

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du

Diplôme d'Etudes Supérieures

En Biochimie

Thème :

**L'activité antibactérienne des alcaloïdes et
mécanisme d'action de la berbérine.**

Présenté par :

Hakim Djoudi

Devant le jury :

Présidente :M^{me} Benmessaoud.Y (M.A, université de Bejaia)

Promotrice :M^{me} Khamtache-Abderrahim.S (M.A, université de Bejaia)

Examinatrices :M^{me} Kadji.H (M.A, université de Bejaia)

M^{me} Mankou.N (M.A, université de Bejaia)

Promotion : 2011/2012

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, je tiens à remercier beaucoup ma promotrice, M^{me} Khamtache-Abderrahim. S pour avoir acceptée de m'encadrer ainsi que pour sa disponibilité, son suivi, son aide et conseils et surtout sa compréhension.

Je tiens à remercier aussi :

-La présidente du jury, M^{me} Benmessaoud.Y de nous avoir consacré de son temps et d'avoir accepté de présider le jury.

-L'examinatrice, M^{me} Kadji.H d'avoir accepté d'examiner ce travail.

-L'examinatrice, M^{me} Mankou.N d'avoir acceptée de juger notre travail.

Je remercie aussi toute l'équipe de recherche du département de biologie physico-chimique et du laboratoire de génétique de l'université de Bejaia.

Enfin, j'adresse tout mes remerciements à tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mon père,

Ma mère,

Ma sœur et ses enfants,

Et à mes frères.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Généralités sur les alcaloïdes	
I.1.Historique	2
I.2. Définition	3
I.3.Distribution, localisation et fonction des alcaloïdes	3
I.4.Propriétés physico-chimiques	3
I.5.Classification	4
I.5.1.Les alcaloïdes vrais	4
I.5.2.Les proto-alcaloïdes	5
I.5.3.Les pseudo-alcaloïdes	5
I.6.Effet thérapeutique des alcaloïdes	12
I.6.1.Les alcaloïdes comme médicaments	13
Chapitre II : L'activité antibactérienne des alcaloïdes et mécanisme d'action de la berbérine	
II.1.Généralités sur les bactéries	14
II.1.1.Définition	14
II.1.2.Structure de la cellule bactérienne	14
II.1.2.1.Les éléments inconstants	15
II.1.2.1.1.La capsule	15
II.1.2.1.2.Les flagelles et cils	15
II.1.2.1.3.Pili ou fimbriae	16
II.1.2.1.4.Les spores	16
II.1.2.2.Les éléments constants	16
II.1.2.2.1.La paroi	16
II.1.2.2.2.La membrane cytoplasmique	17

II.1.2.2.3.Le cytoplasme.....	17
II.1.3.Les antibiotiques	17
II.1.3.1.Définition et modes d'action	17
II.1.3.2.La concentration minimale inhibitrices et bactéricide	20
II.1.3.3.La résistance bactérienne	20
II.1.3.3.1.La résistance naturelle	20
II.1.3.3.2.La résistance acquise	20
II.1.3.3.3.Les mécanismes de résistance	20
II.2.Les études effectuées sur l'activité antibactérienne des alcaloïdes	21
II.3.Mécanisme d'action des alcaloïdes sur les bactéries	22
II.4.La berbérine	23
II.4.1.Propriétés physico-chimiques de la berbérine	25
II.4.2.L'activité antibactérienne de la berbérine	26
II.4.3.Mécanisme de l'action antibactérienne de la berbérine	26
II.4.3.1.Inhibition de la réplication de l'ADN et de la transcription de l'ARN	26
II.4.3.2.Inhibition de la protéine FtsZ	28
II.4.3.3.Inhibition d'enzymes bactériennes	32
II.4.3.4.Déstabilisation des échanges ioniques	32
II.4.3.5.Inhibition de l'adhérence bactérienne aux cellules eucaryotes	34
II.4.4.La potentialisation de l'activité antibactérienne de la berbérine	36
II.4.4.1.Le système d'efflux bactérien	36
II.4.4.2. La berbérine et les inhibiteurs des pompes à efflux	39
Conclusion	43
Références bibliographiques	44

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique de la morphine	2
Figure 2 : Quelques alcaloïdes isolés par les pharmaciens <i>Pelletier</i> et <i>Caventou</i> durant la période 1817-1821	2
Figure 3 : Exemple d'un alcaloïde vrai : L'usambaeensine	4
Figure 4 : Exemple d'un proto-alcaloïde : La mescaline	5
Figure 5 : Exemple d'un pseudo-alcaloïde : La pinidine	5
Figure 6 : Photo de <i>Pinus penderosa</i> , une plante contenant de la pinidine	6
Figure 7 : Structure de la cellule bactérienne	14
Figure 8 : Photo de <i>Methanococcus jannaschii</i>	15
Figure 9 : Structure de la paroi des Gram + et des Gram –	17
Figure 10 : Découvertes et premières utilisations cliniques des principaux antibiotiques	18
Figure 11 : Concentrations minimales inhibitrices de quelques alcaloïdes vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> et de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	22
Figure 12 : Structure chimique de la sanguinarine	23
Figure 13 : Structure chimique de la coraline	23
Figure 14 : Photo de <i>Berberis vulgaris</i>	24
Figure 15 : Photo de <i>Berberis fremontii</i>	24
Figure 16 : Photo de <i>Berberis repens</i>	24
Figure 17 : Photo de <i>Berberis aquifolia</i>	25
Figure 18 : Structure chimique de la berbérine	25
Figure 19 : Structure tridimensionnelle de la berbérine	25
Figure 20 : Cinétiques de liaisons de la berbérine à l'ADN et à l'ARN de <i>Bacillus subtilis</i>	27
Figure 21 : Structure tridimensionnel du complexe ADN –berbérine	27
Figure 22 : La structure tridimensionnelle de la protéine FtsZ	28
Figure 23 : La polymérisation de FtsZ	29

Figure 24: Cellule bactérienne en cours de division	29
Figure 25 : Structure tridimensionnelle de la berbérine liée à FtsZ	30
Figure 26 : La berbérine liée au voisinage du site de liaison du GTP dans la protéine FtsZ	30
Figure 27 : Le site de liaison de la berbérine dans la protéine FtsZ	31
Figure 28: Le site actif de la protéine FtsZ	31
Figure 29 : Inhibition de la polymérisation de FtsZ de <i>E.coli</i> par la berbérine	32
Figure 30 : photos <i>E.coli</i> non traitée et traitée par la berbérine	33
Figure 31 : Concentrations de K ⁺ et Ca ²⁺ relâchés par <i>E.coli</i> traitée ou non par la berbérine	33
Figure 32 : Influence de la berbérine sur l'adhérence de <i>streptococcus pyogenes</i> aux cellules épithéliales, fibronectine et à l'hexadecane	34
Figure 33 : Influence de la berbérine dans l'expression des pilis de <i>E.coli</i>	35
Figure 34 : La structure chimique de l'acide lipotechoïque	36
Figure 35: Les principales pompes bactériennes d'efflux et leurs fonctionnement	37
Figure 36: Structures tridimensionnelles de quelques pompes d'efflux bactériennes	38
Figure 37 : Structure chimique de la 5'-MHC	39
Figure 38 : Structures chimiques de la phéophorbide a et de la sylbine	40
Figure 39 : Action synergique de la berbérine avec la 5'-MHC	40
Figure 40 : Structure chimique du 5-Nitro-2 Phénylindole	41
Figure 41 : La structure chimique de l'hybride SS14	41
Figure 42 : Structure tridimensionnelle de l'hybride SS14	42

Liste des tableaux

Tableau I : Les principaux types d'alcaloïdes	6
Tableau II : Les différentes familles d'antibiotiques, origines, activité, et mécanisme d'action	19
Tableau III : Influence de la berbérine sur l'adhérence de <i>Esherichia coli</i> aux cellules épithéliales	34
Tableau IV : Concentrations minimales inhibitrices de la berbérine seule et avec INF ₅₅ , et de l'hybride SS14 vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i>	42

Introduction

Introduction

La prolifération de bactéries résistantes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé. En devenant insensibles à tout traitement antibactérien, ces bactéries limitent la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale. La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour finalement, conduire à une impasse thérapeutique.

Aussi, au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens est devenue plus qu'indispensable. Pour être innovants et contourner les mécanismes de résistance bactériens, les antibiotiques de demain devront viser de nouvelles « cibles » d'action chez les bactéries. Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives.

Les plantes étant une source naturelle très importante de substances pour la recherche de nouvelles molécules antibactériennes, suscitent un intérêt croissant par les chercheurs pour l'élaboration de nouveaux antibiotiques. La médecine ethnobotanique fondée depuis plusieurs milliers d'années, a constituée un répertoire considérable de plantes médicinales et de substances qui ont contribué et contribuent encore de façon remarquable au développement de la médecine moderne.

Les alcaloïdes sont un exemple type de ces substances naturelles à vocation thérapeutique extraites à partir des plantes. Ce sont des molécules à caractère basique, d'une petite ou grande toxicité, possédant un azote dans leurs structure et constituant l'une des plus grandes familles de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 Structures différentes. Connus pour leurs effets sur le système nerveux, les alcaloïdes sont utilisés en médecine comme antitumoraux, antalgiques, spasmolytiques, vasodilatateurs, ...ect. L'activité antibactérienne des alcaloïdes est démontrée contre une multitude de bactéries de ce fait, leurs utilisation comme antibiotique est de plus en plus au centre des recherches de bactériologie.

C'est dans cette optique qu'on propose dans ce travail d'étudier l'effet antibactérien des alcaloïdes en effectuant une synthèse des données obtenues à partir des travaux scientifiques, et de définir le mécanisme d'action de l'un de ces composés les plus connus : la berbérine, pour déterminer les capacités antibactériennes des alcaloïdes et leurs utilisation comme antibiotiques.

Chapitre I :
Généralités sur les alcaloïdes

I.1.Historique

C'est Dersone en 1803 qui fut le premier à isoler un alcali végétal, en extrayant un mélange de narcotine et de morphine de l'opium. En 1806, Serturmer découvra la nature alcaline d'un principe de l'opium, principe qu'il dénommera morphine une dizaine d'années plus tard. Après la découverte de Serturmer deux pharmaciens français Pelletier et Caventou, découvrent une importante série de principes actifs entre 1817 et 1820 : caféine, émétine, strychnine, quinine, cinchonine et coniine seront isolées. Le terme « alcaloïde » a été utilisé pour la première fois en 1819 par Meißner, quand il observa que ces composés apparaissaient comme des « alcalis », des bases donc il les dénommera « alcaloïdes » (Aniszewski, 1994).

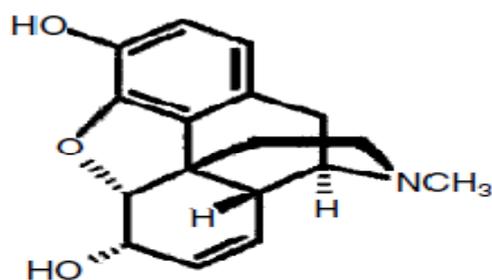


Figure 1: Structure chimique de la morphine (Aniszewski, 2007).

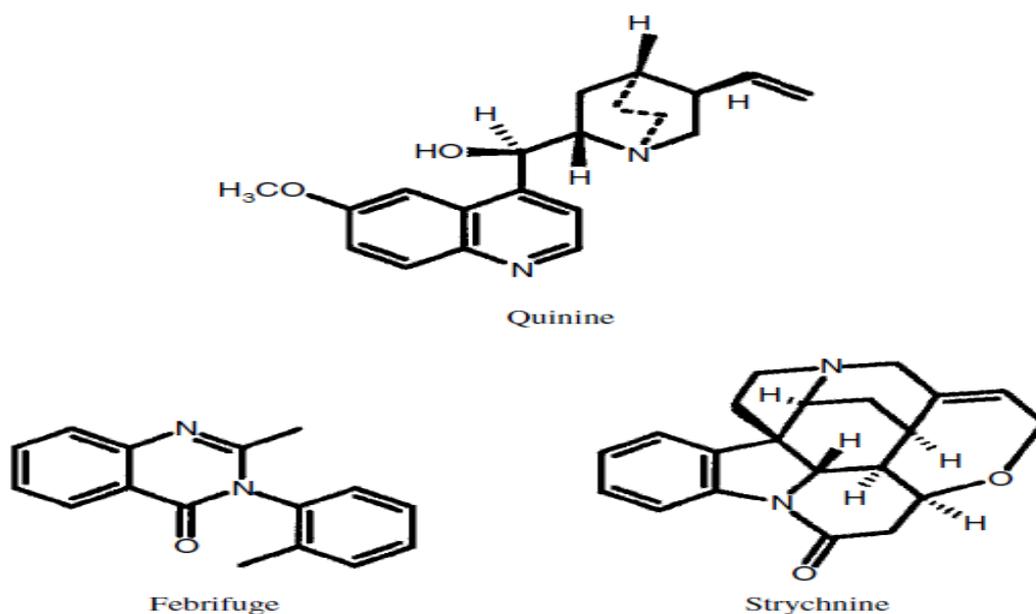


Figure 2 : Quelques alcaloïdes isolés par les pharmaciens Pelletier et Caventou durant la période 1817-1821 (Aniszewski, 2007).

I.2.Définition

Les alcaloïdes sont des métabolites secondaires le plus souvent d'origine végétale, d'une grande ou petite toxicité, qui agissent sur le système nerveux, qui ont un caractère basique et un azote comme composant. Les alcaloïdes constituent l'une des plus grandes familles de métabolites secondaires, avec près de 10 000 à 12 000 structures différentes (**Donatien ,2009**).

I.3.Distribution, localisation et fonction des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont principalement présents dans le règne végétal chez les Angiospermes qui en contiennent 10 à 15 %, sont rares chez les bactéries (pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa*) et les champignons (psilocine). Ces composés sont également présents chez les animaux (flustramine, saxitoxin, samandarine,...ect). Les alcaloïdes chez les végétaux sont souvent localisés dans les tissus périphériques (assises externes des écorces de tiges et de racines, téguments des racines,...ect). Ils sont stockés dans des vacuoles cellulaires, Leur synthèse se fait souvent dans des sites précis : racines en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes, avant d'être transportés dans leurs sites de stockage. Les végétaux contenant plus de 0,01 % d'alcaloïdes sont qualifiés d'espèce « alcaloïdifique ». Les alcaloïdes interviennent dans la protection de la plante contre les agents pathogènes (**Singla et al ., 2010**).

I.4.Propriétés physico-chimiques

- Masse moléculaire variant de 100 à 900.
- La plupart des bases non oxygénées sont liquides.
- Les bases oxygénées sont normalement des solides rarement colorés.
- Les bases non oxygénées donnent des points de fusion au dessous de 200 °C.
- En général, les alcaloïdes bases sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu apolaires, et sont solubles dans les alcools.
- Les alcaloïdes à l'état de bases et en solution sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène.
- Les sels sont formés grâce à la basicité des alcaloïdes associés avec des acides minéraux ou organiques.
- Les sels d'alcaloïdes sont généralement solubles dans l'eau et les alcools et insolubles dans les solvants organiques.

- Les sels se conservant assez bien, constituent la forme commerciale habituelle des alcaloïdes.

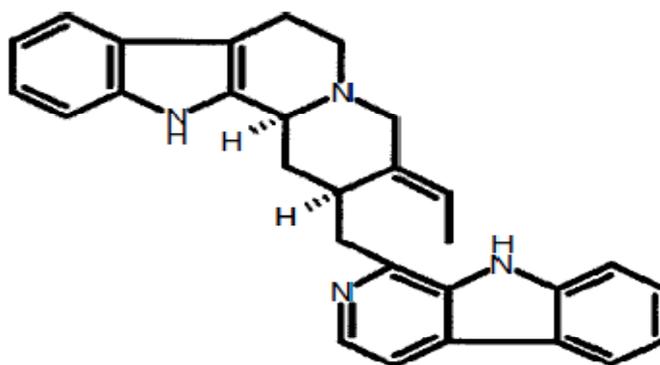
(Bruneton ,1999).

I.5.Classification

La classification des alcaloïdes la plus utilisée est celle se basant sur la structure chimique de ces composés et leurs précurseurs moléculaires, ainsi les alcaloïdes sont classés en trois grands types : les alcaloïdes vrai, les pseudo- alcaloïdes et les proto- alcaloïdes (Aniszewski, 2007).

