

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIR
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تـلجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI, LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULE DE SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENET DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

THEME

**Etude *in silico* de l'inhibition de la β -lactamase par
Artemisia campestris L.**

Présenter par :

M^{lle}. Nour Oum el kheir

M^{lle}. Saihi Widad

Devant le jury composé de:

Président : M. BENACEUR Farouk, Université de Laghouat

Examineur : M. ZERROUKI Mohamed Houcine, MAA, Université de Laghouat

Rapporteur : M. GOUZI Hicham, Prof, Université de Laghouat

Co-encadreur: M. LEBOUKH Mourad, MAA, Université de Laghouat

Année Universitaire 2021-2022

Remerciement

Avant toutes choses, nous remercies Dieu Allah, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à M^r, gouzi Hichem maître conférence à l'université Ferhat Abbas pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'a accordée m'ont permis de réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à M^{me} BENACEUR Farouk, professeur à l'université AMAR TELIDJI de LAGHOAT d'avoir accepté de présider le jury.

Je tiens également mes vifs remerciements à M^r ZERROUKI Mohamed Hocine, professeur à l'université AMAR TELIDJI pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

À tous mes amis.

À tous les étudiants de magistère de la promotion 2021

À toute personne qui a participé de près ou de loin



Dédicaces

...A toi mon cher papa (boualem)

Pour tes mains qui ont tant travaillé, Pour ton cœur qui m'attendant donné,
Pour ton sourire qui m'attenter chauffé, Pour tes yeux qui m'ont vu grandir,
Pour toi qui m'atant aimé.

...A toi ma chère maman(Rachida)

A toi qui atant fait pour tes enfants,
Sois sure demon amour, mon respect et ma gratitude pour toi ,Que Dieu te garde pour nous.

*C'est avec un très grand honneur que je dédiée modeste travail
aux: mes chers parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les
meilleures conditions
Merci pour les valeurs nobles, l'éducationnelle soutient permanent venu de vous*

...A toi ma chère grande mère (Fadhila)

*Ce travail porte leur fruit
(Allah yarehmak)*

...A toi ma chère grande père (Mohamed ben sied)

...A toi ma belle sœur Zahra et Khadija.

...A mes frères ben Amar et Yassine et Abdou

**...A mes amies que j'aivécues avec elles des beaux moments (Amal /houda/zaynab
/jomana / kawtar/ hiba/ yousra/ Fatima/ biri Widad / Samia/ Hanane/ Sarah/aya
/madame houda/ docteur Karima/ souhila/ amina/oum el kheir)**

Je dédie aussi les familles - ziani (ben Amar et madame Lamia)

/ -nagez tout bensmaile tout



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné de toute l'expression de ma profonde gratitude ... À

**A mon père «Mohamed» qui m'a transmis l'héritage de la persévérance, honnêteté, courage et travail continu. Tu m'as toujours encouragé et orienté vers le bon chemin. À chaque moment vécu durant l'élaboration de ce travail, tu as été présent par tes conseils qui ne m'ont quitté un instant. Pour tous tes sacrifices pour nous procurer un avenir et une vie agréable;*

**À ma mère «khaira» qui m'a comblé de son affection et m'a toujours soutenu et incité à travailler fort et à réussir durant tout mon parcours d'étude. Très chère maman, merci pour tous tes sacrifices pour nous, pour tes encouragements sans lesquels je n'aurai jamais pu accomplir ce travail. Tu n'as cessé de m'éclairer mon chemin par tes conseils. Je te dois cette réussite et je suis très fière de te l'offrir. Merci d'être ma mère. Je prie Allah de te protéger, te garder et te procurer santé et bonheur ; Que ta bénédiction me soit accordée après celle d'Allah*

**A mon Homme : Karim senouci*

. À mes sœurs ;, Amina et bouchera qui m'ont tant supporté et soutenu, en témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour elles ;

** À mes frères : Kamel, Nasser qui tenaient toujours à me voir réussir, pour leurs encouragements et compréhension ;*

**À mes belles-sœurs : Saida et Amina à mon beau-frère : yasin*

**Aux petits bijoux qui ont éclairé, orné et apporté joie à notre famille
Mes neveux et nièce : Mohamed, Haytem, Jori, Joud*

**A mes cousines : Horia ; Rania ; khaira ; Malika ; Fanta ;Zohra et sondeuse*

***A mais tante : hadja et Amina*

**À mes amies que j'aime et qui m'aiment : Amina, Yousera ; Fatima ; Halima ;
Amina ;Nour senouci ;Basema ;Horia ; nor et iman*

**A mon défunt oncle : Miloud Saihi*

**A mon défunt grand père hadj issa*

**A ma famille Saihi*

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Introduction.....	01
Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur b-lactamase.....	3
1-Définition.....	3
2-Historique	3
3 -Nomenclature.....	3
4-Classification.....	3
5-Rôle biologique.....	4
6-Structure.....	5
A. Serine beta lactamase.....	5
B. Metallo beta lactamase.....	6
7-Source.....	7
8-Mécanisme catalytique des β -lactamase de classe A.....	7
10 - La resistance enzymatique par la production de beta lactamase.....	8
11-Substrat de b- lactamase.....	9
1) Definition de beta lactamine.....	9
2) Propriete commune	9
3) Propriete specifique.....	9
4) Mode d action de beta lactamine.....	10
12 -Les inhibiteur de beta lactamase	11
13-Mécanisme inactivation de beta lactamase par clavulanate.....	12
II. Les inhibiteurs de beta-lactamase d'origine végétale Artemisia campestris...	13
1-Généralité sur les plantes médicinales	13
2-Présentation de plante Artemisia campestris.....	14
3-APERÇU HISTORIQUE.....	15
4-Systématique de la plante	15
4-Nom vernaculaires	16
5-Caractéristiques morphologiques de la plante.....	16
6-Ecologie.....	17
7-Origine et répartition géographique.....	17
8-Composition chimique d'Artemisia campestris.....	17
9-Utilisation en médecine traditionnelle	17
10-Activités biologiques	18
a- Effets antimicrobiennes.....	18
b-Activité antioxydant.....	18
c- Effet insecticide.....	18
d-effet diabétique.....	18
III.doking molucilaire	19
-Difinition.....	19
-Principaux programmes de Docking moléculaire.....	20
Auto Dock	21
Les bases de données : Protéine Data Bank.....	21
Ligand.....	21
Zinc DATA BASE.....	22
- PRINCIPES.....	22

-Les différentes étapes de doc King.....	22
Sélection du fragment de base.....	22
Placement de base.....	22
-OBTENTION DES STRUCTURES	24
-Etude <i>in silico</i>	25
<i>Matériels et Méthodes</i>	
1-Matériels	26
2. Méthodes.....	28
--2.1 Préparation des ligands et des protéines.....	28
-2.2 Amarrage moléculaire.....	28
2.3 Les règles de Lipinski et les propriétés d'ADME-T.....	28
<i>Résultats et discussion</i>	30-37
<i>Conclusion</i>	38
<i>Références bibliographiques</i>	

Liste des principales abbreviations

BLSE	beta –lactamase a spectre elargi
BLAST	basic local alignement search tool
CMI	mesure une concentration
e.coli	Escherichia coli
EDTA	acide éthylène diamine tétra-acétique
IMP	Institute of moléculaire pathologie
KPC	klebsiella pneumonie productrices de carbapenemase
LGA	laboratoire des grands animaux
MBL s	métallo-b-lactamases
MOE	Moléculaire Operating Environnement
OMS	organisation mondiale de la sante
PLP	protéines liant la pénicilline
SHV	Sulfhydryl Variant Beta-Lactamase
TEM	Encoded Transposable Elément Beta-Lactamase
VIM	Verona-Integron-Encoded Metallo-Beta-Lactamase
PDB	Protéine Data Bank

Liste des figures

N°	Titre	Pages
01	Figure La réaction de pénicille et b-lactamase	5
02	Figure Structure 3D de la Bêta-Lactamase AmpC isolée d' <i>Escherichia coli</i> et liant Cefazidime	6
03	Figure Fonction-de Serine-et -Metallo-b-Lactamases	7
04	Figure Mequanisme de catalytique de classe a	8
05	Figure Mécanisme d'hydrolyse d'une b-lactamine par une b-lactamase.	8
06	Figure mode d'action de La β lactamine	11
07	Figure. Structures des inhibiteurs de β -lactamase (acide clavulanique – subactam—tazolactam)	12
08	Figure de d' <i>Artemisia campestris</i>	15
09	Figure Technique utilisée pour placer le fragment	23
10	Figure Structure cristalline des protéines cible, β -lactamase (PDB code : 4NQ4) (A) et (B) le site actif	26
11	Figure: Interactions entre l'acide clavulanique et les résidus de site actif de 4nq4.	34
12	Figure: Interactions entre 13-feruoyl-4-caffeoyl-quinic acide et les résidus de site actif de 4nq4.	35
13	Figure: Interactions entre Stigmasterol et les résidus de site actif de 4nq4	35
14	Figure: Interactions entre sitostérol et les résidus de site actif de 4nq4	36

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Principaux programmes de docking moléculaire.	20
Tableau 02	Structure chimiques de l'acide clavulanique et des composés majoritaires d'Artemisia campestris L	27
Tableau 03	Le résultat du docking moléculaire des huit composés d'Artemisia campestris L.	31
Tableau 04	Les résultats de l'analyse des cinq règle de Lipinski des phytoligands testés sur la β -lactamase	37

Introduction

La pénicilline, la plus ancienne des moules de pénicillium, a été l'un des premiers antibiotiques utilisés pour traiter les maladies infectieuses en inhibant la croissance de bactéries positives gram. Plus tard en raison de la résistance microbienne la prééminence de la capacité de certaines souches microbiennes de synthétiser des β -lactamases, qui à leur tour inactivent les pénicillines en hydrolysant le cycle β -lactame et favorisant ainsi la résistance à l'antibiotique. Aujourd'hui, plusieurs types d'enzymes β -lactamase sont connus pour inactiver[1].

Les β -lactames (pénicillines, céphalosporines et carbapénèmes) sont de puissants inhibiteurs et ont été utilisés efficacement pendant plusieurs décennies contre différents types d'infections bactériennes, en raison de leur efficacité supérieure, de leur faible coût, de leur facilité d'utilisation et de leurs effets secondaires faibles. Les β -lactames forment un complexe d'enzymes acyl stable avec des protéines de liaison à la pénicilline dans la membrane cellulaire bactérienne, inhibant ainsi les étapes finales de la biosynthèse du peptidoglycane.[2].

L'un des mécanismes de résistance le plus courant des bactéries Gram-négatives aux β -lactames est la production de β -lactamase qui inactive les β -lactames en hydrolysant le groupe amide du cycle β -lactame. Il est donc nécessaire de lutter contre cette résistance bactérienne à l'aide d'antibiotiques plus récents. Ces enzymes catalysent le clivage de la liaison amide du cycle Bêta-lactame par l'intermédiaire d'un résidu Sérine de leur site actif entraînant l'ouverture irréversible de son noyau. [2].

La dissémination des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques contribue à la morbidité et la mortalité dues aux maladies infectieuses. [3]

Artemisia campestris, localement appelé « Goft » est une plante aromatique très utilisée par les habitants du Sud d'Algérie pour le traitement des bronchites, de la toux, les douleurs et la fièvre. Plusieurs travaux ont montré que cette plante possède des activités biologiques diverses telle que l'activité antibactérienne et antioxydante D'après nos connaissances aucune étude n'a été réalisée sur l'inhibition de la β -lactamase par l'extrait de cette plante. Pour cela, l'objectif principal de ce travail de recherche de nouveaux inhibiteurs à partir d'*Artemisia campestris* L. de la β -lactamase et ce en faisant appel aux approches de modélisation par docking moléculaire [4].

