

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI Laghouat  
Faculté des Sciences  
Département de Biologie

جامعة عمار ثلجي - الأغواط -  
كلية العلوم  
قسم البيولوجيا



## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme Master en biochimie appliquée

## Thème

*Analyse phytochimique et évaluation de l'activité  
antibactérienne in vitro et in silico de l'huile essentielle de  
l'Artemisia herba-alba L.*

Soutenue le : *Jeudi 15-06-2023*

Présentée par : *Largot Hadj Aissa  
Benchohra Marwa  
Benbrika Yasmine*

Devant le jury :

*D<sup>r</sup> LABOUKH Mourad  
P<sup>r</sup> GOUZI Hichem  
D<sup>r</sup> KADI Imededdine*

*Président  
Examineur  
Promoteur*

*UAT-Laghouat  
UAT-Laghouat  
URPM-Laghouat*

*Année universitaire 2022-2023*

# Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :  
A ma petite famille, commençant par mes chers parents MOKHTAR  
et MALIKA que je ne  
remercierais jamais assez pour leur amour, soutien et encouragements  
qu'ils m'ont donnés  
pendant tous les moments de ma vie, puis au plus chers et plus  
proches personnes à mon  
cœurs mes deux adorables sœurs HOUDA et LINA, et mon super frère  
MEHDI  
A Moi-même de ne pas avoir échoué, pour être patient malgré les  
circonstances et les obstacles .  
A mes collègues et amies : marwa ; hadj aïssa pour leur confiance et  
leur complicité durant la réalisation de ce travail.

yasmine

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À mes parents Nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer mes profondes affections et mes immenses gratitudees pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mes éducations et mes études. Puisse dieu vous prêter bonne santé et longue vie afin que je puisse ; à mon tour; vous combler et spécialement À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse: mon adorable mère Fatima. À ma grand-mère, Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

À mes chers amis IMANE, SARA et AKRAM qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur. Sans oublier mon binôme Yasmine qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

À mes formateurs Monsieur Kadi Imad Eddine; Monsieur Benaceur Farouk; Monsieur GOUZI Hicham; et à tous mes professeurs pour leurs contributions à nous épanouir.

À tous mes amis Veuillez trouver ici l'expression de mes profonds sentiments de respect et reconnaissance pour le soutien que vous n'avez jamais cessé de m'a porté à toute personne qui a un sentiment d'amour et de respect envers moi

MARWA

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

spécialement :

A mes chers Parents

A mes chères amis

A la famille LARGOT

A Toutes ces personnes et à celles que j'ai oublié j'adresse mes sentiments les plus chaleureux.

hadj aïssa

# *Remerciement*

Ce travail a été réalisé au laboratoire de l'équipe  
« Pharmacologie cellulaire et moléculaire EPMC » au niveau de  
l'unité de recherche sur les plantes médicinales URPM,  
Laghouat

Dirigé par le Docteur KADI Imededdine. Je tiens à lui exprimer  
toute nos reconnaissance et nos s'sincères remerciements pour  
son accueil bienveillant, pour sa rigueur scientifique et ses  
encouragements ainsi pour la confiance qu'il nous constamment  
témoignée.

On remercie infiniment Docteur BENACEUR Farouk pour son  
précieuse collaboration dans ce travail

Nos remerciements sincères et respectueux vont également à  
monsieur LABOUKH Mourad, GOUZI Hichem  
pour avoir accepté de consacrer du temps, examiner et juger  
notre travail comme rapporteur, et pour siéger dans  
ce jury en y apportant sa compétence et son expertise.

On Remercie aussi tous les doctorants pour leurs aide sur le plan  
pratique au laboratoire et le personnel du  
laboratoire et pour leur aide, leurs  
encouragements et l'ambiance amicale qu'ils ont su créer.

## *La liste des figures*

<b>Fig. I 1 :</b> <i>L'artemisia herba-alba</i> en image	03
<b>Fig. II 1 :</b> les principales interactions ligand-récepteur observées dans la base PDB	14
<b>Fig. II 2 :</b> la liaison d'hydrogène entre les molécules d'eau	15
<b>Fig. II 3 :</b> les liaisons électrostatiques dans un milieu réactionnel	15
<b>Fig. III 1 :</b> Représentation géographiques de la région de collection de la plante d'inertret	19
<b>Fig. III 2 :</b> Préparation de la matière première et extraction des huiles essentielles	20
<b>Fig. III 3 :</b> un organigramme général des principales étapes du travail	28
<b>Fig. IV 1 :</b> l'effet de l'huile essentielle d' <i>artemisia herba-alba</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> . Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques IMP(Imipenème) et FA (Acide fusidique).	31
<b>Fig. IV 2 :</b> l'effet de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur la croissance de <i>E. coli</i> . Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques AMC (Amoxicilline-acide clavulanique) et TIC (Ticarcilline).	31
<b>Fig. IV 3 :</b> l'effet de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur la croissance de <i>Bacillus cereus</i> . Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques CTX(Céfotaxime) et RIF(Rifampicine).	32
<b>Fig. IV 4 :</b> l'effet de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur la croissance de <i>Listeria monocytogenes</i> . Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques E (Erythromycine) et TE(Tétracycline).	32
<b>Fig. IV 5 :</b> l'effet de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques FF(Fosfomycine) et LEV(Levofloxacine).	33
<b>Fig. IV 6 :</b> l'effet de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur la croissance de <i>Salmonella typhi</i> . Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques CAZ (Ceftazidime) et FOX (Cefoxitine).	33
<b>Fig. IV 7 :</b> l'affinité des molécules vis avis les cibles thérapeutiques de <i>S. aureus</i>	35
<b>Fig. IV 8 :</b> Classification de l'affinité des molécules pour chaque cible de <i>S. aureus</i>	35
<b>Fig. IV 9 :</b> L'interaction : 6E4E – Aromadendrene en images 2D et 3G	36
<b>Fig. IV 10 :</b> L'interaction : 6E4E – Alloaromadendrene en images 2D et 3G	36
<b>Fig. IV 11 :</b> L'interaction : 6E4E – Spathuléol en images 2D et 3G	37
<b>Fig. IV 12 :</b> L'interaction : 6E4E – Viridiflorene en images 2D et 3G	37
<b>Fig. IV 13 :</b> L'interaction : 6E4E – Viridiflorol en images 2D et 3G	37
<b>Fig. IV 14 :</b> L'interaction : 6E4E – Cis-Caryophyllène en images 2D et 3G	38
<b>Fig. IV 15 :</b> L'interaction : 6E4E – Germacrene D en images 2D et 3G	38
<b>Fig. IV 16 :</b> L'interaction : 6E4E – $\gamma$ -Myurolène en images 2D et 3G	38
<b>Fig. IV 17 :</b> L'interaction : 6E4E – $\gamma$ -Myurolène en images 2D et 3G	39
<b>Fig. IV 18 :</b> L'interaction : 6E4E – Davana éther en images 2D et 3D	39
<b>Fig. IV 19 :</b> L'interaction : 6E4E – Artemisia alcool en images 2D et 3G	39
<b>Fig. IV 20 :</b> L'interaction : 6E4E – Davanone en images 2D et 3G	40
<b>Fig. IV 21 :</b> L'interaction : 4URM – Viridiflorene en images 2D et 3D	41
<b>Fig. IV 22 :</b> L'interaction : 4URM – Germacrene D en images 2D et 3D	41
<b>Fig. IV 23 :</b> L'interaction : 2MLM – $\gamma$ -Muurolène en images 2D et 3D	42
<b>Fig. IV 24 :</b> L'interaction : 2MLM – Alloaromadendrene en images 2D et 3D	42
<b>Fig. IV 25 :</b> L'interaction : 2MLM – Aromadendrene en images 2D et 3D	43
<b>Fig. IV 26 :</b> l'affinité des molécules vis avis les cibles thérapeutiques de <i>E. coli</i>	45
<b>Fig. IV 26 :</b> Classification de l'affinité des molécules pour chaque cible de <i>E. coli</i>	45
<b>Fig. IV 27 :</b> L'interaction : 3ZMI – cis-Caryophyllène en images 2D et 3D	46

<b>Fig. IV 28</b> : L'interaction : 3ZMI – cis-Caryophyllène en images 2D et 3D	46
<b>Fig. IV 29</b> : L'interaction : 3ZMI – Aromadendrène en images 2D et 3D	47
<b>Fig. IV 30</b> : L'interaction : 3ZMI – Alloaromadendrène en images 2D et 3D	47
<b>Fig. IV 31</b> : L'interaction : 3ZMI – Spathuléol en images 2D et 3D	47
<b>Fig. IV 32</b> : L'interaction : 3ZMI – Spathuléol en images 2D et 3D	48
<b>Fig. IV 33</b> : L'interaction : 3ZMI – Davana éther en images 2D et 3D	48
<b>Fig. IV 34</b> : L'interaction : 3ZMI – $\delta$ -Cadinene en images 2D et 3D	48
<b>Fig. IV 35</b> : L'interaction : 3ZMI – $\gamma$ -Muuroène en images 2D et 3D	49
<b>Fig. IV 36</b> : L'interaction : 3ZMI – Germacrene D en images 2D et 3D	49
<b>Fig. IV 37</b> : L'interaction : 3ZMI – Davana furane en images 2D et 3D	49
<b>Fig. IV 38</b> : L'interaction : 3ZMI – 1,8-Cinéole en images 2D et 3D	50
<b>Fig. IV 39</b> : L'interaction : 3ZMI – Terpinen-4-ol en images 2D et 3D	50
<b>Fig. IV 40</b> : L'interaction : 3ZMI – cis-Carveol en images 2D et 3D	50
<b>Fig. IV 41</b> : L'interaction : 3ZMI – cis-Chrysanthenyl acétate en images 2D et 3D	51
<b>Fig. IV 42</b> : L'interaction : 3ZMI – trans-Pinocamphone en images 2D et 3D	51
<b>Fig. IV 43</b> : L'interaction : 3ZMI – Davanone en images 2D et 3D	51
<b>Fig. IV 44</b> : L'interaction : 3ZMI – $\alpha$ -Phellandrène en images 2D et 3D	52
<b>Fig. IV 45</b> : L'interaction : 3ZMI – $\alpha$ -Thujone en images 2D et 3D	52
<b>Fig. IV 46</b> : L'interaction : 4PRX – Davanone en images 2D et 3D	53
<b>Fig. IV 47</b> : L'interaction : 4PRX – Davana éther en images 2D et 3D	53
<b>Fig. IV 48</b> : l'affinité des molécules vis avis les cibles thérapeutiques de <i>P. aeruginosa</i>	55
<b>Fig. IV 49</b> : Classification de l'affinité des molécules pour chaque cible de <i>P. aeruginosa</i>	55
<b>Fig. IV 50</b> : L'interaction : 1LRY – cis-Caryophyllène éther en images 2D et 3D	56
<b>Fig. IV 51</b> : L'interaction : 1LRY – Viridiflorene éther en images 2D et 3D	56
<b>Fig. IV 52</b> : L'interaction : 1LRY – Spathuléol en images 2D et 3D	57
<b>Fig. IV 53</b> : l'affinité des molécules vis avis les cibles thérapeutiques de <i>L. monocytogenes</i>	58
<b>Fig. IV 54</b> : Classification de l'affinité des molécules pour chaque cible de <i>L. monocytogenes</i>	58
<b>Fig. IV 55</b> : L'interaction : 5LRR – $\gamma$ -Muuroène en images 2D et 3D	59
<b>Fig. IV 56</b> : L'interaction : 5LRR – Aromadendrène en images 2D et 3D	59
<b>Fig. IV 57</b> : L'interaction : 5LRR – Alloaromadendrène en images 2D et 3D	60
<b>Fig. IV 58</b> : les propriétés ADMET des ligands sélectionnés	65

## *La liste des tableaux*

<b>Tab. IV 1 :</b> Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	25
<b>Tab. IV 2 :</b> les propriétés physicochimiques des ligands sélectionnés	62
<b>Tab. IV 3 :</b> les propriétés médicales des ligands sélectionnés	62
<b>Tab. IV 4 :</b> L'absorption des ligands sélectionnés	62
<b>Tab. IV 5 :</b> la distribution dans l'organisme des ligands sélectionnés	63
<b>Tab. IV 6 :</b> L'inhibition des sites métaboliques par les ligands sélectionnés	63
<b>Tab. IV 7 :</b> L'éliminations des ligands sélectionnés	63
<b>Tab. IV 8 :</b> la toxicité des ligands sélectionnés	64

**Résumé**

Les maladies infectieuses s'installent progressivement dans la communauté en engendrant des impacts socioéconomiques lourds, notamment avec l'utilisation aléatoire des antibiotiques par automédication, ce qui provoque l'antibiorésistance. Parallèlement, les produits naturels ont montré des profils antibactériens intéressants. Dans ce contexte, cette étude a été proposée afin d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante *Artemisia herba-alba*. L'huile a été récupérée par le système d'hydro-distillation suivi par une caractérisation moléculaire par GC-FID. Les molécules obtenues ont été mises en contact avec les cibles thérapeutiques de chaque bactérie par docking moléculaire afin de déterminer les plus actives, en détaillant ainsi le mécanisme antibactérien de notre échantillon. Les molécules actives ont été analysées dans la plateforme ADMET-LAB afin de déterminer leurs propriétés pharmacocinétiques. Les résultats obtenus ont montré un rendement de 1.06%. La GC-FID a permis d'identifier 42 molécules à pourcentage variés, les composés majoritaires sont: le Davanone (45.98%), 1,8 Cinéole (7.49%),  $\beta$ -Pinène (7.07%),  $\beta$ -Myrcène (7.01%). L'huile a montré des propriétés antimicrobiennes importantes vis-à-vis des souches *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* et à moindre degré vis-à-vis *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *S. typhi*. L'analyse *in silico* ont montré une bonne affinité entre une large gamme des molécules de notre huile et les cibles thérapeutiques sélectionnées particulièrement avec Dihydrofolate reductase de *S. aureus*, la protéase Rhomboïde GlpG d'*E. coli* et la Peptide Deformylase de *P. aeruginosa*. Les profils toxique et pharmacocinétique des molécules les plus puissantes a révélé que ces molécules peuvent être des molécules thérapeutiques candidates au tant que agents antimicrobiens. Ces résultats renforcent la position des produits naturels dans la découverte des nouvelles molécules thérapeutiques.

**Mots clés :** *Artemisia herba-alba*, docking moléculaire, huile essentielle, Antimicrobiens

تنتشر الأمراض البكتيرية تدريجياً في المجتمع، وتحدث آثاراً اجتماعية واقتصادية مكلفة، ولا سيما مع الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية أثناء العلاج الذاتي، مما يؤدي لتوسيع نطاق مقاومة المضادات الحيوية. في الوقت نفسه، أظهرت المنتجات الطبيعية، وخاصة الزيوت الأساسية للنبات العطرية، تأثيرات مثيرة للاهتمام كمضادات للبكتيريا. في هذا السياق، تم اقتراح هذه الدراسة لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية لنبات متداول كثيرا *Artemisia herba-alba*. تم الحصول على الزيوت بواسطة نظام التقطير المائي متبوعاً بالتوصيف الجزيئي بواسطة GC-FID. وضعت الجزيئات المحصل عليها في حالة ارتباط بالبروتينات العلاجية لكل بكتيريا عن طريق الالتحام الجزيئي من أجل تحديد الجزيئات والبروتينات الأكثر نشاطاً، وبالتالي تحليل الآلية المضادة للبكتيريا كما تمت دراسة الخاصية الدوائية للجزيئات النشطة في منصة خاصة. أظهرت النتائج مردوداً معتبراً من الزيت العطري، كما تم تحديد 42 جزيئاً فعالاً مختلفة من حيث الكم. الى جانب ذلك أظهرت عينة الزيت هذه خصائص مضادة للميكروبات ضد سلالات *E. coli* و *S. aureus* و *B. cerus* و بدرجة أقل ضد *P. aeruginosa* و *L. monocytogenes* و *S. typhi*. بالإضافة لما سبق أظهر التحليل باستعمال تقنيات المعلوماتية الحيوية تفاعلاً جيداً بين مجموعة واسعة من جزيئات العينة والمدرسة والأهداف العلاجية المختارة لكل بكتيريا خاصةً مع Peptide Deformylase و *E. coli* من protease Rhomboide GlpG و *S. aureus* من Dihydrofolate reductase من *P. Aeruginosa*. الى جانب ذلك، أظهرت دراسة الخصائص السامة والحركية الدوائية للجزيئات الأكثر فاعلية أن هذه الجزيئات يمكن اعتبارها مرشحة كجزيئات علاجية مضادة للميكروبات. تعزز هذه النتائج مكانة المنتجات الطبيعية في اكتشاف جزيئات علاجية جديدة.