I.5.1.Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais sont des composés qui dérivent d'acides aminés et possédants un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ces alcaloïdes sont biologiquement très réactifs même à des petites doses. Ils peuvent se présenter dans les plantes à l'état libre ou sous forme de sels. Ils sont formés de la condensation d'un acide aminé décarboxylé avec une molécule dépourvue d'azote (Aniszewski, 2007).



Usambarensine

Figure 3 : Exemple d'un alcaloïde vrai : L'alcaloïde Usambaeensine est un dérivé de la L-tyrosine (Aniszewski ,1994).

I.5.2. Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des composés dont l'atome d'azote dérivé d'un acide aminé n'est pas inclus dans le système hétérocyclique. Ce sont des composés dérivés de la L-tyrosine, du L-tryptophane, et de la L-ornithine. Ils forment un groupe minoritaire d'alcaloïdes, l'hordenine, mescaline et yohimbine sont des exemples types de cette famille d'alcaloïdes (Shakil, 1988).

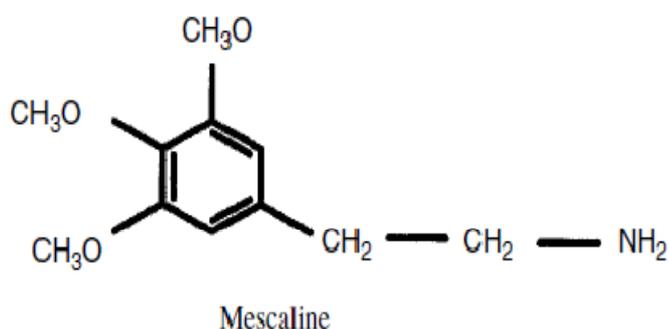


Figure 4 : Exemple d'un proto-alcaloïde : la mescaline est un dérivé de la L-tyrosine (Chini *et al.*, 1992).

I.5.3. Les pseudo-alcaloïdes

Ce sont des composés alcaloïdiques qui ne dérivent pas d'acides aminés. Il s'agit généralement d'isoprenoïdes, et des dérivés de l'acétate (Bruneton, 1999).

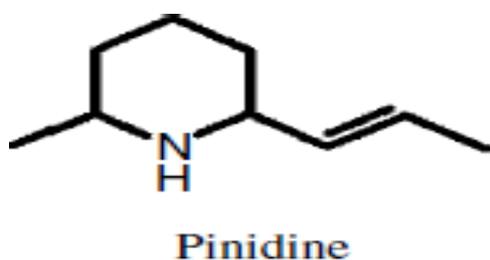


Figure 5 : Exemple d'un pseudo-alcaloïde : Pinidine est un dérivé acétate, extrait des espèces du genre *Pinus* (Shakil, 1988).

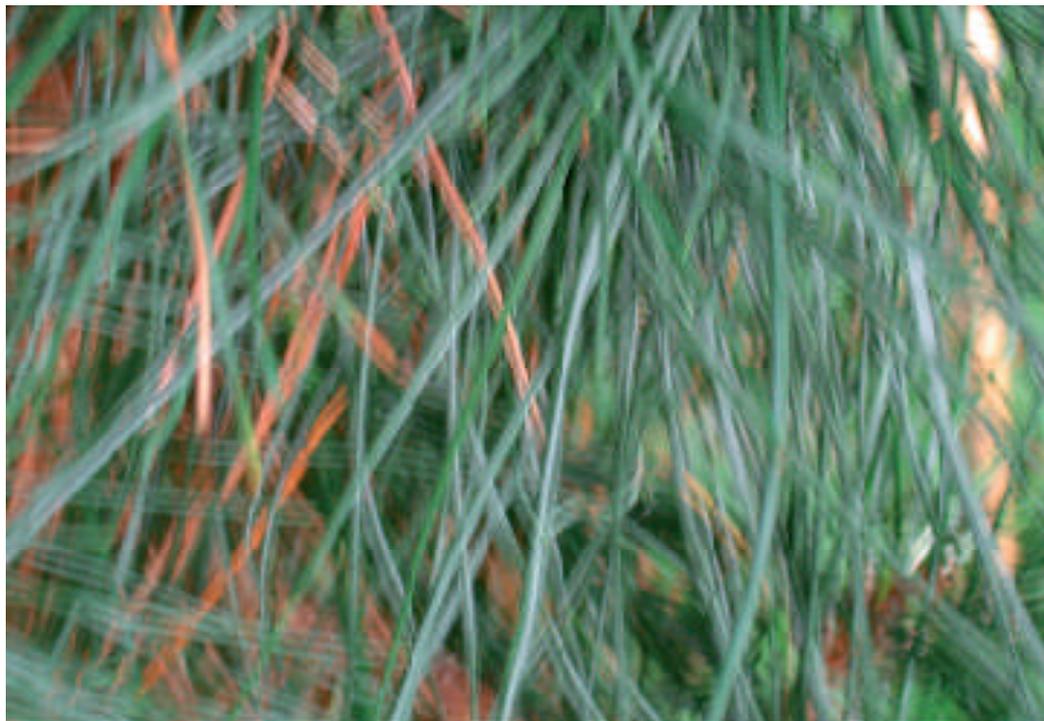


Figure 6 : Photo de *Pinus ponderosa*, une plante contenant de la pinidine (Aniszewski, 2007).

Le tableau I résume les principaux types d'alcaloïdes

Tableau I : Les principaux types d'alcaloïdes (Pelletier, 1983 ; Shakil, 1998 ; Aniszewski, 2007).

Type	précurseur	groupe d'alcaloïde	exemple
Alcaloïdes vrais	L-ornithine	Alcaloïdes pyrrolidiniques	Cuscohygrine Hygrine
		Alcaloïdes tropaniques	Atropine Cocaïne Hyoscyamine Scopolamine/ hyoscine
		Alcaloïdes pyrrolizidiniques	Acetyllycopsamine

Type	précurseur	groupe d'alcaloïde	exemple
			Acetyl-intermedine Europine Homospermidine Ilamine Indicine-N-oxide Meteloidine Retronecine
	L-lysine	Alcaloïdes piperdiniques	Anaferine Lobelanine Lobeline N-methyl pelletierine Pelletierine Piperidine Piperine Pseudopelletierine Sedamine
		Alcaloïdes quinolizidiniques	Cytisine Lupanine Sparteine
		Alcaloïdes indolizidiniques	Castanospermine Swansonine
	L-tyrosine	Aminoalcaloïdes phénylethylques	Adrenaline Dopamine Noradrenaline Tyramine
		Alcaloides tetraiso- quinoléiques simples	Codéine Morphine Norcoclaurine Papavérine Tetrandrine Thébaine Tubocurarine

Type	précurseur	groupe d'alcaloïde	exemple
	L-tyrosine et L-phénelalanine	Alcaloïdes phénethylisoquinoléiques	Floramultine Galanthamine Galanthine Haemanthamine Lycorine Lycorenine Maritidine Oxomaritidine Vittatine
	L-tryptophane	Alcaloïdes indoliques	Arundacine Arundamine Psilocin Serotonin Tryptamine Zolmitriptan Harmine Secologanin Ajmalicine
		Alcaloïdes quinoléiques	Chloroquine Cinchonidine Quinine Quinidine
		Alcaloïdes pyrroloindoliques	A-yohimbine Chimonantheine Chimonantheine Corynantheine Corynantheidine

Type	précurseur	groupe d'alcaloïde	exemple
			Dihydrocorynantheine Corynanthine
		Alcaloïdes de l'ergot	Ergobine Ergotamine Ergocryptine
	L-histidine	Alcaloïdes imidazoliques	Histamine Pilocarpine Pilosine
		Alcaloïdes manzaminiques	Xestomanzamine A Xestomanzamine B
	L-arginine	Alcaloïdes marins	Saxitoxine Tetrodotoxin
	Acide Anthranilique	Alcaloïdes quinazolinqes	Peganine
		Alcaloïdes quinoléiques	Acetylfolidine Acutine Bucharine Dictamine Dubunidine fagarine
	Acide nicotinique	Alcaloïdes pyridiniques	Anabasine Cassinine Celapanin

Type	précurseur	groupe d'alcaloïde	exemple
			Evoline Evonoline Nicotine
Proto- alcaloïdes	L-tyrosine	Alcaloïdes phénylethyl- aminique	Hordenine Mescaline
	L-tryptophane	Alcaloïdes indolique terpenoïdes	Yohimbine
	L-ornithine	Alcaloïdes pyrrolizidiniques	Stachydrine
Pseudo- alcaloïdes	Acetate	Alcaloïdes piperdiniques	Coniine Coniceine Pinidine
		Alcaloïdes sesquiterpeniques	Cassinine Celapanin Evonine Evonoline Evorine Maymysine Regelidine
	Acide pyruvique		Cathine Cathinone Ephedrine Norephedrine
	Acide ferulique	Alcaloïdes aromatiques	Capsaicin
	Géranioïl	Alcaloïdes terpenoïdiques	Aconitine Actinidine Atisine

Type	précurseur	groupe d'alcaloïde	exemple
			Gentianine skytanthine
	Saponines	stéroïdes	Cholestane Conessine Cyclopamine Jervine Pregnenolone Protoveratrine A Protoveratrine B Solanidine Solasodine Squalamine Tomatidine
	Adénine/ guanine	purines	Caféine Théophylline

I.6.Effet thérapeutique des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont aujourd'hui utilisés dans un nombre important de domaines thérapeutiques à cause de leurs propriétés pharmacologiques, ils sont utilisés soit à l'état naturel, après avoir subi des modifications, ou après une synthèse complète.

Les applications des alcaloïdes dans différentes pratiques cliniques sont liées à l'activité biologique de ces composés chez l'homme et les animaux (McCalley ,2002 ; Stöckigt *et al .*, 2002) :

- Antitumoraux : vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothécine
- Antalgiques : morphine, codéine
- Spasmodiques : tubocurarine et papavérine
- Vasodilatateurs : vincamine et ajmalicine
- Emétiques : émétine,
- Antitussifs : codéine
- Antiarythmiques : quinidine et ajmaline
- Antipaludiques : quinine
- Antimicrobiens : Berbérine et sanguinarine
- Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine

I.6.1. Les alcaloïdes comme médicaments

Voici quelques exemples des médicaments commercialisés à base d'alcaloïdes (Aniszewski, 2007) :

- ❖ Aconitysat (aconitine).
- ❖ Rauwopur (ajmaline).
- ❖ Atropinol (atropine).
- ❖ Buscopan (hyoscine).
- ❖ Bella sanol (hyoscyamine).
- ❖ Anticholium et Pilo-Eserin (ésérine).
- ❖ Nivalina (galanthamine) utilisé dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.
- ❖ Nicorette et Nicoderm (nicotine).
- ❖ Stopsmoke et Lobatox (lobéline).
- ❖ Tubarine et Jexin (tubocurarine) utilisé dans les interventions chirurgicales comme relaxants des muscles.
- ❖ Boldosal et Oxyboldine (boldine).
- ❖ Codicaps et Codipront (codéine).
- ❖ Paneraj (narcéine).
- ❖ Morphalgin et Spasmofen (morphine).
- ❖ Dorex et Endrine (éphédrine) utilisés dans le traitement des symptômes nasals liés au froid et dans le traitement de l'asthme.
- ❖ Ergostat et Migral (ergotamine) utilisés dans le traitement des migraines.
- ❖ Ergometron et Syntometrine (ergométrine).
- ❖ Aphrodyne et Yohimex (yohimbine).
- ❖ Periblastine et Velban (vinblastine) qui sont utilisés dans le traitement du cancer.
- ❖ Analgen et Panax (Caféine).
- ❖ Amorphan et Recatol (cathine).
- ❖ Atrofed et Seominal (theobromine) utilisés dans le traitement de l'asthme.
- ❖ Theochron et Euphyllin (théophylline) utilisés aussi pour le traitement de l'asthme.
- ❖ Quinidex et Quinalan (quinidine).
- ❖ Adaquin et Biquinate (quinine) utilisés dans la prévention et le traitement de la malaria.

Chapitre II :
L'activité antibactérienne des
alcaloïdes et mécanisme
d'action de la berbérine

II.1.Généralités sur les bactéries

II.1.1. Définition

Les bactéries sont des organismes microscopiques appartenant au règne des procaryotes qui sont les êtres vivants dont le matériel génétique n'est pas entouré par une enveloppe et qui par conséquent sont dépourvus d'un vrai noyau, les procaryotes sont divisés en deux groupes : les eubactéries ou « vrais bactéries » et les archéobactéries (Halary ,2009).

II.1.2.Structure de la cellule bactérienne

La bactérie est constituée d'éléments constants qui sont des structures présentes normalement en permanence et chez toutes les espèces, et d'éléments inconstants exprimés lors de certaines conditions de l'environnement bactérien, ou qui sont caractéristiques de certaines espèces (Zézérov, 2002).

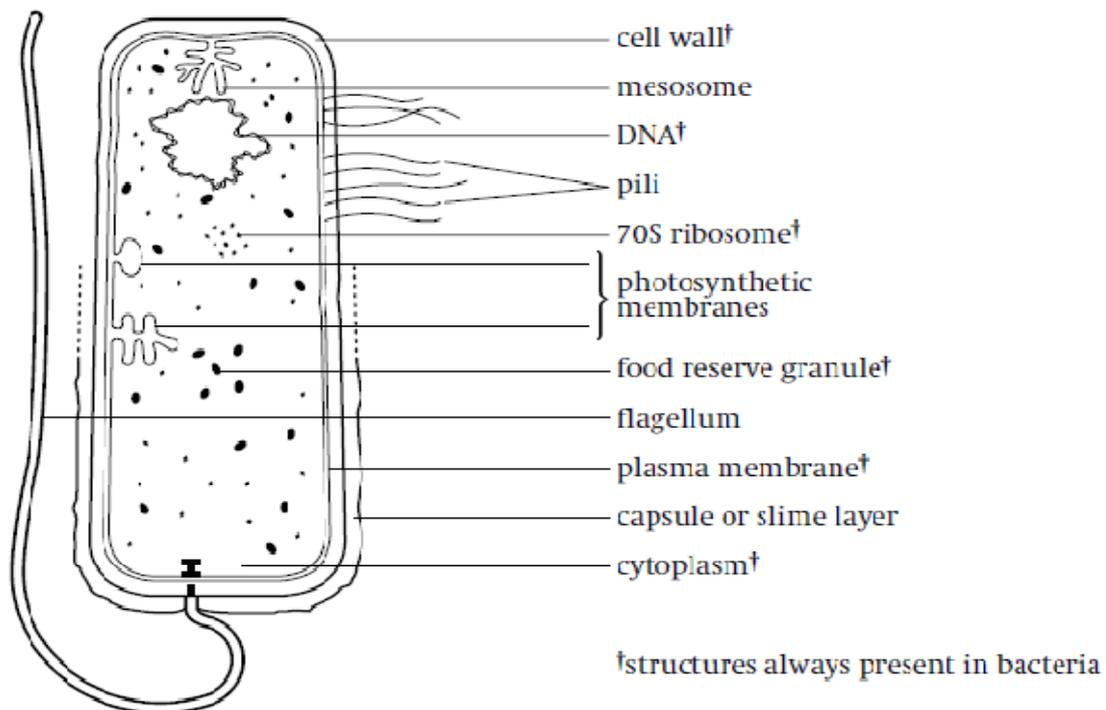


Figure 7 : Structure de la cellule bactérienne. Les éléments constants sont représentés par une croix (Lowrie et wells ,2010).

II.1.2.1. Les éléments inconstants

II.1.2.1.1. La capsule

La capsule est un élément de certaines cellules bactériennes située à l'extérieur de la paroi. Elle est constituée chimiquement souvent de polyholosides chez les Gram négatives et de polypeptides chez les Gram positives. La capsule permet à la bactérie de résister à la phagocytose, la protège contre le dessèchement, contre certains virus infectieux, et permet à la bactérie de résister à certains produits toxiques comme les détergents (Poly, 2005).

II.1.2.1.2. Les flagelles et cils

Ce sont des éléments protéiques (flagelline) déterminants dans la mobilité cellulaire de la bactérie, et dans le phénomène de chimiotactisme (Parenchych *et al.*, 1988).