Ces méthodes permettent de rechercher *in silico* le mode d'interaction le plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur (β -lactamase) ce qui aide à la prédiction de molécules en un temps limité et surtout parfois sans avoir à synthétiser les composés [4].

Enfin, l'application de la règle de Lipinski dite «la règle des 5» nous permettra de vérifier la biodisponibilité des inhibiteurs proposé.

Ce manuscrit comporte trois parties. La première partie est consacrée à des généralités sur la β -lactamase, *Artemisia campestris* et le Docking moléculaire. Le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail sont représentés dans la deuxième partie. Les résultats ainsi trouvés seront discutés dans la troisième partie.

Synthèse bibliographique

I. Les β -Lactamases

1. définition

Les β -Lactamases sont des enzymes bactériennes qui catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du cycle Bêta-Lactame des antibiotiques de la famille des Bêtalactamines. La production de β -lactamases est le mécanisme de résistance le plus fréquent. Ces enzymes se caractérisent par une plasticité extraordinaire, de telle sorte qu'elles finissent toujours par réussir à hydrolyser les nouveaux antibiotiques [1].

C'est le mécanisme prédominant de la résistance aux lactamines chez les entérobactéries. Deux systèmes de classification sont couramment acceptés, établis sur des bases fonctionnelles et moléculaires [5].

2. Historique

Les β -lactamases ont été le premier mécanisme de résistance individualisé dans le cadre de la résistance naturelle (céphalosporines de bacilles à Gram-négatif) et acquise (pénicilline de *S. aureus*). La découverte d'enzymes inactivant la benzylpénicilline en présence d'extraits bactériens, par exemple d'*E. coli*, date de 1940. Le terme de β -lactamase n'ayant été proposé qu'en 1960 par Pollock. Quelques années plus tard fut rapidement identifiée la pénicilline de *S. Aureus* (résistance acquise) [6]. La première description des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) en tant que mécanisme de résistance transférable remonte à 1983 par Knothe et al. [7]. Ces enzymes sont cependant inhibées par les inhibiteurs de bêta-lactamases comme l'acide clavulanique ou le tazobactam [8].

3. Nomenclature

Le β -Lactamases peut être nommé sur la base de caractéristiques moléculaires ou de propriétés fonctionnelles. Les classes moléculaires A, B, C et D définissent une enzyme selon la séquence d'acides aminés et les motifs conservés. Les groupes fonctionnels 1, 2 et 3 sont utilisés pour attribuer une description cliniquement utile à une famille d'enzymes [9].

4. Classification des bêta-lactamases

Les principales classes de la β -lactamases sont :

- Les β -lactamases de classe A: sont sensibles à l'action de l'acide clavulanique, du sulbactam et du tazobactam. On y trouve la majorité des β -lactamases retrouvées chez *E. coli*, comme TEM, SHV, des β -lactamases à spectre élargi (BLSE).[10].
- Les β -lactamases de classe B: sont principalement des carbapénémase comme IMP et VIM, elles sont inhibées par l'EDTA.[10].
- Les β -lactamases de classe C : sont les céphalosporinases de type AmpC, inhibées par la cloxacilline.[10].
- Les β -lactamases de classe D : Sont des oxacillinases, qui constituent une famille extrêmement composite en termes de spectre d'hydrolyse.[10].

5. Rôle biologique

Le rôle de beta Lactamases reste essentiel dans le domaine de la bactériologie médicale comme en témoigne le nombre croissant d'exemples de résistance naturelle ou acquise h l'égard de la beta lactamines [11].

Les β -lactamases hydrolysent le cycle β -lactame, inactivant ainsi l'antibiotique. Ces enzymes sont sécrétées dans le milieu de culture ou dans le périplasme respectivement par les bactéries à Gram+ ou Gram-.

Pour les entérobactéries ont la capacité de produire des bêta-lactamases, enzymes qui inactivent les antibiotiques bêtalactamines par ouverture du cycle bêta-lactame. Ce mécanisme fait partie des mécanismes classiques de résistance bactérienne, comme en font également partie l'imperméabilité membranaire et la modification de la molécule-cible sur laquelle se fixe l'antibiotique. Les gènes de résistance des bêta-lactamases se situent soit au niveau du chromosome bactérien, soit sur des éléments extra-chromosomiques [12].

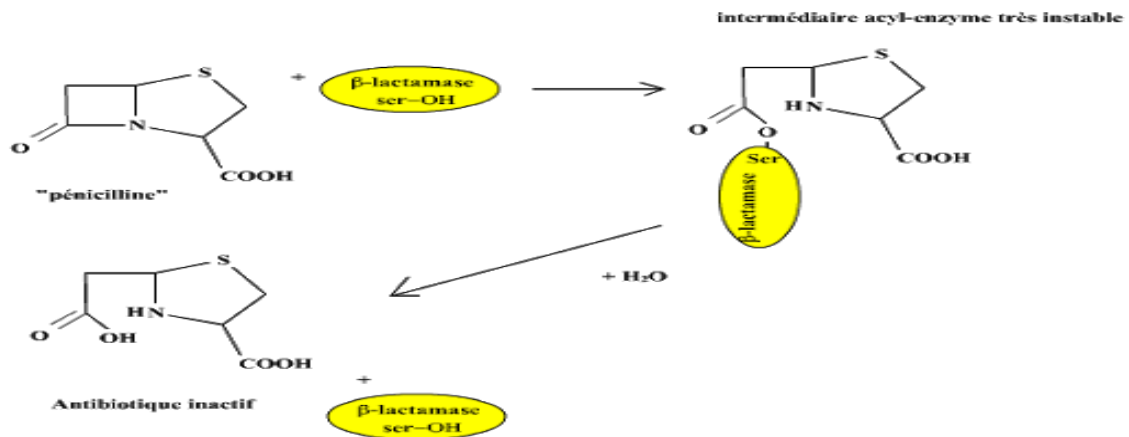


Figure01 :La réaction de pénicille et b-lactamase (site de web)

6. Structure

A. Les Sérine β -Lactamases

Les Sérine β -Lactamases sont des protéines globulaires monomériques possédant 11 hélices alpha et 5 feuillets bêta ayant un poids moléculaire moyen de 34 à 40 KDa avec un point isoélectrique entre 7 et 9. La structure tertiaire en sandwich des Sérine Bêta-Lactamases dont les Céphalosporinases AmpC montre que le site actif se trouve dans l'espace existant entre les deux (02) domaines décrits de cette structure au centre de l'enzyme au bord gauche du feuillet β à cinq fragments avec le résidu Sérine réactif à l'extrémité amine de l'hélice α centrale. Le site d'interaction est plus ouvert que celui de la classe A reflétant sa plus grande capacité à accueillir les chaînes latérales plus volumineuses de Céphalosporines. Les 3 éléments contenant des séquences d'acides aminés fonctionnels ou conservés. Dans l'élément 1, il y a la tétrade Lys-X-X-Ser. L'élément 2 est une triade d'acides aminés Asp-X-Tyr. L'élément 3, est une triade également formée de : Gly-Thr-Lys alors que l'élément 4 est formé d'un seul acide aminé Glu. L'ensemble de ces éléments constituant les Sérine Bêta-Lactamases participe directement ou indirectement dans l'inactivation des Bêta-lactamines.[13].



Figure02:Structure 3D de la Bêta-Lactamase AmpC isolée d'*Escherichia coli* et liant Ceftazidime [2].

B. Les métallo Bêta-Lactamases

Comme il a été rapporté dans leur classification, ce groupe d'enzyme est subdivisé en trois sous-classes B1, B2 et B3 selon le pourcentage d'homologie de structures primaires. Celui-ci varie approximativement de 25% à 40% dans une même sous-classe et de 10% à 20% entre deux sous classes. La comparaison par alignement des structures primaires, révèle l'existence de quatre résidus strictement conservés parmi tous les MBLs (His118, Asp120, His196, His263). La même comparaison révèle également l'existence de 17 résidus d'acides aminés hautement conservés entre les membres de la sous-classe B1 (His116, His118, Asp120, Thr142, Gly193, His196, Asp199, Asn200, Val202, Leu217, Gly219, Gly220, Cys221, Gly232, Trp244, His263 et Thr303) et 16 résidus entre les membres de la sous-classe B3. Plus précisément, les 17 résidus conservés de la sous-classe B1 existent dans le domaine C-terminal alors que les 16 résidus conservés de la sous-classe B3 existent dans le domaine

N-terminal. Les MBLs possèdent généralement un site actif constitué de résidus d'acides aminés coordonnés à un ou à deux ions zinc. [14].

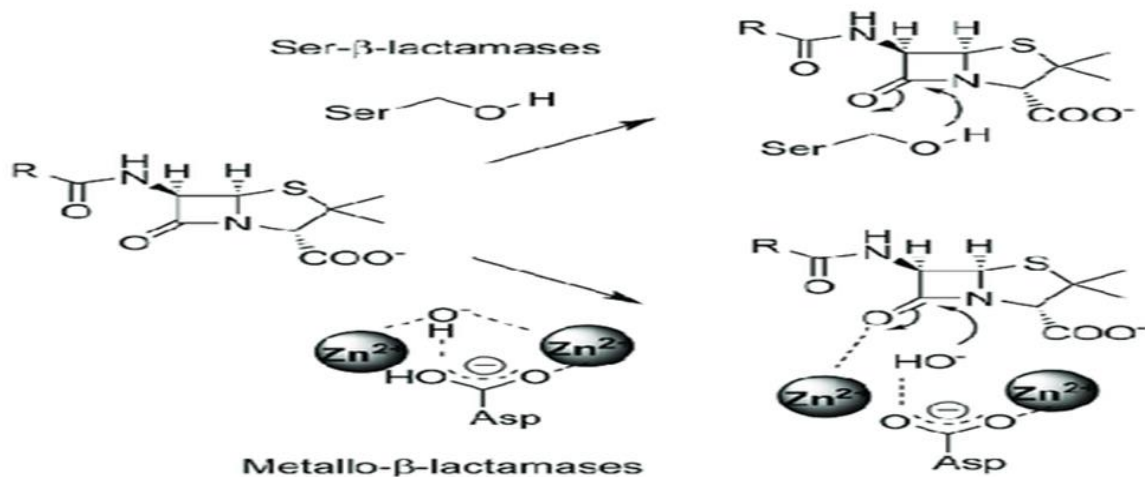


Figure03 : fonction de Metallo beta lactamase et Ser –beta lactamase

8. Sources

Les Bêta-Lactamases sont produites aussi bien par les bactéries Gram négatif (*Serratiamarcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*) que positif (*Bacillus cereus*, *Actinomadura*, *Streptomyces abus*, *Staphylococcus aureus*). [15].

