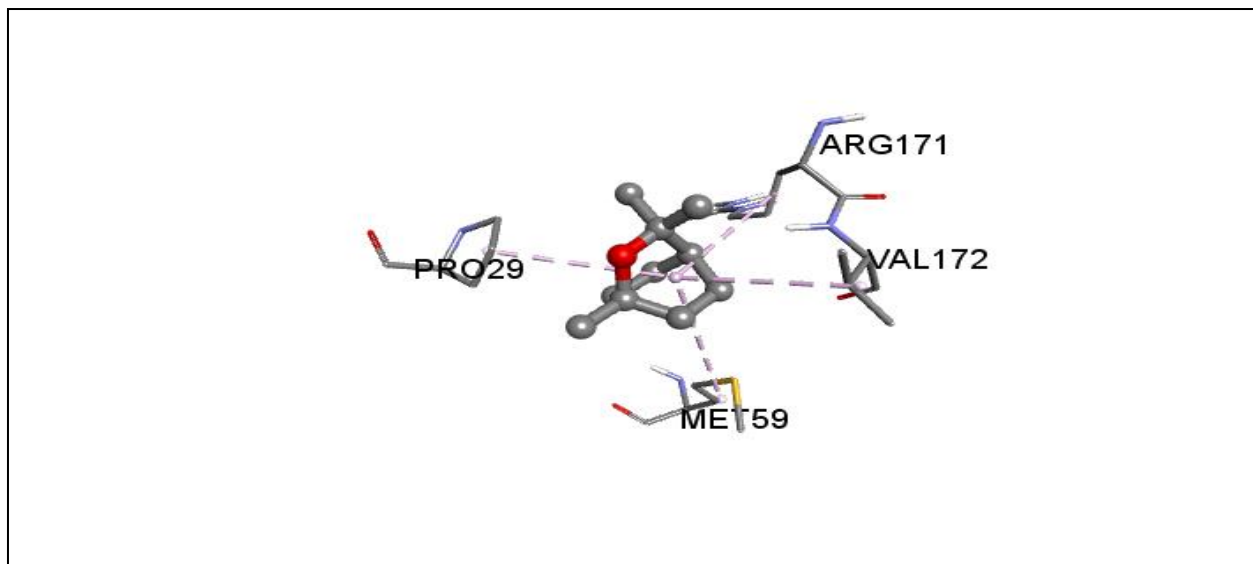


Figure 36: Structure 3D du complexe 1,8-cinéole-ALS3

L'analyse de l'interaction entre l'eugénol et le site actif de la protéine ALS3 a révélé une énergie de liaison minimale de -5,4 kcal/mol, la valeur la plus élevée parmi l'ensemble des ligands testés, ainsi que deux (02) liaisons d'hydrogène et cinq (05) interactions hydrophobes (**Rasul et al., 2023**). En outre, des r sids impliqués comprenant des liaisons hydrogène de SER 170, TYR 21 et des liaisons hydrophobes (alkyle) de VAL 172, ARG 171, VAL116, MET 59 et PRO 29 (figure 37).

L'analyse révèle que l'eugénol constitue un nombre équilibré d'interactions hydrogène et hydrophobe. Les liaisons hydrogène avec SER 170 et TYR 21 stabilisent sa conformation alors que les interactions alkyle renforcent le positionnement du ligand dans le site actif (**Rasul et al., 2023**).

A signaler, par ailleurs, que la combinaison des interactions hydrogène et hydrophobe renforcent les propriétés pharmacologiques de l'eugénol et surtout ses activités antioxydantes et antimicrobiennes (**Kamatou et al., 2012; Tos et al., 2023**).

Finalement, il a été démontré que l'eugénol possède une affinité modérée. La présence de liaisons hydrogène lui confère une stabilité accrue, qui se traduit par une activité antifongique efficace. Cette activité est elle-même renforcée par des caractéristiques structurales clés, comme la présence d'un substituant alkyle et d'un groupe hydroxyle (**Carrasco et al., 2012**).