**الكلمات المفتاحية:** المنتجات الطبيعية، الزيوت الأساسية، مضادات البكتيريا، المعلوماتية الحيوية

## **Abstract**

Infectious diseases are gradually propagated in the community, generating heavy socio-economic impacts, in particular with the random use of antibiotics by self-medication, which promotes the spectrum of antibiotic resistance. At the same time, natural products, particularly essential oils, have shown interesting antibacterial profiles. In this context, this study was carried out to evaluate the antibacterial activity of essential oils of a popular Algerian plant *Artemisia herba-alba*. The essential oil was obtained by a hydro-distillation system followed by molecular characterization by GC-FID. The obtained molecules were studied in contact with the therapeutic targets of each bacterium by molecular docking, in order to determine the most active molecules and targets, which detailing the antibacterial mechanism of our sample. The active molecules were analyzed in a specific platform for their pharmacokinetic properties. The obtained results showed an interesting yield of essential oil. GC-FID identified 42 molecules with different quantitative profiles. This oil sample showed significant antimicrobial properties against *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* strains and to a lesser degree against *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, and *S. typhi*. The *in silico* analysis showed a potent affinity between a wide range of molecules of our sample and the selected therapeutic targets, particularly with Dihydrofolate reductase from *S. aureus*, Rhomboid protease GlpG from *E. coli*, and Peptide Deformylase from *P. aeruginosa*. The toxic and pharmacokinetic profiles of the most potent molecules revealed that these molecules can be considered candidate therapeutic molecules as antimicrobial agents. These results reinforce the position of natural products in the discovery of new therapeutic molecules.

**Key words:** molecular docking, essential oil, natural products, antimicrobial activity

# Sommaire

Dédicaces	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
المخلص	
Abstract	
Résumé	
Introduction.....	01

## *Synthèse bibliographique* *Chapitre01 : les huiles essentielles*

<b>1. La plante d'intérêt : <i>Artemisia herba-alba</i></b> .....	03
1.1.Présentation de la plante.....	03
1.2.Données botaniques et géographiques.....	03
1.3.Position systématique.....	04
1.4.Description phytochimique.....	04
1.5.Propriétés pharmacologiques .....	05
1.6.Propriétés toxiques .....	05
<b>2. Les huiles essentielles</b> .....	06
2.1.Introduction.....	06
2.2.Localisation et rôle physiologique.....	06
2.3.Description chimique.....	06
2.4.Extraction et récupération des huiles essentielles.....	07
2.4.1. Entraînement à la vapeur d'eau.....	07
2.4.2. L'hydro-distillation.....	07
2.4.3. Extraction à froid.....	08
2.4.4. Extraction par solvant organique.....	08
2.4.5. L'extraction assistée par Microondes et ultrasons.....	08
2.4.6. L'extraction par fluide supercritique.....	09
2.5.Méthodes de caractérisation.....	09
2.5.1. Chromatographe en phase gazeuse (CPG).....	09
2.5.2. Le couplage CPG-Spectrométrie de Masse (CPG-SM).....	09
2.6.La conservation des huiles essentielles.....	10
2.7.Intérêts des huiles essentielles.....	10
2.7.1. Dans le domaine thérapeutique.....	10
2.7.2. En cosmétologie.....	10
2.7.3. En agroalimentaire.....	11
2.7.4. En industrie .....	11
2.8.Les propriétés toxiques.....	11
2.9.Control de qualité des huiles essentielles .....	12

## *Chapitre 02 : Le docking moléculaire*

<b>1. Introduction</b> .....	13
<b>2. L'exécution du docking moléculaire</b> .....	13
<b>3. L'analyse de l'interaction Ligand-récepteur</b> .....	13
3.1. Les interactions favorables.....	14
3.1.1. La liaison d'hydrogène.....	14
3.1.2. Les interactions électrostatiques.....	15
3.1.3. Les interactions hydrophobes.....	15
3.1.4. Les interactions halogénées.....	16
3.2. Les étapes de docking moléculaire.....	16
3.2.1. L'étape 1 : Searching.....	16
3.2.2. L'étape 2 : Scoring.....	16
3.3. Intérêt du docking dans la conception des molécules thérapeutiques.....	16

## *PARTIE PRATIQUE*

### *Matériels et Méthodes*

<b>1. Produits et réactifs chimiques</b> .....	19
<b>2. Matériel végétal</b> .....	19
2.1. Géographie de la station d'étude.....	19
2.2. Collection de la plante.....	19
2.3. Identification botanique.....	20
2.4. Extraction des huiles essentielles .....	20
2.4.1. Rendement d'extraction.....	21
2.5. Conservation de l'huile obtenue.....	21
2.6. Analyse des propriétés organoleptiques.....	21
2.7. Propriétés physicochimiques.....	21
2.7.1. Caractérisation physique.....	21
a. La densité relative.....	21
b. L'indice de réfraction.....	21
2.7.2. Caractérisation chimique.....	21
a. L'indice acide.....	21
2.8. Analyse par GC-FID.....	22
<b>3. L'activité antimicrobienne</b> .....	22
1.1. Préparation du milieu de culture.....	22
1.2. Les souches bactériennes utilisées.....	23
1.3. Préparation de l'inoculum.....	23
1.3.1. Préparation d'une préculture.....	23
1.3.2. Préparation des suspensions bactériennes.....	23
1.4. Les tests de sensibilité.....	23
1.5. Evaluation des résultats.....	24
<b>4. Etudes statistiques</b> .....	24
<b>5. Docking moléculaire</b> .....	24
5.1. Matériel utilisé.....	24
5.2. Programmes et logiciels.....	24
5.3. Bases de données.....	25

5.4. Méthodes appliquées.....	25
5.4.1. Récupération des protéines d'intérêts.....	25
5.4.2. Récupération des molécules d'intérêt.....	25
5.4.3. Préparation des molécules à tester.....	26
a. Préparation des protéines cibles .....	26
b. Identification du « Grid-box » .....	26
5.4.4. Exécution du docking moléculaire.....	26
5.4.5. Validation des résultats de docking.....	26
5.4.6. Un organigramme récapitulatif du travail.....	27

## *Résultats et discussion*

<b>1. Extraction des huiles essentielles</b> .....	29
1.1. Rendement d'extraction.....	29
1.2. Analyse organoleptique.....	29
1.3. Caractérisation physique : la densité relative.....	29
1.4. Caractérisation physique : Indice de réfraction.....	29
1.5. Caractérisation chimique : Indice d'acide.....	29
<b>2. Analyses CPG-FID</b> .....	30
<b>3. L'activité antibactérienne</b> .....	31
3.1. L'activité inhibitrice de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
3.2. L'activité inhibitrice de <i>Escherichia coli</i> .....	31
3.3. L'activité inhibitrice de <i>Bacillus subtilus</i> .....	32
3.4. L'activité inhibitrice de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	32
3.5. L'activité inhibitrice de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	33
3.6. L'activité inhibitrice de <i>Salmonella typhi</i> .....	34
<b>4. Docking moléculaire</b> .....	35
4.1. L'interaction avec les cibles thérapeutique de <i>S. aureus</i> .....	36
4.1.1. Cible thérapeutique : Dihydrofolate reductase (ID :6E4E) .....	36
a. Analyse de l'interaction : 6E4E – Aromadendrène (33) .....	36
b. Analyse de l'interaction : 6E4E – Alloaromadendrène (34) .....	36
c. Analyse de l'interaction : 6E4E – Spathuléol (40) .....	37
d. Analyse de l'interaction : 6E4E – Viridiflorene (37) .....	37
e. Analyse de l'interaction : 6E4E – Viridiflorol (42) .....	37
f. Analyse de l'interaction : 6E4E – Cis-Caryophyllène (31) .....	38
g. Analyse de l'interaction : 6E4E – Germacrene D (36) .....	38
h. Analyse de l'interaction : 6E4E – $\gamma$ -Myurolène (35) .....	38
i. Analyse de l'interaction : 6E4E – $\delta$ -Cadinene (39) .....	39
j. Analyse de l'interaction : 6E4E – Davana éther (38) .....	39
k. Analyse de l'interaction : 6E4E – Artemisia alcool (14) .....	39
l. Analyse de l'interaction : 6E4E – Davanone (41) .....	40
4.1.2. Cible thérapeutique : DNA Gyrase B (ID :4URM) .....	40
a. Analyse de l'interaction : 4URM – Viridiflorene (37) .....	40
b. Analyse de l'interaction : 4URM – Germacrene D (36) .....	41
4.1.3. Cible thérapeutique : Sortase A (ID :2MLM) .....	41
a. Analyse de l'interaction : 2MLM – $\gamma$ -Muuroène (35) .....	41
b. Analyse de l'interaction : 2MLM – Alloaromadendrène (34) .....	42
c. Analyse de l'interaction : 2MLM – Aromadendrène (33) .....	42
4.2. L'interaction avec les cibles thérapeutique de <i>E. coli</i> .....	44

4.2.1. Cible thérapeutique : Rhomboid protease GlpG (ID :3ZMI) .....	45
a. Analyse de l'interaction : 3ZMI – cis-Caryophyllène (31) .....	45
b. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Viridiflorol (42) .....	45
c. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Aromadendrène (33) .....	46
d. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Alloaromadendrène (34) .....	46
e. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Spathuléol (40) .....	46
f. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Viridiflorene (37) .....	47
g. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Davana éther (38) .....	47
h. Analyse de l'interaction : 3ZMI – $\delta$ -Cadinene (39) .....	47
i. Analyse de l'interaction : 3ZMI – $\gamma$ -Muuroène (35) .....	48
j. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Germacrene D (36) .....	48
k. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Davana furane (32) .....	48
d. Analyse de l'interaction : 3ZMI – 1,8-Cinéole (11) .....	49
e. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Terpinen-4-ol (25) .....	49
f. Analyse de l'interaction : 3ZMI – cis-Carveol (26) .....	49
g. Analyse de l'interaction : 3ZMI – cis-Chrysanthenyl acétate (27) .....	50
h. Analyse de l'interaction : 3ZMI – trans-Pinocamphone (23).....	50
i. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Davanone (41) .....	50
j. Analyse de l'interaction : 3ZMI – $\alpha$ -Phellandrène (09) .....	51
k. Analyse de l'interaction : 3ZMI – $\alpha$ -Thujone (17) .....	51
4.2.2. Cible thérapeutique : GyrB (ID :4PRX) .....	52
a. Analyse de l'interaction :4PRX – Davanone (41) .....	52
b. Analyse de l'interaction : 4PRX – Davana éther (38) .....	52
4.3.L'interaction avec les cibles thérapeutiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	54
4.3.1. Cible thérapeutique : Peptide Deformylase (ID :1LRY) .....	55
a. Analyse de l'interaction :1LRY – cis-Caryophyllène (31) .....	55
b. Analyse de l'interaction :1LRY – Viridiflorene (37) .....	55
c. Analyse de l'interaction :1LRY – Spathuléol (40) .....	56
4.4.L'interaction avec les cibles thérapeutiques de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	57
4.4.1. Cible thérapeutique : PrfA (ID :5LRR) .....	58
a. Analyse de l'interaction :5LRR – $\gamma$ -Muuroène (35) .....	58
b. Analyse de l'interaction :5LRR – Aromadendrène (33) .....	58
c. Analyse de l'interaction :5LRR – Alloaromadendrène (34) .....	59
5. Les propriétés ADMET.....	61
5.1.Les propriétés physicochimiques.....	61
5.2.Chimie médicale.....	61
5.3.Absorption des ligands.....	61
5.4.Distribution des ligands.....	62
5.5.Métabolisme des ligands.....	62
5.6.Excrétion des ligands.....	62
5.7.Toxicité des ligands.....	63
<b>Conclusion</b> .....	67
<b>Références bibliographiques</b> .....	68

## *Annexes*

Annexe 1 : Composition des milieux de culture utilisés.....	01
Annexe 2 : la turbidité de l'inoculum avant l'ensemencement.....	01
Annexe 3 : Résultats détaillés de l'antibiogramme.....	01
Annexe 4 : l'affinité des molécules vis-à-vis les cibles thérapeutiques de <i>S. aureus</i> .....	02

Annexe 5 : les interactions moléculaires avec Dihydrofolate reductase (ID :6E4E) .....	03
Annexe 6 : les interactions moléculaires avec DNA Gyrase B (ID :4URM) .....	06
Annexe 7 : les interactions moléculaires avec Sortase A (ID :2MLM) .....	07
Annexe 8 : l'affinité des molécules vis-à-vis les cibles thérapeutiques de <i>E. coli</i> .....	08
Annexe 9 : les interactions moléculaires avec Rhomboid protease GlpG (ID :3ZMI) .....	09
Annexe 10 : les interactions moléculaires avec GyrB (ID : 4PRX) .....	14
Annexe 11 : l'affinité des molécules vis-à-vis les cibles thérapeutiques de <i>P. aeruginosa</i> .	16
Annexe 12 : les interactions moléculaires avec 1LRY.....	17

---

# Introduction

---

# *Introduction générale*

De nos jours, les maladies infectieuses, de différentes formes, viennent à s'installer dans la communauté algérienne en engendrant des impacts socioéconomiques lourds. Cette situation attire l'attention de la communauté scientifique afin d'évaluer la qualité de la santé humaine tout en améliorant les modalités de traitements disponibles et les pratiques médicales actuelles

Les antibiotiques synthétiques, à usage hospitalier et/ou officinal, ont inondé le marché local des médicaments afin de lutter contre les maladies infectieuses. L'usage de ces antibiotiques est malheureusement aléatoire, par automédication, aucun respect des indications thérapeutiques, les doses journalières ou bien la durée du traitement, ce qui aboutit à un échec thérapeutique d'une part et le développement de la résistance aux antibiotiques d'autres part. Parallèlement, ces molécules synthétiques peuvent être responsable a une large gamme des complications anatomo-pathologiques qui sont parfois insupportables particulièrement chez les patients diabétiques et hypertendus. (*Toure, D.,2015*)

Le monde des produits naturels, particulièrement d'origine végétale, fournit une source inépuisable des molécules a intérêts thérapeutiques. La flore végétale algérienne est très variée et regroupe des centaines des plantes a caractère médicinale et aromatique. Les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques sont des produits de choix dans la formulation des produits thérapeutiques à usage hospitalier ou clinique. Leurs sécurité, disponibilité, caractère naturel, stimulent les chercheurs à exploiter leurs effets thérapeutiques, sur une base scientifique, dans les différents domaines de la santé humaine et plus particulièrement en infectiologie. (*Boutefnouchet et al.,2020*)

Parallèlement, les outils de bio-informatique structurale deviennent indispensables dans le screening, l'évaluation et la formulation des nouvelles molécules a usage thérapeutique. Le docking moléculaire est actuellement largement utilisé pour évaluer géométriquement et énergétiquement, l'affinité des interactions entre les molécules à tester et les cibles thérapeutiques convenables. Il nous permet de sélectionner les meilleurs ligands thérapeutiques tout en analysant les modalités d'interaction et les types de liaison formées (*PEREZ PENA, H.,2023*).

C'est dans ce contexte qu'on a proposé ce travail qui permet la récupération de l'huile essentielle d'une plante très populaire en Algérie, *l'Artemisia herba-alba* et d'évaluer le

pouvoir antimicrobien de ces huiles sur les bactéries largement disséminées dans les maladies infectieuses. Cette étude est accompagnée par le docking moléculaire afin de comprendre le pouvoir antimicrobien, les modalités d'interaction et le mécanisme réactionnel des molécules actives. Le pouvoir antibactérien de nos huiles essentielles a été testé sur six souches bactériennes différentes, *Escherichia coli* (ATCC 8793), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111), *Bacillus cereus* (ATCC 25921), *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi*.

Pour ce faire, nous avons subdivisé ce manuscrit en trois parties. La première consiste en une synthèse bibliographique traitant les produits naturels et leurs propriétés pharmacologiques, ainsi que le docking et les interactions intermoléculaires. Dans la deuxième partie, nous avons évoqué l'aspect technique et méthodologique des différentes activités étudiées, *in vivo* et *in silico*. La troisième partie est consacrée au côté expérimental et pratique dans laquelle nous avons présenté les résultats obtenus avec une discussion générale. Le travail est clôturé par une conclusion et des perspectives.

---

# **Chapitre 01**

## **Les huiles essentielles**

---

## 1. La plante d'intérêt : *Artemisia herba-alba*

### 1.1.Présentation de la plante

L'armoise blanche connue sous le nom absinthe du désert, en arabe (*Shih*) est une plante aromatique spontanée appartenant à la famille des Astéracées (**Bezza *et al.*, 2010**). Elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne et mondiale Grace à ses différentes vertus thérapeutiques. Elle se caractérise par des huiles essentielles typiques, utilisées dans l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire et en cosmétologie (**Bachrouch *et al.*, 2015**).

### 1.2.Données botaniques et géographiques

*L'Artemisia herba-alba*, un remède très populaire en Algérie, est un sous arbrisseau buissonnant de 30 à 80 cm d'hauteur, d'aspect sec blanchâtre, avec des feuilles divisées en languettes fines blanches et ligneuses. Les fleurs y sont groupées en grappes à capitules très petits et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune ou rougeâtre (**Moufid *et al.*, 2012**). C'est une plante steppique poussant dans les terres arides et semi-arides des régions méditerranéennes d'Afrique du nord, en Asie accidentelle et en Europe du sud-est (**Benkhaira *et al.*, 2021**).