9. Mécanisme catalytique des β-lactamases de classe A

Les β-lactamases à sérine active et les PLP agissent par des mécanismes catalytiques qui présentent des similarités. Tout d'abord, la sérine active réalise une attaque nucléophile du carbonyle du cycle β-lactame. Cette sérine correspond au résidu Ser⁷⁰ selon la numérotation d'Amblar. Le transfert de l'hydrogène de la fonction hydroxyle de la chaîne latérale de Ser⁷⁰ sur un accepteur de proton transitoire permet de générer le nucléophile. L'attaque nucléophile de l'atome de carbone du cycle β-lactame génère transitoirement un carbone tétraédrique avec le développement d'une charge négative sur l'atome d'oxygène qui est stabilisée dans une cavité oxydation de l'enzyme. Ensuite, il y a rupture de la liaison carbone-azote du cycle β-lactame et protonation de l'atome d'azote pour former un intermédiaire covalent, l'acyle enzyme. Dans la deuxième partie de la réaction, une molécule d'eau, activée par un accepteur de proton, attaque le carbonyle pour former à nouveau un intermédiaire tétraédrique. La dernière étape, la désacylation, régénère l'enzyme libre après libération de la β-lactamine hydrolysée.

Le rôle prépondérant de la sérine en position 70 (S^{70}) dans la réaction d'hydrolyse des β -lactamines a été confirmé par mutagenèse dirigée. Ce résidu a été substitué par une alanine dans les β -lactamases de *Bacillus licheniformis* et *Streptomyces albus* G [16].

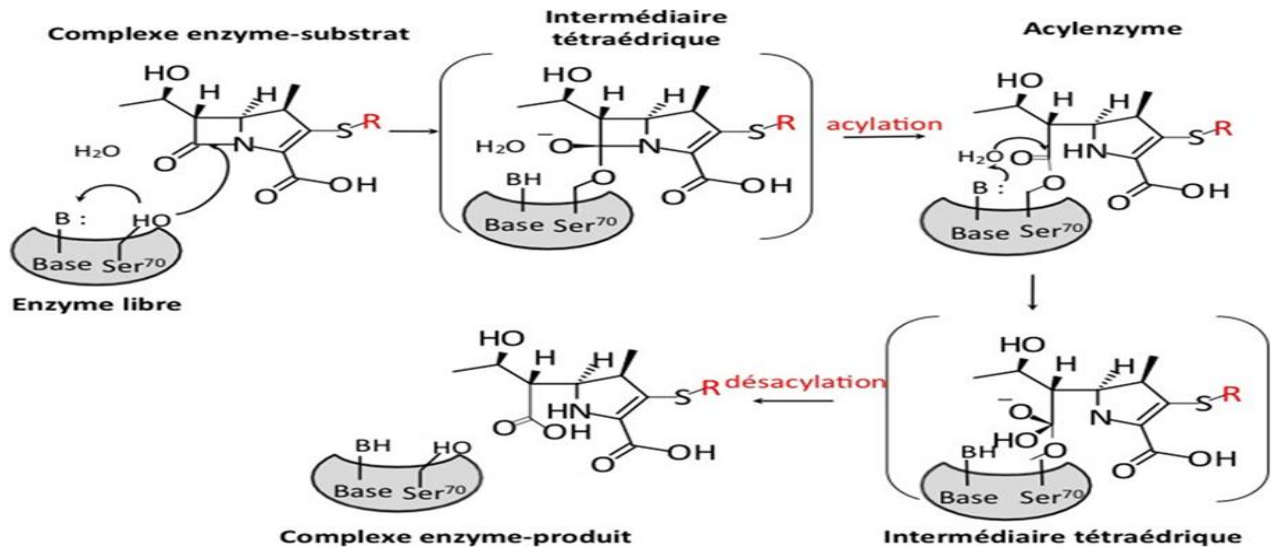


Figure04: Mécanisme catalytique de classe A

10. Résistance enzymatique par production bêta-lactamase

Les β -lactamases hydrolysent le cycle β -lactame inactivant ainsi l'antibiotique. Ces enzymes sont sécrétées dans le milieu de culture ou dans le périplasm respectivement par les bactéries à Gram+ ou Gram-. De rares cas de liaison à la membrane cytoplasmique ont été signalés et, chez les mycobactéries, on retrouve une forte proportion d'enzyme dans la couche d'acides mycosiques. Les gènes peuvent être portés par le chromosome ou des plasmides, parfois par des transposons ou des intégrons. La présence des gènes sur ces éléments génétiques transférables (plasmides, transposons, intégrons) facilite évidemment leur dispersion dans le monde bactérien. L'expression des gènes est constitutive ou inducible.[12].

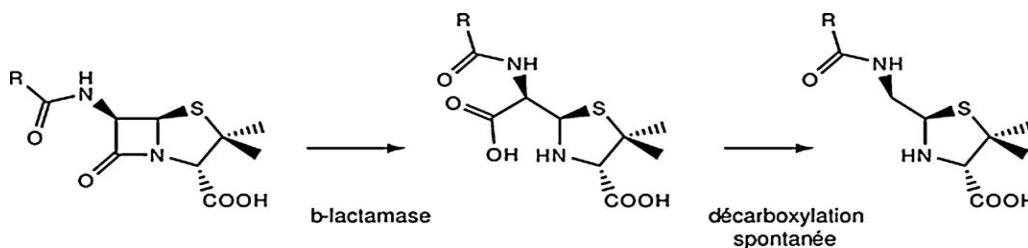
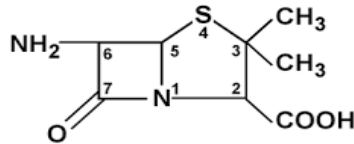


Figure05 : Mécanisme d'hydrolyse d'une β -lactamine par une β -lactamase.

11. Substrats de la β -lactamase

a. Les β lactamine.



Les bêta-lactamines sont les antibiotiques de première ligne dans le traitement des infections causées par les entérobactéries [18]. Les bêta-lactamines sont des antibiotiques bactéricides [19]. L'ensemble des bêta-lactamines forme une large classe d'antibiotiques qui comprend les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines, les monoactâmes, les carbapénèmes et les inhibiteurs de bêta-lactamase. Ces molécules contiennent toutes un noyau bêta-lactame dans leur structure moléculaire, et ce noyau bêta-lactame confère à la molécule son activité antibiotique [20].

1. Propriétés communes [20] :

- Présence du cycle beta lactame qui est le support d'Inactivité antibactérienne
- Mode d'action identique : inhibition de la synthèse du peptidoglycane constituant de la paroi des bactéries
- Faible toxicité

2. propriété spécifiques [20].

La structure chimique est variable et permet de distinguer 4 groupes :

- 1 Les penames (pénicillines...)
- 2Les cephemes(cephalosporines - cefamycines...)
- 3les monolactames (monobactams...).

Cette structure chimique conditionne par les propriétés suivantes :

- ✓ -les propriétés antibactériennes (activité intrinsèque et spectre). Elles dépendent de 3 paramètres : la pénétration et travers la part Di bactériennes, L'affinité préférentielle

pour la ou les <<PLP,> essentielle(s), la stabilité et l'hydrolyse par les différentes bêta-lactamase,

- ✓ -Propriétés pharmacologiques

a. Mode d'action des bêtalactamines

Les bêta -lactamines inhibent la synthèse de la paroi bactérienne. Les cibles des bêta lactamines sont les PLP (protéines de liaison à la pénicilline). Les PLP interviennent dans la synthèse et le remodelage du peptidoglycane, constituant principal de la paroi bactérienne. Les bêta-lactamines possèdent un effet bactéricide. Les bêta-lactamines sont des antibiotiques temps-dépendant avec un effet post antibiotique court (bactéries à Gram positif) voire inexistant (bactéries à Gram négatif). Le but d'un schéma thérapeutique est de maximiser le temps d'exposition des bactéries pathogènes à l'antibiotique [20]

.ils sont intimement liés et la structure de la paroi bactérienne. Celle-ci est différente selon qu'il s'agit de bactéries à gram positif ou de bactéries & gram négatif [18].

- ✓ Paroi des bactéries à gram positif : Le constituant principal est le peptidoglycane qui est une structure, réticulée assez lâche laissant passer facilement de nombreuses molécules dont les antibiotiques. Les PLP, situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique sont rapidement atteintes par les bêta-lactamines, qui bloquent leur activité enzymatique et interrompent ainsi la synthèse du peptidoglycane. [18].
- ✓ Paroi des bactéries à gram négatif : La paroi est plus complexe La membrane externe représente un véritable obstacle & la pénétration des bêta-lactamines. Certaines molécules peuvent cependant y parvenir grâce & la présence de protéines spécialisées appelées porines réalisant des canaux aqueux.[18].

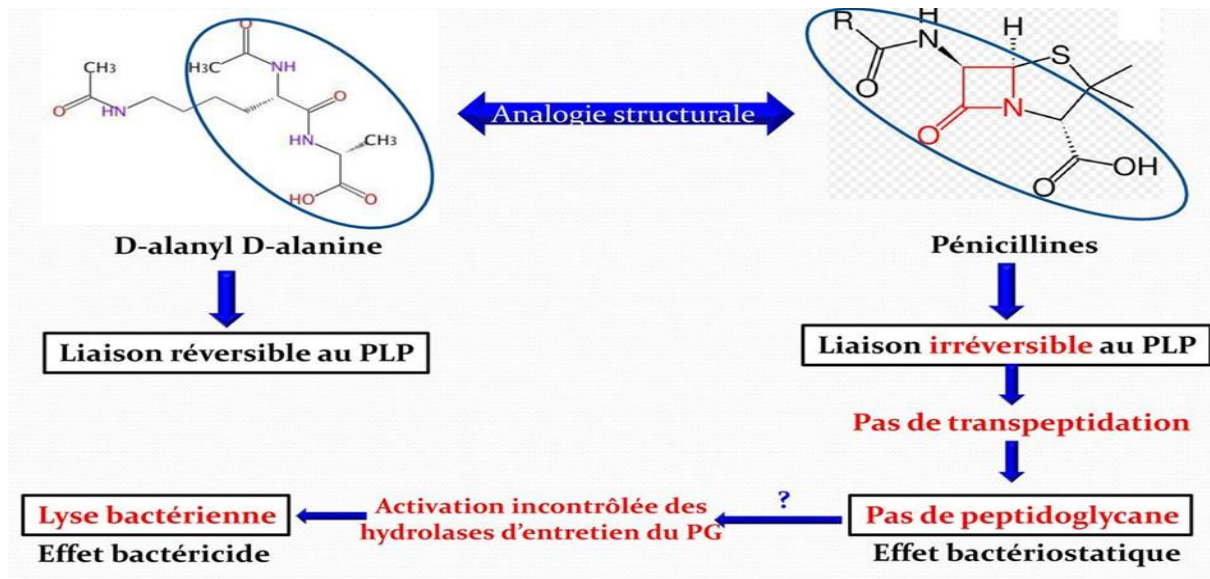
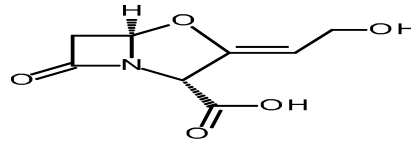


Figure06 : mode d action de beta lactamine

12. LES inhibiteurs de β -lactamase

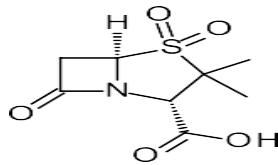
La recherche d'inhibiteurs de β -lactamases a été effectuée dans les années 1940-1950. Le criblage des composés produits par les micro-organismes ayant une activité inhibitrice des β -lactamases a permis de découvrir l'acide clavulanique, isolé de *Streptomyces clavuligerus* en 1976. L'activité antibactérienne intrinsèque de cette molécule est très faible, mais les CMI des β -lactamines en présence d'acide clavulanique sont basses sur des souches de *Staphylococcus aureus* produisant une β -lactamase. L'acide clavulanique possède UN cycle β -lactame. En 1978 et 1980, deux autres molécules semi-synthétique sont été développées, le sulbactam et le tazobactamces deux molécules est assez proche à celui de l'acide clavulanique .sont actives en combinaison avec les β -lactamines sur les bactéries produisant des β -lactamases de Classe A. Ces inhibiteurs sont peu ou pas actifs sur les β -lactamases de Classe C et ne sont pas actifssur les β -lactamases de Classes B et D. Pour les β -lactamases de Classe A, l'efficacité des inhibiteurs diffère selon la β -lactamase. SHV-1, par exemple, est moins bien inhibée par le sulbactam, mais mieux inhibée par le clavulanate que TEM-1[22].