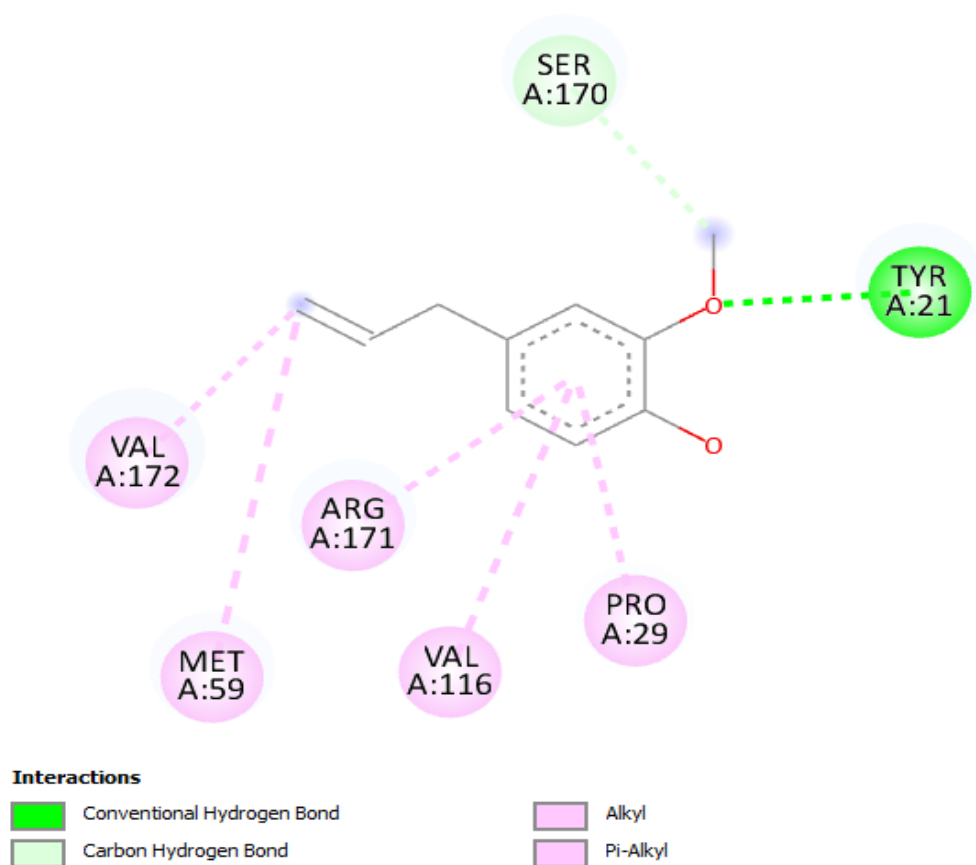


Figure 37: Structure 2D du complexe eugénol-ALS3

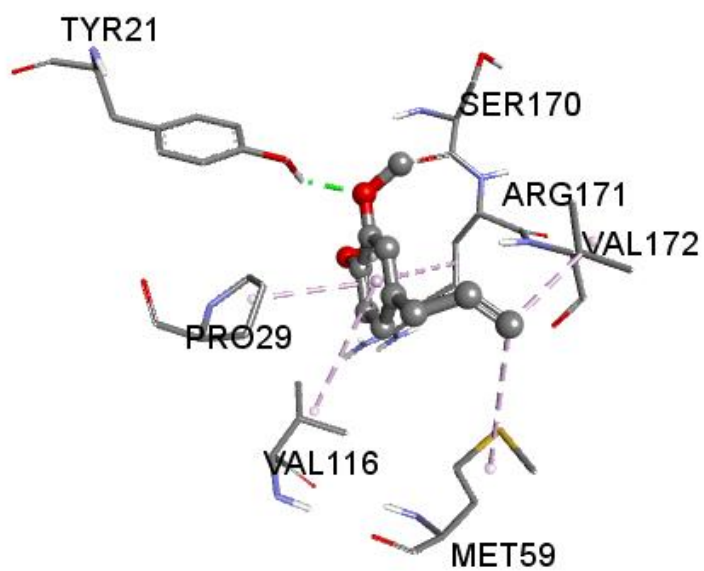


Figure 38: Structure 3D du complexe eugénol-ALS3

A notre connaissance, il n'existe pas encore d'études *in silico* publiées sur l'activité antibiofilm de la rutine sur *Candida albicans*, par conséquent nous avons dû nous référer aux études expérimentales *in vitro*.

L'étude *in vitro* d'**Ivanov et al., (2020)** a montré que la rutine, à sa concentration minimale inhibitrice (CMI) de 37,5 µg/mL, inhibe de 50 % le biofilm de *Candida albicans*. Ce résultat renforce son action inhibitrice sur la protéine ALS3.

L'étude *in silico* de **El-baz et al., (2021)**, sur le docking moléculaire, a révélé une forte affinité entre le 1,8-cinéole et la protéine ALS3. La formation de liaisons stables au sein de ce complexe suggère que le 1,8-cinéole pourrait inhiber la fonction adhésive d'Als3, un facteur clé de la virulence et de la formation des biofilms chez *C. albicans*, ces résultats sont en accord avec nos résultats et confirment le potentiel antibiofilm du 1,8-cinéole.

L'étude d'**El-bez et al. (2021)** évalue l'activité de l'eugénol contre *Candida albicans* en associant une approche *in silico* à une validation *in vitro*. L'analyse *in silico*, par docking moléculaire, a révélé une forte affinité potentielle entre l'eugénol et la protéine ALS3. Ces résultats suggèrent une affinité significative, ce qui confirme le pouvoir antibiofilm de l'eugénol. L'étude *in vitro* a été menée pour évaluer l'effet de l'eugénol (à 1/4 de sa CMI) sur la formation de biofilm par quatre espèces de *Candida albicans*. Les résultats montrent que l'eugénol réduit significativement la formation de biofilm, avec une inhibition atteignant jusqu'à 80 % chez certains isolats.