**Fig. I 1** : *L'artemisia herba-alba* en image

### 1.3. Position systématique

La plante est classée botaniquement comme suit : (Gacem et al., 2020)

**Le nom vulgaire** : Français : Armoise blanche ; Arabe : Chih

**Nom scientifique** : *Artemisia herba-alba*

**Règne** : *Plantae*

**Sous-règne** : *Tracheobonta*

**Super-division** : *Spermatophyta*

**Division** : *Magnoliophyta*

**Classe** : *Magnoliopsida*

**Sous-classe** : *Asteridae*

**Ordre** : *Asterales*

**Famille** : *Asteraceae*

**Subfamille** : *Astenoideae*

**Tribu** : *anthemideae*

**Sous-tribu** : *Artemisiinae*

**Genre** : *Artemisia*

**Sous-genre** : *Seriphidium*

**Espèce** : *Artemisia herba-alba*.

### 1.4. Description phytochimique

L'armoise blanche montre un contenu moléculaire très variée particulièrement pour les métabolites secondaires. Une large gamme des composés phénoliques a été détecté notamment des flavonoïdes, des flavones et flavonoles jusqu'à des flavonoïdes lourdes méthylés. En plus, les acides phénoliques comme l'acide chlorogénique et ses dérivés ont été également rapportés (Abou El Hamd et al., 2010).

A propos des huiles essentielles, plusieurs chémotypes ont été identifiés. Généralement, il est rapporté que ces huiles sont constituées de mono-terpènes, principalement, oxygénés telles que le 1.8 cinéole (Belhattab et al., 2014), le camphre (Mohsen et al., 2009), la chrysanthenone, l' $\alpha/\beta$  thujones (Mohamed et al., 2010) comme composés majoritaires.

### **1.5. Propriétés pharmacologiques**

Plusieurs études thérapeutiques ont rapporté les différentes propriétés pharmacologiques de l'armoise blanche. Par ses différentes formes d'utilisation, décoction ou infusion, elle montre des propriétés antidiabétiques, antimicrobienne, antispasmodiques, antihelminthiques et analgésiques ( **El Ouahdani et al., 2021**). Parallèlement, Elle peut être utilisée pour atténuer les troubles gastriques, la fièvre et la toux ( **Khelifi et al., 2013**). Des propriétés anti-inflammatoires, anti-cancérigènes et immuno-modulateur ont été rapportées ( **Messaoudene et al., 2011**). De plus, ses racines sont indiquées contre plusieurs problèmes nerveux comme les tics, les convulsions et les spasmes ( **Salih, 2017**).

### **1.6. Propriétés toxiques**

L'armoise blanche une plante populaire, très utilisée en médecine traditionnelle et généralement non toxique. Exceptionnellement, certains tests sur des animaux de laboratoires ont montré des effets néfastes sur le système reproducteur, avec une valeur DL<sub>50</sub> de 4,4 g/Kg. Une autre étude d'Aloui et ses coll. effectuée en 2010 montre une défaillance rénale aigüe après une consommation à long terme de cette plante. ( **Moufid et al., 2012**).

## 2. Les huiles essentielles

### 2.1.Introduction

La Pharmacopée Européenne considère une huile essentielle comme un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir de matières premières végétales botaniquement définies, par entraînement à la vapeur, par distillation sèche ou bien par un procédé mécanique approprié sans chaleur. Les huiles essentielles sont généralement séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques qui n'entraînent pas de modifications majeures de leur composition. » **(Tits, 2010)**

### 2.2.Localisation et rôle physiologique

L'huile essentielle est une sécrétion naturelle produite par les plantes et contenue dans des cellules ou des parties de plantes telles que les fleurs (roses), les sommités fleuries (lavande), les feuilles (citronnelle), l'écorce (cannelle), les racines (iris), les fruits (vanille), les bulbes (ail), rhizomes (gingembre) ou graines (noix de muscade). Pour certaines huiles essentielles, comme la lavande ou la sauge, la plante entière est utilisée. La Récolte des parties sécrétoires ou les plus concentrées de la plante se fait préférentiellement aux moments de rendement optimal, avant la floraison (menthes), pendant la floraison (lavande) et après la floraison (plantes à graines), et même après la rosée du matin (les fleurs sont cassantes) **(Boukhatem et al., 2019)**

De nombreuses plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Ces huiles peuvent avoir de multiples effets "utiles" sur les plantes comme la répression ou l'attraction des insectes pour faciliter la pollinisation, agir comme source d'énergie, faciliter certaines réactions chimiques, permettre aux plantes du désert de conserver l'humidité, réduire la concurrence avec d'autres plantes par inhibition chimique, la germination des graines, répulsion des prédateurs par le goût et les effets indésirables. **(Bakkali et al., 2008)**

### 2.3.Description chimique

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe en vue de la présence d'un grand nombre de composants et surtout par la diversité de leurs structures. Les huiles essentielles sont constituées généralement de deux groupes différents les terpénoïdes et les composés aromatiques simples dérivés du phénylpropane **(El Asbahani et al., 2015)**.

Les terpènes représentent une classe d'hydrocarbures de formule générale  $(C_5H_8)_n$ . Ce sont des polymères d'isoprène, un composé qui n'est pas isolé à l'état libre. Selon la condensation de

l'unité isoprénique on obtient des hémiterpènes, des monoterpènes, des sesquiterpènes, des triterpènes, des tétraterpènes et des polyterpènes. D'autre part, les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. (Turek *et al.*, 2013)

## **2.4.Extraction et récupération des huiles essentielles**

L'extraction d'une l'huile essentielles (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer la qualité (Tongnuanchan *et al.*, 2013). Ils existent plusieurs techniques pour l'extraction des huiles essentielles

### **2.4.1. Entraînement à la vapeur d'eau**

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. A la différence de l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau est une technique très ancienne tout comme l'hydro distillation. Elle consiste à récupérer l'huile essentielle contenue dans les cellules végétales au moyen de la vapeur d'eau. La matière première aromatique naturelle est mise dans un alambic dans lequel est injecté de la vapeur d'eau formée par une chaudière ou un générateur. La vapeur d'eau détruit la structure des cellules végétales pour libérer les molécules odorantes. La vapeur chargée d'huile essentielle est condensée par refroidissement dans un condenseur avant d'être récupérée dans un essencier. L'hydrolat et l'huile essentielle, de densités différentes, se séparent naturellement dans l'essencier. (Bouyahya *et al.*, 2021).

### **2.4.2. L'hydro-distillation**

Le principe est de dégager et de condenser, en utilisant la pesanteur, l'azéotrope produit par la vapeur et dispersé dans la masse du végétal. L'hydro-distillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité. Le principe de l'hydro distillation correspond à une distillation hétérogène, le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique (Aziz *et al.*, 2018).

### **2.4.3. Extraction à froid**

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification. En effet, la distillation produit des huiles aromatiques de moindre qualité principalement due à une présence importante d'aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur. (**Stratakos et al., 2016**)

### **2.4.4. Extraction par solvant organique**

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances. (**Reyes-Jurado et al., 2015**)

### **2.4.5. L'extraction assistée par Microondes et ultrasons**

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées. L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. A titre d'exemple, La SFME (Solvent Free Microwave Extraction) est une combinaison originale des techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant. (**Filly et al., 2014**)

#### **2.4.6. L'extraction par fluide supercritique**

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvant dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO<sub>2</sub> est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait. (Yousefi *et al.*, 2019)

#### **2.5.Méthodes de caractérisation**

Ces méthodes ont pour but d'identifier les différents constituants de l'huile essentielle afin d'en connaître la composition chimique. On parle dans cette partie de la méthode la plus utilisée

##### **2.5.1. Chromatographe en phase gazeuse (CPG)**

La CPG signifie la chromatographie en phase gazeuse. Cette étape est nécessaire si on veut identifier et déterminer la quantité de composants présents dans une huile essentielle. La CPG est incontestablement l'outil de choix pour étudier et contrôler la qualité des extraits d'hydrolats d'huiles essentielles, c'est une technique d'analyse qualitative et quantitative qui fournit, d'une part, le pourcentage relatif de chaque signal par rapport au nombre total de signaux dans le mélange analysé, et d'autre part, des données qualitatives basées sur le temps de rétention. (Brattoli *et al.*, 2013).

##### **2.5.2. Le couplage CPG-Spectrométrie de Masse (CPG-SM)**

Le but de cette méthode est de permettre l'identification des différents constituants d'un mélange complexe par spectrométrie de masse, ces constituants étant séparés en utilisant une spectrométrie de masse. En général, le CPG-SM est une stratégie efficace pour fournir pour une identité moléculaire. Cependant, afin d'analyser de manière efficace et préciser les différents constituants des huiles essentielles ou des fractions isolées, les divers constituants, les circonstances d'injection, la température de la colonne, etc. doivent être soigneusement sélectionnés. (Al-Rubaye *et al.*, 2017)

## **2.6.La conservation des huiles essentielles**

Elles sont délicates et doivent être protégées de l'air et de la lumière. Le flacon doit être conservé à une température comprise entre 5°C et 35°C. Pour le protéger de la lumière, le flacon doit être en verre coloré ou en aluminium. Il est essentiel de bien réfrigérer le bouchon après utilisation pour éviter qu'il ne s'évapore. Une huile essentielle a une durée de conservation d'environ 5 ans fermé et 2 ans ouvert. (**Dhifi et al., 2017**)

## **2.7.Intérêts des huiles essentielles**

De la parfumerie à la médecine, les huiles essentielles sont désormais omniprésentes dans notre quotidien, apparaissant dans les cosmétiques, les produits d'hygiène, ou les parfums, les huiles d'aromathérapie pour le massage, et les complexes visant à purifier notre air pollué. Gagne également en popularité dans les secteurs industriel et agricole.

### **2.7.1. Dans le domaine thérapeutique**

De nombreuses huiles essentielles ont des propriétés thérapeutiques utilisées en aromathérapie. Parmi les le plus courant, on peut citer les suivantes :

- Le basilic pour les problèmes digestifs,
- La camomille pour les problèmes de peau,
- Le romarin pour les problèmes broncho-pulmonaires et
- La sauge pour les problèmes liés à la ménopause et à l'angine streptococcique.
- Rôle du thym dans les maladies respiratoires, urinaires et gastro-intestinales

L'aromathérapie est une médecine douce qui fonctionne souvent bien avec la médecine conventionnelle. Elle peut être un complément utile aux thérapies traditionnelles (**Bakkali et al., 2008**).

### **2.7.2. En cosmétologie**

Les huiles essentielles recherchés dans les industries du cosmétique et de la parfumerie en raison de leurs qualités odoriférantes, Ils sont considérés comme des matières premières pour les parfumeurs. En règle générale, ils sont utilisés dans les dentifrices, les crèmes à raser, les rouges à lèvres, les nettoyants pour le corps et les gels en raison de leur action antiseptique et propriétés antioxydantes. (**Raut et al., 2014**)

### **2.7.3. En agroalimentaire**

Les industries utilisent les HE en profitant leurs caractères aromatiques dans une large gamme d'applications. Être trouvé presque partout dans l'industrie alimentaire, y compris les boissons non alcoolisées, les confiseries, les produits laitiers, les soupes, les sauces, les produits de boulangerie, et les produits carnés. Cependant, ce n'est que récemment que beaucoup d'attention a été accordée à l'application potentielle de HE en tant que conservateurs, ce qui est dû à la présence de composés antimicrobiens et antioxydants dans ces derniers. **(Kerbouche, 2010)**

### **2.7.4. En industrie**

Les huiles essentielles entrent dans la composition de produits industriels très variés. Cela va de l'industrie des détergents (la grande majorité de la production mondiale d'huiles essentielle de lavandin est utilisées dans des lessives et adoucissants aux colles et vernis en passant par la désinfection des locaux). L'industrie chimique s'intéresse également aux mélanges complexes de molécules comme ceux que l'on trouve dans les huiles essentielles. Les huiles représentent une source de molécules susceptibles d'être ainsi utilisées, comme le menthol dans l'industrie du tabac consomme en grande quantité (en 2010, 12500 tonnes d'origine naturelle contre 6800 tonnes d'origine synthétique. Des molécules d'huiles essentielles peuvent aussi être utilisées pour faciliter les réactions d'hémi-synthèse. **(Kaloustian et al., 2012)**

## **2.8. Les propriétés toxiques**

Les H.E ne sont pas des produits utilisables sans risque. Certaines H. E sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau car ils sont irritants (thymol ou carvacrol), allergène (cinnamaldéhyde), ou phototoxiques (huiles d'agrumes contenant des furacoumarines) ; d'autres ont un effet neurotoxique (les cétones comme la -thuyone sont toxiques pour les tissus nerveux). La plupart du temps, la toxicité fait référence à des données expérimentales recueillies afin d'évaluer le risque de leur emploi. Les composants de certaines H.E, comme le safrole, l'estragole, l'arason et le méthyl-eugénol, sont susceptibles de provoquer des cancers. Des chercheurs ont découvert que ces composés ont une activité hépato carcinogène. Au niveau du foie du rat, le safrole et l'estragole sont transformés en dérivés hydroxylés, qui sont ensuite transformés en esters sulfuriques électrophiles capables d'interagir avec les acides nucléiques et les protéines. **(Fuentes et al., 2021)**

### **2.9. Control de qualité des huiles essentielles**

Pour tirer le meilleur parti des plantes médicinales, assurez-vous que les herbes et leurs dérivés sont de haute qualité et exempts de contaminants. Cela nécessite qu'ils soient cultivés dans des conditions appropriées, correctement séchés et stockés, ainsi que leur date de stockage soit respectée. Produit de la plus haute qualité sera toujours le plus efficace. Plusieurs facteurs peuvent contribuer à l'émergence d'un produit d'amoindrie de haute qualité : mauvaise récolte des plantes, séchage ou stockage inadéquats, ou utilisation d'herbes vieilles détériorées. Les spécifications de la Pharmacopée (européenne ou, à défaut, française) doivent être respectées pour tous les lots. S'assurer que le produit est livré dans les meilleures conditions, un certain nombre de procédures sont utilisées. Les plantes en vrac expédiées par un établissement pharmaceutique sont accompagnées d'un bulletin de contrôle dans le cadre officiel. (**Devi et al., 2015**)

---

# **Chapitre 02**

## **Docking moléculaire**

---

## 1. Introduction

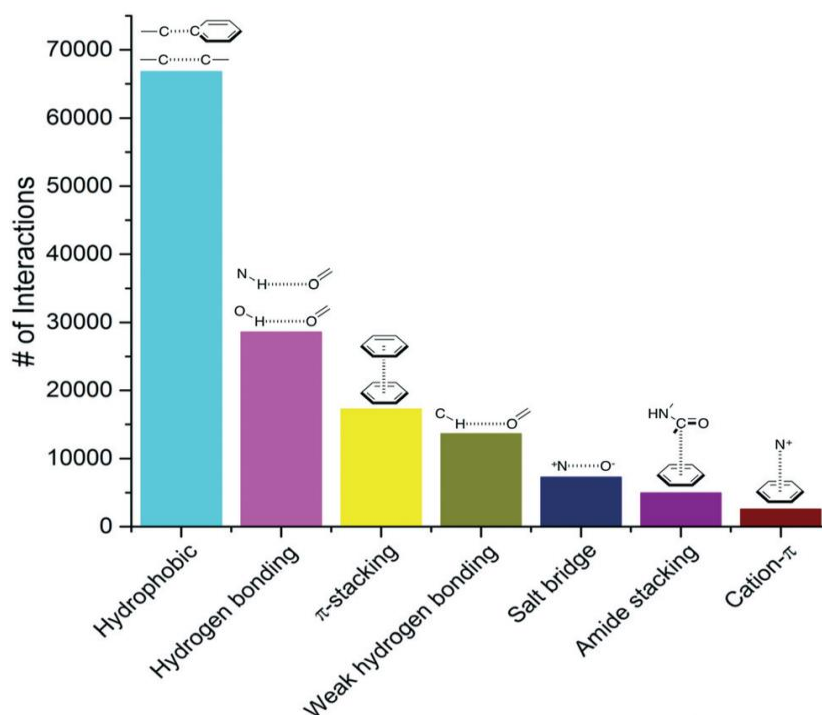
La bio-informatique structurale est une approche qui nous permettra d'établir des liens entre la structure des macromolécules biologiques et leurs fonctions dans le système vivant, tout en prenant en considération les niveaux de complexité structurale des biomolécules (ADN, ARN, protéines et les complexes multimoléculaires) (Fan *et al.*, 2019). Le docking moléculaire, aussi connu sous le nom d'amarrage moléculaire, permet une prédiction de l'affinité inter-structurale à l'échelle atomique, Généralement ce système d'interactions implique deux entités, l'une macromoléculaire qui représente le site de liaison, et l'autre est un petit ligand organique. Il représente un outil intéressant dans la conception de médicaments où on utilise une simulation assistée par des ordinateurs puissants (Sulimov *et al.*, 2019)

## 2. L'exécution du docking moléculaire

Généralement, Le processus de Docking moléculaire implique deux étapes fondamentales, le Docking et le scoring. La première est l'étape des algorithmes utilisés pour la prédiction de la conformation du ligand ainsi que sa position et son orientation dans le site actif de la protéine (généralement appelés « pose »). La deuxième, le scoring, est l'étape de l'évaluation de l'affinité de liaison entre le ligand et le récepteur en donnant un score aux différentes poses obtenues lors de la phase de Docking (Pagadala *et al.*, 2017)

## 3. L'analyse de l'interaction Ligand-récepteur

La liaison d'un ligand à sa cible est un évènement, généralement, réversible impliquant des interactions non liées. Dans ce contexte, une complémentarité chimique Protéine-ligand est indispensable faisant intervenir le plus souvent des interactions non covalentes telles que : la liaison hydrogène, ionique, hydrophobes...etc. Ces interactions non covalentes sont énergétiquement beaucoup plus faibles (distances plus élevées) par rapport à une liaison covalente (Chaudhary *et al.*, 2016). Une étude récente de Freitas et Schapira, en 2017, a montré les principales classes d'interaction non covalentes rencontrées en biologie et chimie médicinale observées dans un échantillon de milliers de complexes ligand-récepteur extraits de la base PDB, les résultats sont regroupés en dessous (Figure II 1).