A

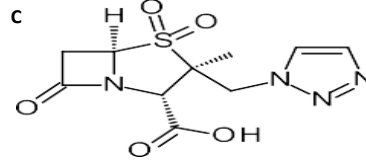


Acide clavulanique

B



Sulbactam



Tazobactam

Figure7:Structures des inhibiteurs de β -lactamases

La première de ces combinaisons, amoxicilline- clavulanate, reste Les associations β -lactamine-inhibiteur de β -lactamase ont un large spectre d'activité et sont utilisées principalement en clinique pour le traitement des infections dues aux entérobactéries, à *Staphylococcus aureus*, à *Haemophilus influenza*, anaérobies, à *Acinetobacter baumannii* (ticarcilline-acide clavulanique) et à *Pseudomonas aeruginosa* (pipéracilline-tazobactam) .De 1984 à 2014 l'acide clavulanique, le sulbactam le tazobactam son très les seuls in libateurs de β -lactamase commercialisés. Une autre classe d'inhibiteurs est constituée par des dérivés de l'acide boronique. Ces molécules sont connues de puis plusieurs dizaines d'années pour leur capacité à former de manière réversible un adduit covalent avec les protéases à serine active .Ces inhibiteurs sont actifs notamment contre les β -lactamases de ClasseA..Cette molécule Est développée pour le traitement des infections dues aux entérobactéries produisant des carbapénemase de Classe A, notamment les carbapénemase du type KPC.[22].

✓ **L'acide clavulanique**

Est un inhibiteur suicide des β -lactamase Son Mécanisme d'actiona été étudié pour une grande variété des β -lactamase de Classe A par des approches cinétiques et structurales L'inactivation de l'enzyme implique la formation d'un acyle enzyme stable. Pour les β -lactamases de *Streptomyces cacaoui*, *S. aureus*, Dans le cas de ces β -lactamases, l'hydrolyse

de l'acyle enzyme est soit extrêmement lente, soit non-délectable. Pour UN grand number de β -lactamases.[22].

2. Les inhibiteurs de beta-lactamase d'origine végétale *Artemisia campestris*

I. Généralités sur les plantes médicinales :

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans Son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments. Jusqu'au début du XXème siècle, presque tous les médicaments étaient d'origine végétale .Médicamenteux, selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) en 2008, plus de 80% de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs besoins de soins de santé primaires [23].

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisés pour la prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses

Environ 35000 plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent à répondre à un besoin important malgré l'influence croix du système sanitaire moderne [24].Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organeset parfois dans des cellules spécialisées de la plante.[25].

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques. Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers composés présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles [23].

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en

médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques [25].

1-Présentation de plante *Artemisia campestris*

Au Sahara algérien, les espèces d'*Artemisia* font partie de la vie quotidienne des populations locales et de la médecine domestique [26].

Le genre *Artemisia* est considéré l'un des genres les plus grands et les plus largement distribués de la famille des Astéracées (Composites). C'est un genre hétérogène, composé de plus de 500 espèces diverses réparties principalement dans les zones tempérées d'Europe, d'Asie et d'Amérique du Nord. Ces espèces sont pérennes, herbes bisannuelles et annuelles ou petits arbustes [27].

Dans la flore de l'Algérie, ce genre est représenté par 11 espèces spontanées parmi lesquelles se trouve *Artemisia campestris* communément appelées "dgouft".

Artemisia campestris est une herbe aromatique vivace appartenant à la famille des Astéracées, cette espèce est très répandue en Afrique du Nord et dans d'autres zones agro écologiques méditerranéennes similaires. Cette plante largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée, ...etc. [28].

2-APERÇU HISTORIQUE

On peut lire dans maints ouvrages de la mythologie grecque et romaine que l'armoise .la «mère des herbes» .était tenue en haute estime en tant que plante médicinale. Dans l'Empire romain, l'armoise était soi-disant plantée le long des routes afin que les légionnaires n'aient pas les jambes fatiguées lors de leurs déplacements. Cette conviction a persisté pendant des siècles, jusqu'au Moyen âge. L'écrivain William COLE en 1656:«...en mettant de l'armoise le matin dans les chaussures, on peut parcourir des lieues et des lieues jusqu'à midi sans fatigue.» [28].



Figure08 :représente la plante *Artemisia campestris* [26].

3-Systématique de la plante [29].

Selon Caratini (1971), la plante *Artemisia campestris* est classée dans:***7

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Sous Tribu	Artemisiinae
Genre	Artemisia
Espèce	<i>Artemisia campestris</i> L.

4-Nom vernaculaires [30].

✓ **Noms français :**

-*Armoise champêtre*

-*Armoise des champs*

-*Armoise rouge*

✓ **Noms anglais :**

-*Field Sagenort*

-*Field Sagewort*

-*Field Wormwood*

✓ **Noms vernaculaire :**

-*Dgouft ou dgouft*

-*Alala*

5-Caractéristiques morphologiques de laplante

Plante herbacée vivace, hermaphrodite, presque inodore, buissonnante (30-150 cm). Tiges subligneuses et couchées à la base puis ascendantes, généralement rougeâtres et glabrescentes, très ramifiées à rameaux étalés. Feuilles alternes, non charnues, carénées en dessous, plus ou moins soyeuses dans leur jeunesse, devenant glabrescentes ensuite, les inférieures pétiolées, à limbe 2-3 pennatiséqué, à segments linéaires, les autres sessiles, à limbe moins divisé, à segments étroitement linéaires, mucronulés. Inflorescence : épi de capitules ovoïdes, larges de 1,5 à 2,5 mm ; involucre glabre et luisant ; réceptacle glabre ; fleurs périphériques femelles, les autres mâles. Ces Fruit sont des akènes.[31].

6-Ecologie

Artemisia campestris pousse sur les sols rocheux, son habitat est les collines et les montagnes. C'est une plante qui croit dans les champs secs, pierreux et découverts [29].

En France, cette espèce polymorphe est présente à des altitudes allant du niveau de la mer à 1800 m, à travers des lieux ouverts et sablonneux, mais surtout sur les sables maritimes de la zone méditerranéenne [32].

7-Origine et répartition géographique

L'espèce *Artemisia campestris* est distribuée dans l'hémisphère nord, en particulier sur la côte méditerranéenne de l'Europe, sud-ouest de l'Asie et de l'Afrique. Dans l'hémisphère sud, elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud. [30].

Le genre *Artemisia*, réparti autour du monde, pousse spontanément dans l'hémisphère nord ; onze espèces ont été recensées dans la flore de l'Algérie [30].

8-Composition chimique d'*Artemisia campestris* L

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles, alcaloïdes, saponifiables. Les résultats de l'analyse photochimique des parties aériennes d'*Artemisia campestris* traduisent la présence des composés chimiques flavonoïdes, tanins, alcaloïdes. Les flavonoïdes identifiés chez *Artemisia campestris* sont : flavone (apégénine), flavone (kaempférol 7-méthyle), flavanone (naringénine), dihydroflavonols (taxifoline-7-méthyle). Les composés des huiles essentielles les plus abondants chez la plante *Artemisia campestris* sont : γ -terpinène, capillène, 1-phenyl-2,4-pentadiyne, spathulenol, méthyleugénol, p-cymène et β -pinène [33].

9-Utilisation en médecine traditionnelle

Artemisia campestris est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies. En usage local, *Artemisia campestris* est utilisée pour traiter les troubles digestifs, les ulcères et les douleurs menstruelles. Elle est également utilisée dans le traitement du diabète. La partie aérienne est utilisée dans le traitement des brûlures, de la diarrhée, des morsures de serpents, des piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la

dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux. Selon Saoudi la consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*Artemisia campestris* permet de réduire les symptômes digestifs[30].

10-Activités biologiques

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Artemisia campestris* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes :

✓ **Effets antimicrobiens**

Artemisia campestris est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreux

Infections telles que les infections urinaires. ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Artemisia campestris*, ils ont trouvé que l'activité de l'extrait a été plus efficace contre les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*). Il est considéré comme une drogue anti-malaria très efficace contre le parasite qui cause la malaria: le *Plasmodium falciparum*. L'artémésinine possède également plusieurs activités, il est efficace contre les maladies infectieuses telles que l'hépatite B[34].

✓ **Activité antioxydante**

Artemisia campestris possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que : les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent leurs actions antioxydantes [34].

✓ **Effet insecticide**

L'*Artemisia campestris* exerce un effet insecticide sur *Culex quinquefasciatus*, *Trifolium castoreum*. [34].

✓ **Effet diabétique**

Il a été rapporté que les fleurs d'*Artemisia campestris* ont été utilisées comme hypoglycémiques. Les effets des extraits aqueux de feuilles d'*A. campestris* ont été examinés sur l'état

glycémique. L'administration d'A. *Campestris* chez des rats diabétiques à la dose de 200 mg / kg pc a entraîné une réduction significative des taux de glycémie [35].

II. Le Docking moléculaire

La recherche en biologie ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglo-saxon "DOC King"). L'emploi initial du "doc King" moléculaire a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand [36].

2-DIFINITION [36].

Le docking peut être défini comme étant l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires. Il a des applications pratiques dans l'ingénierie des protéines et la conception de nouveaux médicaments. Il y a différents types de docking dont ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine et ADN-protéine.

Le « docking » moléculaire consiste à prédire la ou les structures des complexes formés entre une molécule active et une protéine. [36].

❖ Les algorithmes de calcul génèrent aléatoirement un grand nombre d'orientations possibles pour trouver « la meilleure façon d'insérer » la molécule dans une protéine (au niveau du récepteur ou du site actif).[36].

❖ Le programme prend en compte tous les degrés de liberté de la molécule (translation et rotation).[36].

❖ Pour chaque possibilité l'énergie est calculée en Mécanique Moléculaire, prenant ainsi en compte toutes les interactions ligand-récepteur [36].

❖ On obtient ainsi un « score » pour estimer la meilleure interaction ligand/ récepteur.

❖ Le score est l'enthalpie libre de liaison (il doit être minimisé) [36].

✓ Il ya deux étapes de doking moléculaire

Dans un premier temps une étape de positionnement du ligand dans le site choisi de la protéine ,Puis dans un second temps, une étape d'évaluation des interactions énergétiques potentielles le ligand et la protéine[36].

3-Principaux programmes de Docking moléculaire

Les méthodes utilisées pour ces deux étapes diffèrent en fonction du programme de Docking

Utilisé, plus de30 logiciels de Docking sont actuellement disponibles [37].

Tableau: Principaux programmes de docking moléculaire [37].