Les travaux de **Peixoto et al., (2016)** ont démontré l'action antibiofilm de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* contre *Candida spp.* Les résultats indiquent une inhibition de l'adhésion précoce de *C. albicans* à 1000 µg/mL (2CMI), un effet qui diffère significativement de l'antifongique de référence, la nystatine. En outre, une activité sur la formation de biofilms matures a été observée pour trois concentrations testées (CMI, 2 CMI et 4 CMI).

En conclusion, nos travaux confirment le potentiel antibiofilm du laurier noble. Cette efficacité repose sur une action à plusieurs niveaux contre les biofilms fongiques, portée par des composés actifs comme la rutine, ainsi que le 1,8-cinéole et l'eugénol de son huile essentielle. *Laurus nobilis* constitue ainsi une piste naturelle et prometteuse pour lutter contre les infections chroniques et l'antibiorésistance croissante.

Conclusion

générale

Laurus nobilis est une plante médicinale reconnue pour ses propriétés antimicrobiennes. L'objectif de cette étude est d'évaluer le potentiel inhibiteur de trois composés bioactifs du laurier (rutine, cinéole et eugénol) vis-à-vis de la protéine ALS3 impliquée dans l'adhésion et la formation du biofilm chez *Candida albicans*. Le docking moléculaire réalisé dans ce travail a permis d'identifier des interactions spécifiques entre ces ligands naturels et la protéine cible. Les résultats obtenus montrent que la rutine se distingue par la plus forte affinité, avec une énergie de liaison de -8,8 kcal/mol. Le 1,8-cinéole (-5,5 kcal/mol) et l'eugénol (-5,4 kcal/mol) démontrent également une interaction significative avec la protéine cible.

Par ailleurs, les résultats du docking révèlent que les nombreux groupements hydroxyles de la rutine forment diverses liaisons hydrogène stabilisantes avec les acides aminés de la protéine ALS3, notamment THR 168, TYR 166, THR 296, TYR 21 et VAL 268. De son côté, l'eugénol établit des liaisons hydrogène avec SER 170 et TYR 21, ainsi que des liaisons hydrophobes (de type alkyle) avec VAL 172, ARG 171, VAL 116, MET 59 et PRO 29. En ce qui concerne le cinéole, son interaction avec la protéine ALS3 implique plusieurs liaisons hydrophobes, établies avec les résidus VAL 172, ARG 171, PRO 29 et MET 59.

Ces résultats confirment le potentiel significatif de ces molécules pour le développement de traitements préventifs ou curatifs contre les biofilms fongiques. L'exploration du laurier comme solution phytothérapeutique est une démarche innovante et durable. Bien que les premiers résultats soient prometteurs, des recherches approfondies restent indispensables pour comprendre ses mécanismes d'action, valider son efficacité et garantir sa sécurité d'utilisation.

Pour valider ce potentiel, il est primordial de compléter l'étude « *in silico* » par des expérimentations « *in vitro* » et « *in vivo* ». L'identification de nouvelles molécules bioactives issues du laurier constitue également une piste de recherche.

La composition chimique complexe de *Laurus nobilis* lui confère un potentiel antifongique remarquable, en faisant une source naturelle prometteuse pour de nouvelles solutions thérapeutiques et industrielles. L'activité antibiofilm de *Laurus nobilis*, particulièrement marquée contre *Candida albicans*, suggère plusieurs voies d'application prometteuses :

- ✓ Développement de traitements topiques (gels, pommades, sprays) pour les mycoses cutanées et muqueuses.
- ✓ Utilisation comme agent de conservation naturel en substitution des additifs synthétiques.