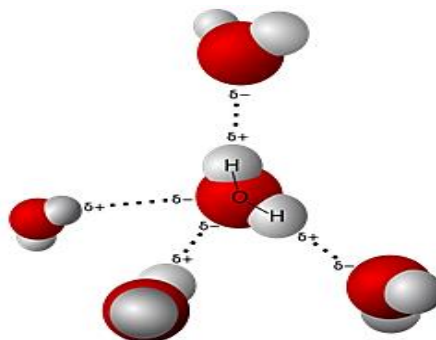
**Fig. II 1 :** les principales interactions ligand-récepteur observées dans la base PDB

### 3.1. Les interactions favorables

L'ensemble des interactions intermoléculaires qui participent positivement dans la formation des complexes stables sur le plan géométrique et énergétique sont reconnues favorables.

#### 3.1.1. La liaison d'hydrogène

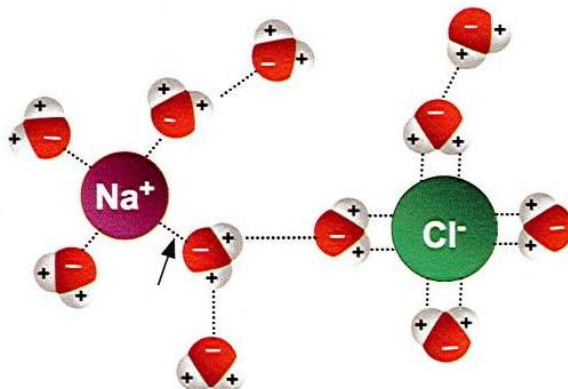
La liaison hydrogène, considérée comme une interaction spécifique, est une interaction stabilisante de très faible énergie et très faible distance. Elle se forme entre l'atome d'hydrogène d'une molécule polaire et un atome très électronégatif portant un doublet non liant essentiellement l'azote, l'oxygène, le fluor et le chlore. L'atome électronégatif dit « accepteur », porteur d'une charge partielle  $\delta^-$  et un atome d'hydrogène polaire porteur d'une charge partielle  $\delta^+$  qui est lié de manière covalente à un atome électronégatif dit « donneur » (porteur d'une charge partielle  $\delta^-$ ). Les atomes d'oxygène et d'azote sont les donneurs et accepteurs les plus courants. Une distance faible entre le donneur et l'accepteur est nécessaire pour que ce genre de liaison soit significative avec une énergie autour de  $5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ . (Mohn *et al.*, 2010)



**Fig. II 2 :** la liaison d'hydrogène entre les molécules d'eau

### 3.1.2. Les interactions électrostatiques

Ce sont des liaisons ioniques faibles résultant de l'interaction entre dipôles de charges opposées et conduisant à la création d'une force attractive. Une liaison électrostatique donc est une liaison entre une charge (positive ou négative) portée par un ion et un des pôles (électropositif ou électronégatif) d'une autre molécule. Les groupements fonctionnels chargés des acides aminés agissent à longue distance pour donner naissance à des interactions électrostatiques. (Murray et al., 2011)



**Fig. II 3 :** les liaisons électrostatiques dans un milieu réactionnel

### 3.1.3. Les interactions hydrophobes

Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène ne peuvent donc pas s'hydrater, pour cette raison, on les nomme substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance de ces groupes à se rassembler par coalescence. Certains radicaux d'acides aminés sont apolaires et hydrophobes en formant ainsi la zone hydrophobe de la protéine, ils forment des liaisons hydrophobes avec les ligands durant la phase d'interaction. Il existe plusieurs types d'interactions hydrophobiques, nous détaillons ici les plus rencontrées avec les molécules volatiles des huiles essentielles. (Ben-Naim, 2012)

### 3.1.4. Les interactions halogénées

La présence des halogènes (Br/Cl ou autres) partiellement chargés négativement, a permis la création d'interactions halogénées. Ces interactions jouent un rôle très important dans les structures des composés, et assurent leur conformation tridimensionnelle. (Auffinger *et al.*, 2004)

### 3.2. Les étapes de docking moléculaire

L'exécution de l'amarrage molécule se fait par plusieurs logiciels qui adoptent deux étapes successives, la première est préparative (Searching) et la deuxième est exécutive (Scoring).

#### 3.2.1. L'étape 1 : Searching

En amont de chaque processus d'amarrage, l'algorithme utilisé doit analyser exhaustivement de la conformation et la flexibilité des deux entités. Plusieurs stratégies ont été élaborées pour déterminer la conformation la plus stable énergétiquement. Dans l'approche classique, le jeu des conformères est généré en éliminant l'intervention des acides aminés du site actif. Par contre, ces acides aminés sont pris en considération dans l'approche rationnelle. (Naqvi *et al.*, 2017)

#### 3.2.2. L'étape 2 : Scoring

Le score est un paramètre numérique utilisé pour quantifier l'affinité ligand-récepteur. C'est une approximation de l'énergie libérée durant le passage de l'état libre à l'état d'interaction. En se basant sur le score, on peut classer les conformations spatiales du ligand au sein du récepteur et sélectionner la meilleure pose possible. Cette fonction de score peut être classée en trois catégories : empiriques, champs de force et knowledge-base. (de Azevedo, 2019)

### 3.3. Intérêt du docking dans la conception des molécules thérapeutiques

Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est facile à mettre en oeuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée. (Stefaniu, 2019)

Cette approche permet également d'étudier et de prédire les interactions probables entre le ligand et les acides aminés constituant la structure de la cible en déterminant la conformation la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Parallelement, la prédiction de l'effet d'une mutation sur l'activité d'une protéine et/ou sur sa capacité à interagir avec un médicament en partant de l'étude d'un changement d'un ou plusieurs acide(s) aminé(s) sur la structure 3D d'une protéine particulièrement utilisée en absence d'information biologique ou médicale sur une mutation. En plus, il est un outil essentiel dans la conception de nouveaux médicaments « DRUG DESIGN ». Dès que la structure 3D de la protéine cible est connue, la conception d'un médicament susceptible de se loger dans le site fonctionnel de cette protéine est alors possible. **(Dastmalchi, 2016)**



---

# **Chapitre 03**

## **Matériels et méthodes**

---

L'ensemble des travaux pratiques de ce PFE ont été réalisés au laboratoire de l'équipe « Pharmacologie cellulaire et moléculaire EPMC » au niveau de l'unité de recherche sur les plantes médicinales URPM, Laghouat, Algérie.

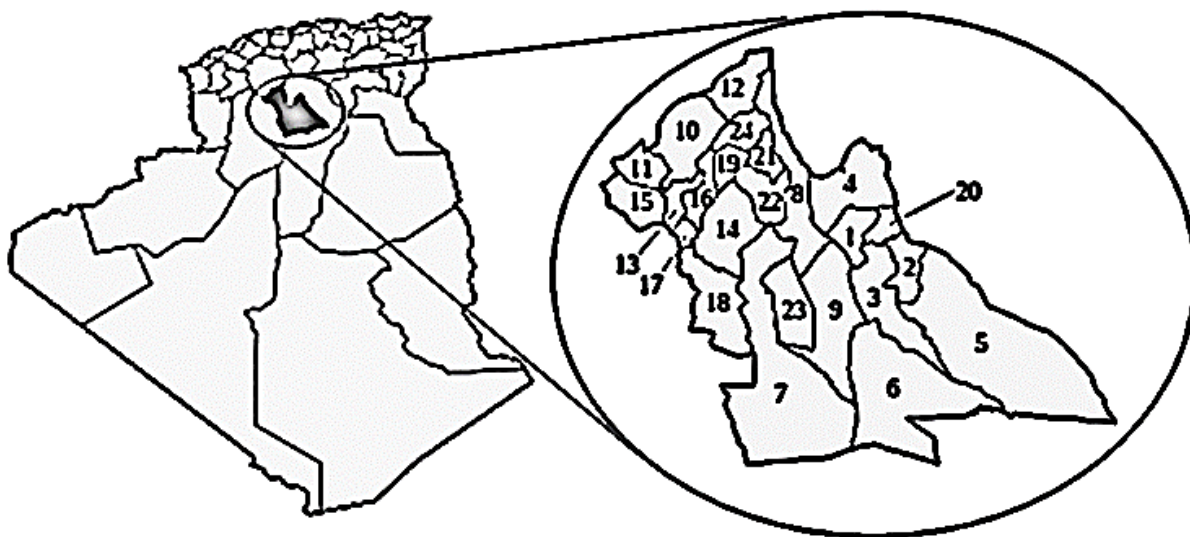
### 1. Réactifs et produits chimiques

Le DMSO, sulfate de sodium et chlorure de sodium ont été obtenus à partir de Sigma chemical Inc. (St. Louis, MO, USA). Par contre, les antibiotiques ont été fournis, gracieusement, par l'EPH de la wilaya de Laghouat.

### 2. Le matériel végétal

#### 2.1. Géographie de la station d'étude

Nous avons adopté la région nord de la wilaya de Laghouat pour récolter la plante étudiée. C'est une région particulière en terme des conditions géographiques et climatiques particulières.



**Fig. III 1 :** Représentation géographiques de la région de collection de la plante d'intérêt

#### 2.2. Collection de la plante

La partie aérienne de la plante d'intérêt, *Artemisia Herba-alba* L., a été collectée en septembre 2022 de la région nord de la wilaya de Laghouat, Algérie. La plante a été séchée dans un endroit sec à l'abri de la lumière et la chaleur durant deux semaines. Ensuite, elle est conservée jusqu'à le moment d'extraction des principes actifs.

### 2.3. Identification botanique

La plante d'intérêt a été identifiées par les promoteurs du travail Dr BNACEUR Farouk et Dr. KADI Imededdine, Equipe de pharmacologie cellulaire et moléculaire, L'unité de recherche sur les plantes médicinales, Laghouat.

### 2.4. Extraction des huiles essentielles

L'ensemble de la partie aérienne (100 g de matière sèche) a été procédé à l'extraction des huiles essentielles en utilisant le système d'hydro-distillation par un Clevenger. La cinétique de l'extraction a été suivie et l'échantillon d'huile a été récupéré tout en évitant les traces d'eau résiduelles. Enfin, l'échantillon d'huile a été recueilli dans une flacon opaque, et conservé à froids (+4°C) jusqu'aux analyses chromatographiques ou ultérieure expérimentation.



**Fig. III 2 :**Préparation de la matière première et extraction des huilles essentielles

### 2.4.1. Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR (2000), le rendement d'extraction est défini comme le rapport de la masse de l'huile essentielle obtenue sur la masse de la matière première végétale utilisée. Il est généralement exprimé en pourcentage massique (P/P).

### 2.5. La conservation de l'huile obtenue

En prenant en considération la sensibilité des huiles essentielles, des précautions de base ont été adoptées pour conserver l'échantillon. Cette dernière est conservée à 4°C dans un réfrigérateur, à l'abri de la lumière et enveloppée du papier aluminium afin d'éviter toutes formes de dégradation.

### 2.6. Analyse des propriétés organoleptiques

Les paramètres organoleptiques sont déterminés selon la norme AFNOR. Les caractères suivants : aspect général, la couleur, l'odeur sont bien détaillés et enregistrés.

### 2.7. Propriétés physicochimiques

#### 2.7.1. Caractérisation physique

##### a. La densité relative

La densité relative est mesurée à 20°C et représente le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile essentielle par rapport à la masse du même volume de l'eau ultra-pure dans les mêmes conditions (**Boukhatem et al., 2010**).

##### b. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction représente le rapport entre l'angle d'incidence et l'angle de déviation d'un rayon lumineux passant de l'air à l'huile essentielle dans des conditions bien déterminées de température. Cet indice de pureté de notre échantillon est mesuré à l'aide d'un réfractomètre. (**Seddik et al., 2010**)

#### 2.7.2. Caractérisation chimique

##### a. L'indice d'acide

L'indice d'acide est la quantité de KOH en mg nécessaire à la neutralisation des acides gras dans un gramme d'échantillon. Elle est réalisée par un système de titrage classique couplé à un processus de virage de la coloration du milieu réactionnel. (**Seddik et al., 2010**)

## 2.8. Analyse phytochimique de l'huile essentielle par GC-FID

L'analyse chromatographique du contenu moléculaire a été effectuée par chromatographie phase gazeuse CPG selon le protocole suivant :

Instrument.....	CPG Skyray Instruments GC-5400
Détecteur.....	Détecteur à ionisation de flamme (FID)
Colonne.....	Colonne capillaire en silice fondue de type DB-5 (30 m × 0,32 mm, épaisseur du film de 0,10 µm)
Gaz vecteur.....	Hydrogène
Débit de gaz.....	1 mL/min
Température de la colonne.....	Une montée de 3°C/min de 50°C à 250°C
Température de l'injecteur.....	Fixée à 250°C
Température du détecteur.....	Fixée à 280°C
Dilution de l'huile.....	Des dilutions (100 fois) d'huile essentielle dans le <i>n</i> -pentane
volume injecté.....	2 µL

Dans les mêmes conditions opératoires précédentes, une série homologue de *n*-alcanes (C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>) diluée dans le *n*-hexane a été aussi injectée. L'identification des constituants a été réalisée par comparaison de leurs indices de rétention linéaire (LRI) avec ceux de la littérature.

## 3. L'activité antimicrobienne

La méthode classique de diffusion sur gel Muller Hinton, autrement dit l'Antibiogramme standard, a été utilisée pour évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles étudiées. (Amira *et al.*, 2022)

### 3.1. Préparation du milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu standard Muller-Hinton (38g de poudre MH dans 1L d'eau ultra-pure) gélifié par l'Agar (17g de poudre dans 1L d'eau ultra-pure). Le mélange a été préparé sur une plaque chauffante, distribué dans des flacons et orienté vers l'autoclave. Après refroidissement, Le milieu de culture est coulé dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, à raison de 15 ml par boîte.

### 3.2. Les souches bactériennes utilisées

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, six souches bactériennes ont été sélectionnées dont cinq sont des souches de références et une souche d'origine clinique.

- Souches de références :
  - *Listeria monocytogenes*
  - *Bacillus subtilis*
  - *Pseudomonas aeruginosa*
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Salmonella typhi*
- Souche clinique :
  - *Escherichia coli*

### 3.3. Préparation de l'inoculum

#### 3.3.1. Préparation d'une pré-culture

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur une culture jeune de 24h (phase exponentielle de croissance). Nous avons ensemencé chaque souche dans un milieu liquide de bouillon nutritif puis l'incubée à 37°C pendant 24h. ensuite, une nouvelle incubation dans le milieu solide de Muller-Hinton à 37°C pendant 24h. (Fertout-Mouri *et al.*, 2017)

#### 3.3.2. Préparation des suspensions bactériennes

Pour préparer les suspensions bactériennes, nous avons sélectionné quelques colonies isolées et identiques de la culture jeune de chaque bactérie et les mettre dans quelques millilitres d'une solution stérile d'eau physiologique. Ensuite, nous avons agité la suspension à l'aide d'un vortex pendant quelques secondes.

L'estimation de la charge bactérienne se fait par une mesure de la turbidité de la suspension. Dans ce contexte, nous avons mesuré la densité optique de chaque suspension à  $\lambda = 620$  nm en utilisant un spectrophotomètre Shimadzu 1900i. On admet qu'une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  UFC/ml pour les bactéries. (Abdelhadi *et al.*, 2020)

### 3.4. Les tests de sensibilité

L'ensemencement de chaque bactérie a été réalisé sur la totalité du milieu en utilisant un écouvillon, tout en assurant une distribution homogène de l'inoculum. Des disques de papier Wattman stériles de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec 10  $\mu$ L de l'huile essentielle

étudiée et placés sur la surface de des boîtes inoculées d'une manière homogène. Ces dernières ont été laissés au repos à 4°C pendant 2 h avant l'incubation avec les bactéries étudiées dans l'étuve à 37°C pendant 24h. (Fertout-Mouri *et al.*, 2017)

### 3.5. Evaluation des résultats

L'activité antimicrobienne des huiles étudiées a été déterminé par une mesure du diamètre de la zone d'inhibition en millimètre en utilisant un pied à coulisse. Ces résultats sont comparés avec des disques d'antibiotiques standards qui sont utilisés en parallèle dans les mêmes conditions précédentes.

## 4. L'étude statistique

Les résultats sont représentés sous forme de la moyenne  $\pm$  SEM de trois répétitions différentes. L'analyse de variance ANOVA a un seul facteur contrôlé a été utilisé pour les comparaisons multiples entre les différentes moyennes, suivie par le test post-hoc de Tukey en utilisant le logiciel de graphad prism 7.0. Le seuil de significativité de la différence statistique est 5%.