Nom	Editeur	Site Internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide	Schrodinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

Le Docking moléculaire est une technologie difficile à mettre en œuvre car elle doit être appliquée et constamment adaptée en fonction du contexte dans lequel le projet se place. Il est néanmoins possible de fournir des guides en fonction du type de protéine, site actif et ligand(s) ancré [37].

1) Auto Dock

Auto Dock emploie les méthodes Monte-Carlo, le Recuit Simulé et l'algorithme génétique Lamarckien (LGA) pour créer un ensemble de conformations possibles. LGA est utilisé comme optimiseur global et la minimisation d'énergie comme méthode de recherche locale. Les orientations possibles sont évaluées par le modèle AMBRE de champ de force en conjonction avec les fonctions de score d'énergie libre et un grand ensemble de complexes de protéine-ligand avec des constantes connues. La version 4 devrait contenir la flexibilité de chaîne latérale. Auto Dock a des pages Web plus instructives que ses concurrents en raison de sa licence académique gratuite. La conformation des ligands dockés peut être visualisée à l'aide des outils fournis sur le site d'Auto dock, ou bien à l'aide d'un logiciel permettant de visualiser les fichiers au format PDB, tel que PyMOL[38].

2) Les bases de données : Protéine Data Bank

Est une base de données contenant des expériences qui déterminent la structure tridimensionnelle (3D) des protéines, des acides nucléiques et d'autres macromolécules. Elle a été établie en 1971 en comportant uniquement 7 structures. Depuis cette époque, le nombre de structures 3D de macromolécules ne cesse à croître arrivant au juin 2017 à environ 130599 macromolécules. Plusieurs logiciels sont utilisés pour le screening virtuel des ligands tels que : Auto Dock, GOLD, Glide, MOE et Schrödinger Maestro.[37].

✓ Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme de ligand est le plus souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique (branches de la chimie inorganique). En biologie, un ligand (du latin ligand, liant) est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions. La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure en trois dimensions (3D). L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre la protéine et son ligand permet de promouvoir ce changement de conformation, appelé ajustement induit. Cette

modification structurale peut ainsi moduler éventuellement son état fonctionnel et son activité.[37].

✓ ZincDATABASE

Zinc DATABASE [<http://zinc.docking.org/>] est une base de données à accès libre de petites molécules organiques disponibles dans le commerce pour la découverte de médicaments et contient actuellement 95612850 décomposés uniques[37].

3) PRINCIPES

Le plus important problème pour l'étape de Docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformation. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique, et déterministe.[36].

4) Les différentes étapes de docking [36].

L'algorithme de docking est basé sur la stratégie de la construction incrémentielle, elle consiste en -phases essentielles:

► Sélection du fragment de base

La première étape du docking est de choisir une partie du ligand qui va interagir en premier avec la protéine, cette partie est appelée «le fragment de base». La technique de la sélection du fragment de base est la suivante:

La première étape est la division du ligand en plusieurs composants par l'ouverture des liaisons simples acycliques non terminales. Par définition un fragment est dit valide lorsqu'il constitue la partie qui va se connecter à la protéine, et n'ayant pas plus de 30 conformations

- La deuxième étape consiste au classement des fragments valides.

► Placement de base

Les algorithmes de placement sont basés sur la technique de « géométrie Hasting» Ces algorithmes sont le (triplet) et le (paire).Le premier algorithme est utilisé lorsqu'il ya trois interactions compatibles entre le ligand et le récepteur, il s'agit d'un triplé (sous forme de triangle); le second est utilisé lorsqu'il y a deux interactions compatibles, dans ce cas ils 'agit d'une paire.

Pour des raisons géométriques les surfaces d'interactions du site actif sont présentées par des points

1-La première étape de cette technique est de générer tous ces points d'interaction dans des cercles où la distance point-point est fixe. Sachant que la distance de la liaison hydrogène et les sels pontés est égale à 1.2\AA et que celle des interactions Hydrophobiques est égale à 1.6\AA .

Type d'interaction du 2^{ème} point et la distance. Elle génère tous les triplets (ou paires) des centres d'interaction du fragment et définit tous les triplets compatibles .On dit que les deux triangles définis précédemment sont compatibles seulement s'ils ont les mêmes longueurs d'arêtes et que leurs sommet sont des types d'interaction compatibles [36].

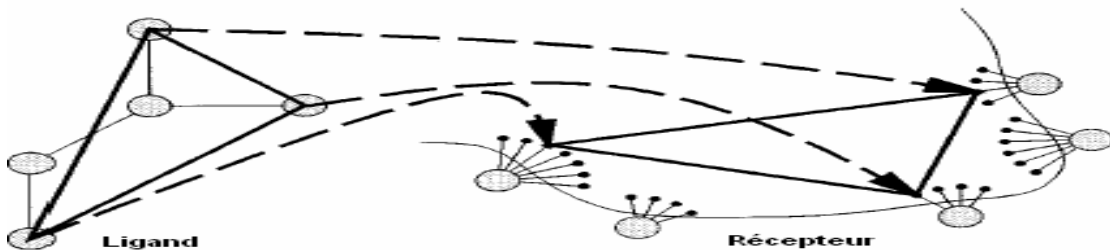


Figure 09: Technique utilisée pour placer le fragment.

Les trois centres d'interaction du ligand (en gris), Les trois points d'interactions du site actif (en noir).

2-La deuxième étape est l'ajustement du placement en considérant:

- Les contraintes angulaires ou géométriques (le centre d'interaction du ligand coïncide avec la surface d'interaction du récepteur et vice-versa).
- Le ligand et la protéine (récepteur) ne doivent pas se chevaucher. La liste des placements (positions) obtenus par cette étape contient plusieurs interactions similaires pour deux raisons:

- Changer un point par un autre proche dans la même surface d'interaction change légèrement l'interaction.
- Le fragment peut faire plus de troisièmes réactions simultanément.

3-La troisième étape sert à regrouper tous les placements qui ont un rms de déviation minimale, (rms : root mean square=0.7Å). Ces placements vont converger vers une seule solution, celle qui correspondra l'orientation finale du ligand

-La dernière étape est un test de chevauchement (l'algorithme ne prend en compte que les placements qui n'entrecroisent pas).

Dans le cas d'un petit fragment de base, il se trouve que les triplets d'interactions soient très rares ou même inexistant, les paires d'interactions vont alors être prises en compte au lieu des triplets. L'interaction va être entre les paires des centres d'interactions du ligand et les paires de points d'interactions du site actif.

Le degré de liberté qui reste (la rotation autour de l'axe défini par la paire de points d'interactions) peut être fixé en tournant le ligand de telle sorte que les deux centres d'interactions du récepteur lient approximativement les deux centres d'interactions du ligand. [36].

Pour réduire le nombre de placements ou positions générés, il suffit de différencier les interactions actives des moins actives (active veut dire qu'elle peut être utilisée par l'algorithme de déplacement). Pour cela le mode d'activité suivant est considéré:

5) OBTENTION DES STRUCTURES.

La majorité des structures protéiques sont disponibles via la «Protéine Data Bank »un grand nombre de structures d'une même molécule avec ou sans ligand permet d'avoir une information pertinente. Quand la méthode expérimentale n'est pas possible ou n'a pas été encore réalisée, la solution à envisager en premier est un s'agit de prédire un modèle d'après d'autres molécules le plus proche possible de celle étudiée et dont les structures sont connues expérimentalement. La conformation d'une protéine étant codée par sa séquence en acides aminés, la première étape est d'effectuer un alignement de séquence pour identifier les molécules similaires. La recherche d'homologues peut s'effectuer principalement par trois voies. En premier lieu la méthode développée par Neeleman et Wunsche qui utilise un

algorithme de programmation dynamique pour réaliser un alignement global puis celle de Smith et Waterman, semblable à la précédente mais qui réalise des alignements locaux et enfin au moyen de recherches par heuristique, qui permettent de travailler avec un nombre de séquences beaucoup plus grand. Parmi ces méthodes, on peut citer les approches utilisées par les logiciels BLAST (Basic Local Alignment SearchTool) et FASTA e approche par modélisation comparative [36].

6) Etude *in silico*

Par analogie avec les expressions *in vivo*, le terme «*insilico*» a été introduit pour qualifier les méthodes numériques mises en œuvre pour traiter de tels systèmes. De par son nom, ce terme fait référence au silicium, matériel principal retrouvé dans les puces informatiques de tous les ordinateurs. *In silico* c'est un modèle biomathématique utilisant des bases de données issues d'expérimentation *in vivo* ou *in vitro*, permettant d'analyser, grâce à des logiciels informatiques, les propriétés recherchées [37].

Matériels et méthodes

1. Matériels

Le téléchargement de la protéine cible, β -lactamase (PDB :4NQ4) a été fait à partir de la base de données Protéine Data Bank (www.rcsb.org/pdb) (Figure 1).

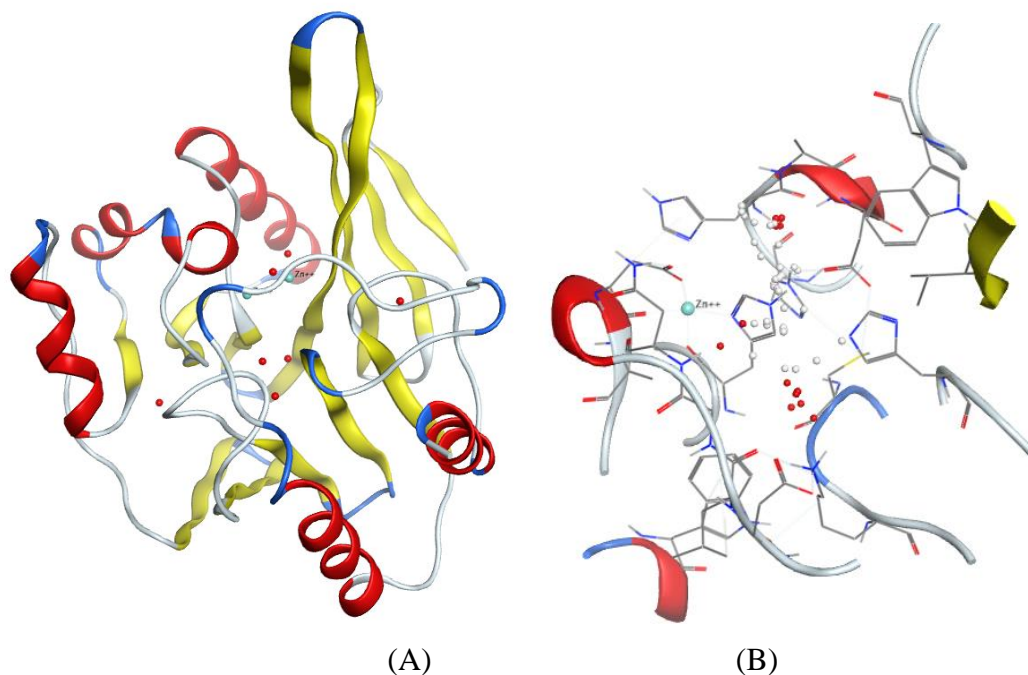


Figure 10 : Structure cristalline de la protéines cible, β -lactamase (PDB code :4NQ4) (A) et (B) le site actif.