Références bibliographiques

- Akbari, F., & Kjellerup, B. V.** (2015). Elimination of bloodstream infections associated with *Candida albicans* biofilm in intravascular catheters. In *Pathogens* (4) : 457–469p. MDPI AG.
- Alejo-Armijo, A., Altarejos, J et Salido, S.** (2017). Phytochemicals and Biological Activities of Laurel Tree (*Laurus nobilis* L.). *Natural Product Communications*. Vol 12 (5), 743-757.
- Alim, D., Sircaik, S., and Panwar, S. L.** (2018). The significance of lipids to biofilm formation in *Candida albicans*: An emerging perspective. In *Journal of Fungi* (4). MDPI AG.
- ALLA, L.** (2020) Conception et évaluation des molécules anticancéreuses par approches *in silico* inhibiteurs des kinases AKT1 et LMTK3 [Centre d'Etudes Doctorales des Sciences de la Vie et de la Santé Formation Doctorale: Biologie Médicale, Pathologie Humaine et Expérimentale et Environnement Option : Biotechnologie/Biologie Moléculaire]. [Royaume du Maroc]: Université Mohammed V Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat
- Aouadhi, S. (2010).** Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle, étude de 57 plantes recommandées par les herboristes, Master spécialisé en toxicologie, Faculté de médecine de Tunis, pp : 130.
- Aqilikhorsani, MS. (1992).** Colloction of drugs (Materia media). *Enqelab-e-Eslami Publishing and Educational Organization, Tehran*, pp : 624–630.
- Aquino, L., Daleffe, M., Apel, M. A., Contri, R. V., & Kulkamp-Guerreiro, I. C.** (2024). Topical use of essential oils for acne treatment: a systematized review. *Journal of Essential Oil Research*. <https://doi.org/10.1080/10412905.2024.2320348>
- Arbia, D.** (2012). *Pouvoir antifongique des extraits de feuilles de (Laurus nobilis L.) vis-à-vis (Phytophthora infestans) (Mont.) De Bary. Agent du mildiou de la pomme de terre (Solanum tuberosum) en Algérie* [Mémoire de Master II en sciences de la nature et de la vie, option Biotechnologie des plantes aromatiques, médicinales et produits naturels, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou].
- Arrault, A.** (2007) Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Université d'Orléans.

Références bibliographiques

Aurélien, G. (2007) Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE; 2007.

Asiamah, I., Obiri, S. A., Tamekloe, W., Armah, F. A., et Borquaye, L. S. (2023). Applications of molecular docking in natural products-based drug discovery. *Scientific African*, 20, 01593. doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e0159

Atriwal, T., Azeem, K., Husain, F. M., Hussain, A., Khan, M. N., Alajmi, M. F., and Abid, M. (2021). Mechanistic Understanding of *Candida albicans* Biofilm Formation and Approaches for Its Inhibition. In *Frontiers in Microbiology* (12). Frontiers Media S.A.

BALLABIO, R., & GOETZ, P. (2010) - Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis* L., *Laurus azorica* (seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. prieto, E. Dias, j.c. Costa et C.A guiar- Phytothérapie. Vol.8.pp.141-144, France..

Barla, A, Topçu G., Oksuz S., Tumen, G., Kingston, DG. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpene from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry*, Vol. 104, n° 4, pp : 1478-1484.

Bechkri, C., & Meslem, B. (2018). L'évaluation de l'activité anticoagulante des polysaccharides isolés de feuille de *Laurus nobilis* L. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master : Spécialité : Toxicologie : Université des Frères Mentouri Constantine.P19.

Beloued A. (1998) : Les plantes médicinales d'Algérie, Edit BORDAS, Paris : 118p

Beloued A. (2005) -Plantes médicinales d'Algérie - 5ème édition. Ben aknoun (Alger). pp. 124-125 ,

Bonhomme, J., & d'Enfert, C. (2013). *Candida albicans* biofilms: Building a heterogeneous, drug-tolerant environment. In *Current Opinion in Microbiology* (16).

Botineau M., & PELT, J.(2015). Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. Paris: Ed. Tec&Doc, pp : 320 .

Bouanane, H., & Benloucif A. (2015) Approche pour la conception de médicaments assistée par ordinateur. [Mémoire] .[Institut des sciences et de la technologie Département de Mathématiques et Informatiques]. Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila.

Bouchaale, I., Kahalerras, A., Zouaoui, S. (2015). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie).

Références bibliographiques

Diplôme de la fine étude : Science de la nature et de la vie : Université 08 mai 1945 de Guelma. pp : 17.

Bouhalit, N. (2023). *Réactivité et interactions intermoléculaires dans le complexe d'inclusion eugénol@ β -cyclodextrine* [Master's thesis, Université 8 Mai 1945 Guelma].

Brigittpee, C., Bruneto, J. (1982). Alcaloides du laurier noble, *laurus nobilis*. *Journal of Natural Products*, Vol. 45, n° 5, pp :560-563.

Brylinski, M. (2018). Aromatic interactions at the ligand-protein interface: Implications for the development of docking scoring functions. *Chemical Biology & Drug Design*, 91(2), 380–390.

Calinsky, R., & Levy, Y. (2024). Aromatic Residues in Proteins: Re-Evaluating the Geometry and Energetics of π - π , Cation- π , and CH- π Interactions. *Journal of Physical Chemistry B*, 128(36), 8687–8700.

Carrasco, H., Raimondi, M., Svetaz, L., Di Liberto, M. G., Rodriguez, M. V., Espinoza, L., Madrid, A., & Zacchino, S. (2012). Antifungal Activity of Eugenol Analogues. Influence of Different Substituents and Studies on Mechanism of Action. *Molecules*, 17(1), 1002–1024. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES17011002>

Caredda, A., Marongiu, B., Porcedda, S. (2002). Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of *Laurus nobilis* essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(6): pp. 1492-1496.