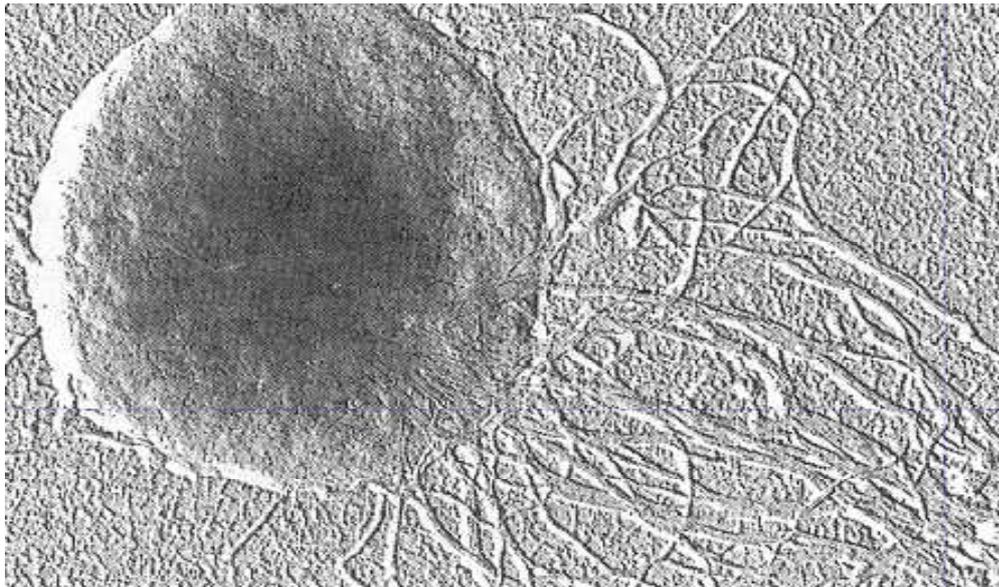


Figure 8: Photo de *Methanococcus jannaschii*. Les extensions représentent les flagelles (Jones *et al.*, 1983).

II.1.2.1.3.Pili ou fimbriae

Ce sont des appendices filiformes différents des flagelles et cils, fréquents chez les Gram négatives et rares chez les Gram positives. Constitués de la protéine pilline, ils sont divisés en deux types :

- Les Pilis communs qui assurent l'adhésion des bactéries Gram négatives aux cellules eucaryotes
- Les pilis sexuels impliqués dans le transfert du matériel héréditaire entre deux bactéries (Sauer *et al* ,1993).

II.1.2.1.4.Les spores

Certaines bactéries en conditions défavorables telles que le manque d'aliment ou le dessèchement se transforment en formes plus petites, en repos dont le métabolisme se ralentit de façon très importante (Zézérov ,2002).

II.1.2.2.Les éléments constants

II.1.2.2.1.La paroi

La paroi des bactéries Gram positives est presque exclusivement constituée de peptidoglycane, auquel sont associés des polymères d'acide teichoïque. La paroi des bactéries Gram négatives est plus complexe : le peptidoglycane, réduit à une fine couche, est entouré par deux membranes. La membrane interne comporte majoritairement des phospholipides alors que la membrane externe présente une structure asymétrique, avec une face interne constituée de phospholipides et une face externe, caractérisée par la présence du lipopolysaccharide (LPS) .Le LPS représente 75% de la surface totale de la membrane externe et établit des interactions spécifiques avec des protéines membranaires, telles que les porines. Le LPS est constitué de trois domaines structuraux, comprenant le lipide A, qui assure son ancrage à la membrane externe, un oligosaccharide central et l'antigène O, formé de plusieurs unités oligosaccharidiques. Son caractère hydrophile rend la membrane externe des bactéries Gram négatives imperméable à la plupart des macromolécules hydrophobes (Cronan *et al.*, 1987).

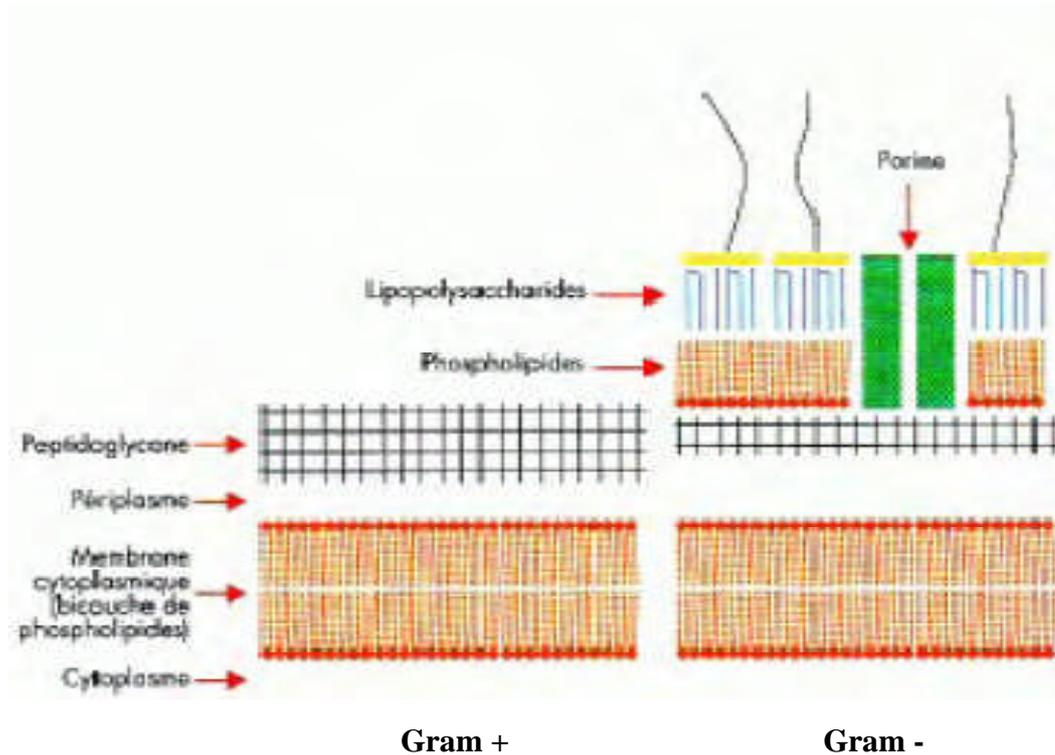


Figure 9 : Structure de la paroi des bactéries Gram positives et Gram négatives (**Pugsley, 1993**).

II.1.2.2.2. La membrane cytoplasmique

Elle est constituée de phospholipides et de protéine, son rôle est les échanges de matières avec le milieu extérieur (transport) et la fixation des enzymes de respiration ou photosynthétiques (**Lowrie et wells, 2010**).

II.1.2.2.3. Le cytoplasme

Solution de sels minéraux et de composés solubles de nature lipoprotéiques, de nucléoprotéines et de lipides, il est constitué de ribosomes et les acides ribonucléiques qui leurs sont associés, le matériel héréditaire (ADN, plasmides), et de substances de réserve (amidon) (**Marie et al., 2011**).

II.1.3. Les antibiotiques

II.1.3.1. Définition et modes d'action

Se sont des molécules chimiques d'origine naturelle (bactéries, végétaux, champignons et animaux), synthétique ou semi-synthétique pouvant avoir un effet bactériostatique ou bactéricide. Leurs action étant spécifiquement dirigée contre des microorganismes, ils ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes. La pénicilline est le premier antibiotique à avoir été découvert en 1929 par Fleming à partir du champignon *Penicillium notatum*.

Les antibiotiques peuvent avoir des effets sur un nombre limité de souches ou au contraire agir sur de nombreuses espèces ce qui définit le spectre d'action, ayant dans les deux cas différentes cibles dans la cellule bactérienne (paroi, membrane, acides nucléiques, synthèse protéique, métabolisme bactérien,...). La bactérie résiste à l'antibiotique par différents mécanismes appartenant à la résistance naturelle ou acquise (pompes à efflux, modification de la cible, hydrolyse enzymatique, modification de la perméabilité membranaire,...ect). (Guinoiseau, 2010).

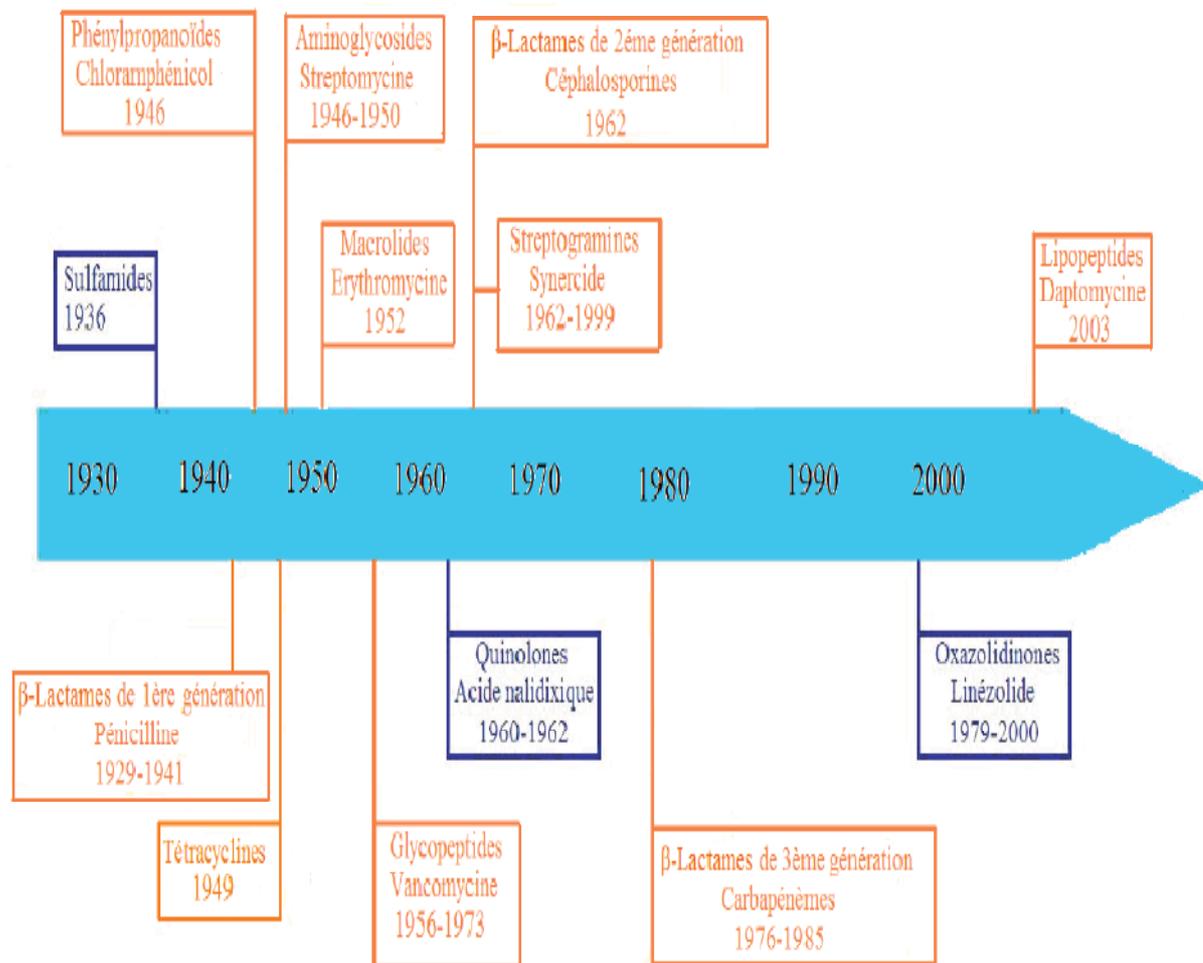
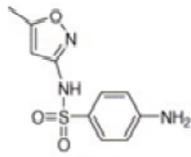
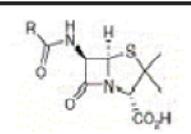
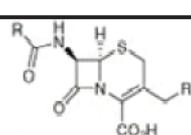
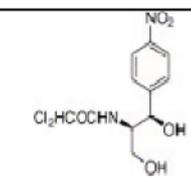
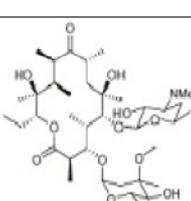
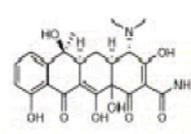
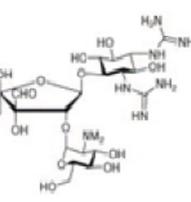
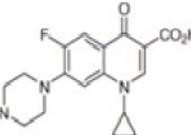


Figure 10: Découverte et premières utilisations cliniques des principaux antibiotiques naturels (Orange), et synthétiques (Bleu) (Singh et Barrett, 2006).

Tableau II : Les différentes familles d'antibiotiques : origines, structure, et mécanisme d'action (Guinoiseau ,2010).

Classe	Origine	Mode d'action	Exemple	Structures chimiques (Singh et Barrett, 2006)
Sulfamides	Synthétique	- Inhibent la synthèse de l'acide folique - Entraînent une diminution de la production	Sulfaméthoxazole	
β - Lactames de 1 ^{ère} génération	<i>Penicillium notatum</i>	Inhibent la synthèse du peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	Pénicilline	
β - Lactames de 2 ^{ème} génération	<i>Cephalosporum</i>		Céphalosporine	
Phénylpropanoïdes	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome empêchant l'élongation du peptide au cours de la traduction	Chloramphénicol	
Macrolides	<i>Streptomyces erythraeus</i>		Erythromycine	
Tétracyclines	<i>Streptomyces</i>	Bloquent la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome	Tétracycline	
Aminoglycosides	<i>Streptomyces</i> ou <i>Micromonospora</i>	Se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome et bloquent en partie la traduction en engendrant des erreurs de lecture	Streptomycine	
Quinolones et fluoroquinolones	Synthétique	Inhibent la gyrase bactérienne	Ciprofloxacine	

II.1.3.2.La concentration minimale inhibitrices et bactéricide

La concentration minimale inhibitrice (C.M.I) est la plus faible concentration de l'agent antibactérien qui inhibe toute croissance bactérienne visible après 24h d'incubation dans un milieu de croissance spécifique, et la concentration minimale bactéricide (C.M.B) est la plus faible concentration de l'agent antibactérien qui tue 99,99% de la population bactérienne après 24h d'incubation dans un milieu de croissance spécifique. Si le rapport C.M.B/C.M.I est inférieur à 2, l'antibiotique est dit «bactéricide », et si il est supérieur à 2, l'antibiotique est dit « bactériostatique ». L'administration d'un antibiotique « bactériostatique » suffit généralement pour arrêter un processus infectieux, le système immunitaire de l'hôte se chargeant d'éliminer les bactéries restantes mais chez des sujets immunodéprimés, le recours à des antibiotiques bactéricides est indispensable (**Andrews ,2001**).

II.1.3.3.La résistance bactérienne

II.1.3.3.1.La résistance naturelle

On parle de résistance naturelle quand toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à l'antibiotique. Les bactéries du genre *Mycoplasma* sp illustrent bien cette résistance : Le composant principal de la paroi des bactéries est le peptidoglycane, un réseau tridimensionnel d'acides aminés et de chaînes polysaccharidiques, constituées de N-acétylglucosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM). Dépourvus de cet élément constitutif, les mycoplasmes présentent une résistance aux β -lactames, dont le mode d'action consiste en l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane (**Normak et Normak, 2002**).

II.1.3.3.2.La résistance acquise

On parle de résistance acquise lorsque seules quelques souches d'une espèce bactérienne normalement sensible à un antibiotique deviennent résistantes vis-à-vis de ce dernier. Cette résistance peut être acquise par mutation ou par transfert de gènes. La résistance acquise par mutation est aussi qualifiée de résistance chromosomique. La transmission d'éléments génétiques mobiles comme les plasmides, favorise également l'acquisition des résistances par les bactéries elle peut s'effectuer par transduction, conjugaison ou transformation (**Levy et Marshall, 2004**).

II.1.3.3.3.Les mécanismes de résistance

La bactérie possède des mécanismes de résistance aux antibiotiques lui permettant ainsi de se protéger. La diminution de la concentration cellulaire de l'antibiotique peut se faire soit par diminution de la perméabilité de la membrane bactérienne à l'antibiotique, ou par le système d'efflux bactérien dans le cas de la pénétration de l'antibiotique. La diminution de la concentration de l'antibiotique se fait grâce à des caractéristiques de la membrane bactérienne comme le caractère hydrophile du lipopolysaccharide qui permet aux bactéries Gram négatives d'être

impermeable à la plupart des macromolécules hydrophobes. Cette diminution peut être également directement liée à une diminution de l'expression des gènes codants pour les porines, ou à des modifications de la taille et de la sélectivité de ces dernières (**Cronan et al., 1987**).