## 5. Docking moléculaire

Afin d'expliquer l'interaction des agents antimicrobiens, identifiés dans les huiles essentielles, et les cibles thérapeutiques dans chaque bactérie, nous avons procédé aux techniques de bio-informatiques structurales, particulièrement le docking moléculaire

### 5.1. Matériel utilisé

Un microordinateur : Hp, Intel(R) Core(TM) i5-6200U CPU @ 2.30GHz 8,00 Go

### 5.2. Programmes et logiciels

- Autodock tools-1.5.6 (<http://mgltools.scripps.edu/>)
- Autodock vina\_1\_1\_2 (<http://vina.scripps.edu/download.html/>).
- Chimera software-1.11 (chimera-1.11.2-mac\_x11.dmg).
- BIOVIA Discovery Studio Visualizer  
([https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer download](https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download)).
- Open babel ([http://openbabel.org/wiki/Main\\_Page](http://openbabel.org/wiki/Main_Page))
- Pymol (<https://pymol.org/2/>)

### 5.3. Bases des données

- Protein Data Bank ([http : http://www.pdb.org/](http://www.pdb.org/))
- PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

### 5.4. Méthodes appliquées

#### 5.4.1. Récupération des protéines intérêts

La base de données PDB « Proteins data bank » a été utilisé pour récupérer les protéines d'intérêt pour chaque espèce bactérienne, elles sont téléchargées en format PDB. Les protéines sélectionnées pour chaque espèce ont été regroupées dans le tableau IV 1. La sélection de ces protéines est basée sur l'intervention directe ou indirecte dans le métabolisme énergétique de la cellule bactérienne tout en prenant en considération les propriétés techniques de la protéine sélectionnée (Méthode expérimentale, la présence du ligand co-cristallisé, la résolution, la date de publication et l'absence de mutations...etc.) (Meng *et al.*, 2011)

**Tab. IV 1 :** Protéines cibles dans chaque espèce bactérienne étudiée

	ID	Nomination	Résolutio n	Mutations	Pub.	Méthode exp.
<i>S. aureus</i>	6E4E	Dihydrofolate réductase	1.90 Å	Non	2018	DRX
	4URM	DNA Gyrase B	2.94 Å	Non	2014	DRX
	2MLM	Sortase A	2.30 Å	Non	2014	NMR
<i>E. coli</i>	3ZMI	Rhomboid protease GlpG	2.20 Å	Non	2013	DRX
	4PRX	GyrB	1.80 Å	Non	2014	DRX
<i>P. aeruginosa</i>	1LRY	Peptide defrmylase	2,60 Å	Non	2002	DRX
<i>L. monocytogenes</i>	5LRR	prfA	2,17 Å	Non	2016	DRX
	3ZG8	Protéine fixatrice de pénicilline	2.09 Å	Non	2013	DRX

#### 5.4.2. Récupération des molécules de l'huile essentielle étudiée

L'ensemble des molécules identifiées par GC-FID ont été récupérées de la base de données Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) en format 3D, SDF.

### 5.4.3. Préparation des molécules à tester

#### a. Préparation des protéines cibles

Avant d'exécuter le docking moléculaire par « Autodock vina », Les protéines sélectionnées ont été préparées par le logiciel MGL-tools selon les étapes suivantes : (**Bender et al., 2021**)

1. Elimination des molécules d'eau
2. Elimination du ligand natif et des hétéroatomes
3. L'addition des hydrogènes polaires
4. La réparation des acides aminés (si nécessaire)
5. L'addition des charges de type « Kollman »
6. La structure finale a été sauvegarder en format pdbqt.

#### b. Identification du « Grid Box »

Pour chaque protéine étudiée, nous avons évalué l'affinité conformationnelle de chaque molécule au sein du site actif du récepteur, autrement dit dans le « GRID BOX ». Cette espace a été définie par un volume et des coordonnées bien précises. En utilisant Discovery studio, nous avons sélectionné la cavité qui englobe le ligand de référence pour chaque protéine. En plus, ses dimensions sont proportionnelles à la taille de tous les ligands étudiés. Ces informations sont ainsi enregistrées dans un fichier texte qui est essentiel pour lancer les calculs de docking moléculaire. (**Bitencourt-Ferreira et al., 2019**)

### 5.4.4. L'exécution du docking moléculaire

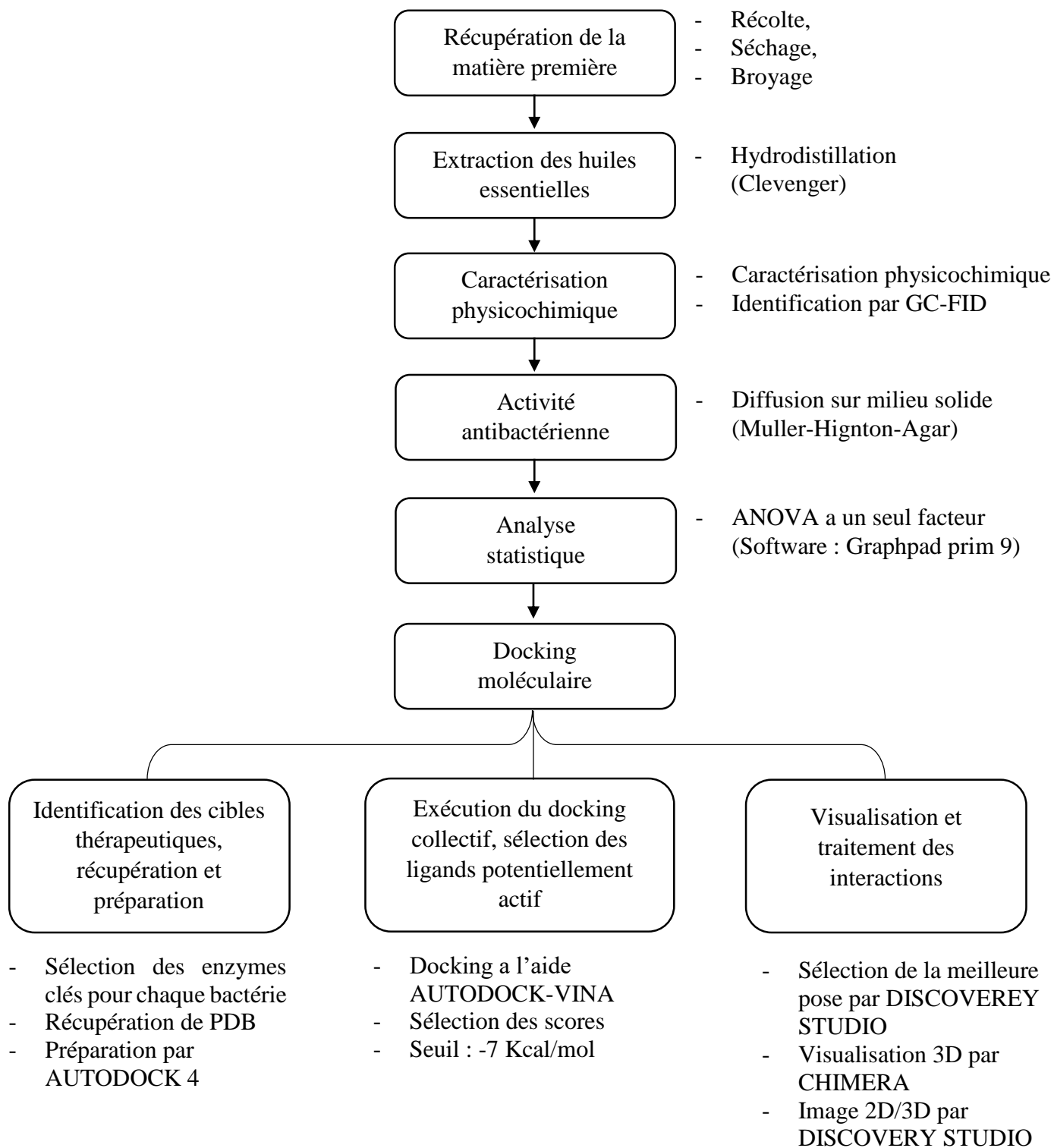
L'exécution des instructions pour calculer l'affinité entre les différentes molécules et les protéines a été fait par autodock vina 1.2.3. Les ligands ont été considérés flexibles alors que les protéines cibles ont été rigides. Les résultats sont générés dans un fichier txt, ce fichier contient les coordonnées atomiques de 10 meilleurs positions du ligand au sein du site actif de la protéine cible, leur énergie et ses différentes valeurs de RMSD.

### 5.4.5. Validation des résultats de docking moléculaire

Pour valider les résultats obtenus, le redocking du ligand natif est essentiel afin d'évaluer leur propre énergie de fixation (ligand-récepteur). En plus, ce calcul est suivi par la détermination de son valeur RMSD qui doit être généralement inférieure a 2Å.

## **6. Propriétés ADMET**

L'ensemble des molécules sélectionnées dans cette étude ont été analysé dans une plateforme spécifique, ADMETLab 2.0, afin d'étudier leurs propriétés pharmacocinétiques et leurs profils de toxicité. Les résultats obtenus sont affichés sous formes graphiques et tabulées.



**Fig. III 3** : un organigramme général des principales étapes du travail

---

# **Chapitre 04**

## **Résultats et discussion**

---

## **1. Extraction des huiles essentielles**

### **1.1.Rendement d'extraction**

L'hydro-distillation de la totalité de la partie aérienne de la plante étudiée a fourni un rendement en huiles essentielles de l'ordre de 1,06 %. Ce rendement défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal traité.

En comparaison des travaux antérieurs, ce rendement peut être considéré intéressant. Les différences obtenues peuvent être attribuées aux plusieurs facteurs qui influencent largement sur le rendement comme les facteurs environnementaux et climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétale elle-même, l'organe végétal, la période et le lieu géographique de la récolte, le niveau de la croissance et les conditions de culture de la plante.

### **1.2.Analyse organoleptique**

La caractérisation organoleptique des huiles a été fait sur trois volets, l'aspects général, la couleur et l'odeur. L'huile obtenue a donné un aspect liquide mobile, limpide, avec une couleur jaune transparente avec une odeur caractéristique et semblable à celle de la plante *Artemisia herba-alba*.

### **1.3.Caractérisation physique : la densité relative**

La densité de l'huile obtenue a été calculé par la methode gravimétrique a une température ambiante, les résultats obtenus ont donné une valeur  $d=0,928$ .

### **1.4.Caractérisation physique : Indice de réfraction**

A l'aide d'un refractomètre, l'indice de réfraction de l'HE testée, a une température de 20°C est égal à 1.47

### **1.5.Caractérisation chimique : Indice d'acide**

L'indice acide est la quantité de KOH en mg nécessaire à la neutralisation des acides gras dans une gramme d'échantillon, notre huile a donné une valeur égale à 1.53

## 2. Analyses CPG-FID

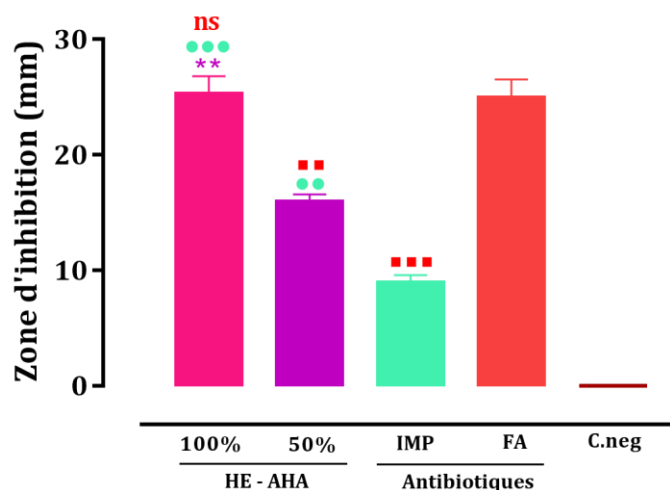
Tab. IV 1 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

	Composé chimique	Pourcentage (%)	LRI
01	Tétrahydrofurane	0,11	905
02	2,4-Hexadienal-, (2E, 4E)	0,13	914
03	Tricyclène	0,35	918
04	<b><math>\alpha</math>-Pinène</b>	<b>2,18</b>	932
05	<b>Camphène</b>	<b>1,16</b>	946
06	$\Delta$ -3-Carène	0,30	955
07	<b><math>\beta</math>-Pinène</b>	<b>7,07</b>	973
08	<b><math>\beta</math>-Myrcène</b>	<b>7,01</b>	994
09	$\alpha$ -Phellandrène	0,28	1011
10	<b><i>p</i>-Cymène</b>	<b>1,36</b>	1023
11	<b>1,8-Cinéole</b>	<b>7,49</b>	1027
12	<b>(E)-<math>\beta</math>-Ocimène</b>	<b>1,21</b>	1038
13	<b><math>\gamma</math>-Terpinène</b>	<b>1,70</b>	1056
14	Artemisia alcool	0,24	1071
15	Terpinolène	0,19	1086
16	Linalool	0,24	1098
17	$\alpha$ -Thujone	0,59	1107
18	$\beta$ -Thujone	0,91	1112
19	<i>cis</i> -Pinène hydrate	0,16	1116
20	Chrysanthène	0,65	1124
21	<b>Camphor</b>	<b>1,08</b>	1139
22	Camphène hydrate	0,59	1144
23	<i>trans</i> -Pinocamphone	0,10	1151
24	<b>Bornéol</b>	<b>1,06</b>	1164
25	Terpinen-4-ol	0,17	1176
26	<i>trans</i> -Carveol	0,15	1212
27	<i>cis</i> -Carveol	0,24	1225
28	<i>cis</i> -Chrysanthényl acétate	0,20	1263
29	Bornyl acétate	0,36	1287
30	Piperitenone oxyde	0,18	1367
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	0,13	1401
32	Davana furane	0,15	1417
33	Aromadendrène	0,12	1447
34	<b>Alloaromadendrène</b>	<b>1,01</b>	1469
35	$\gamma$ -Muuroolène	0,19	1476
36	Germacrene D	0,76	1485
37	Viridiflorene	0,64	1496
38	Davana éther	0,09	1509
39	<b><math>\delta</math>-Cadinène</b>	<b>1,36</b>	1517
40	Spathuléol	0,19	1577
41	<b>Davanone</b>	<b>45,98</b>	1589
42	Viridiflorol	1,90	1595
	<b>Total identifié</b>	<b>89,98</b>	-

### 3. L'activité antibactérienne

#### 3.1.L'activité inhibitrice de *Staphylococcus aureus* (ATCC : ATCC 6538)

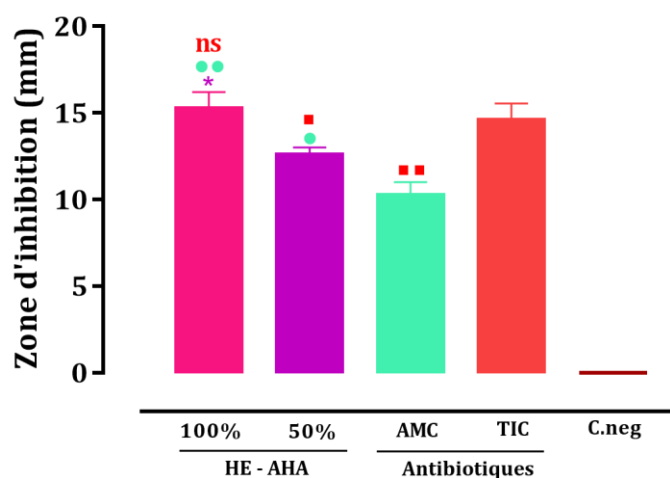
L'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* a été déterminé en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition sur le milieu solide de Muller-Hinton. Les résultats obtenus sont organisés dans la figure IV 1.



**Fig. IV 1 :** l'effet de l'huile essentielle d'*artemisia herba-alba* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*. Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques IMP(Imipenème) et FA (Acide fusidique).

#### 3.2.L'activité inhibitrice de *Escherichia coli* (souche clinique)

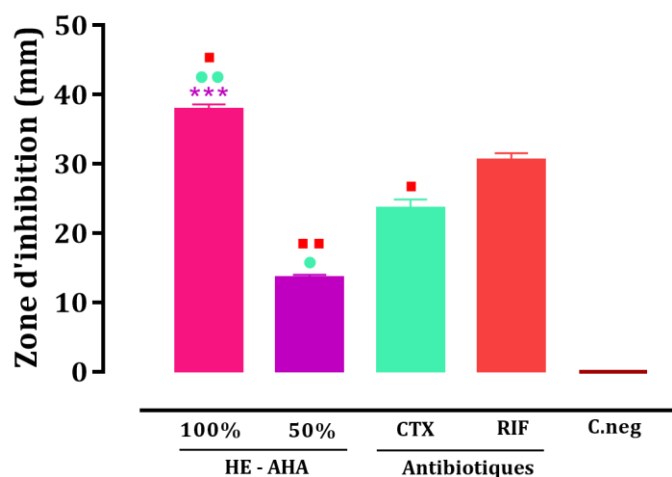
L'inhibition de la croissance de *E. coli* a été déterminé en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition sur le milieu solide de Muller-Hinton. Les résultats obtenus sont organisés dans la figure figure IV 2.