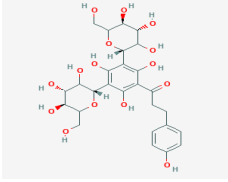
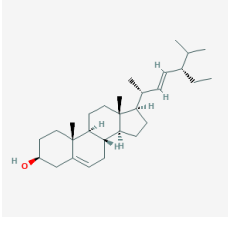
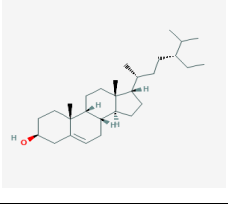
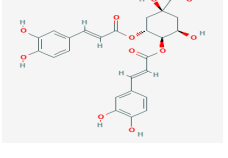
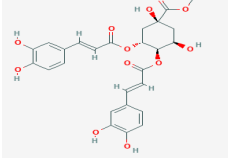
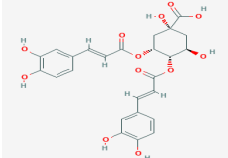
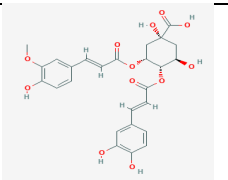
Les structures des composés phénoliques (phytoligands) seront téléchargés à partir des bases de données suivantes (Tableau 2) :

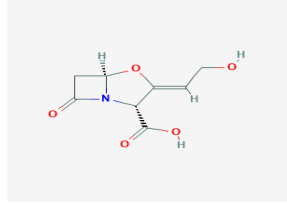
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

<https://zinc.docking.org/>

La minimisation de l'énergie globale des ligands et l'addition des atomes d'hydrogène à l'aide du programme Avogadro Version 1.1.1.

Tableau 2 : Structure chimiques de l'acide clavulanique et des composés majoritaires d'*Artemisia campestris* L.

Nom des phytoligands	Code CID	Structure
Phloretine 3',5'-Di-C-glucoside	42607692	
Stigmasterol	5280794	
Sitostérol	122411791	
Acide 3,4-dicaffeoylquinique	5281780	
Ethyl 3,4dicaffeoylquiniate	10554540	
Acide 4,5-Di-O-caffeoylquinique	6474309	
Acide 3-feruoyl-4-caffeoyl-quinique	91617958	

Acide clavulanique	5280980	
--------------------	---------	--

2. Méthodes

2.1 Préparation des ligands et des protéines

La préparation de la protéine cible, la tyrosinase utilisée dans cette étude a été réalisée à l'aide du programme BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2020 (v20. 1.0.19295). En utilisant ce programme, les molécules d'eau seront éliminées à partir de la structure cristalline de la protéine principale (PDB/ 4NQ4) lié avec son ligand (acide clavulanique).

La deuxième étape de préparation, consiste à l'addition des atomes d'hydrogène et la charges Kollman ceci à l'aide du programme MOE 2015 (Molecular Operating Environment) (Version 2016. 02) et par la suite les ligands seront enregistrés en format PDB. Pendant la préparation l'énergie des phytoligands est minimisée par l'algorithme Gasteiger.

2.2 Amarrage moléculaire

L'analyse de l'amarrage moléculaire est réalisée par l'outil MOE 2015 pour déterminer l'énergie d'interaction entre les ligands et les protéines cibles.

Le même programme est utilisé aussi pour obtenir le grid box en 3D pour la simulation du docking dans lequel le box d'une taille de 40x40x40, et 0,742 Å est créée et centrée à (x = 13.544, y = 12.198, z = 67.681) autour des résidus du site actif de la protéine cible 6lu7. De plus, le grid box de la protéine spike est centrée à (x=-36.921, y = 30.66, z = 2.967) avec un espacement de 0.503 Å de dimensions de 40 x 84 x 40, pour couvrir le site actif avec les résidus essentiels du site d'interaction.

Les sites d'interaction entre les phytoligands et la β -lactamase seront déterminés par le programme MOE 2015.

2.3 Les règles de Lipinski et les propriétés d'ADME-T

Lipinski a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle. Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finale de développement :

– le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da),

- le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté logP, doit être inférieur à 5,
- le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5,
- le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10.

Les composés dont les propriétés physico-chimiques ne satisfont pas au moins 2 des règles sont fortement susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité. En effet, moins de 10 % des molécules en phase clinique présentent plus de deux critères en dehors de la gamme préconisée par Lipinski.

Les ligands qui présentent un effet inhibiteur puissant sur la β -lactamase ont été analysés selon la règle de Lipinski à l'aide du programme MOE.

Résulta et discussion

Résultat du docking moléculaire

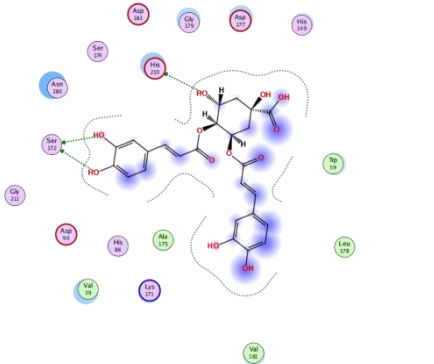
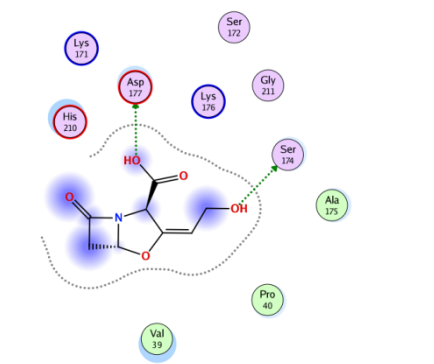
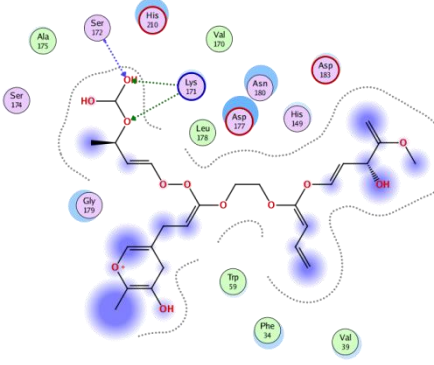
Parmi les 16 phytoligands testé, seulement huit composés ont été retenus qui donnent des résultats de RMSD inférieure à 2 Å°. Tous les ligands peuvent inhibés la β -lactamases.

D'après les valeurs de l'nergie d'interaction (S), on constate que le 3-feruoyl-4-caffeoyl-quinic acide et le 4,5-Di-O-caffeoylquinic acid sont les inhibiteurs les plus puissants.

Tableau 3. Le résultat du docking moléculaire des huit composés d'Artemisia campestris L.

Structure	Nom	Code	S (Kcal/mol)	RSMD (Å°)	Site d'interaction	HAC	HDN
	Phloretin 3',5'-Di-C-glucoside	42607692	-6.43	1.41	TRP 59 pi-H	0	0
	stigmastérol	5280794	-6.45	1.62	SER174	0	1

	sitostérol	12241179 1	-6.45	1.39	SER 174	0	1 ^è
	3,4-Dicaffeoylquinic acid	5281780	-6.55	1.84	SER174 SER 174 LEU 178	1	2
	Ethyl 3,4dicaffeoylquinat e	10554540	-6.08	1.40	SER 174	0	2

	4,5-Di-O-caffeoylquinic acid (Isochlorogenic acid C)	6474309	-6.89	1.80	SER172 SER172 HIS210	0	3
	Acide clavulanique	5280980	-6.55	1.84	ASP 177 SER174	0	2
	3-feruoyl-4-caffeoyl-quinic acide	91617958	-7.65	1.6117	LYS 171 SER172	3	0

1/Cas de clavulanique acide

L'analyse visuelle ; montre que l'acide clavulanique a un score -6.45 Kcal/mol; en établissant deux liaisons entre le noyau de ligand et le Ser 174 du site actif avec une distance de 3.09 Å et la deuxième liaison entre OH et l'ASP 177 avec une distance de 2.90 Å . L'acide clavulanique est également stabilisé par l'interaction hydrophobe avec les résidus Asp 177 ; Ser 174 ; Lys 171 ; His 210 ; Gly 211 et Ser 172.

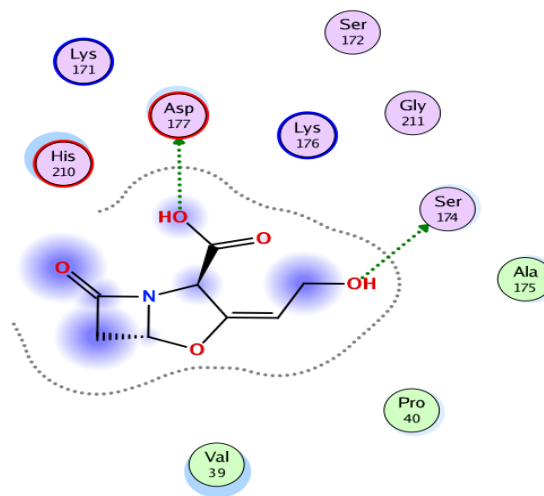


Figure 11 : Interactions entre l'acide clavulanique et les résidus du site actif de 4nq4.

2-cas de 3-feruoyl-4-caffeoyl-quinic acide :

Avec le score -7.6523 kcal/mol, l'analyse visuelle montre que deux liaisons sont formées entre le H accepteur et le Lys 171 avec une distance de 2.81 et 2.99 Å et une liaison entre le H accepteur et le Ser 172 avec une distance de 2.90 Å du site actif est également stabilisé par l'interaction hydrophobe avec les résidus Ser 174 ; Ser 172 ; Lys 171 ; Asp 177 ; Asn 180 ; Asp 183 ; His 194 ; His 88 de l'enzyme.

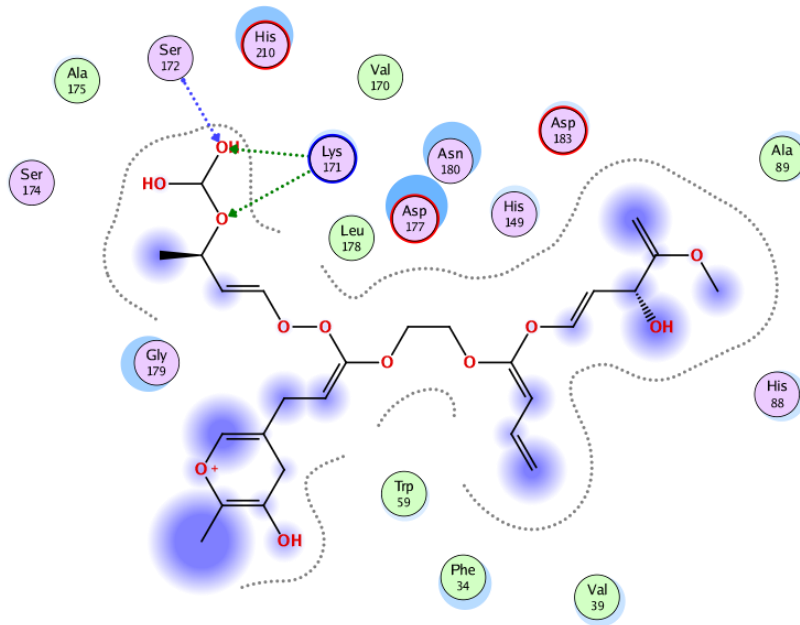


Figure 12 : Interactions entre 13-feruoyl-4-caffeoyl-quinic acide et les résidus de site actif de 4nq4.