Un autre mécanisme de la résistance bactérienne aux antibiotiques consiste en la dégradation et la modification enzymatique de l'antibiotique visant à l'inactivation de l'antibiotique par hydrolyse, ou par ajout de groupements chimiques (**Wright, 2005**).

Les bactéries peuvent aussi résister aux antibiotiques par l'altération des cibles visées comme les mutations au niveau des gènes codants pour l'ADN gyrase, et l'ARN polymérase, enzymes ciblées par les fluoroquinolones et la rifampicine, observées chez *Helicobacter pylori* et *Mycobacterium tuberculosis* (**Willmott et Maxwell, 1993**).

II.2. Les études effectuées sur l'activité antibactérienne des alcaloïdes

L'activité antibactérienne des alcaloïdes a été étudiée de façon extensive durant la période 1940-1980 ; Durant cette période près de 70 études ont permis de mettre en évidence plus de 50 stéroïdes, plus de 100 alcaloïdes quinolizidiniques, et près de 90 alcaloïdes indoliques à effet antibactérien. C'est vraisemblablement l'étude de Fontaine *et al.*, (1948) qui a démontré pour la première fois l'effet antibactérien d'un alcaloïde : la tomatine présent chez le genre botanique *Lycopersicon*.

Les différentes études de l'effet antibactérien des alcaloïdes ont démontrés que ces derniers agissent sur les bactéries Gram positives et Gram négatives, dans les années 1990 les alcaloïdes les mieux étudiés du point de vue de l'effet antibactérien sont la berbérine et la sanguinarine (**Leitao Da-Cunha et al., 2001 ; Conserva et al., 2005**).

C.M.I (µg)

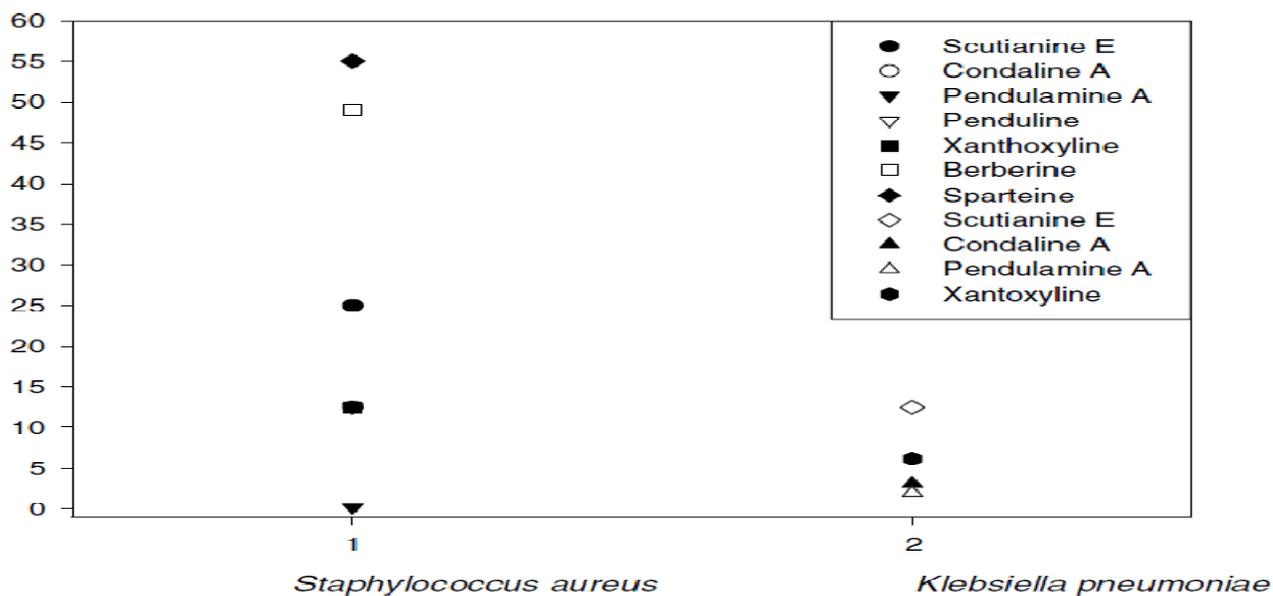


Figure 11: Concentrations minimales inhibitrices (C.M.I) de quelques alcaloïdes vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* une bactérie Gram+, et *Klebsiella pneumoniae* une bactérie Gram- (Faizi et al., 2003).

II.3.Mécanisme d'action des alcaloïdes sur les bactéries

Bien que l'effet antibactérien des alcaloïdes a été confirmé par de nombreux travaux, les mécanismes de leurs actions n'a pas eu le même sort à cause du nombre réduit de travaux menés dans la majorité des cas sauf quelques exceptions comme la sanguinarine (Figure 12) qui agit sur les bactéries en inhibant la protéine de division bactérienne FtsZ, et qui se lie à l'ADN bactérien empêchant la transcription de l'ARN et la duplication de l'ADN (Beuria et al., 2005 ; Giri et Kumar, 2010), et la coraline (Figure 13) se lie à l'ADN bactérien et empêche aussi la duplication de l'ADN et la transcription de l'ARN (Taira et al., 1994 ; Giri et Kumar, 2010 ; Maiti et Kumar 2010). D'autres alcaloïdes semblent cibler des enzymes bactériennes : La palmatine est un inhibiteur de la reverse transcriptase, la papavérine est un inhibiteur de la malate et de la lactate déshydrogénase, la coptisine est un inhibiteur de la monoamine oxydase, la chelidonine, et chelerythrine inhibent la lipase (Kap et Withely, 1991 ; Gudima et al., 1994 ; Gripp et al., 1999 ; Ro et al., 2001).

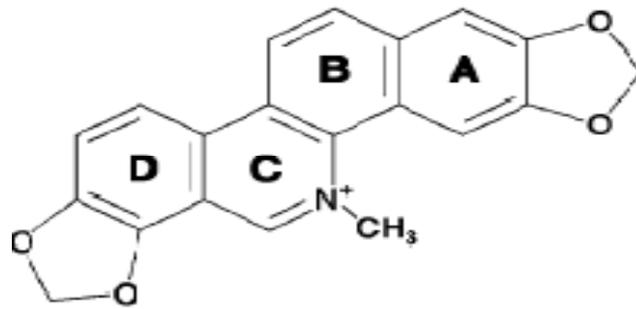


Figure 12 : Structure chimique de la sanguinarine (Giri et Kumar ,2010).

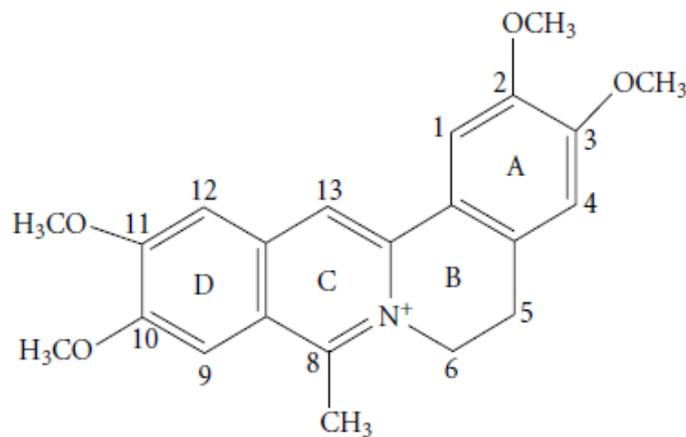


Figure 13 : Structure chimique de la coraline (Maiti et Kumar, 2010).

II.4.La berbérine

La berbérine est l'un des alcaloïdes à effet antibactérien dont le mécanisme d'action est le plus connu, elle a été choisie donc dans ce travail pour l'étude des mécanismes d'actions des alcaloïdes contre les bactéries d'autant plus que la grande diversité des alcaloïdes, rend difficile d'étudier tout les mécanismes de leurs effet antibactérien.

La berbérine est un alcaloïde isoquinoléique avec une longue histoire dans la médecine chinoise et nord américaine, il est présent essentiellement chez les espèces botaniques : *Hydrastis canadensis* , *Coptis chinensis* , *Berberis aquifolium* , *Berberis vulgaris*, et *Berberis aristata* .Elle peut se rencontrer au niveau des racines, rhizomes, et dans l'écorce des tiges (Stermitz *et al* .,2000). Les figures 14,15 ,16 et 17 sont quelques exemples de plantes contenant la berbérine.



Figure 14: Photo de *Berberis vulgaris* (Stermitz *et al.*, 2000).



Figure 15: Photo de *Berberis fremontii* (Stermitz *et al.*, 2000).



Figure 16: Photo de *Berberis repens* (Stermitz *et al.*, 2000).



Figure 17: Photo de *Berberis aquifolia* (Stermitz *et al.*, 2000).

II.4.1. Propriétés physico-chimiques de la berbérine

- Les structures chimique et tridimensionnelle :

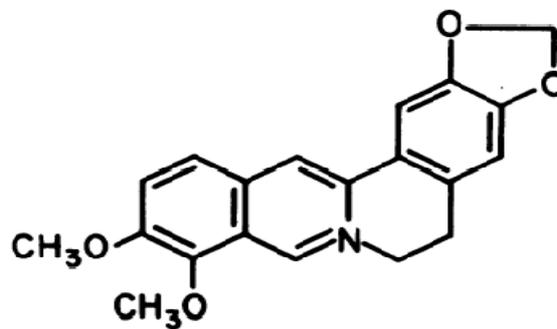


Figure 18: Structure chimique de la berbérine (Sack et Froehlich, 1982).

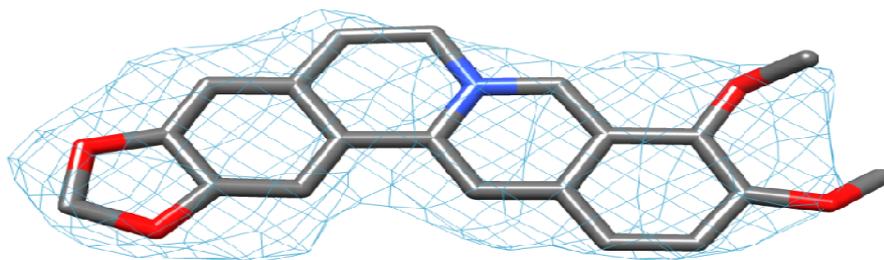


Figure 19 : Structure tridimensionnelle de la berbérine (Marta *et al.*, 2011).

- Formule chimique : $C_{20}H_{18}O_4N$
 - Appellation chimique : 7, 8, 13,13a-tétrahydro-9,10-diméthoxy-2,3-méthylendioxy – berberinium.
 - Couleur : Jaune.
 - Solubilité : Eau.
 - Poids moléculaire : 336,36.
 - Point de fusion : $210^{\circ}C$.
- (Maiti et kumar ,2010).

II.4.2.L'activité antibactérienne de la berbérine

La berbérine agit sur des bactéries Gram positives et Gram négatives. Une concentration de 2 mg/ml est nécessaire à la berbérine pour inhiber toute croissance de *Escherichia coli*, elle agit aussi sur d'autres bactéries comme : *Staphylococcus aureus* avec une C.M.I de 0,1 mg/ml, *Bacillus subtilis* avec une C.M.I de 0,2 mg/ml, *Proteus vulgaris* avec une C.M.I de 1 mg/ml, *Salmonella typhimurium* avec une C.M.I de 2 mg/ml, et sur *Pseudomonas aeruginosa* avec une C.M.I de 2 mg/ml (JIN JL et al., 2010).

II.4.3.Mécanisme de l'action antibactérienne de la berbérine

La berbérine exerce son action antibactérienne à plusieurs niveaux : 1)-L'inhibition de la réplication de l'ADN et de la transcription de l'ARN, 2)- L'inhibition de la protéine FTsZ, 3)- Inhibition et/ou influence d'enzymes bactériennes, 4)-déstabilisation des échanges ioniques, et 5)-inhibition de l'adhérence bactérienne aux cellules eucaryotes (Sun et al., 1988 ; Domadia et al., 2008 ; Boberek et al., 2010 ; Jin JL et al., 2010).

II.4.3.1.Inhibition de la réplication de l'ADN et de la transcription de l'ARN

La berbérine possède la capacité de se lier aux acides nucléiques bactériens. La liaison se fait par intercalation entre deux paires de bases et d'une façon non spécifique (Yamagishi, 1967 ; Park et al., 2004 ; Jin JL et al., 2010).

La figure 20 montre les cinétiques de liaison de la berbérine aux acides nucléiques de *Bacillus subtilis* obtenues par Jin JL et ces collaborateurs en 2010, et la figure 21 montre la liaison de la berbérine à une séquence de l'ADN bactérien en 3D.

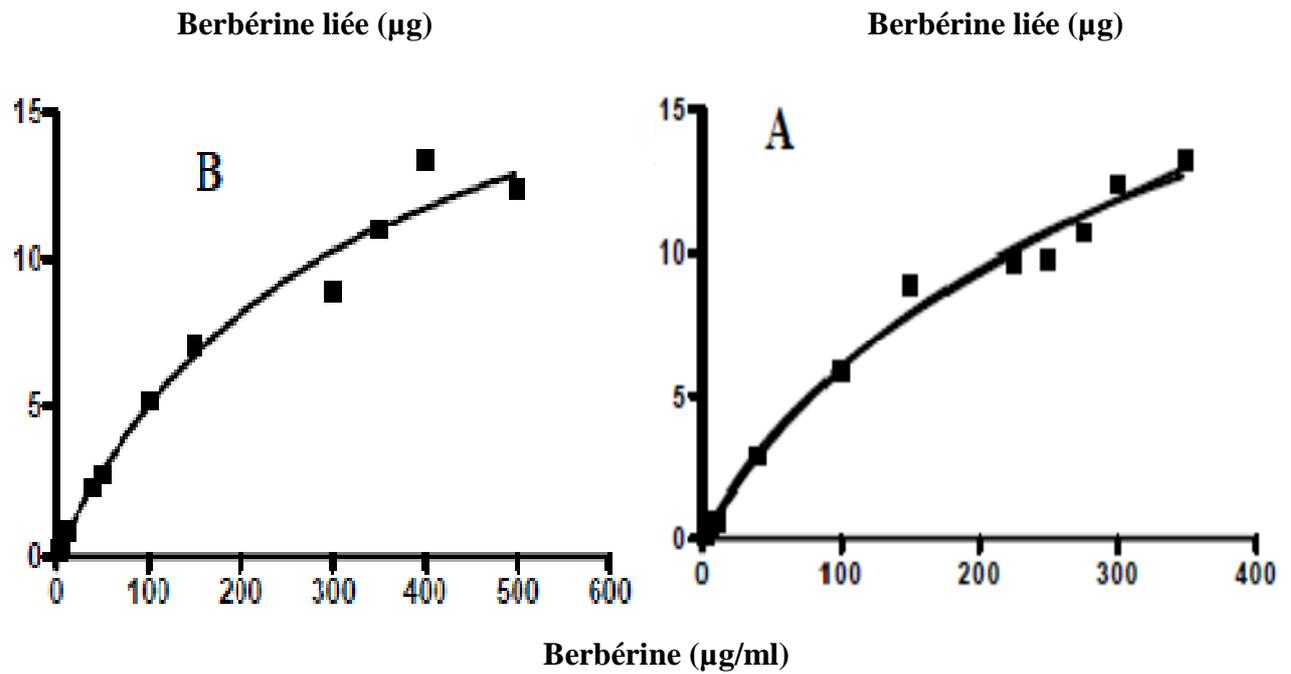


Figure 20: Les cinétiques de liaison de la berbérine à l'ADN (courbe B), et à l'ARN (courbe A) de *Bacillus subtilis* (Jin JL *et al.*, 2010).