**Fig. IV 2 :** l'effet de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur la croissance de *E. coli*. Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques AMC(Amoxicilline-acide clavulanique) et TIC (Ticarcilline).

### 3.3.L'activité inhibitrice de *Bacillus cereus* (ATCC : 25921)

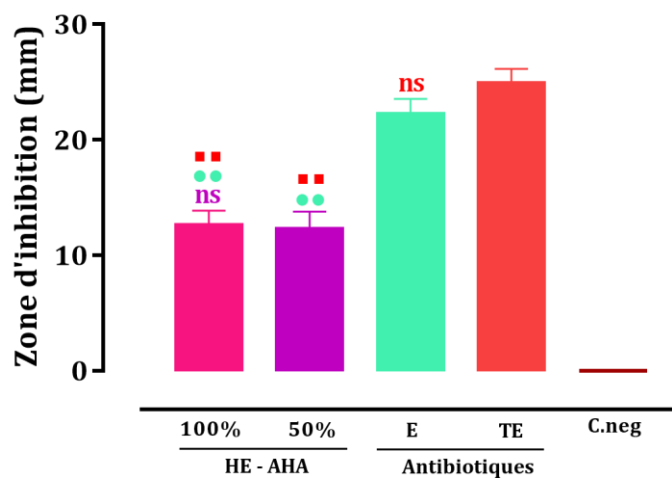
L'inhibition de la croissance de *Bacillus cereus* a été déterminé en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition sur le milieu solide de Muller-Hinton. Les résultats obtenus sont organisés dans la figure figure IV 3.



**Fig. IV 3 :** l'effet de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur la croissance de *Bacillus cereus*. Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques CTX(Céfotaxime) et RIF(Rifampicine).

### 3.4.L'activité inhibitrice de *Listeria monocytogenes* (ATCC : 19111)

L'inhibition de la croissance de *Listeria monocytogenes* a été déterminé en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition sur le milieu solide de Muller-Hinton. Les résultats obtenus sont organisés dans figure IV 4.



**Fig. IV 4 :** l'effet de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur la croissance de *Listeria monocytogenes*. Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques E (Erythromycine) et TE(Tétracycline).

3.5.L'activité inhibitrice de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC :xxxx)

L'inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* a été déterminé en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition sur le milieu solide de Muller-Hinton. Les résultats obtenus sont organisés dans figure IV 5.

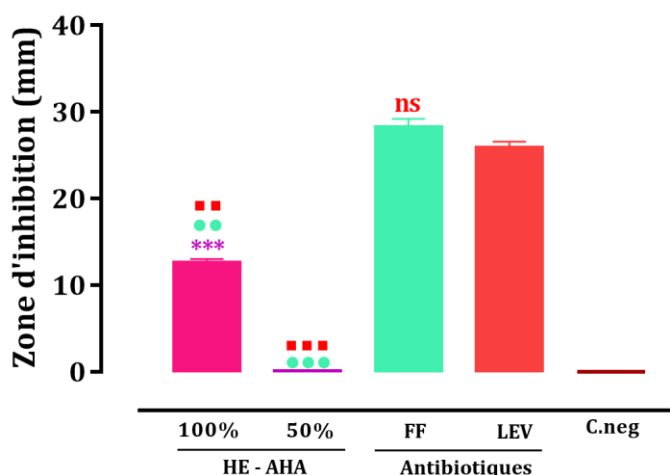


Fig. IV 5 : l'effet de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*. Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques FF(Fosfomycine) et LEV(Levofloxacin).

3.6.L'activité inhibitrice de *Salmonella typhi* (ATCC : xxxx)

L'inhibition de la croissance de *Salmonella typhi* a été déterminé en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition sur le milieu solide de Muller-Hinton. Les résultats obtenus sont organisés dans figure IV 6.

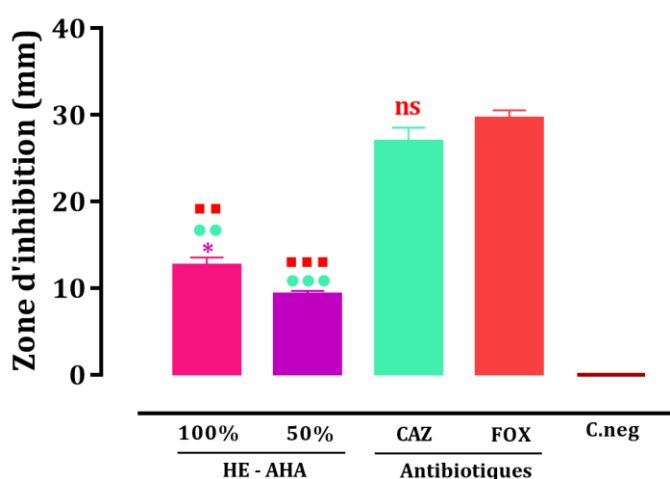


Fig. IV 6 : l'effet de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur la croissance de *Salmonella typhi*. Deux doses ont été testées en comparaison avec deux antibiotiques CAZ (Ceftazidime) et FOX (Cefoxitine).

L'activité antimicrobienne des extraits naturels, particulièrement les huiles essentielles, est largement rapportée. Plusieurs études ont montré que les huiles de *l'Artemisia herba-alba* peuvent inhiber la croissance bactérienne. Les bactéries sélectionnées dans cette étude sont largement disséminées dans les différentes formes d'infections urinaires, cutanée, digestives et autres. Elles ont des profils d'antibio-résistance inquiétants, particulièrement avec les antibiotiques distribués dans le marché des médicaments.

L'analyse de **89,98%** de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* a montré une richesse moléculaire importante. Quarante-deux molécules différentes, dont les principales sont : Davanone (**45,98%**), 1,8-Cinéole (**7,49%**),  $\beta$ -Pinène (**7,07%**),  $\beta$ -Myrcène (**7,01%**).

Les résultats obtenus ont montré une très bonne inhibition de la croissance de *S. aureus* et *E. coli* et *B. subtilis*, particulièrement par l'échantillon concentré à 100%, cette activité est comparable à celles des antibiotiques de référence. Parallèlement, les résultats enregistrés ont été modérés vis-à-vis la croissance de *L. monocytogenes*, *S. typhi* et *P. aerigenosa*. L'échantillon diluée (50%) a donné des résultats faibles par rapport toutes les souches bactériennes.

4. Docking moléculaire

4.1. L'interaction avec les cibles thérapeutique de *S. aureus*

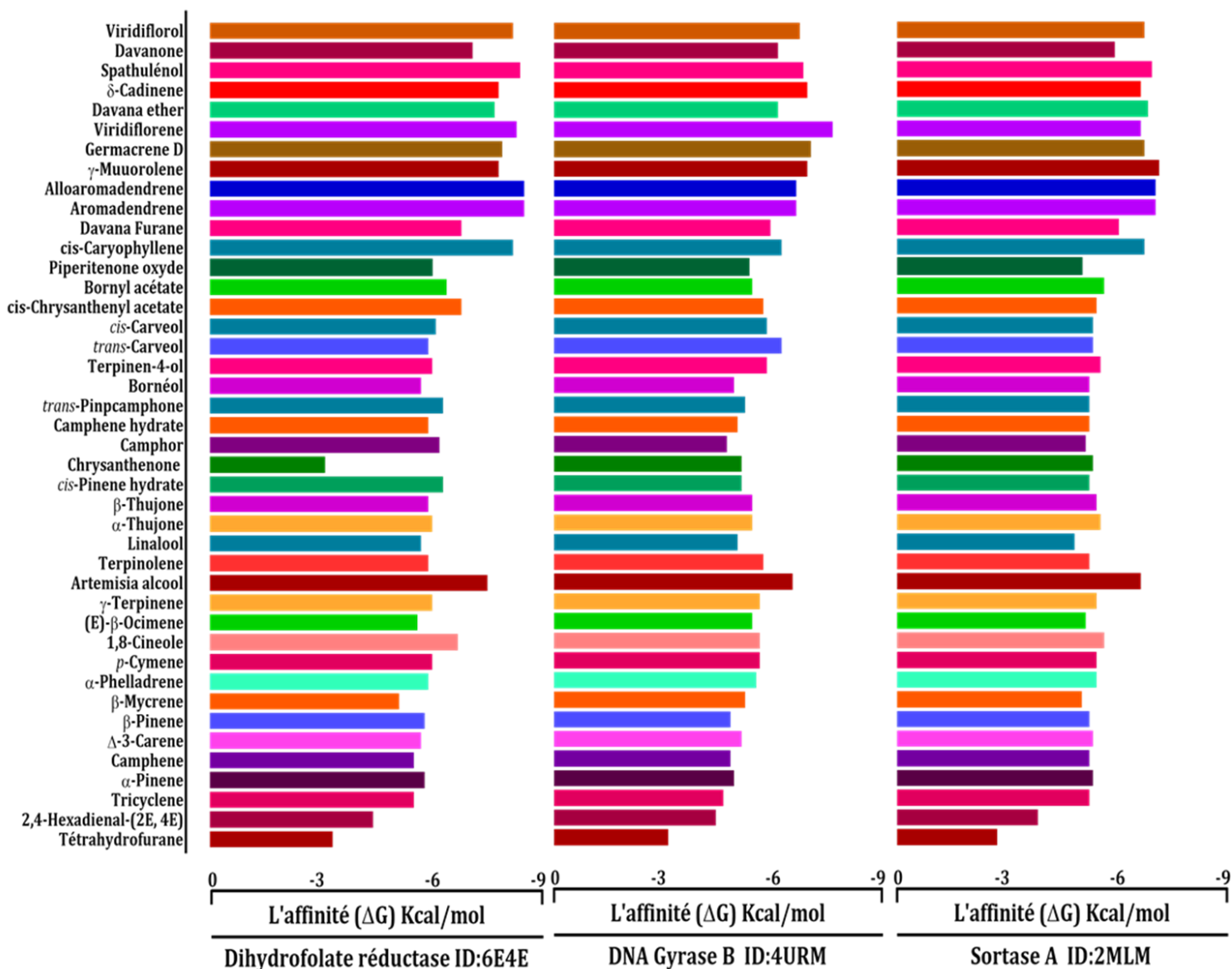


Fig. IV 7 : l'affinité des molécules vis avis les cibles thérapeutiques de *S. aureus*

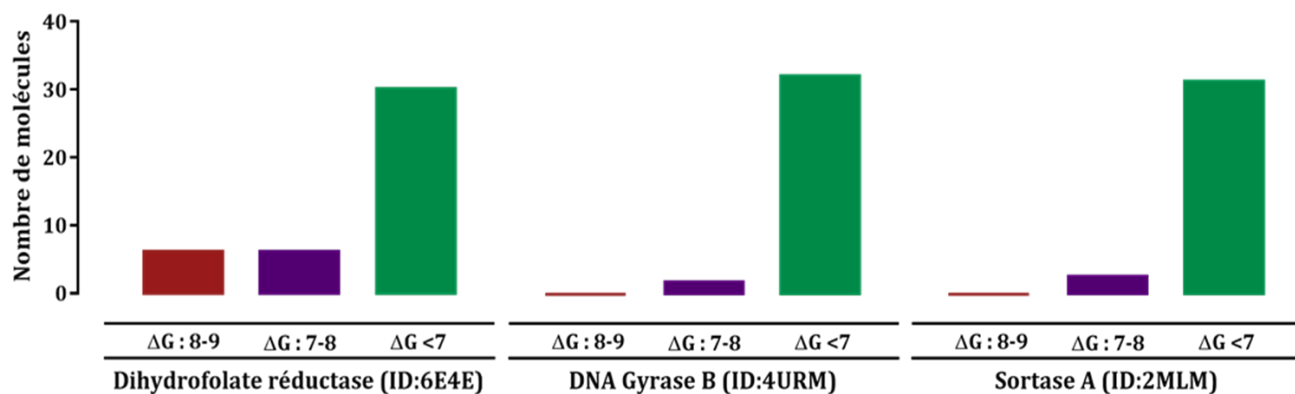
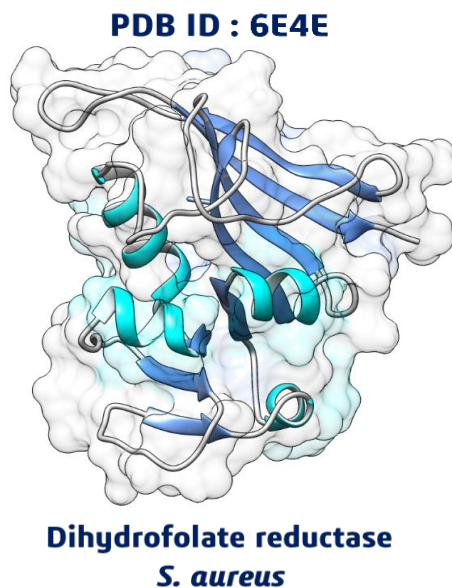


Fig. IV 8 : Classification de l'affinité des molécules pour chaque cible de *S. aureus*

4.1.1. Cible thérapeutique : Dihydrofolate reductase (ID :6E4E)



a. Analyse de l'interaction : 6E4E – Aromadendrene (33)

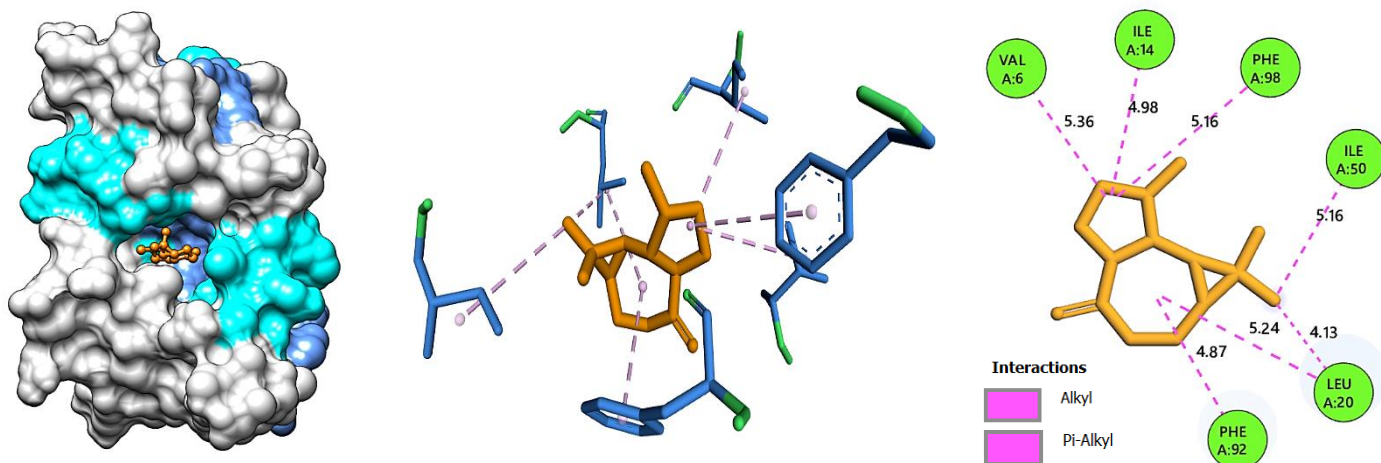


Fig. IV 9 : L'interaction : 6E4E – Aromadendrene en images 2D et 3G

b. Analyse de l'interaction : 6E4E – Alloaromadendrene (34)

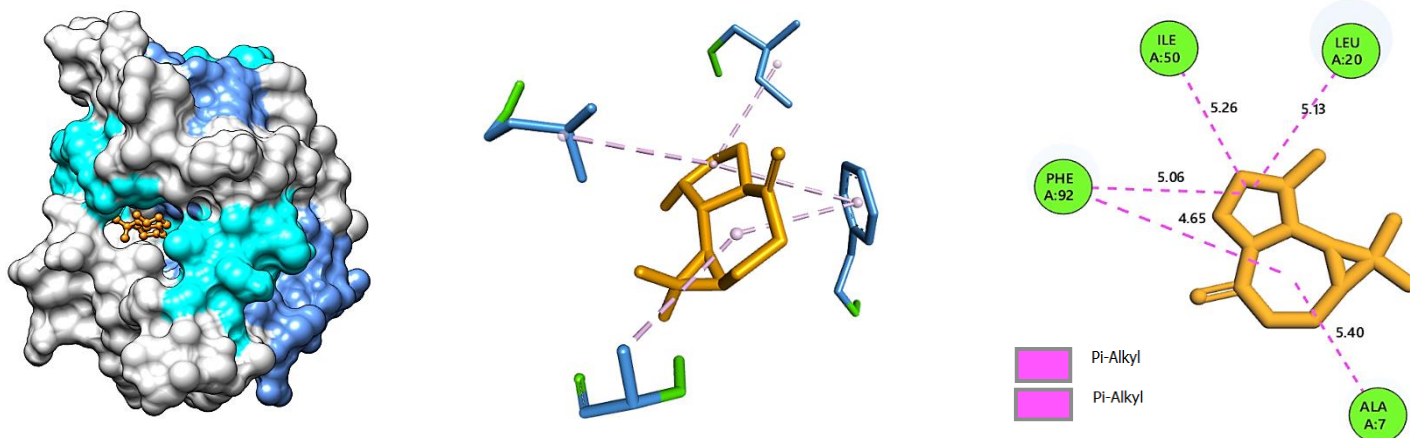


Fig. IV 10 : L'interaction : 6E4E – Alloaromadendrene en images 2D et 3G

c. Analyse de l'interaction : 6E4E – Spathuléol (40)