Chahal, K. K., Kaur, M., Bhardwaj, U., Singla, N., & Kaur, A. (2017). A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 1153–1161.

Charpak-Amikam, Y., Lapidus, T., Isaacson, B., Duev-Cohen, A., Levinson, T., Elbaz, A., Levi-Schaffer, F., Osherov, N., Bachrach, G., Hoyer, L. L., Korem, M., Ben-Ami, R., & Mandelboim, O. (2022). Candida albicans evades NK cell elimination via binding of Agglutinin-Like Sequence proteins to the checkpoint receptor TIGIT. *Nature Communications*, 13(1)

Chrysanthi, P. (2021).| Thèse d'exercice | Les méthodes *in silico* dans la recherche pharmaceutique. Exemple d'application pour l'étude pharmacocinétique post-autorisation de mise sur le marché des β -bloquants utilisés pour le traitement du glaucome.

Conforti, F., Statti G., Uzunov, D., Menichini, F. (2006) - Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and

Références bibliographiques

Foeniculum vulgare sub sp. Piperitum (Ucria) coutinho seeds - Biol.Pharm.Bull.Vol.29(10). pp.2056 2064, Italy..

Costerton, J.W., Geesey, G.G., Cheng, K.J. (1978). How bacteria stick. *Scientific American* **238**, 86-95.

Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E, Korber DR & Lappin-Scott HM. (1995). Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* **49**, 711-745.

Costerton JW, Stewart PS & Greenberg EP. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science (New York, NY)* **284**, 1318-1322.

Daissa, F. (2019). Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions : Inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BChE) / par une nouvelle classe des dérivées. [MÉMOIRE DE MASTER].

Dekkiche, Z & Benaiche, S. (2018). Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang [Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master]. Université Frères Mentouri Constantine1.

Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., &Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1-2), 101-109.

Donlan, R.M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases* **8**, 881-890.

Donlan, R.M & Costerton, J.W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews* **15**, 167-193.

Douglas, L.J. (2003). *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in microbiology* **11**, 30-36.

Ducatillion, C. (2010) : Les Plantes aromatiques *Laurus nobilis* L., 22 – 23 p.

El-Baz, A. M., Mosbah, R. A., Goda, R. M., Mansour, B., Sultana, T., Dahms, T. E., & El-Ganiny, A. M. (2021). Back to nature: combating *Candida albicans* biofilm, phospholipase and hemolysin using plant essential oils. *Antibiotics*, 10(1), 81.

El Malti, J & Amarouch, H. (2009) . Antibacterial effect, histological impact and oxidative stress studies from *Laurus nobilis* extract. *Journal of food quality* 32(2): 190-208.

Références bibliographiques

Ekakitie, E. (2024). Innovative Application of Juniperus Communis Wood Oil in Acne Skincare. *Journal of Knowledge Learning and Science Technology*, 3(2), 253–262.

El-Tarabily K.A., El-Saadony M.T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha G.E., Khafaga A.F., Elwan H.A.M., Elnesr S.S et El-Hack M.E. (2021). Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. *Saudi Journal of Biological Sciences*. Vol28(9), 5145-5156.

Fang, F., Shengmin, S., Kuang YC., Alexander, G., Chi-Tang, H., Robert, TR. (2005).

Fanit, Z., & Hadji, A. (2021). *Étude phytochimique et évaluation des activités anti-inflammatoire, antidiabétique et anti-oxydante de l'espèce Laurusnobilis L.* [Master'sthesis, Université Frères Mentouri Constantine 1].

Fanou, B. A., Klotoe, J.-R., Dougnon, V., Monteiro, A., Koudokpon, C. H., and Loko, F. (2022). [Prevalence] and factors associated with vulvovaginal candidiasis in women admitted to the [Zone] [Hospital] of [Mènontin] ([Bénin]). *The Pan African Medical Journal*, 42.

Férey, N., Bouyer G., Martin, C., Drif, A., Bourdot, P., Ammi, M, et al. (2009). Docking de protéines en réalité virtuelle. Une approche hybride et multimodale. *Revue des Sciences et Technologies de l'Information - Série TSI : Technique et Science Informatiques*. oct;28(8):983- 1015.

Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M.L.M., Araújo, M.E.M. (2006) .The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J.Ethnopharmacology*. 108: 31-37.

FDR . (2008) . Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar.

Filoché S, Wong L &Sissons CH. (2010). Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *Journal of dental research* **89**, 8-18.

Fiorini, C., Daid, B., Fourastet, I., Vercauteren, J. (1998). Acylated kaempferol glycosides from *laurus nobilis* leaves. *phytochemistry*, Vol.41, n°5, pp : 821-824.

Fux, C.A., Stoodley, P., Hall-Stoodley, L., Costerton, JW. (2003). Bacterial biofilms: a diagnostic and therapeutic challenge. *Expert review of anti-infective therapy* **1**, 667-683.