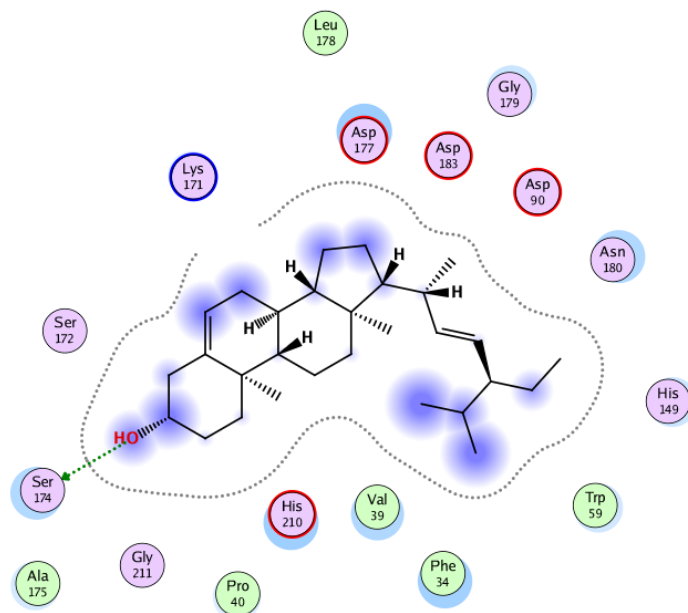


Figure 13 : Interactions entre Stigmasterol et les résidus de site actif de 4nq4

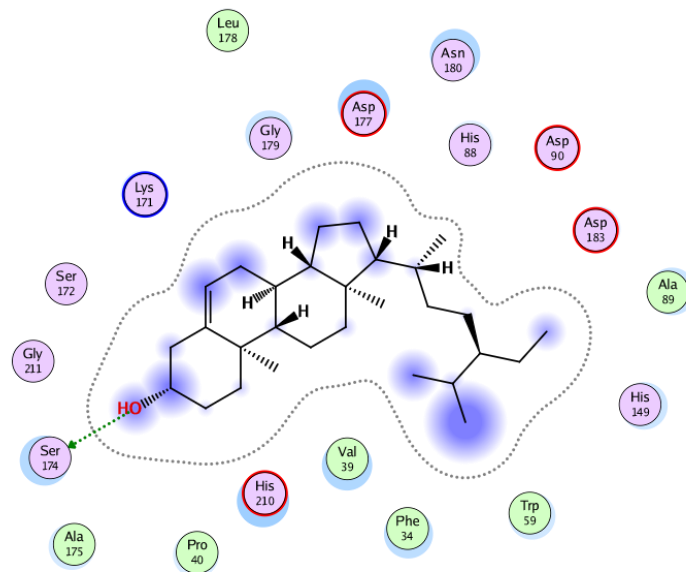


Figure 14 : Interactions entre sitostérol et les résidus de site actif de 4nq4

D'après les résultats regroupés dans le Tableau 1, on constate que l'acide aminé Ser174 participe dans l'interaction entre la plus part des phytoligands testés ainsi que l'acide clavulanique. Selon KARSISIOTIS et al. (2013) et acide aminé joue un role important dans le mécanisme d'hydrolyse du noyau β -lactames.

Les résultats des cinq règles de Lipinski

D'après les résultats des cinq règles de Lipinski (Tableau 1), on peut dire que le stigmasterol et le sitostérol qui présentent une bonne affinité de fixation par rapport au site actif de la β -lactmase répondent parfaitement aux conditions des règle de Lipinski et par conséquent ont une biodisponibilité orale élevée et peuvent être utilisées donc comme de nouveaux inhibiteurs de la β -lactamase dans le traitement des infection bactériennes dues aux bactéries productrices de cette enzyme (Nawaz et al., 2020).

Tableau 4. Les résultats de l'analyse des cinq règle de Lipinski des phytoligands testés sur la β -lactamase.

CID	Aacc <10	Adon <5	Lip violation<2	LogP (o/w)<5	Poids moléculaire <500 Da
42607692	15	27	3	-2.51	598.55
5280794	1	2	1	7.14	412.70
122411791	1	2	1	8.07	516.45
5281780	10	18	3	2.48	544.50
10554540	9	15	3	3.08	516.45
6474309	10	18	3	2.48	530.48
91617958	10	17	3	2.74	530.48
5280980	5	8	0	-1.19	199.16

Conclusion

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps comme remèdes des maladies humaines puisqu'elles contiennent des composés chimiques de valeur thérapeutique. La connaissance et l'usage des plantes constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent.

Artemisia campestris L. l'une des plantes aromatiques utilisée en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses pathologies grâce à son contenu en métabolites secondaires bioactifs.

Le docking moléculaire de l'interaction des principaux constituants d'*Artemisia campestris* avec la β -lactamase, montre que le 3-feruoyl-4-caffeoyl-quinic acide, le 4,5-Di-O-caffeoyl quinic acide et le stigmastérol sont des inhibiteurs puissants de cette enzyme. De ce fait, *Artemisia campestris* peut être utilisée pour le traitement des infections bactériennes causées principalement par les souches productrices de β -lactamase.

Pour compléter ce travail, il est envisageable d'étudier in vitro l'effet inhibiteur des ligands sélectionné sur la β -lactamase et d'évaluer d'autres activités biologiques de cette plante aromatique.

Les références

Les références :

[1].Bousoalim N. , Kebabi M., Benmila A., Krache I., Arrar L. and Baghiani A. Effet de quelques flavonoïdes sur une pénicillinase de *Bacillus cereus* .Laboratory of Applied Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Ferhat Abbas of Setif 1, 19000, Algeria.

[2]. K. M. Kumar, Anand Anbarasu and Sudha Ramaiah. 2014. Molecular docking and molecular dynamics studied son b-lactamases and penicillin binding proteins. *Mol Biosyst*, 10:891-900.

[3].Toudji, A. G., Djeri, B., Karou, S. D., Tigossou, S., Ameyapoh, Y., & De Souza, C. (2017). Prévalence des souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi isolées au Togo et de leur sensibilité aux antibiotiques. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(3), 1165-1177.

[4]. (Bertella, 2019; AlJahid et al, 2017; Naili et al., 2010). Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii* .université Oran. Doctorat

[5].Dr. D. Y. Patil Vidyapeeth Beta lactamase Inhibitors from Indigenous Herbs and Spices. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 5(2):275-285 March 2014

[6].Philippon, A., & Paul, G. (1986). Bêta-lactamases: identification, rôle, aspects épidémiologiques. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 16(11), 644-654.

[7].Legeay, C., Hilliquin, D., Brunet, M., &Zahar, J. R. (2016). Les bêta-lactamases à spectre élargi, quel est le risque en oncopédiatrie? *Revue d'Oncologie Hématologie Pédiatrique*, 4(1), 25-34.

[8].Mouloud Mammeri Belloua Hôpital, Nadir Mohammed 2019 β -LACTAMASES Enzymes Structure, Classification, Détection master clinical microbiologist College of médecine

[9].Bush, K. (2013). The ABCD's of β -lactamase nomenclature. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 19(4), 549-559.

[10]. Cavallo, J. D., &Merens, A. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* et bêta-lactamines à l'heure de l'Europe. *Pathologie Biologie*, 56(7-8)

[11].Bouquet, J. (2016). *Synthèse d'azépanes inhibiteurs sélectifs de NagZ, une β -N-acétyl-D-glucosaminidase impliquée dans l'antibiorésistance du pathogène Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral dissertation, université de Poitiers).

[12].Mira baud, M. I. (2003). *Entérobactéries à bêta-lactamases à spectre élargi en pédiatrie en 1996* (Doctoral dissertation, University of Geneva).

[13].Soroka, D. (2016). *Rôle du motif SDN dans l'inhibition et l'activité des β -lactamases des mycobactéries* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).

- [14]. BENHAMOUD.A. BOUFRAH Le 2017 Conception in silico de nouveaux inhibiteurs De la Bêta-Lactamase de classe C. Université Frères Mentouri Constantine 1 Diplôme de Master
- [15].BENHAMOUD Amina Le : BOUFRAH Mohsane Le :/2017Conception in silico de nouveaux inhibiteurs De la Bêta-Lactamase de classe C par Docking Moléculaire Université Frères Mentouri Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie - Diplôme de Master
- [16].Soroka, D. (2016). *Rôle du motif SDN dans l'inhibition et l'activité des β -lactamases des mycobactéries* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- [17]. BENHAMOUD .A et BOUFRAH.M. (2017).
- [18].Ruppé, E. (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi: l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*, 12(1), 3-16.
- [19]. - Maire, P., Corvaisier, S., d'Yvoire, M. B., Claude, D., Barbaut, X., Carret, G., ... &Jelliffe, R. W. (2000). Pharmacocinétique/pharmacodynamie clinique des antibiotiques. In *ESAIM: Proceedings* (Vol. 9, pp. 1-29). EDP Sciences.
- [20].Bibbal, D. (2008). *Impact des bêta-lactamines sur l'émergence d'entérobactéries résistantes dans la flore digestive chez le porc: caractérisation et stratégie de prévention* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- [21].Moatti, N. (1987). Les nouvelles bêta-lactamines. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 17, 43-48.
- [22]. Soroka, D. (2016). *Rôle du motif SDN dans l'inhibition et l'activité des β -lactamases des mycobactéries* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- [23].Laib, N., &Megag, B. (2020). *Etude des propriétés biologiques des métabolites secondaires de quelques espèces végétales de la famille Astéracées* (Doctoral dissertation, University of Jijel).
- [24].Adel, S., &Boudjouref, M. (2020). Contribution à l'étude des activités biologiques de la plante *Artemisia campestris*
- [25].Boudjouref, M. (2018). *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L* (Doctoral dissertation).
- [26].GhanaiRafika, HoumaniZahia&HoumaniNesma (2018) Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Artemisiacampestris* ssp. *glutinosa* (J. Gay) Batt. and *A. judaïca* ssp. *sahariensis* (Chev.) Species Endemic to the Algerian Sahara, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21:3, 779-788
- [27].Boudjouref, M. (2018). *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L* (Doctoral dissertation).

- [28].BERROUANE, N. E. H. (2014). *Etude de l'effet protecteur de l'extrait d'Artemisia campestris sur le stress oxydant induit chez le rat par le tétrachlorure de carbone (CCl4)* (Doctoral dissertation).
- [29].Ghouar, M., Sabeg, K., &Boudjouref, M. (2018). Etude des activités biologiques de la plante.
- [30].AMINA, S. T., Merghem, R., &Dehimat, L. (2009). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 25-29.
- [31].TOUILSouhila et BENREBIHA Fatima 1 Zohra -COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES D'ARTEMISIA HERBAALBAASSO ET ARTEMISIA CAMPESTRIS L DE LA REGION ARIDE DE DJELF-
Laboratoire de Biotechnologie des Production Végétales, Université Blida 1 – BP 270, Route de Soumaa, Blida, Algérie
- [32].Anis BERTELLA-2019- Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'Artemisia herba-alba, Artemisia campestris et Rosmarinus tournefortii uinv Oran LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE APPLIQUEE doctorante
- [33].BERROUANE, N. E. H. (2014). *Etude de l'effet protecteur de l'extrait d'Artemisia campestris sur le stress oxydant induit chez le rat par le tétrachlorure de carbone (CCl4)* (Doctoral dissertation).
- [34].Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., &Ziyyat, A. (2002). Ethno pharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int. J. Diabetes Metab*, 10, 33-50.
- [33].-Snafi, A. E. (2015). Bioactive components and pharmacological effects of *Canna indica*-An Overview. *International Journal of Pharmacology and toxicology*, 5(2), 71-75.
- [35].Chikhi, A. (2007). *Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase– Substances antibactériennes a l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat d'université: Biochimie appliquée. Constantine: Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2007. 90p).
- [36].LARIBI, A., & RABAHI, K. (2017). *Etude in-silico de l'inhibition de la Xanthine oxydase* (Doctoral dissertation, Université de Bouira).
- [37].Martz, F. (2014). *Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques* (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).