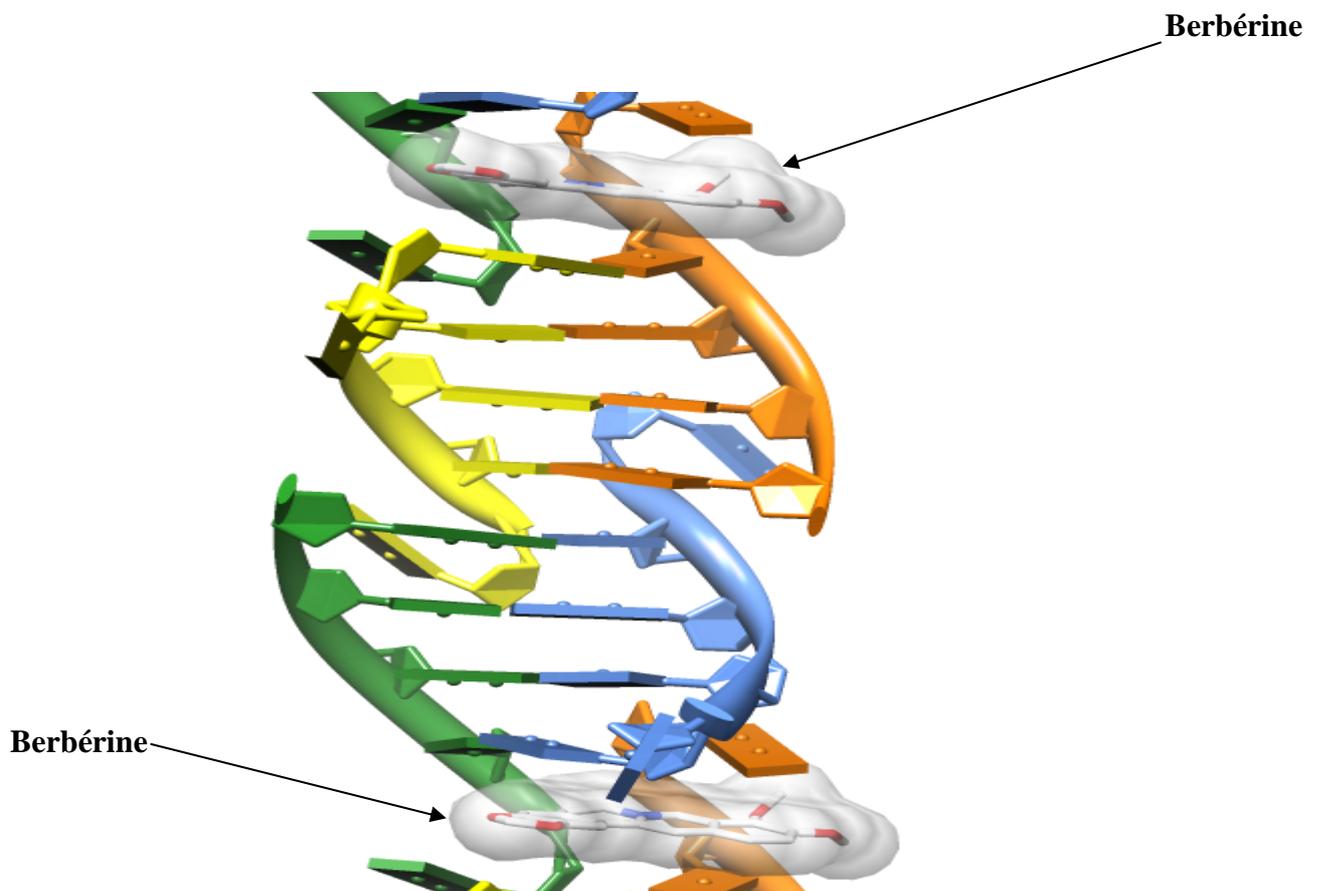


Figure 21 : Structure tridimensionnel du complexe ADN-berbérine (Marta *et al.*, 2011).

La capacité de la berbérine à inhiber la duplication de l'ADN et la transcription de l'ARN est due à l'inhibition de l'ADN gyrase et de l'ARN polymérase. La berbérine peut également causer des modifications et/ou des déformations dans la structure des acides nucléiques (**Jin JL *et al.*, 2010 ; Maiti et Kumar ,2010**).

II.4.3.2. Inhibition de la protéine FTsZ

La protéine FTsZ (Figure 22) est l'élément clé de la division bactérienne, elle est l'homologue de la tubuline chez les eucaryotes, et elle a une activité GTPase. FTsZ est une protéine de poids moléculaire 44 000 présente chez les eubactéries et les archaebactéries et qui polymérise sous forme de filaments (Figure 23) en présence du GTP et des ions Mg^{2+} pour former l'anneau Z au milieu de la cellule bactérienne (Figure 24), lui permettant ainsi de se diviser (**Kumar *et al.*, 2011 ; Zhiru *et al.*, 2011**).

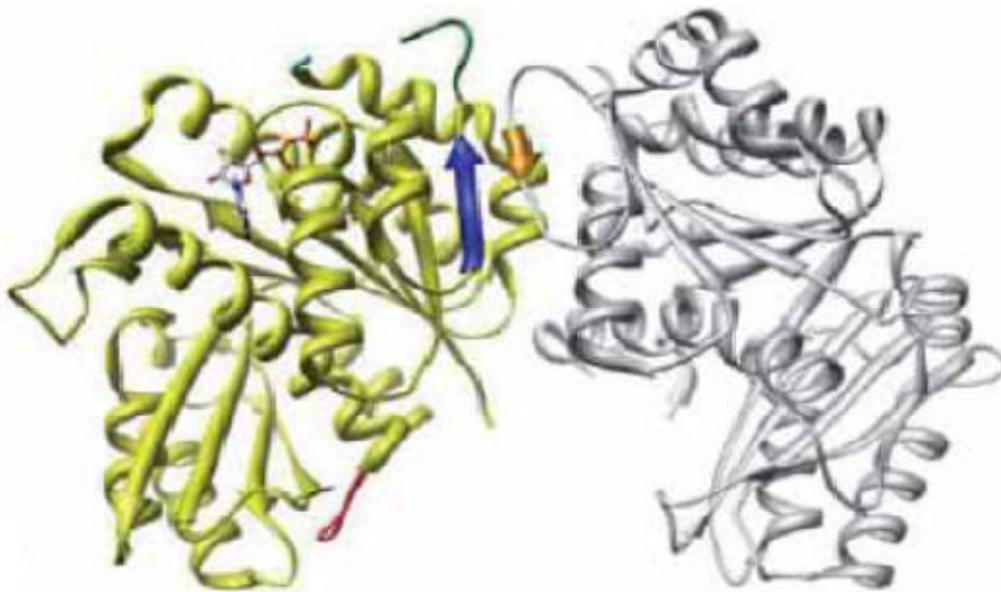


Figure 22: La structure tridimensionnelle de la protéine FTsZ (**Kumar *et al.* , 2011**).

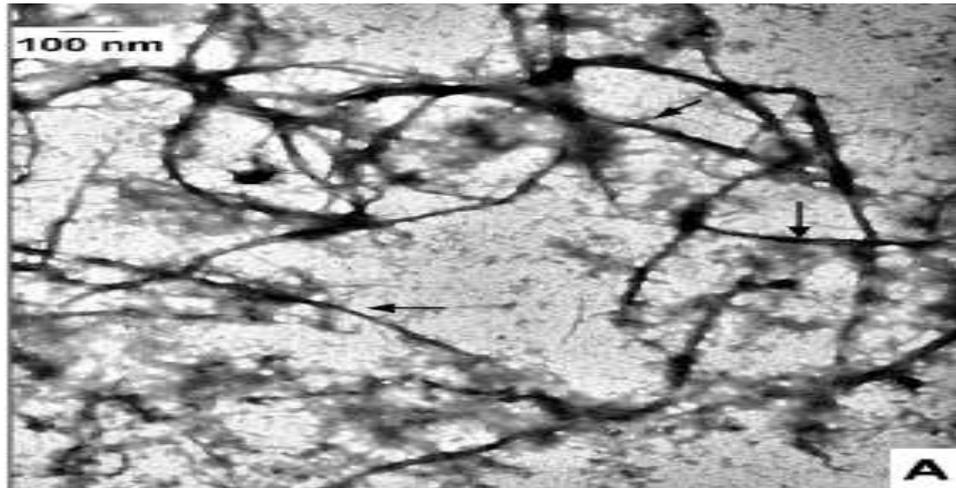


Figure 23: La polymérisation de FTsZ. Les flèches indiquent les protofilaments de la protéine (Domadia *et al.* , 2008).

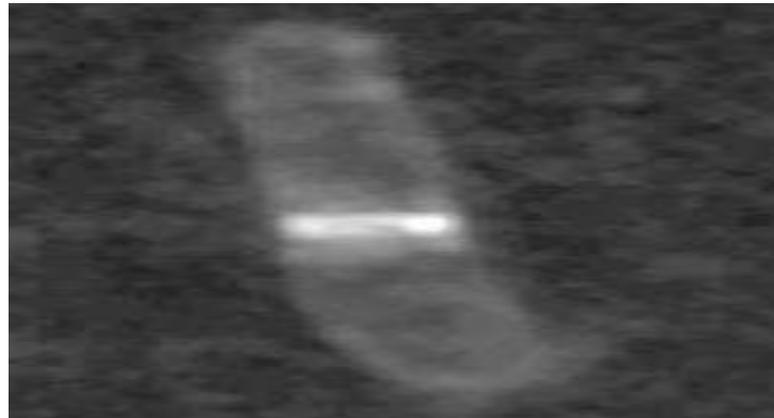


Figure 24: cellule bactérienne en cours de division : l'anneau Z apparaît brillant au centre de la cellule (Zhiru *et al.* , 2011).

L'action inhibitrice de la berbérine sur FTsZ s'exerce par un contact physique direct entre les deux molécules (Figure 25), la berbérine se lie au voisinage du site de liaison du GTP de la protéine (Figure 26), le contact de la berbérine avec les acides aminés localisés dans le voisinage du site de liaison du GTP (Figure 27), entraîne des modifications structurales dans ce dernier, ce qui a comme conséquences l'inhibition de l'activité GTPase de FTsZ et de sa polymérisation (Figure 29), et le blocage toute division bactérienne après désorganisation de l'anneau Z (Kumar *et al.*, 2011).

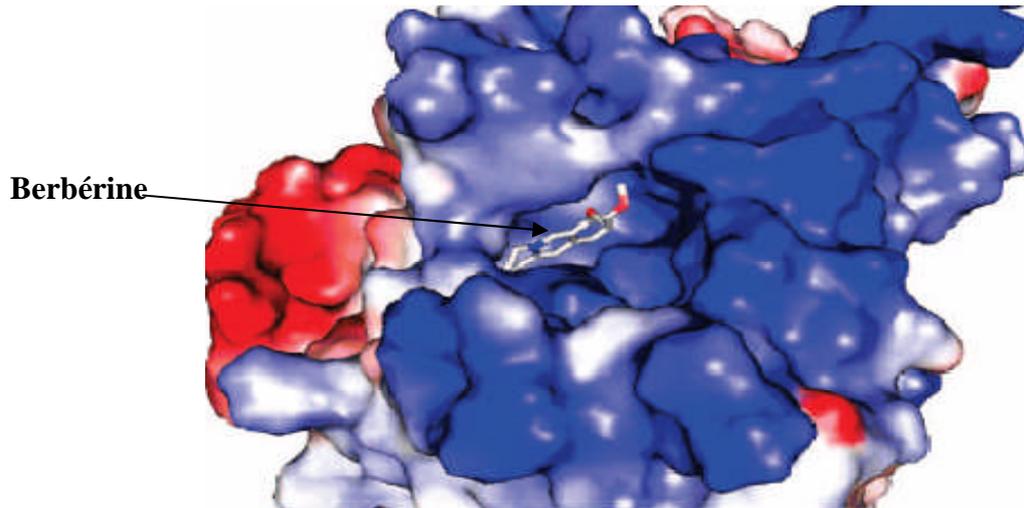


Figure 25: Structure tridimensionnel de la liaison entre la berbérine et FTsZ (Domadia *et al.*, 2008).

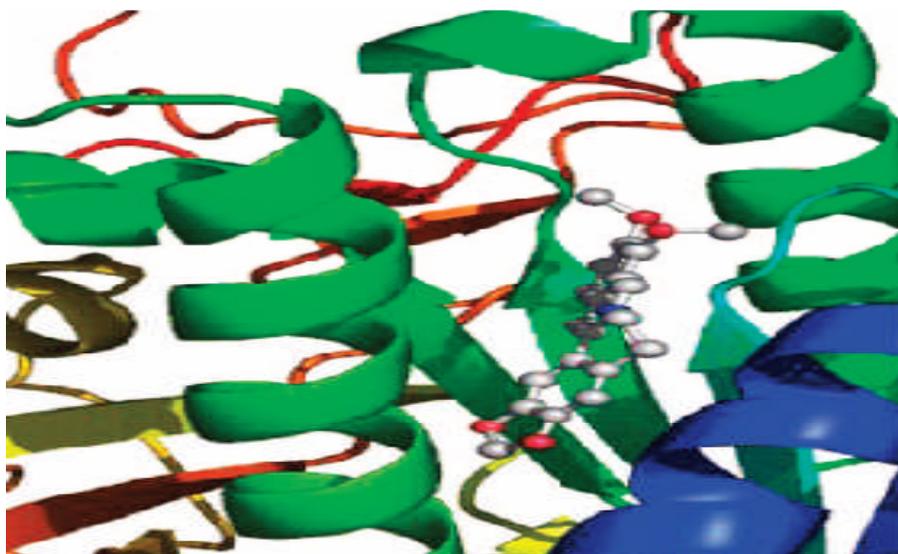


Figure 26: La berbérine liée au voisinage du site de liaison du GTP dans la protéine FTsZ (Domadia *et al.*, 2008).

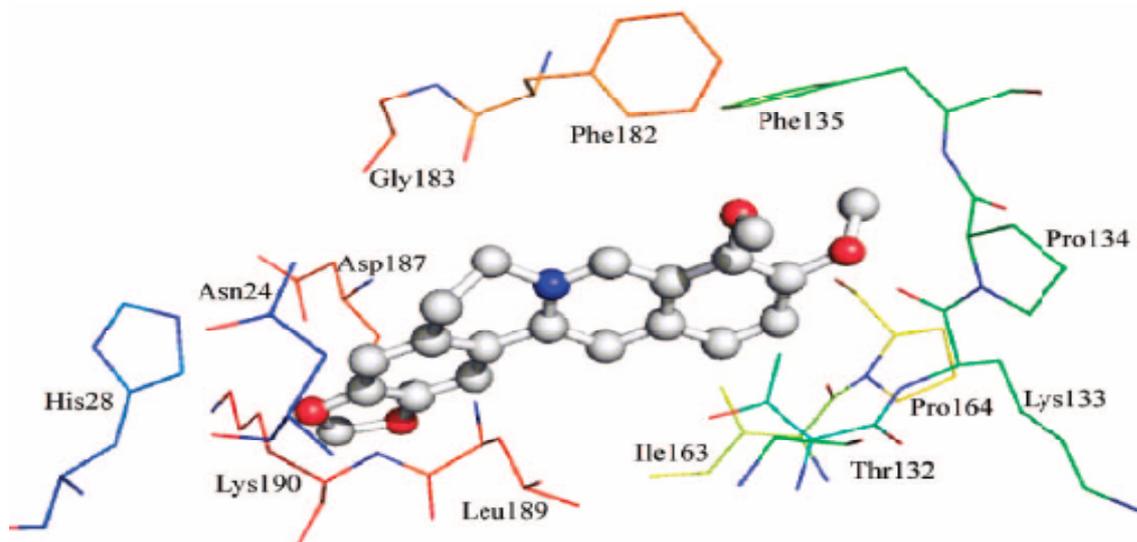


Figure 27: le site actif de la berbérine dans la protéine FTsZ (au voisinage du site de liaison du GTP) (Domadia *et al.*, 2008).