Gaussen, H., Deuroy, J.F., Ozenda, P. (1982). Précis de botanique II « les végétaux supérieurs». Ed : MASSON, 215-408.

Références bibliographiques

Geerts, P., Rameloo, J., Van cauteren, G., et al. (2002). *Laurusnobilis* : le livre du laurier. Gand: ED. Ludion; p 131.

Godron, H., (1990) : Reproduction du *Laurusnobilis* sous le climat de Rouen - *laurus, nobilis, laurier.*,

Gulati, M., and Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. In *Microbes and Infection* (18).

Hall-Stoodley, L., Costerton, JW., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2, 95-108

Hammamdia, F. Z. (2010). *Recherche des stilbènes et des flavonoïdes dans diverses variétés de tomate et effet de la transformation en conserve de tomate sur la composition chimique de celle-ci* [Master's thesis, Université 8 Mai 1945 Guelma].

Houhou, N et Djouama, S. (2023). Evaluation *in silico* des interactions moléculaires entre l'alpha-amylase, la β -glucosidase et certains extraits flavonoïdes de Ginkgo biloba (Mémoire de Master en Biochimie Appliquée). Université Mohamed Khider de Biskra.

Hosrom, N. A. N. (2023). *In silico* study of the KRAS protein: evaluation of the effects of point mutations; their relationship to response and exploration of a non-toxic inhibitor

Hou, G., & Hunag, T. (2024). Essential oils as promising treatments for treating *Candida albicans* infections: research progress, mechanisms, and clinical applications. *Frontiers in Pharmacology*. National Center for Biotechnology Information. (2024). *PubChem compound summary for CID 2758, 1,8-Cineole*. PubChem, U.S. National Library of Medicine

https://www.researchgate.net/figure/Semi-flexible-docking-of-the-GDHtR-and-GTP-a-The-binding-modes-b-eight-H-bonds-between_fig5_283577151 [accessed 9 Mar 2025]

Hugo, S. (2018). Développement d'une méthode *in silico* pour caractériser le potentiel d'interaction des surfaces protéiques dans un environnement encombré [Biochimie, Biologie Moléculaire].

Iserin, P., (2001) : Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres : 143 et 225-226 p.

Iserin, P; Masson, M ; Restellini, J.P., Vican, P. (2001) : larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations , soin Edit : la rousse, paris, 335 pp

Références bibliographiques

Islam, S., Rahman, I. A., Islam, T., & Ghosh, A. (2017). Genome-wide identification and expression analysis of glutathione S-transferase gene family in tomato: gaining an insight into their physiological and stress-specific roles. *PLoS One*, 12(11), e0187504.

Ivanov, M., Kannan, A., Stojković, D. S., Glamočlija, J., Calhelha, R. C., Ferreira, I. C., Soković, M. (2020). Flavones, flavonols, and glycosylated derivatives—Impact on *Candida albicans* growth and virulence, expression of *cdr1* and *erg11*, cytotoxicity. *Pharmaceutical*, 14(1), 27.

Jesse., Wagstaff, D - International poisonous plant checklist- CRC Press. London . 2008.

Judith, E. (2011) Drug design in silico criblage virtuel de protéines à visée thérapeutique. Université de Bordeaux 1 école doctorale des sciences chimiques.

Kang., HW, Yu, KW., Jun, W.J., Chang, I S., Han, SB., Kim, H Y. (2002). Isolation and characterization of alkyl peroxy radical scavenging compounds from leaves of *Laurus nobilis*. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, Vol.25, pp 102–108.

Khan, A., Zaman, G., Richard, A., Anderson. (2009). bay leaves improve glucose and lipid profile of people with type 2 diabetes. *J Clin Biochem Nutr*, Vol 44, pp 52-56.

Kilic, A., Hafizoglu, H., Kollmannsberger, H., Nitz, S.(2004). Volatile constituents and key odorants in leaves, buds, flowers and fruits of *laurus nobilis* L.-J Agric. Food Chem. Vol.52. Turkey pp.1601-1606,.

Kojic, E.M & Darouiche, R.O. (2004). *Candida* infections of medical devices. *Clinical microbiology reviews* 17, 255-267.

Kamatou, G., P. P., Vermaak, I., Viljoen, A. M. (2012). Eugenol--from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, 17(6), 6953–6981. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES17066953>.

Kim, S., & Bolton, E. (2023). PubChem: A Large-Scale Public Chemical Database for Drug Discovery. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, 39–66.

Lamouri, A. (2020). Étude comparative de biofilm clinique *in vitro* de secteurs médicaux entre quelques souches bactériennes : cas de l'hôpital d'El-Meghaier [Mémoire de Master, Université Mohamed Khider de Biskra].

Références bibliographiques

Lewis, K. (2007). Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol* **5**, 48-56.

Lewis, K. (2010). Persister cells. *Annu Rev Microbiol* **64**, 357-372.