Annexe

tableau : Structure chimiques de l'acide clavulanique et des composés majoritaires d'Artemisia campestris L.

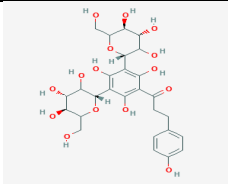
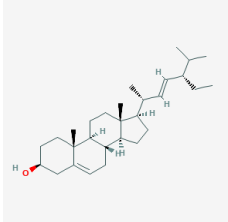
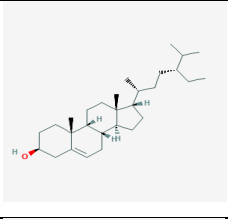
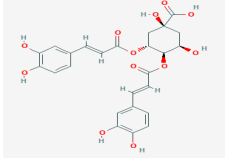
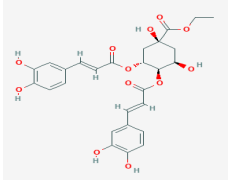
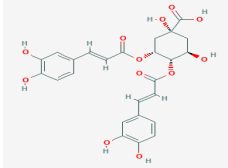
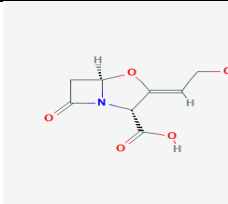
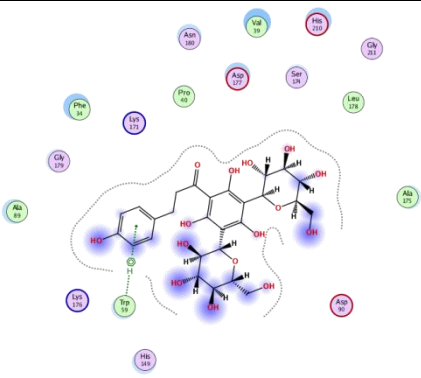
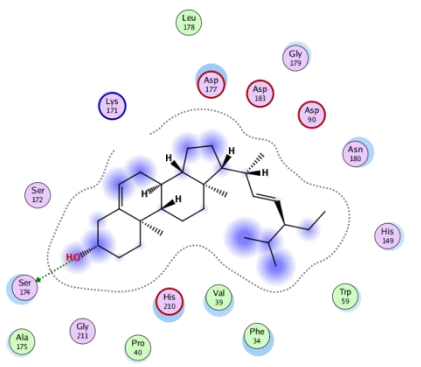
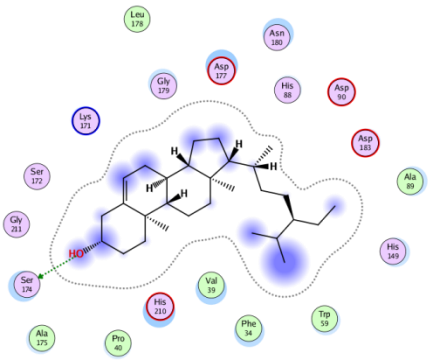
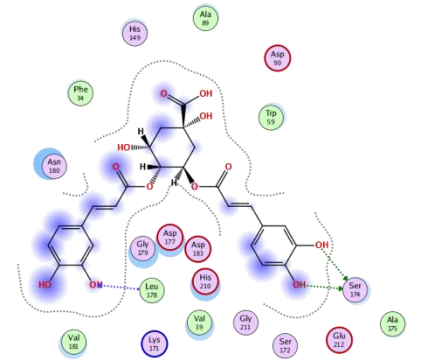
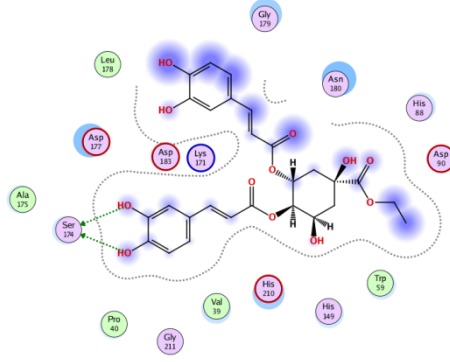
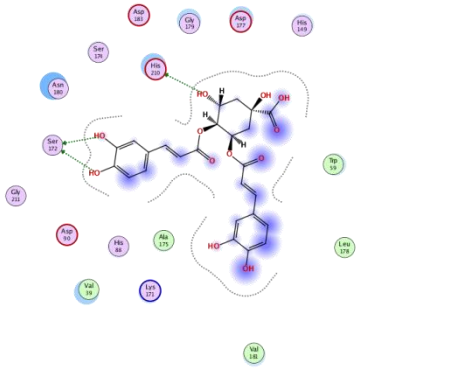
Nom des phytoligands	Code CID	Structure
Phloretine 3',5'-Di-C-glucoside	42607692	
Stigmasterol	5280794	
Sitostérol	122411791	
Acide 3,4-dicaffeoylquinique	5281780	
Ethyl 3,4dicaffeoylquiniate	10554540	
Acide 4,5-Di-O-caffeoylquinique	6474309	
Acide clavulanique	5280980	

Tableau 3. Le résultat du docking moléculaire des huit composés d'Artemisia campestris L.

Structure	Nom	Code	S (Kcal/mol)	RSMD (Å°)	Site d'interaction	HAC	HDN
	Phloretin 3',5'-Di-C-glucoside	42607692	-6.43	1.41	TRP 59 pi-H	0	0
	stigmasterol	5280794	-6.45	1.62	SER174	0	1

	sitostérol	12241179 1	-6.45	1.39	SER 174	0	1è
	3,4-Dicaffeoylquinic acid	5281780	-6.55	1.84	SER174 SER 174 LEU 178	1	2

	Ethyl 3,4dicaffeoylquinat e	10554540	-6.08	1.40	SER 174	0	2
	4,5-Di-O- caffeoylquinic acid (Isochlorogenic acid C)	6474309	-6.89	1.80	SER172 SER172 HIS210	0	3

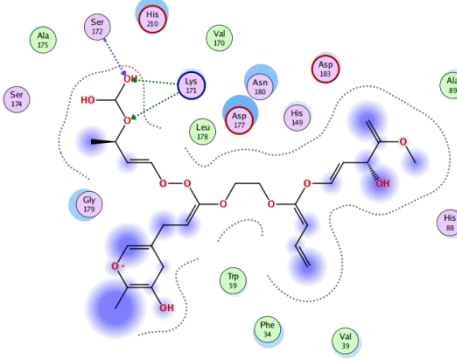
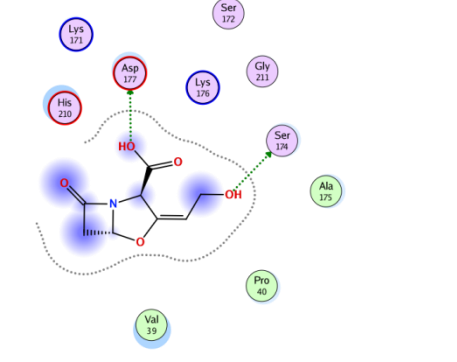
	3-feruoyl-4-caffeoyl-quinic acide	91617958	-7.65	1.6117	LYS 171 SER172	3	0
	Acide clavulanique	5280980	-6.55	1.84	ASP 177 SER174	0	2

Tableau 4. Les résultats de l'anayse des cinq règle de Lipinski des phytoligands testés sur la β -lactamase

CID	Aacc <10	Adon <5	Lip violation<2	LogP (o/w)<5	Poids moléculaire <500 Da
42607692	15	27	3	-2.51	598.55
5280794	1	2	1	7.14	412.70
122411791	1	2	1	8.07	516.45
5281780	10	18	3	2.48	544.50
10554540	9	15	3	3.08	516.45
6474309	10	18	3	2.48	530.48
91617958	10	17	3	2.74	530.48
5280980	5	8	0	-1.19	199.16

Résumé :

Artemisia campestris est une plante aromatique médicinale qui en fait un sujet important de la recherche scientifique. Cette plante possède diverses activités biologiques (anti-tumorales, antivirales, antioxydantes, ...etc.), donc la valorisation de ces principes actifs revêt une importance économique. La plus part des infections bactériennes sont causés par des germes producteur de β -lactamase responsable de leur résistance aux antibiotiques de la famille des β -lactames. L'objectif principal de ce travail est de réaliser un criblage virtuel de l'interaction de 12 composés chimiques d'*Artemisia campestris* sur la β -lactamase en utilisant le programme MOE. Parmi les ligands testé, seulement le stigmastérol et sitostérol sont des inhibiteurs non toxiques et leur énergies d'interaction sont -6.45 kCal/mol et -6.45 Kcal/mol, respectivement. Ces deux composés peuvent être utilisés dans le domaine pharmaceutique pour le développement de nouveaux antibiotiques contre les bactéries multiresistantes.

Mots clés : Docking moléculaire, β -lactamase, inhibition, *Artemisia campestris*.

Summary:

Artemisia campestris is a medicinal aromatic plant which makes it an important subject of scientific research. This plant has various biological activities (anti-tumor, antiviral, antioxidant, etc.), therefore the enhancement of these active ingredients is of economic importance. Most bacterial infections are caused by germs that produce β -lactamase responsible for their resistance to antibiotics of the β -lactam family. The main objective of this work is to perform a virtual screening of the interaction of 12 chemical compounds of *Artemisia campestris* on β -lactamase using the MOE program. Of the ligands tested, only stigmasterol and sitosterol are non-toxic inhibitors and their interaction energies are -6.45 kCal / mol and -6.45 Kcal / mol, respectively. These two compounds can be used in the pharmaceutical field for the development of new antibiotics against multiresistant bacteria.

Keywords: Molecular docking, β -lactamase, inhibition, *Artemisia campestris*.

ملخص:

Artemisia campestris هو نبات طبي عطري يجعله موضوعاً مهماً للبحث العلمي. هذا النبات له أنشطة بيولوجية مختلفة (مضاد للأورام ، مضاد للفيروسات ، مضاد للأوكسدة ، إلخ) ، وبالتالي فإن تعزيز هذه المكونات النشطة له أهمية اقتصادية. تحدث معظم الالتهابات البكتيرية بسبب الجراثيم التي تنتج β -lactamase المسؤولة عن مقاومتها للمضادات الحيوية من عائلة β -lactam. الهدف الرئيسي من هذا العمل هو إجراء فحص افتراضي لتفاعل 12 مركباً كيميائياً من *Artemisia campestris* على β -lactamase باستخدام برنامج MOE. من بين الترابطات التي تم اختبارها ، فقط ستيغماستيرون وسيتوستيرون هما مثبطات غير سامة وطاقت تفاعلها هي -6.45 كيلو كالوري / مول و -6.45 كيلو كالوري / مول ، على التوالي. يمكن استخدام هذين المركبين في المجال الصيدلاني لتطوير مضادات حيوية جديدة ضد البكتيريا متعددة المقاومة.

الكلمات المفتاحية: الالتحام الجزيئي ، β -lactamase ، تثبيط ، *Artemisia campestris*.