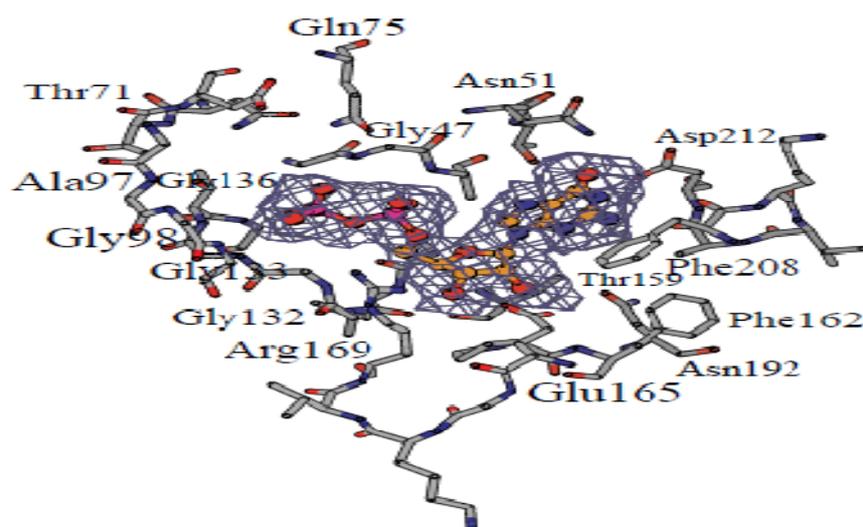


Figure 28: Le site actif de la protéine FTsZ (Lowe et Linda ,1998).

% de polymérisation de FTsZ

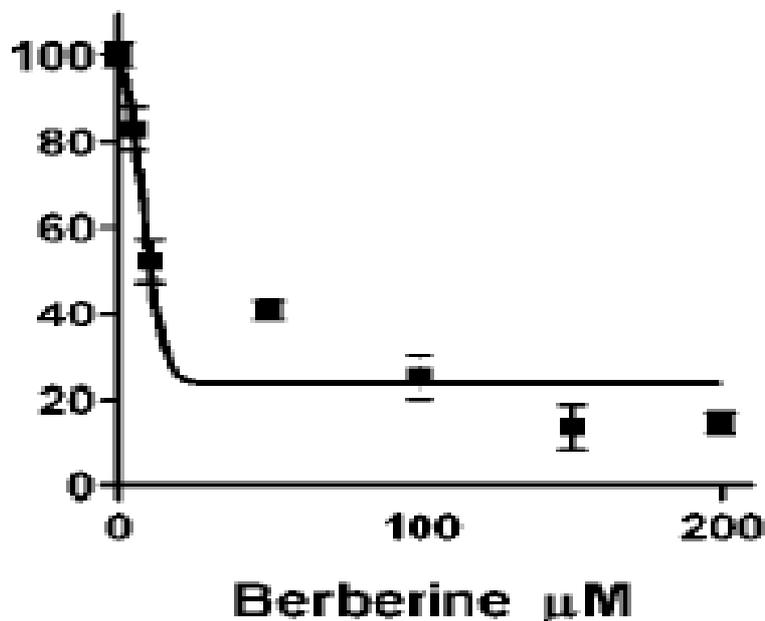


Figure 29: Inhibition de la polymérisation de FTsZ de *Escherichia coli* par la berbérine (Domadia *et al.*, 2008).

II.4.3.3. Inhibition d'enzymes bactériennes

La berbérine influence et/ou inhibe l'activité de certaines enzymes bactériennes ayant un rôle indispensable dans les fonctions de la cellule bactérienne comme l'inhibition de la reverse transcriptase (Gudima *et al.*, 1994), la malate et de la lactate déshydrogénase (Kap et whithely, 1991), la lipase (Gripa *et al.*, 1999), la monoamine oxydase (Ro *et al.*, 2001), et la télomerase (Sriwilajareon *et al.*, 2002). L'effet inhibiteur et/ou déstabilisateur de la berbérine vis-à-vis de ces enzymes peut s'expliquer soit génétiquement par l'inhibition de l'ADN ou de l'ARN codants pour ces enzymes, ou par une inhibition de leurs fonctions par contact direct (Jin JL *et al.*, 2010).

II.4.3.4. Déstabilisation des échanges ioniques

En 2010 Jin JL et ses collaborateurs ont démontrés une augmentation anormale de la quantité des ions K^+ et Ca^{2+} relâchée par *Escherichia coli* traitée par la berbérine (Figure 31); les changements morphologiques de la surface cellulaire de la même bactérie traitée par la berbérine (Figure 30-D), peut expliquer cette déstabilisation qui peut être due à des modifications de surface cellulaire et par conséquent perturbations des canaux et des voies permettant les échanges de ces ions.



Figure 30: Photos de *Escherichia coli* non traitée par la berbérine (E), et traitée par la berbérine (D) (Jin JL *et al.*, 2010).

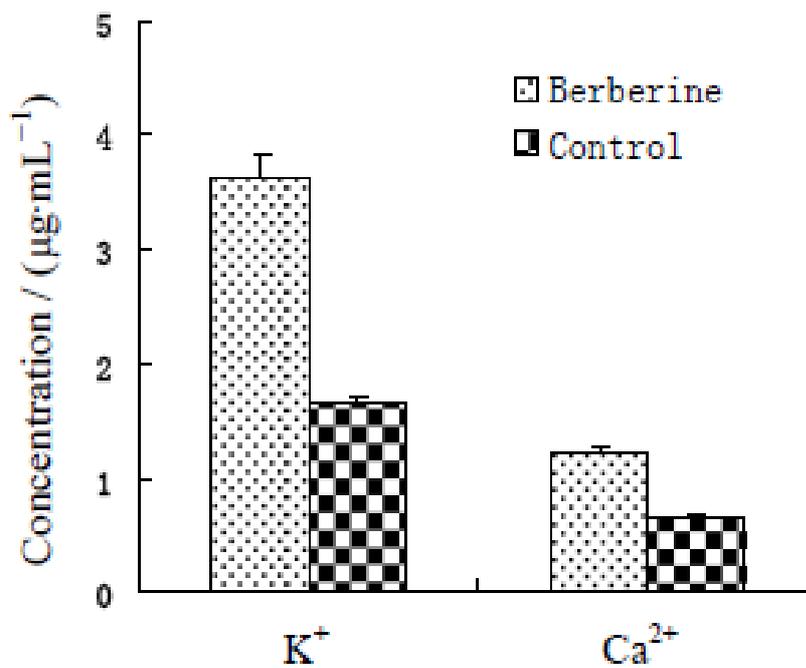


Figure 31: Concentration de k⁺ et de Ca²⁺ relâchés par *Escherichia coli* traitée ou non par la berbérine (Jin JL *et al.*, 2010).

II.4.3.5. Inhibition de l'adhérence bactérienne aux cellules eucaryotes

En 1988 deux études effectuées par Sun et ses collaborateurs ont démontrées que la berbérine bloque l'adhésion de *Escherichia coli* aux cellules épithéliales (tableau III), et de *Streptococcus pyogenes* aux cellules épithéliales, à l'hexadécane et à la fibronectine (Figure 32).

Tableau III : Influence de la berbérine sur l'adhérence de *Escherichia coli* aux cellules épithéliales (Sun *et al.*, 1988).

Berbérine ($\mu\text{g/ml}$)	Perte de l'adhérence (%)
0	0
50	$41 \pm 0,7$
100	$76 \pm 1,5$
200	$86 \pm 3,1$
300	$90 \pm 2,6$

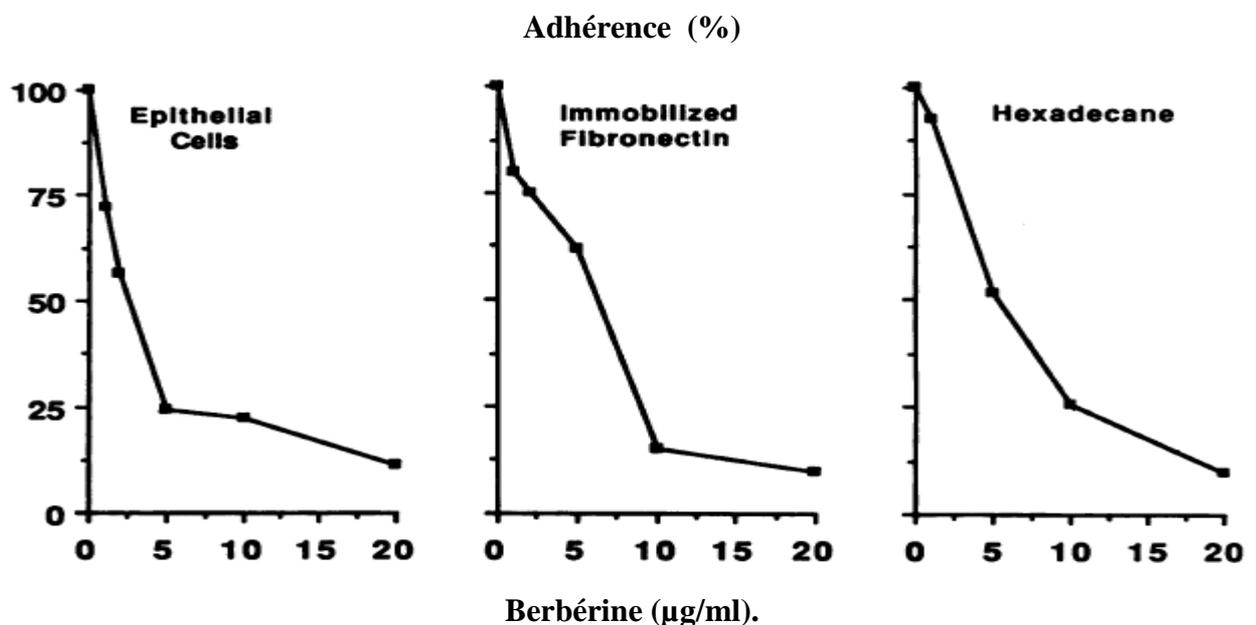


Figure 32: Influence de la berbérine sur l'adhérence de *streptococcus pyogenes* aux cellules épithéliales, fibronectine et à l'hexadécane (Sun *et al.*, 1988).

Sun *et al* ont prouvés que le blocage de l'adhésion de *Escherichia coli* aux cellules épithéliales est due à l'inhibition de l'expression des pilis qui assurent l'adhésion des bactéries aux cellules notamment de type eucaryotes (Figure 33).

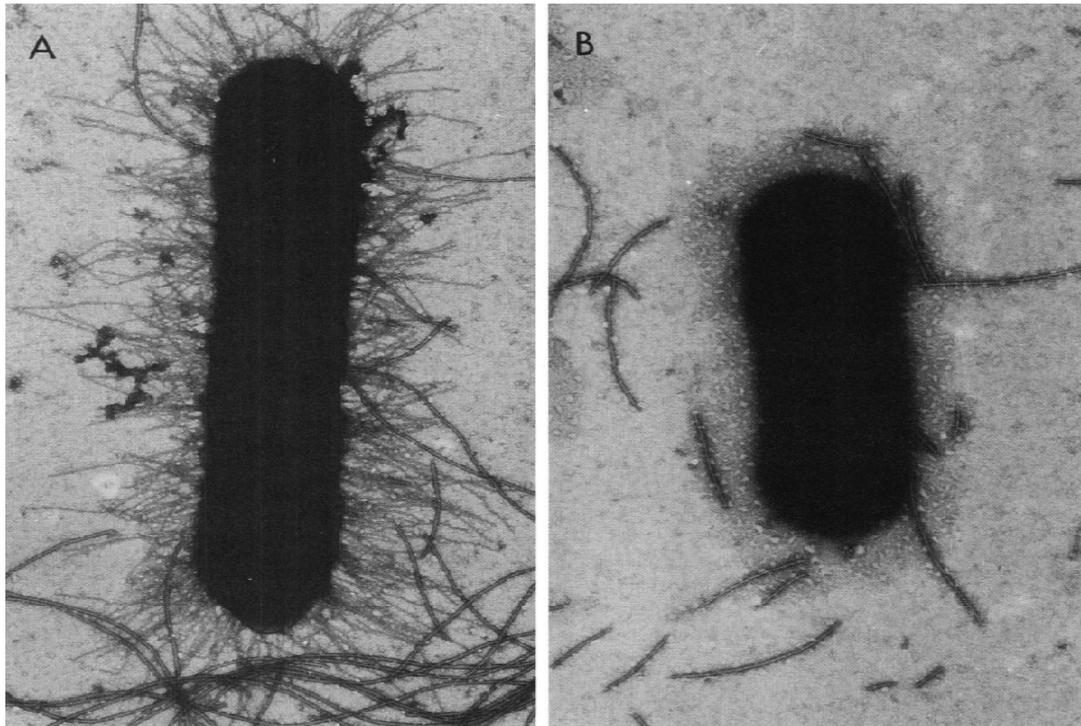


Figure 33: Influence de la berbérine dans l'expression des pilis de *Escherichia coli*. (A) : *E. coli* non traitée par la berbérine. (B) : *E. coli* traitée par la berbérine (Sun *et al.*, 1988).

Pour le mode de l'inhibition de l'adhérence de *Streptococcus pyogenes* aux cellules épithéliales, fibronectine et à l'hexadécane, Sun *et al* ont prouvés que c'est due à l'inhibition de l'acide lipotechoïque (Figure 34) qui est la molécule majeure de l'adhérence de la bactérie étudiée.

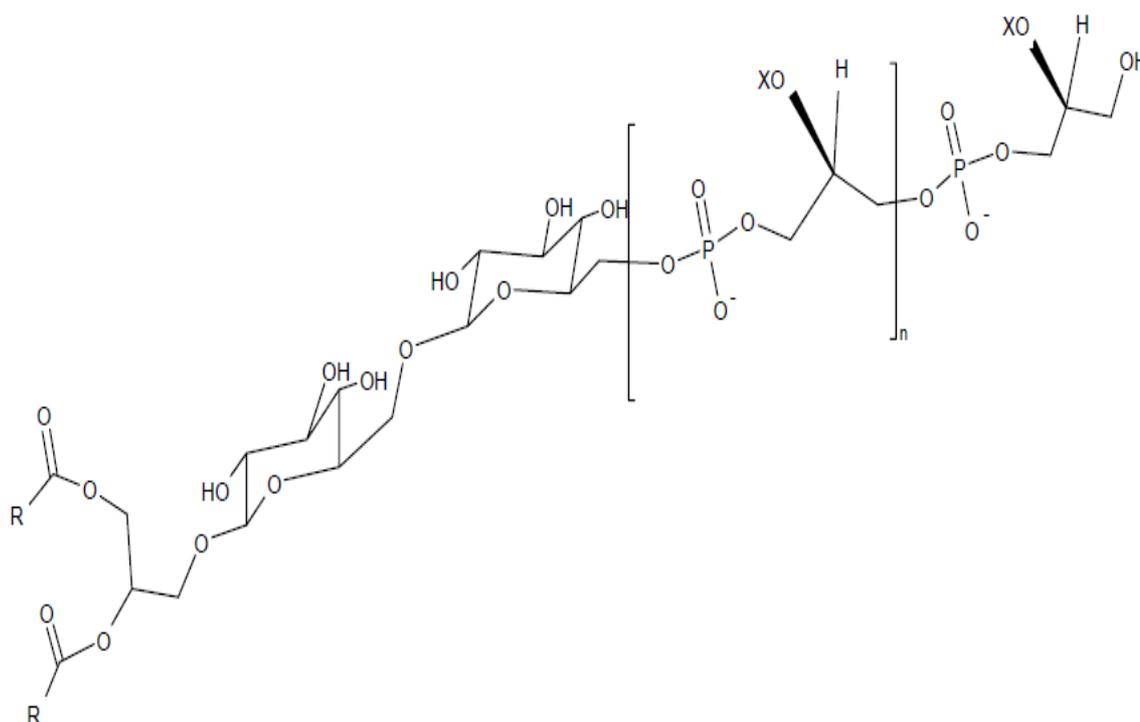


Figure 34: La structure chimique de l'acide lipoteichoïque. (**R**) : $C_{16}H_{34}$, (**X**) : H, glucosamine, ou D-Alanine, (**n**) : environ 22 unités de snglycérol-1-phosphate (Morath *et al.*, 2002).

II.4.4. La potentialisation de l'activité antibactérienne de la berbérine

II.4.4.1. Le système d'efflux bactérien

Le système d'efflux bactérien est un mécanisme de défense majeur contre les antibiotiques. Il est composé de deux types de pompes à efflux qui sont des transporteurs membranaires : les « transporteurs drogue-spécifiques » impliqués dans la résistance contre une seule classe d'antibiotiques comme les pompes Tet qui effluent exclusivement les tétracyclines ou les pompes Mef spécifiques des macrolides, et les pompes MDR (Multi Drug Resistance pumps) qui ciblent l'exportation de différentes molécules antibactériennes et contribuent ainsi à l'émergence de bactéries « multi-résistantes ».