Lohse, M. B., & Johnson, A. D. (2009). White-opaque switching in *Candida albicans*. In *Current Opinion in Microbiology* (12).

Ly, W., Xu, Y., Yang, T., Wang, L., Huang, J., Huang, H., & Feng, G. (2024). Unveiling the underappreciated: The bonding features of C-H...S-S interactions observed from rotational spectroscopy. *Journal of Chemical Physics*, **160**(13).

Macias-Paz, I. U., Pérez-Hernández, S., Tavera-Tapia, A., Luna-Arias, J. P., Malinovská, Z., Čonková, E., & Vácz, P. (2023). Biofilm Formation in Medically Important *Candida* Species. In *Journal of Fungi* (9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).

Matteini, P., Goti, A., & Agati, G. (2010). Theoretical conformational analysis of rutin. *Monatshefte Fur Chemie*, **141**(7), 793–800.

Messaoudi S. (2008). Les plantes médicinales. Troisième édition, Dar Elfikr,

Myose M., Paris R. (1976). Précis des matières médicales. Ed Masson. pp : 161-162.

Nadell, CD., Xavier, J.B., Foster, K.R. (2009). The sociobiology of biofilms. *FEMS microbiology reviews* **33**, 206-224.

Neves, H.C, Valente, A.V. Conhec.a ., (1992) : Parque Natural da Madeira. Parque Natural da Madeira, Funchal.

Nicolella, C., vanLoosdrecht, M.C., Heijnen, J.J. (2000). Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of biotechnology* **80**, 1-33.

Ochikh, O., Chahed, S., Ksouri, R., Taarit, M., Faleh, H., Abdely, C., Kchouk, M., Marzouk, B. (2011). The effects of extraction method on the measured Tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs-Journal of food composition and analysis. Vol.24.pp.103-110, Tunisia..

Olivier, G & Imaël, H.N.B. (2017). Essential Oils as an Alternative to Pyrethroids' Resistance against Anopheles Species Complex Giles (Diptera: Culicidae). *Molécules*, Vol, **22**, n°10, pp 13-21.

Références bibliographiques

Ozcan, B., Esen, M., Sangun, M.K., Coleri, A., Caliskan, M. (2010). Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal*

ofEnvironmental Biology, Vol. 31, n°5, pp 637-641.

Pappas, P. G., et al. (2018). Invasive candidiasis. *Nature ReviewsDiseasePrimers*, 4(1), 20

Pariente, L. (2001). Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2ème Edition. Paris : d'Académie nationale de pharmacie. pp : 1643.

Pinzi, L., Rastelli, G. (2019) Molecular Docking : Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci.*;20(18):E4331

Ponde, N. O., Lortal, L., Ramage, G., Naglik, J. R., and Richardson, J. P. (2021). *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. In *Critical Reviews in Microbiology*(47) 91–111p. Taylor and Francis Ltd.

Quezel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiquesMéridionales. Tome I Edition. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique. pp: 565.

Quezel, P., Santa, S. (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome II Edition. Paris : Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique. pp : 360-361.

Rahul, B.S. (2022). **Molecular** docking [Internet]. 06:40:01 UTC .Disponible sur: <https://fr.slideshare.net/rahulbs89/molecular-docking-28000661>

Rapala-Kozik, M., Zawrotniak, M., Gogol, M., Bartnicka, D., Satala, D., Smolarz, M., Karkowska- Kuleta, J., and Kozik, A. (2019). Interactions of *Candida albicans* Cells with Aerobic and Anaerobic Bacteria during Formation of Mixed Biofilms in the Oral Cavity. In *Candida Albicans*. IntechOpen

Rasul, H., Aziz, B. K., Moran, G. S., Mendoza-Huizar, L. H., Belhassan, A., Candia, L. G., Villada, W. C., &Sadasivam, K. (2023). A computational study of the antioxidant power of eugenol compared to vitamin c. *Química Nova*. Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL & Redding SW. (2004). Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* **98**, 53-59.