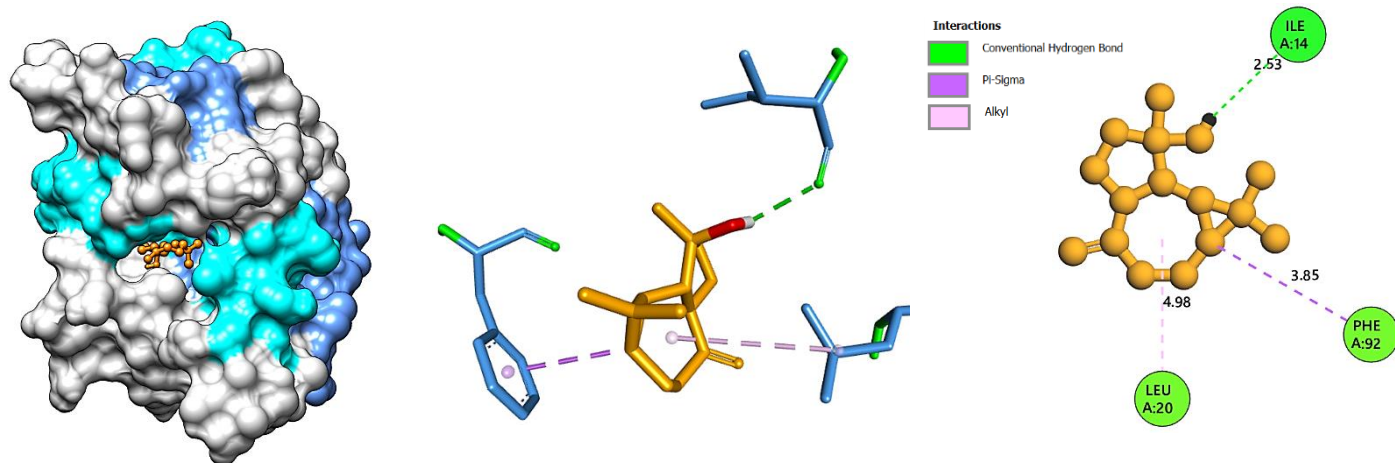


Fig. IV 11 : L'interaction : 6E4E – Spathuléol en images 2D et 3G

d. Analyse de l'interaction : 6E4E – Viridiflorene (37)

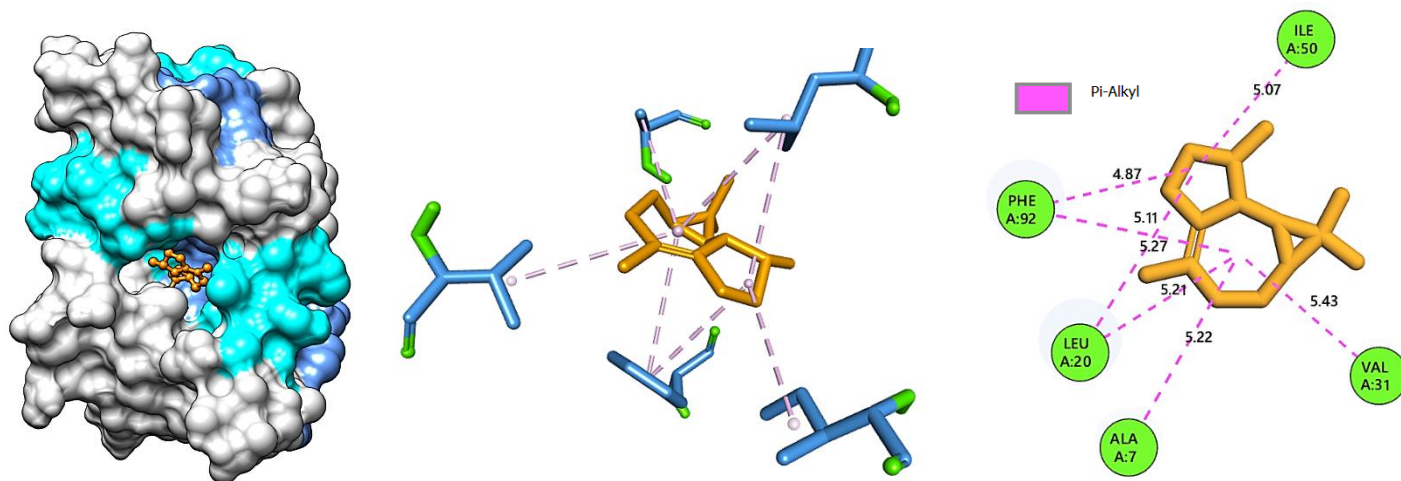


Fig. IV 12 : L'interaction : 6E4E – Viridiflorene en images 2D et 3G

e. Analyse de l'interaction : 6E4E – Viridiflorol (42)

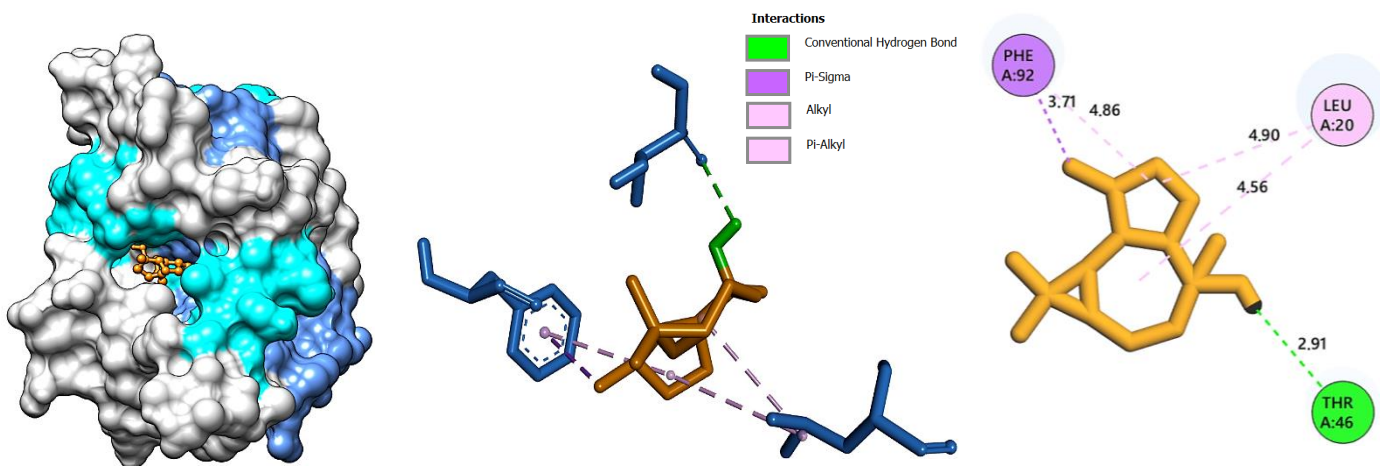


Fig. IV 13 : L'interaction : 6E4E – Viridiflorol en images 2D et 3G

f. Analyse de l'interaction : 6E4E – Cis-Caryophyllène (31)

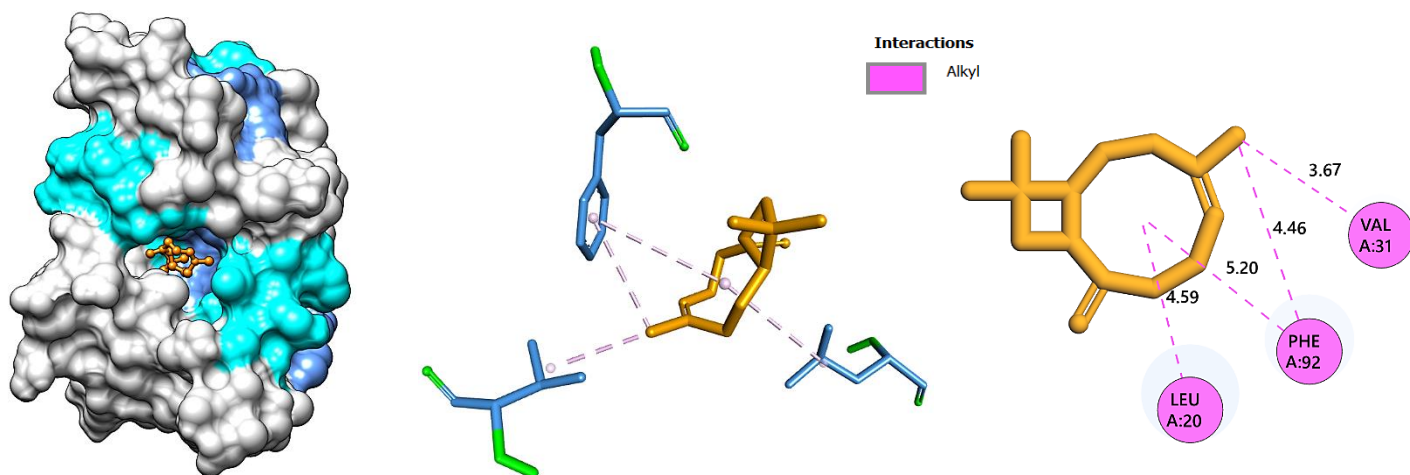


Fig. IV 14 : L'interaction : 6E4E – Cis-Caryophyllène en images 2D et 3G

g. Analyse de l'interaction : 6E4E – Germacrene D (36)

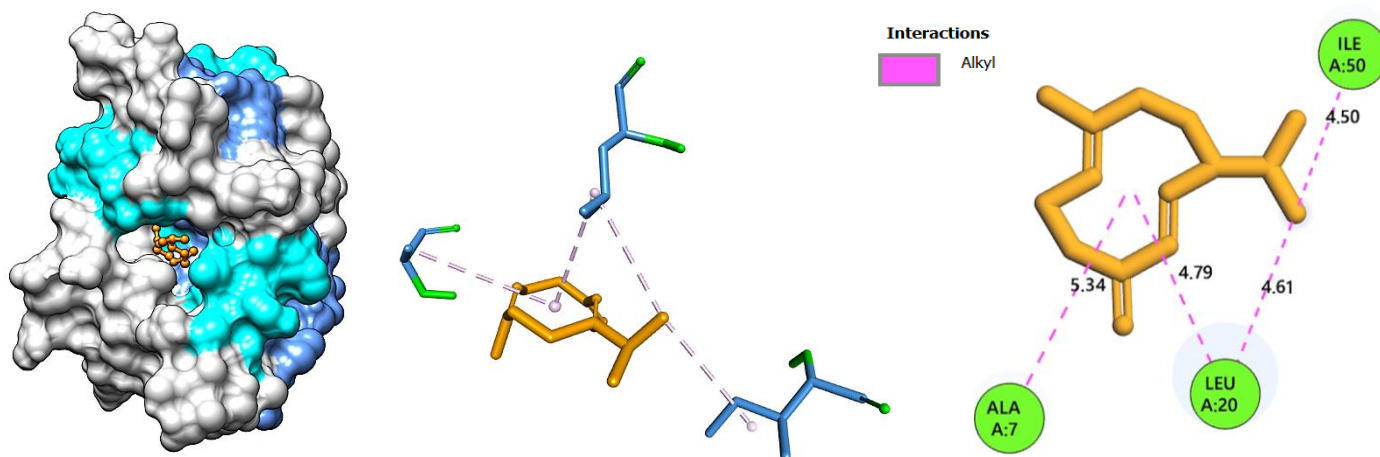


Fig. IV 15 : L'interaction : 6E4E – Germacrene D en images 2D et 3G

h. Analyse de l'interaction : 6E4E –  $\gamma$ -Myurolène (35)

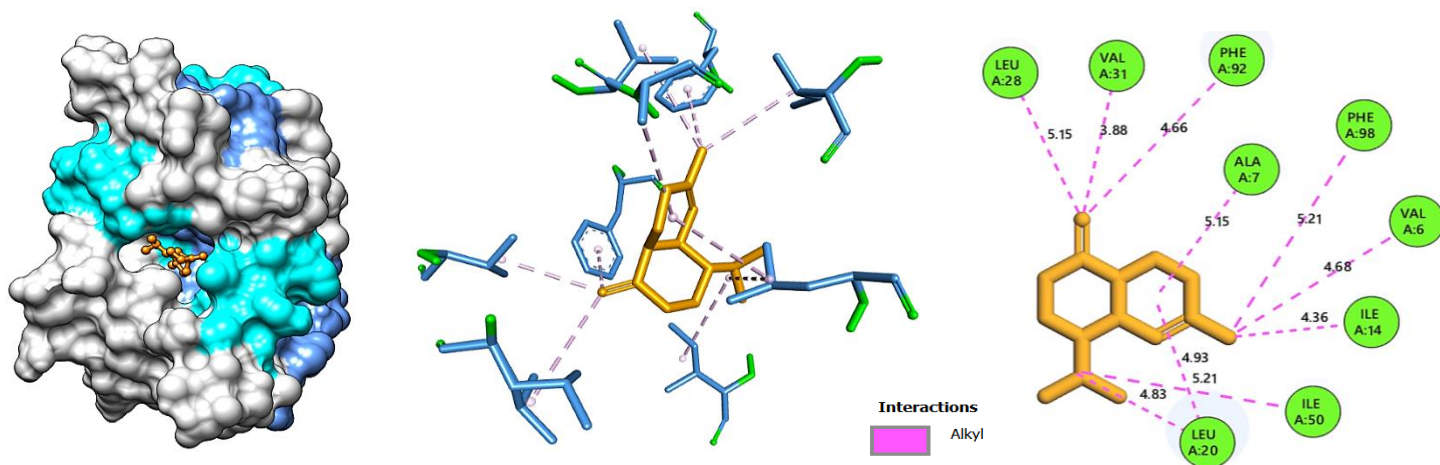


Fig. IV 16 : L'interaction : 6E4E –  $\gamma$ -Myurolène en images 2D et 3G

i. Analyse de l'interaction : 6E4E –  $\delta$ -Cadinene (39)

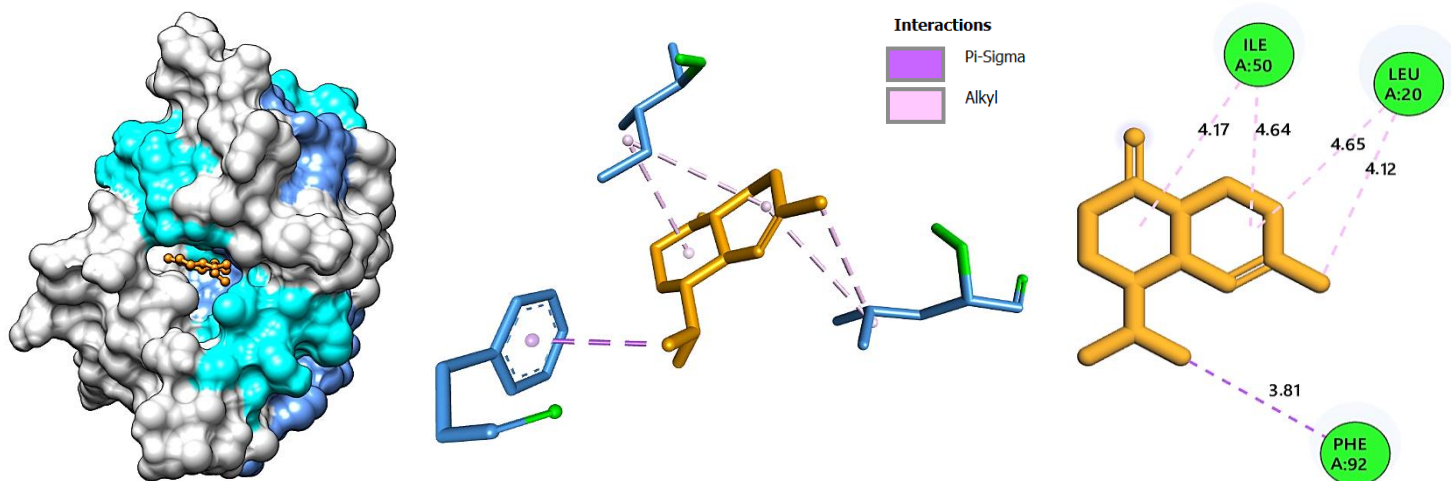


Fig. IV 17 : L'interaction : 6E4E –  $\gamma$ -Myurolène en images 2D et 3G

j. Analyse de l'interaction : 6E4E – Davana éther (38)