Les pompes protéiques localisées à la surface de la bactérie exportent l'antibiotique et le maintient à des concentrations sub-toxiques. Chez les bactéries Gram négatives, les systèmes d'efflux sont des complexes protéiques constitués d'une pompe membranaire, d'une protéine périplasmique de jonction (MFP : Membrane Fusion Protein), et d'une porine enchâssée dans la membrane externe

(OMP : Outer Membrane protein). Chez les bactéries Gram positives, le système d'efflux n'est constitué que de la pompe.

Les pompes à efflux sont divisées en cinq familles : MFS (Major Facilitator Superfamily), SMR (Small Multidrug Resistance), RND (Resistance-Nodulation cell Division), MATE et ABC. Les pompes MFS, SMR, et RND utilisent l'énergie fournie par un gradient de protons pour fonctionner, les pompes MATE utilisent un gradient de sodium tandis que les pompes ABC utilisent l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP (**Guinoiseau, 2010**).

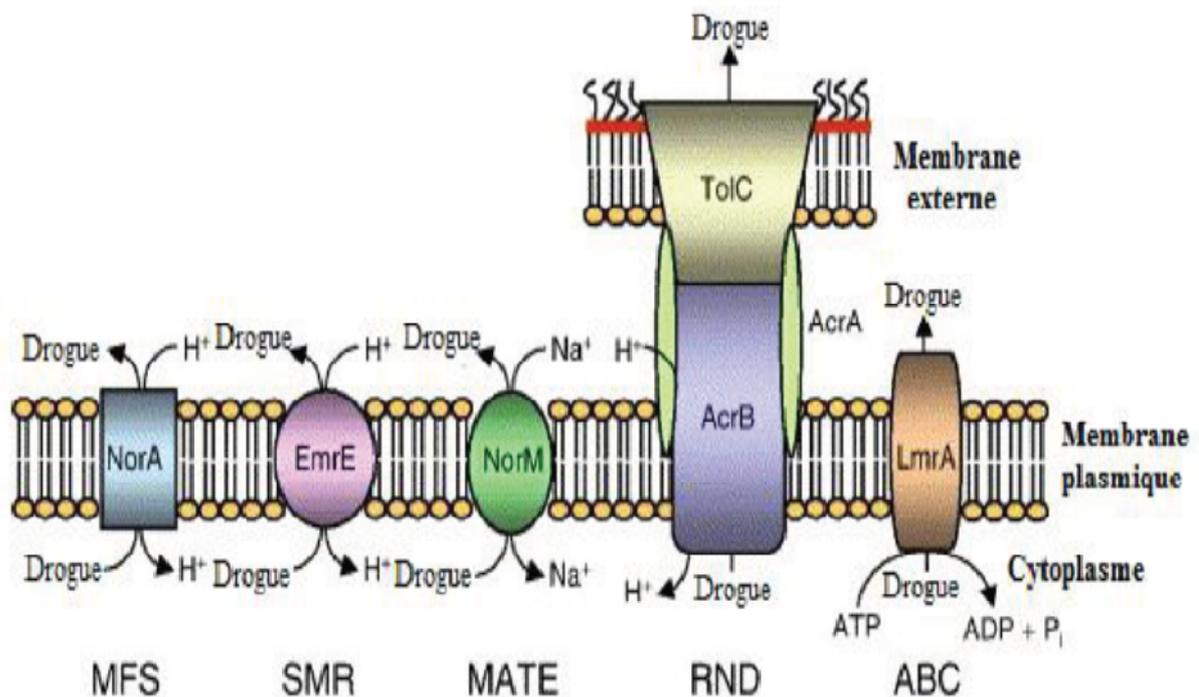


Figure 35: Les principales pompes bactériennes d'efflux et leurs fonctionnement. (**Kumar et Schweizer, 2005**).

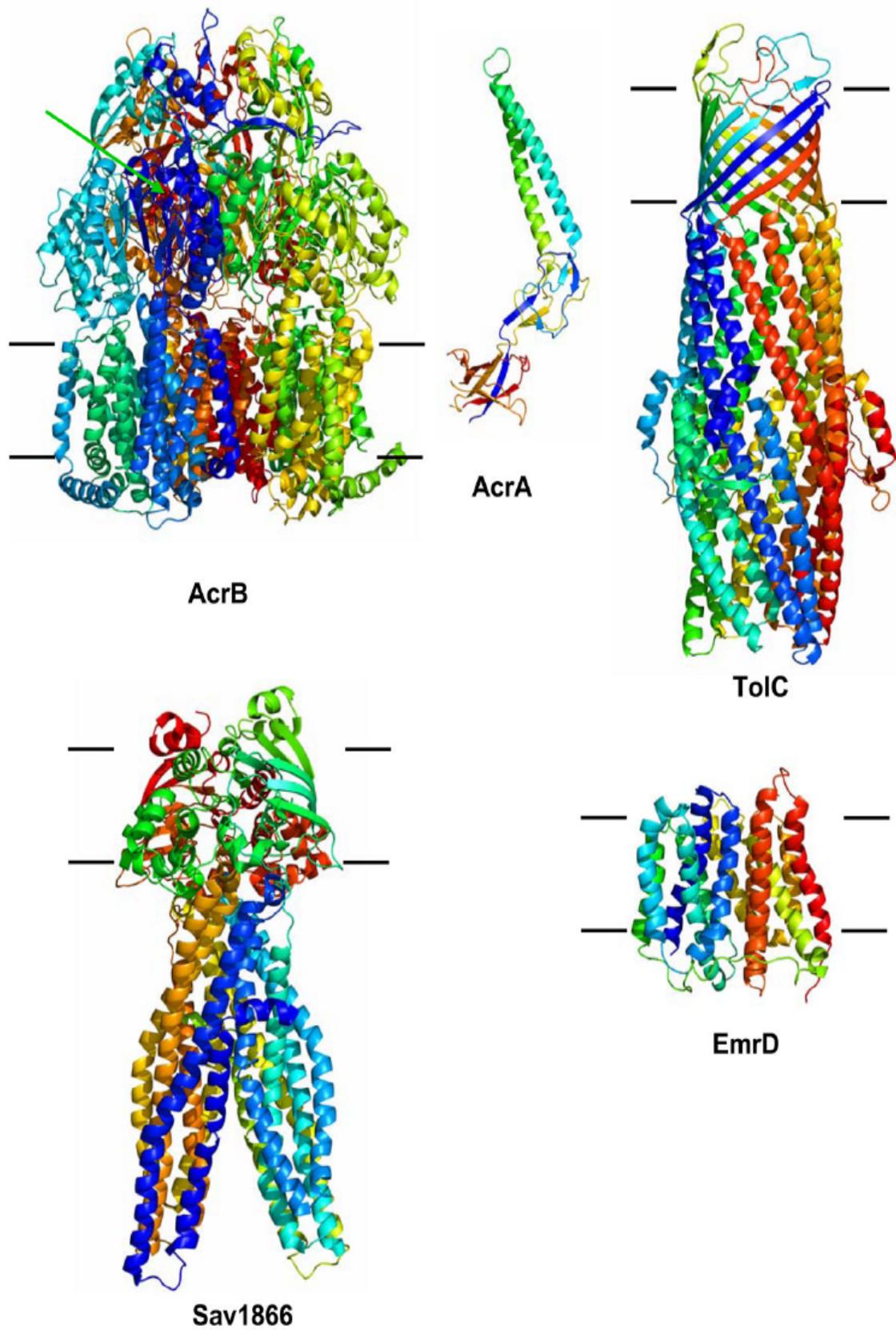


Figure 36: Structures tridimensionnelles de quelques pompes d'efflux bactériennes (Li et Nikaido, 2010).

II.4.4.2. La berbérine et les inhibiteurs des pompes à efflux

La berbérine est connue comme étant un substrat des pompes à efflux bactérien comme NorA. L'action de la berbérine se trouve considérablement diminuée à cause du système d'efflux bactérien qui maintient l'alcaloïde à des concentrations ne lui permettant pas d'exercer un effet antibactérien efficace. La potentialisation de l'activité antibactérienne de la berbérine peut se faire soit naturellement, soit artificiellement grâce à des inhibiteurs des pompes à efflux présents à l'état naturel dans la plante pour le premier cas, ou couplés artificiellement à la berbérine par liaison chimique pour le deuxième cas (**Lomovskata et Watkins, 2001**).

La potentialisation naturelle de l'activité antibactérienne de la berbérine chez les plantes *Berberis sp* se produit grâce à la synthèse d'un composé chimique appelé la « 5'-MHC » (5'-méthoxyhydnocarpine) qui est un flavonoligane inhibitrice des pompes bactériennes d'efflux ainsi, l'activité antibactérienne de la berbérine est augmentée d'un facteur de 16 en présence de la 5'-MHC contre *Staphylococcus aureus*. D'autres flavonoliganes comme la phéophorbide a extraite des plantes *Berberis sp*, ou la silybine isolée de *Silybum marianum* interagissent de façon similaire avec la berbérine (**Guinoiseau, 2010**).

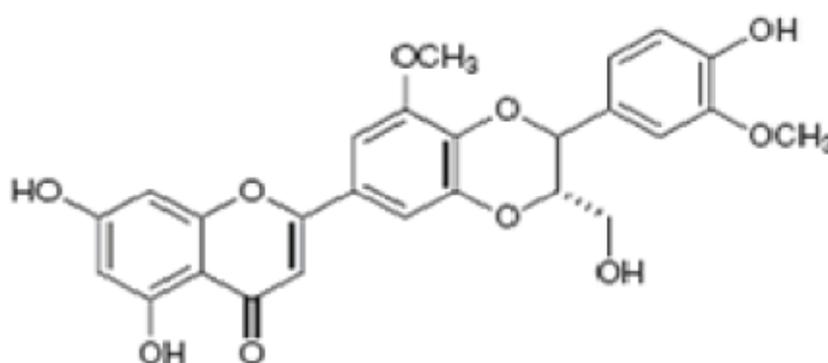


Figure 37: Structure chimique de la 5'-MHC (**Stermitz et al., 2000**).

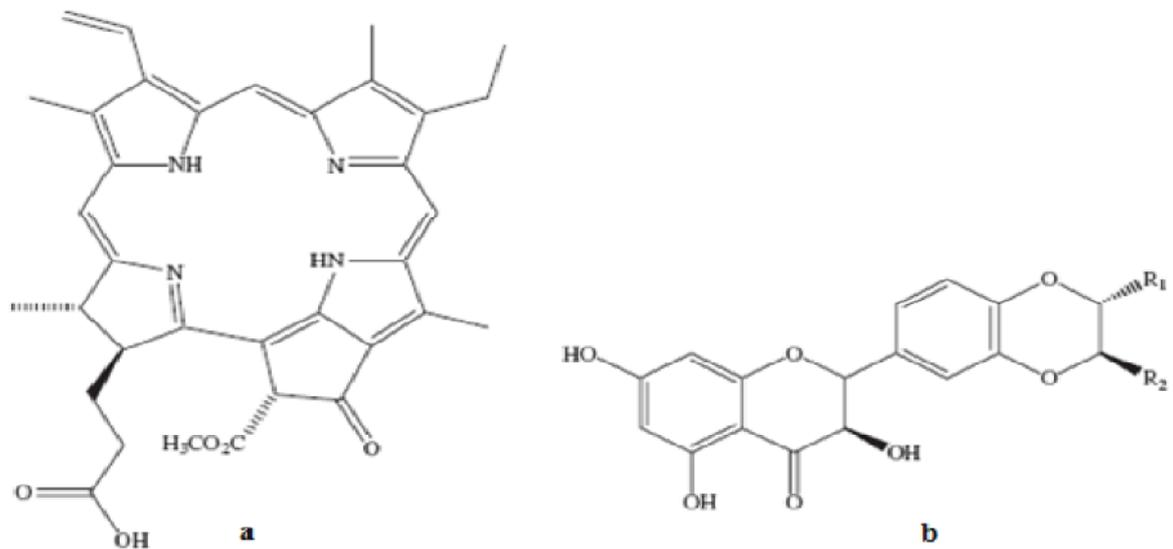


Figure 38: Structures chimiques de la phéophorbide a (a), et de la sylbine (b) (Stavri *et al.*, 2007).

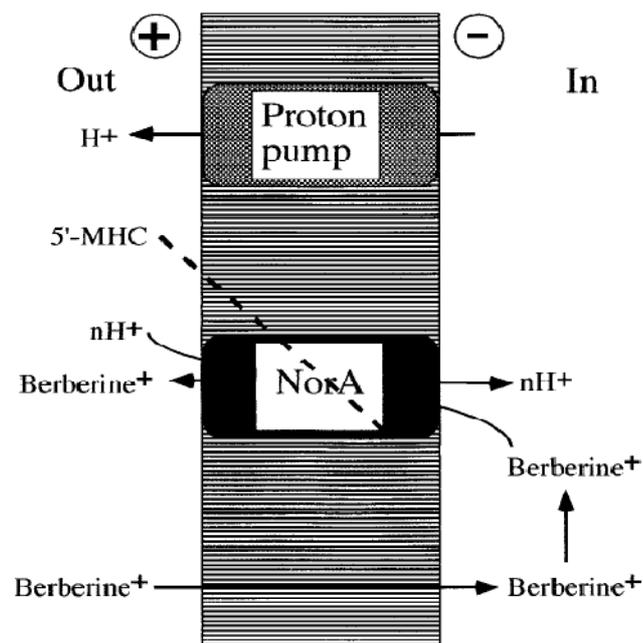


Figure 39: Action synergique de la berbérine avec la 5'-MHC (Stermitz *et al.*, 2000).

L'hybride SS14 une molécule obtenue par voie de synthèse, illustre la potentialisation artificielle de l'activité antibactérienne de la berbérine. SS14 est obtenu par hybridation de la berbérine avec le composé INF₅₅ (5-Nitro-2-Phénylindole), un inhibiteur des MDR (Anthony *et al.*, 2006).

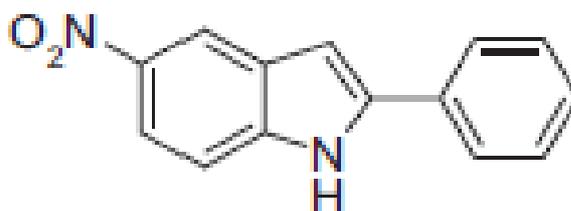


Figure 40: Structure chimique du 5-Nitro-2-Phénylindole (Anthony *et al.*, 2006).

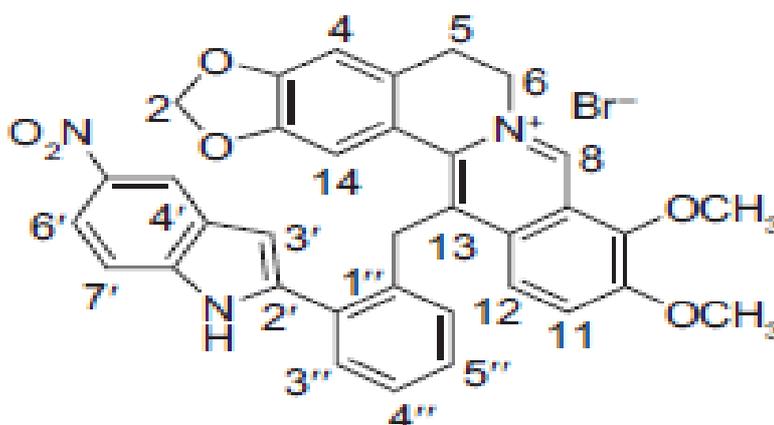


Figure 41: La structure chimique de l'hybride SS14 (Anthony *et al.*, 2006).

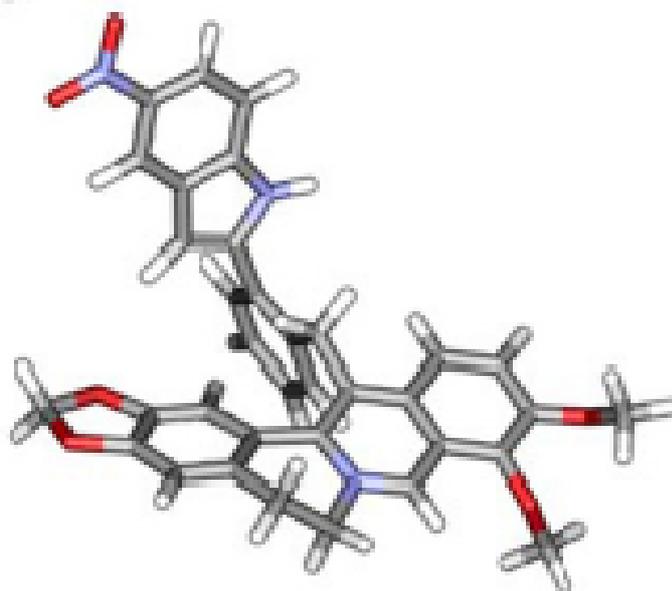


Figure 42: Structure tridimensionnelle de l'hybride SS14 (Tomkiewicz *et al.*, 2010).