Références bibliographiques

- Rates, S. M. K.** (2001). Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39(5), 603–613.
- Raut, J. S., et al.** (2013). Phytochemicals in biofilm inhibition. *Fitoterapia*, 86, 1-11.
- RAYAR, A.** (2017) développement de nouvelles molécules coumariniques, sélectives de la cyclooxygénase-2 [obtenir le grade de : Docteur du Conservatoire National des Arts et Métiers *In silico* drug design et chimie médicinale]. [Laboratoire Génomique, Bioinformatique et Applications].
- Richards, JJ & Melander, C.** (2009). Controlling bacterial biofilms. *Chembiochem* 10, 2287-2294.
- Riedel, K., Hentzer, M., Geisenberger, O., Huber, B., Steidle, A., Wu, H., Høiby, N., Givskov, M., Molin, S., Eberl, L.** (2001). *N-Acylhomoserine-lactone-mediated communication between Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cepacia in mixed biofilms*. *Microbiology*, 147: 3249-3262.
- Rodriguez, C. F., and Černáková, L.** (2020). **Farnesol and tyrosol: Secondary metabolites** with a crucial quorum-sensing role in candida biofilm development. In *Genes* (11). MDPI AG.
- Ryma, A.** (2023). 1,8-Cineole an Underappreciated Anti Inflammatory Therapeutic. *International Journal of Pharmacognosy&ChineseMedicine*, 7(1), 1–6.
- Sage**, 2012: Ouvrage Patrimoine : 224 p
- Salhi, N., Goumni, Z., Salhi, A., mehani, M., Vleria., Terzi.** (2015). Évaluation de l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Laurus nobilis L.* sur la croissance mycélienne de *Fusarium sporotrichoide*. *Revue Elwihat pour les recherches et tude* ISSN, vol .8, n° 2, pp : 34-44.
- Sanhez, E., Morales, C. R., Castillo, S., Leos-Rivas, C., García-Becerra, L., Martínez, D. M. O.** (2016). Antibacterial and Antibiofilm Activity of Methanolic Plant Extracts against Nosocomial Microorganisms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 8.
- Sauer, K.** (2003). The genomics and proteomics of biofilm formation. *Genome biology* 4, 219.
- Sharma, A., Bhardwaj, G., Sohal, H. S., & Gohain, A.** (2022). Chapter 9 – *Eugenol*. In P. Mishra, A. Nayik, & M. Sharma (Eds.), *Nutraceuticals and health care* (pp. 177–198). Elsevier.
- Simic, M, Kundakovic, T, Kovacevic, N.** (2003). Preliminary assay on the antioxidative activity

Références bibliographiques

Steven, P.S. (2001). « Angiosperm Phylogeny Website ». of *Laurus nobilis* extracts. Fitoterapia, Vol 4, pp : 613–616.

Stoodley, P., Debeer, D., Lewandowski, Z. (1994). Liquid Flow in Biofilm Systems. *Applied and environmental microbiology* **60**, 2711-2716.

Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* **56**, 187-209.

Taff, H. T., et al. (2013). Mechanisms of Candida biofilm drug resistance. *Future Microbiology*, 8(10), 1325-1337.

Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., and Škrlec, I. (2021). *Candida albicans* the virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*, 7(2), 1–19.

Teuscher, E., Anton, R., Lobstein, A. (2005) . Plantes aromatiques épicées, aromates, condiments et huiles essentielles, Edit. LAVOISIER, Paris: 522p.

Tifourak, D. (2019) Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse. Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière Département des Sciences de la Matière..

Uchiyama, N., Matsunaga, K., Kiuchi, F., Honda, G., Tsubouchi, A., Nakajima., Shimada, J. (2002). Trypanocidal terpenoids from *Laurus nobilis* L. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 50, pp : 1514–1516.

(Verma, P. K., & Goyal, J. (2023). An Overview of Biosynthetic Pathway and Therapeutic.

Vila, T. V. M., & Rozental, S. (2016). Biofilm Formation as a Pathogenicity Factor of Medically Important Fungi. In *Fungal Pathogenicity*. InTech.

Vuorinen, A., Schuster, D. (2015) .Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods*.;71:113- 34.

Wai-Leung, Ng., Bassler, B.L (2009) *Bacterial quorum-sensing network architectures*. *Annu Rev Genet*, 43: 197-222. DOI: 10.1146/annurev-genet-102108-134304.

Wijaya, M., Halleyantoro, R., and Kalumpiu, J. F. (2023). Biofilm: The invisible culprit in catheter-induced candidemia. In *AIMS Microbiology* (9): 467–485p. AIMS Press.

Références bibliographiques

Wizelis., (2011) : Editions Tec & Doc, Editions médicalesinternationales Paris.
Lavoisier : 563p.

World Health Organization. (2002). *WHO Traditional Medicine Strategy 2002–2005*.
Geneva: World Health Organization

Wuyts, J., Van Dijck, P., and Holtappels, M. (2018). Fungal persister cells: The basis for recalcitrant infections? In PLoS Pathogens (14). Public Library of Science.

Xu, Z., Huang, T., Min, D., Soteyome, T., Lan, H., Hong, W., Peng, F., Fu, X., Peng, G., Liu, J., and Kjellerup, B. V. (2022). Regulatory network controls microbial biofilm development, with *Candida albicans* as a representative: from adhesion to dispersal. In Bioengineered (13). 253–267p. Taylor and Francis Ltd.

Yoshikawa, M., Shimoda, H., Uemura, T., Morikawa, T., Kawahara, Y., Matsuda, H. (2000). Alcohol Absorption Inhibitors from Bay Leaf (*Laurus nobilis*): Structure-Requirements of Sesquiterpenes for the Activity. *Bioorganic&Medicinal Chemistry*, Vol. 8, pp2071-207