L'efficacité de l'hybride SS14 est démontrée contre *Staphylococcus aureus* avec une C.M.I de 9,4 μ M contre 12,5 et 325 μ M respectivement pour le mélange berbérine-INF₅₅ et la berbérine seule (Tableau IV).

Tableau IV : Concentrations minimales inhibitrices de la berbérine seule et avec INF₅₅, et de l'hybride SS14 vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (Tomkiewicz *et al.*, 2010).

	Berbérine	Berbérine+ INF ₅₅	SS14
C.M.I (μ M)	325	12.5	9.5

❖ C.M.I : Concentration minimale inhibitrice.

*Conclusion et
Perspectives*

Conclusion et perspectives

Les alcaloïdes ont été choisis dans ce travail comme modèle d'étude de nouveaux agents antibactériens à cause de l'existence des plantes à alcaloïdes de façon abondante dans la région de Bejaia, leurs longue histoire dans la médecine, et à cause du nombre important de travaux scientifiques entrain d'être menés sur l'effet antibactérien de ces molécules.

Ce travail s'est basé sur l'analyse des données de la littérature sur l'effet antibactérien des alcaloïdes dans le but de faire une synthèse permettant l'étude des potentialités de nouveaux antibiotiques susceptibles d'être plus efficaces vis-à-vis des bactéries que ceux utilisés de façon large dans la lutte contre les microorganismes pathogènes jusqu'à maintenant.

Cette étude nous a permis de constater que les travaux menés sur l'activité antibactérienne des alcaloïdes ont pu confirmer l'existence de cet effet ce qui a constitué une base importante de données permettant l'étude de la sensibilité des bactéries vis-à-vis de ces molécules. Ces recherches ont démontrées effectivement que les alcaloïdes sont actifs sur de nombreux germes aussi bien Gram+ que Gram -, ce qui peut rendre leur utilisation comme antibiotiques possible.

Pour les mécanismes d'action des alcaloïdes contre les bactéries, la berbérine a été choisie comme modèle car c'est l'un des alcaloïdes à effet antibactérien dont le mécanisme d'action est le plus connu et à cause de nombreux travaux effectués sur ces mécanismes qui n'ont par contre pas été nombreux et élargis aussi bien sur un nombre important de bactéries que d'alcaloïdes.

Les mécanismes d'action de la berbérine contre les bactéries incluent l'inhibition de la duplication de l'ADN et de la transcription de l'ARN, influence et/ou inhibition de certaines enzymes bactériennes, déstabilisation des échanges ioniques (K^+ et Ca^{2+}), inhibition de la protéine FTsZ, et blocage de l'adhérence bactérienne aux cellules eucaryotes.

Ce travail bien que incomplet peut donner une idée des études effectuées sur l'effet antibactérien des alcaloïdes de ce fait les perspectives sont :

- D'effectuer des études sur l'effet antibactérien d'un nombre importants d'alcaloïdes et sur plusieurs souches bactériennes.
- De mener des études in vivo de cette activité et de répertorier les plantes localisées dans la région de Bejaia possédant des alcaloïdes à effet antibactérien en vue de leurs utilisations comme antibiotiques.

De telles études sont envisagées au niveau de notre laboratoire.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aniszewski, T. (1994). The biological basis of quinolizidine alkaloids. *Science of Legumes*, **1**: 1–24.
- Andrews, J.M. (2001). Determination of minimal inhibitory concentrations. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, **48**: 5-16.
- Anthony, R.B.; Casadei, G.; Samosorn, S.; Bremner, J.B.; Ausubel, F.M.; Moy, T.I. and Lewis, K. (2006). Conjugating Berberine to a Multidrug Resistance Pump Inhibitor Creates an Effective Antimicrobial. *Acs Chemical Biology*, **7**: 594-600.
- Aniszewski, T. (2007). Alkaloids—Secrets of life alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. 1^{ère} edition. ELSEVIER. pp 316.
- Beuria, T. K. ; Santra, M. K. and Panda, D. (2005). Sanguinarine blocks cytokinesis in bacteria by inhibiting FtsZ assembly and bundling. *Biochemistry*, **44**: 16584–16593.
- Boberek, J.M. ; Stach, J. and Good, L. (2010). Genetic Evidence for Inhibition of Bacterial Division Protein FtsZ by Berberine. *Plos one*, **9**: 230-239.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales. Edition Technique et Documentation, 1120 pp.
- Chini, C.; Bilia, A. R.; Keita, A. and Morelli, I. (1992). Protoalkaloids from *Boscia angustifolia*. *Planta Medica*, **58**: 476-530.
- Conserva, L.M. ; Cynara, A. ; Pereira, B. and José M.B.F. (2005). Alkaloids of the Hernandiaceae : occurrence and a compilation of their biological activities. *The alkaloids*, **91**: 1099-4831.
- Cronan, J.E.; Gennis, R.B. and Maloy, S.M. (1987). Cytoplasmic membrane. In *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. American Society for Microbiology: Washington, DC, p 31-55.
- Domadia, P.N. ; Bhina, A. ; Sivaraman, J. ; Swarup, S. and Dasgupta, D. (2008). Berberine Targets Assembly of *Escherichia coli* Cell Division Protein FtsZ. *Biochemistry*, **47**: 3225-3234.
- Donatien, C. (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes-extraction, identification d'alcaloïdes—caractérisation, quantification de polyphénols : Etude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat. Université de Bamako. pp 145.
- Faizi, S. ; Khan, R. A. ; Azher, S. ; Khan, S. A. ; Tauseef, S. and Ahmad, A. (2003). New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthialongifolia* var. *pendula*. *Planta Medica*, **69**: 350–355.
- Giri, P. and Kumar, G.S. (2010). Molecular recognition of poly(A) targeting by protoberberine alkaloids: in vitro biophysical studies and biological perspectives. *Molecular biosystems*, **6**: 81-88.

- Grippa ,E. ;Valla ,R. ; Battinelli, L. ; Mazzanti ,G. ; Saso ,L. and Silvestrini B.(1999). Inhibition of *Candida rugosa* lipase by berberine and structurally related alkaloids, evaluated by high-performance liquid chromatography. *Biosci Biotechnol Biochem*, **63**: 1557-1562.
- Gudima ,S.O. ;Memelova ,L.V. ;Borodulin ,V.B. ; Pokholok ,D.K. ;Mednmov, B.M. ;Tolkachev, O.N. and Kochetkov, S.N. (1994). Kinetic analysis of interaction of human immunodeficiency virus reverse transcriptase with alkaloids. *Mol Biol*, **28**: 1308-1314.
- Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de Corse.pp 148.
- Halary,M.S.(2009). Etude des symbioses de mytilidés des écosystèmes marins profonds à base chimiosynthétique par des techniques de FISH, de microscopie et de traitement d'images.Thèse de doctorat.Université Pierre et Marie Curie.pp 203.
- Jin ,J.L. ;Hua ,G.P. ;Zhen ,M. and Gao ,P.J.(2010). Antibacterial Mechanisms of Berberine and Reasons for Little Resistance of Bacteria. *Chinese Herbal Medicines* ,**9** :27-35.
- Jones ,W.J. ;Leigh ,J.A. ;Mayer ,F. ; Woese ,C.R. and Wolfe R.S.(1983). *Methanococcus jannaschii* sp. nov.,an extremely thermophilic methanogen from a submarine hydrothermal vent. *Arch Microbiol* ,**136** :254-261.
- Kapp ,E. and Whiteley ,C. (1991). Protein ligand interactions: Isoquinoline alkaloids as inhibitors for lactate and malate dehydrogenase. *J Enzyme Inhib*, **4**: 233-243.
- Kumar,A. and Schweizer,H.P. (2005).Bacterial resistance to antibiotics :active efflux and reduced uptake.*Adv.Drug Deliv.Rev*,**57** :1488-1513.
- Kumar ,k. ;Awasthi ,D. ;Berger ,T.W. ;Tonge ,P.J. ;Slayden ,R.A. and Ojima ,L.(2011). Discovery of anti-TB agents that target the cell-division protein FtsZ. *Future Med Chem* ,**34** :1305-1323.
- Levy ,S.B.and Marshall ,B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat. Med*,**10**: 122-129.
- Leitao Da-Cunha ,E.V. ; Fechine ,I.M. ;Guides ,D.N. ;Maria , B.J. and Marcello , S.D.S.(2001).Protoberberine alkaloids .*The alkaloids* ,**75** :1099-4831.
- Li, X.Z.and Nikaido, H. (2010). Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update. *National institute of health*, **62**:1555-1623.
- Lowe ,J. and Linda ,A.M.(1998). Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ. *Nature*,**4** :203-206.
- Lomovskata,O. and Watkins ,W.(2001). Inhibition of Efflux Pumps as a Novel Approach to Combat Drug Resistance in Bacteria. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol* ,**12** :225-236.
- Lowrie ,P. and Wells ,S.(2010).Microbiology. *Cambridge university press*, **10**:521-978.
- Maiti ,M. and Kumar,G.S.(2010). Polymorphic Nucleic Acid Binding of Bioactive Isoquinoline Alkaloids and Their Role in Cancer. *Journal of Nucleic Acids* ,**23** :593-408.

- Marie ,H.F.; Ye ,J. ; Eun,K . and Douglas ,B.(2011). Chemical–Biological Studies of Subcellular Organization in Bacteria. *Biochemistry*,**50** :7719-7734.
- Marta ,F. ;Bazzicalupi ,C. ;Gratteri ,P. and Bilia ,A.R.(2011). X-ray diffraction analyses of the natural isoquinoline alkaloids Berberine and Sanguinarine in complex with double helix DNA d(CGTACG). *The Royal Society of Chemistry* ,**9** :795-804.
- McCalley, D.V.(2002). Analysis of the *Cinchona* alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques. *Review Journal of Chromatography A*,**967**:1-19.
- Morath, S. ;Geyer ,A. ; Spreitzer ,I. ; Hermann ,C. and Hartung, T.(2002). Structural decomposition and heterogeneity of commercial lipoteichoic Acid preparations. *Infect Immun*, **70** :938-44.
- Normak ,H.B. and Normak, S. (2002).Evolution and spread of antibiotic resistance. *J. Intern. Med* ,**252**: 91-106.
- Parenchych, W. and Frost,L.S. (1988). The physiology and biochemistry of Pili. *Adv. Microb. Physiol*, **29**:52-102.
- Park ,H.S. ;Kim ,E.H. ;Sung ,Y.H. ;Kang ,M.R. ;Chung ,I.K. ;Cheong ,C. and Lee ,W.(2004). DNA Binding Mode of the Isoquinoline Alkaloid Berberine with the Deoxyoligonucleotide d(GCCGTCGTTTTACA)₂. *Bull. Korean Chem. Soc* ,**6** :539-544.
- Pelletier, S. W. (1983). The nature and definition of an alkaloid. In: Alkaloids. Chemical and Biological Perspectives. 1^{ère} édition. New York: John Wiley & Sons .pp 331.
- Poly,F.(2005). Etude de la diversité génétique de l'espèce *Campylobacter jejuni* par l'utilisation de puces à ADN.Thèse de doctorat.Université de Strasbourg.pp 200.
- Pugsley ,A.P.(1993).The complete general secretory pathway in gram-negative bacteria.*Microbiol rev* ,**57** :50-108.
- Ro ,J.S. ; Lee, S.S. and Lee, K.S. (2001). Inhibition of type A monoamine oxidase by coptisine in mouse brain. *Life Sci* ,**70**: 639-645.
- Sack ,R.B. and Froehlich ,J.L.(1982).Berberine Inhibits Intestinal Secretory Response of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* Enterotoxins.*Infection end immunity*,**5** :471-475.
- Sauer ,F.G.;Mulvey ,M.A.;Schilling,J.D.;Martinez ,J.J. and Hultgren,S.J.(1993).Bacterial pili :molecular mechanisms of pathogenesis .*Cur opin Microbiol* ,**3** :65-72.
- Shakil, A.(1988).Isolation and structural elucidation of chemical constituents from *Fumaria indica*, *Ferula oopoda* and *Withania somnifera*. Thèse de doctorat.University of karachi. pp 203.
- Singh ,p.k.and Barrett ,J.F.(2006).Ampirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochem pharmacol* ,**71** :1006-1015.
- Singla, D.; Sharma, A.; Kaur, J.; Panwar,B.; Gajendra PS. and Raghava.(2010). BIADB: A curated database of benzyloquinoline alkaloids. *BMC Pharmacology*, **8**:10-4.

- Sriwilajareon ,N. ; Petmitr, S. ; Mutirangura ,A. ;Ponglikitmongkol ,M. and Wilairat ,P. (2002). Stage specificity of *Plasmodium falciparum* telomerase and its inhibition by berberine. *Parasitol Int* , **51**: 99-103.
- Stermitz ,R.F. ;Lorenz ,P. ;Tawara ,J.N. ;Zenewicz,L.A. and Lewis ,K.(2000). Synergy in a medicinal plant: Antimicrobial action of berberine potentiated by 5*-methoxyhydnocarpin, a multidrug pump inhibitor.*Applied biological sciences* ,**5** :1433-1473.
- Stöckigt, J.;Sheludko, Y.; Unger, M.; Gerasimenko, I.;Warzecha, H. and Stöckigt, D.(2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups .*Review Journal of Chromatography A*, **967**:85–113.
- Stavri, M.; Piddock, L.J.V.and Gibbons ,S.(2007) Bacterial efflux pump inhibitors from natural sources. *J. Antimicrob. Chemother* ,**59**: 1247-1260.
- Sun ,D. ;Harry ,S.C. and Beachy ,E.H.(1988). Berberine Sulfate Blocks Adherence of *Streptococcus pyogenes* to Epithelial Cells, Fibronectin, and Hexadecane. *American Society for Microbiology* ,**5** :1370-1374.
- Sun ,D. ;Soman ,N. ;Abraham ,and Beachy ,E.H.(1988). Influence of Berberine Sulfate on Synthesis and Expression of Pap Fimbrial Adhesin in Uropathogenic *Escherichia coli*. *American Society for Microbiology* ,**4** :1274-1277.
- Taira ,Z. ;Matsumoto, M. ; Ishida, S. ;Ichikawa ,T. and Sakiya ,Y. (1994). Aggregation of DNA enhanced by protoberberine alkaloids, coralyne and berberine. *Chem Pharm Bull* , **42**: 1556–1561.
- Tomkiewicz,D. ;Casadei ,G. ;Ford ,J.L. ;Moy,T.I.;Garner ,G;Bremner ,J.B.;Ausubel,F.M. ;Lewis ,K. and kelso ,M.J.(2010). Berberine-INF55 (5-Nitro-2 Phenylindole) Hybrid Antimicrobials: Effects of Varying the Relative Orientation of the Berberine and INF55 Components. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* ,**6** :3219-3224.
- Willmott, C.J.and Maxwell,A.(1993). A single point mutation in the DNA gyrase A protein greatly reduces binding of fluoroquinolones to the gyrase-DNA complex. *Antimicrob. Agents Chemother* ,**37**: 126-127.
- Wright, G.D. (2005) .Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Adv. Drug Deliv. Rev* , **57**: 1451-1470.
- Yamagishi ,H.(1967).Interaction between nucleic acids and berberine sulfate. *Brief notes* ,**4** :589-592.
- Zézérov ,E.G.(2002). Abrégé de microbiologie générale et d'immunologie (Cours des conférences).pp 195.
- Zhiru ,L. ;Garner ,A.L. ;Gloeckner,C. ;Janda ,k.m. and Carlow,C.K.(2011). Targeting the Wolbachia Cell Division Protein FtsZ as a New Approach for Antifilarial Therapy. *Neglected tropical diseases*,**13** .260-374.