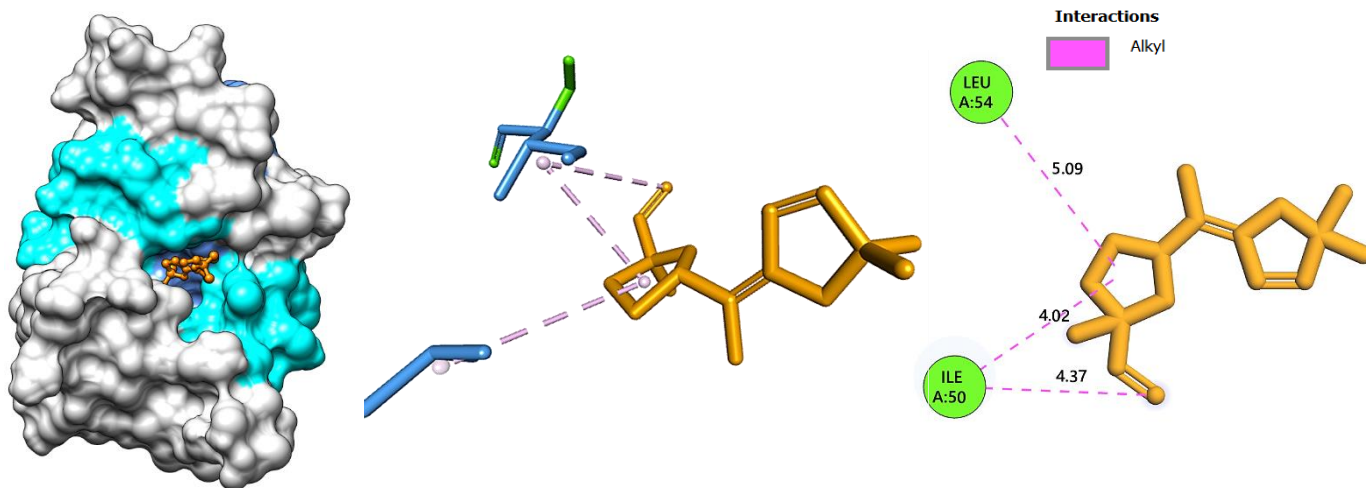


Fig. IV 18 : L'interaction : 6E4E – Davana éther en images 2D et 3D

k. Analyse de l'interaction : 6E4E – Artemisia alcool (14)

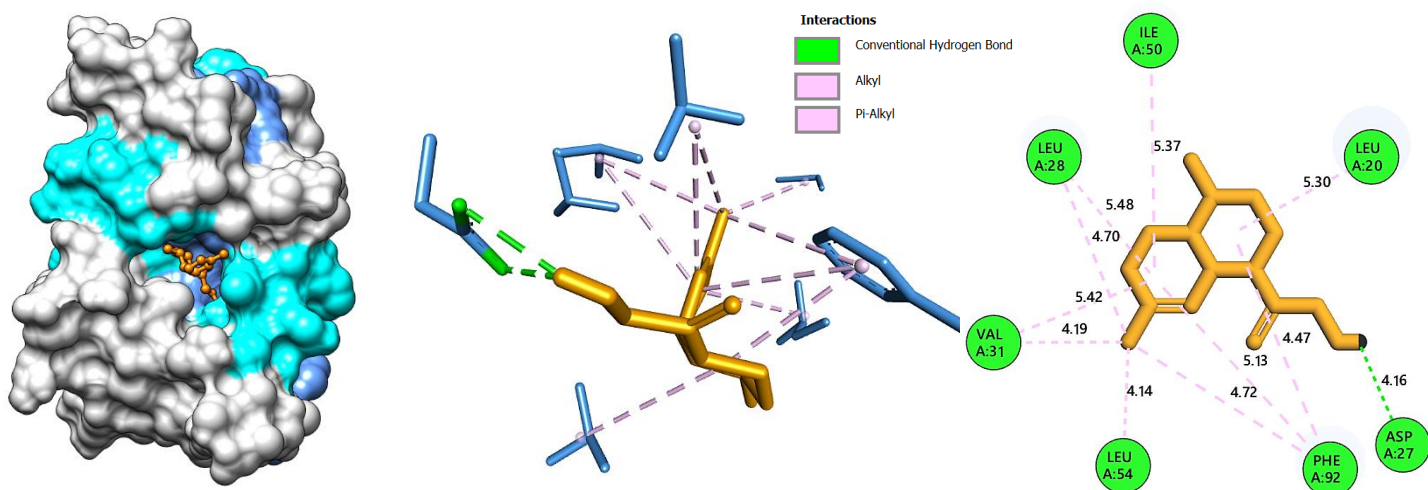


Fig. IV 19 : L'interaction : 6E4E – Artemisia alcool en images 2D et 3G

1. Analyse de l'interaction : 6E4E – Davanone (41)

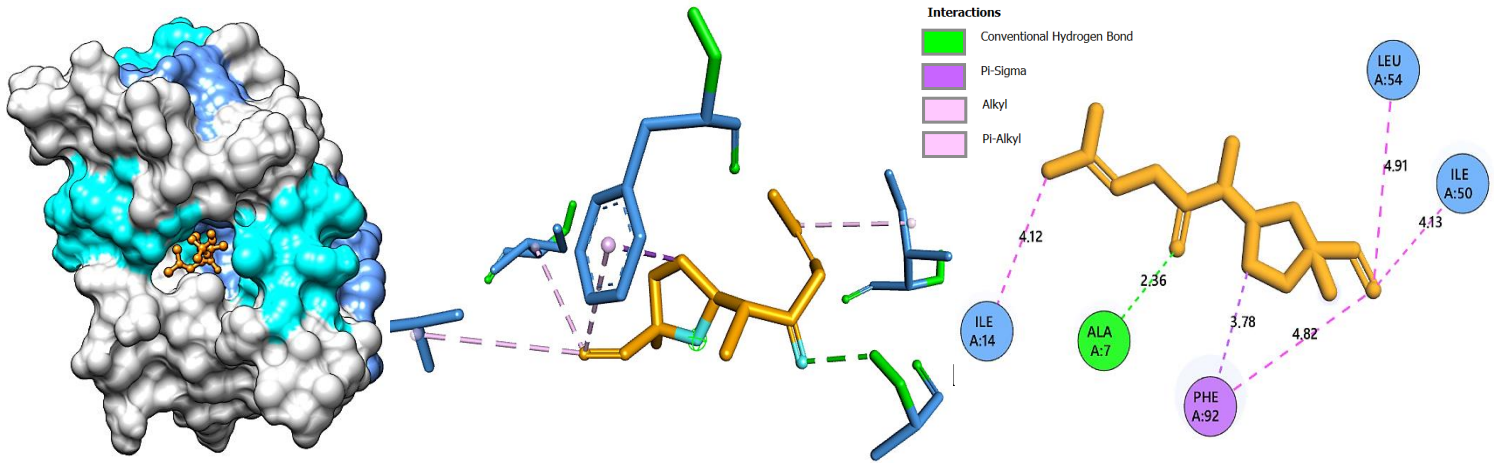
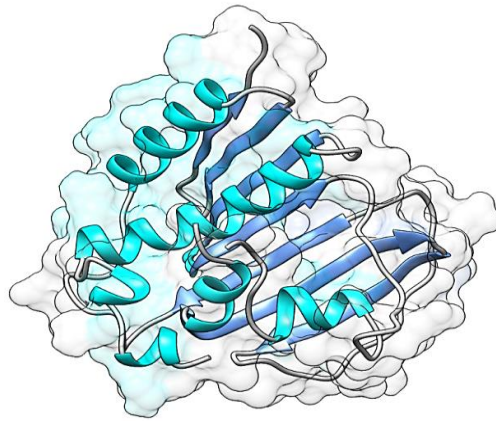


Fig. IV 20 : L'interaction : 6E4E – Davanone en images 2D et 3G

4.1.2. Cible thérapeutique : DNA Gyrase B (ID :4URM)

PDB ID : 4URM



DNA Gyrase B  
S. aureus

a. Analyse de l'interaction : 4URM – Viridiflorene (37)

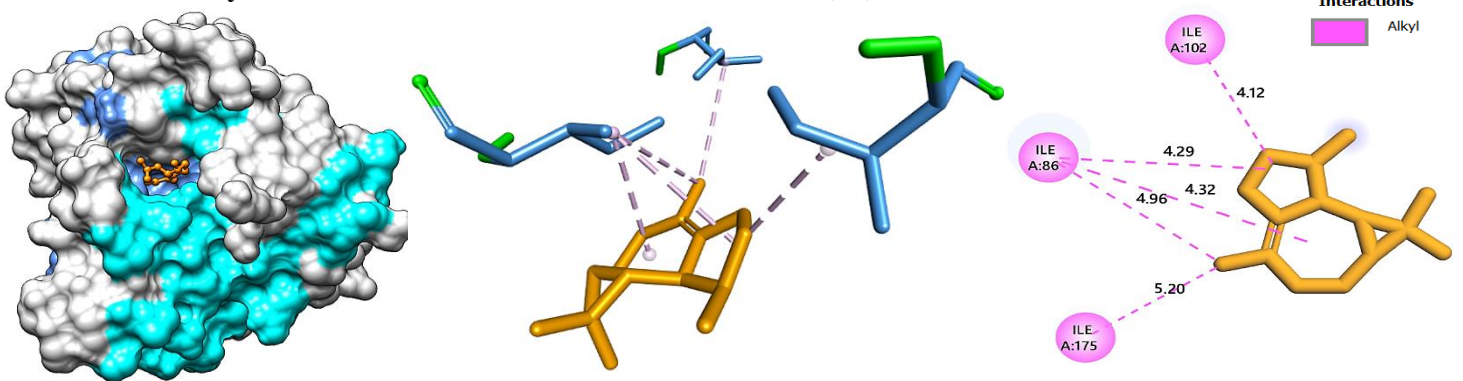


Fig. IV 21 : L'interaction : 4URM – Viridiflorene en images 2D et 3D

b. Analyse de l'interaction : 4URM – Germacrene D (36)

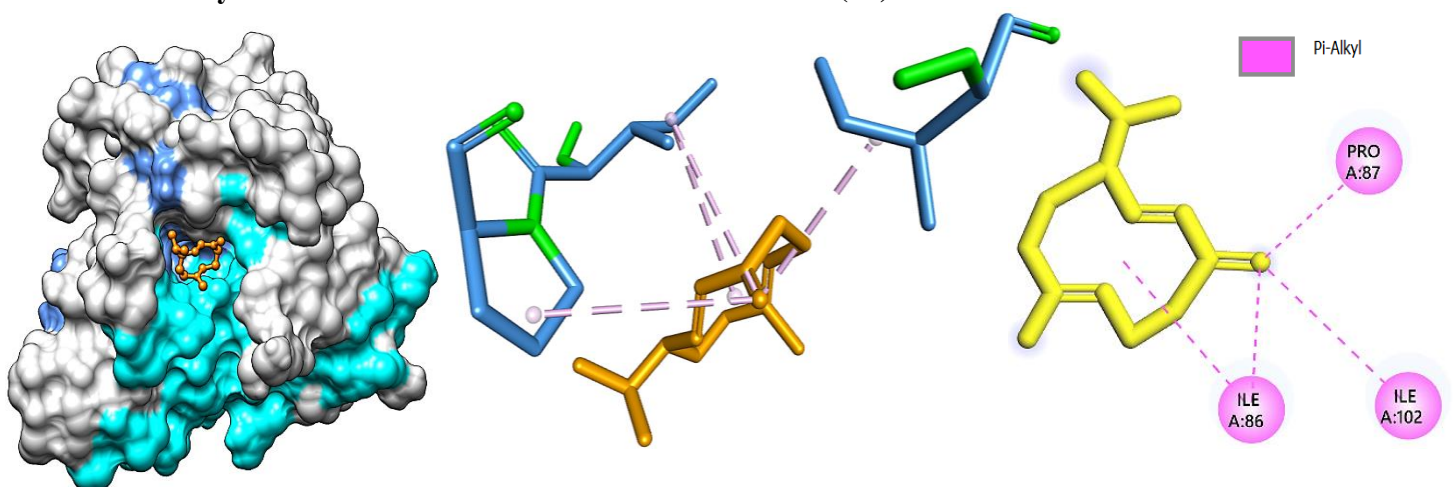
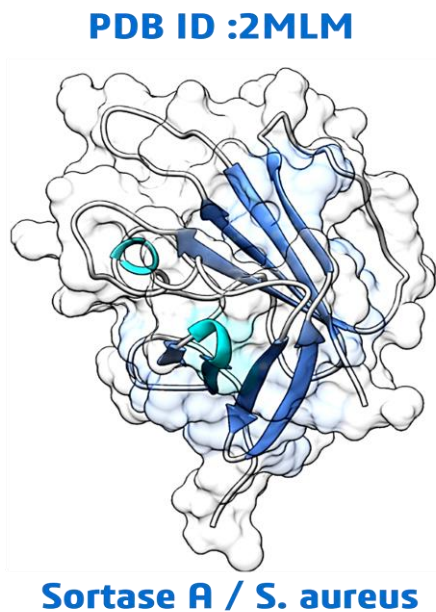


Fig. IV 22 : L'interaction : 4URM – Germacrene D en images 2D et 3D

4.1.3. Cible thérapeutique : Sortase A (ID :2MLM)



a. Analyse de l'interaction : 2MLM –  $\gamma$ -Muuroène (35)

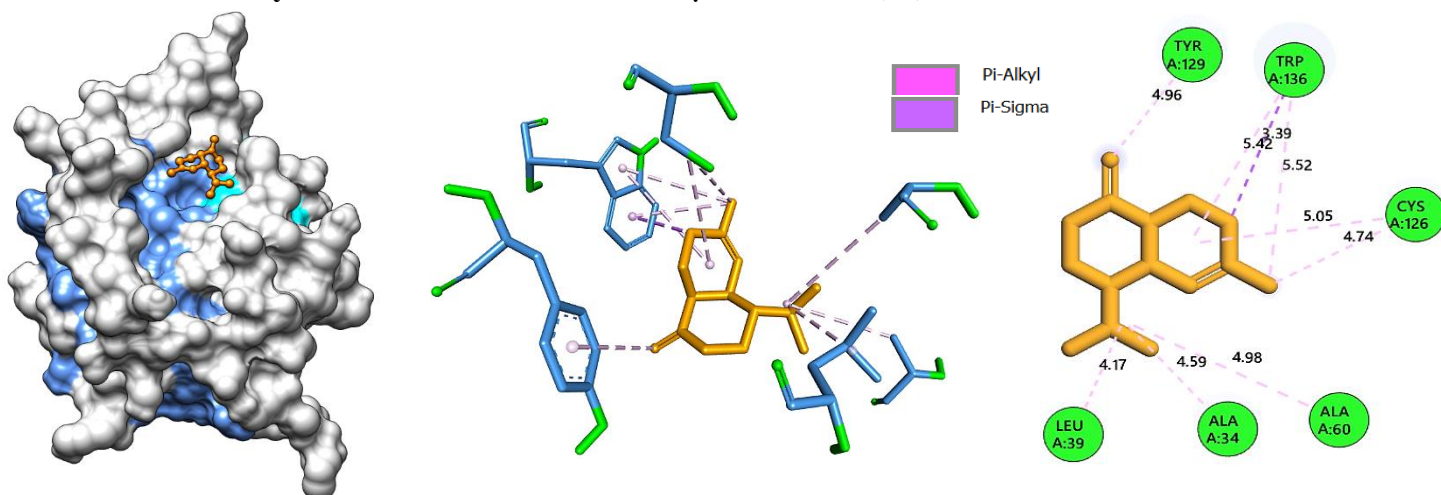


Fig. IV 23 : L'interaction : 2MLM –  $\gamma$ -Muuroène en images 2D et 3D

b. Analyse de l'interaction : 2MLM – Alloaromadendrene (34)

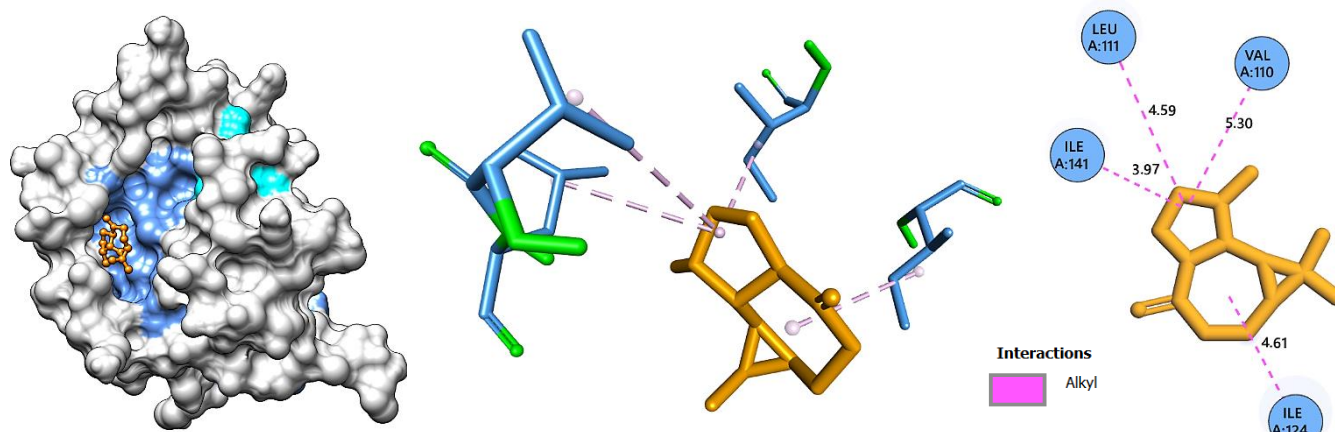


Fig. IV 24 : L'interaction : 2MLM – Alloaromadendrene en images 2D et 3D

c. Analyse de l'interaction : 2MLM – Aromadendrène (33)

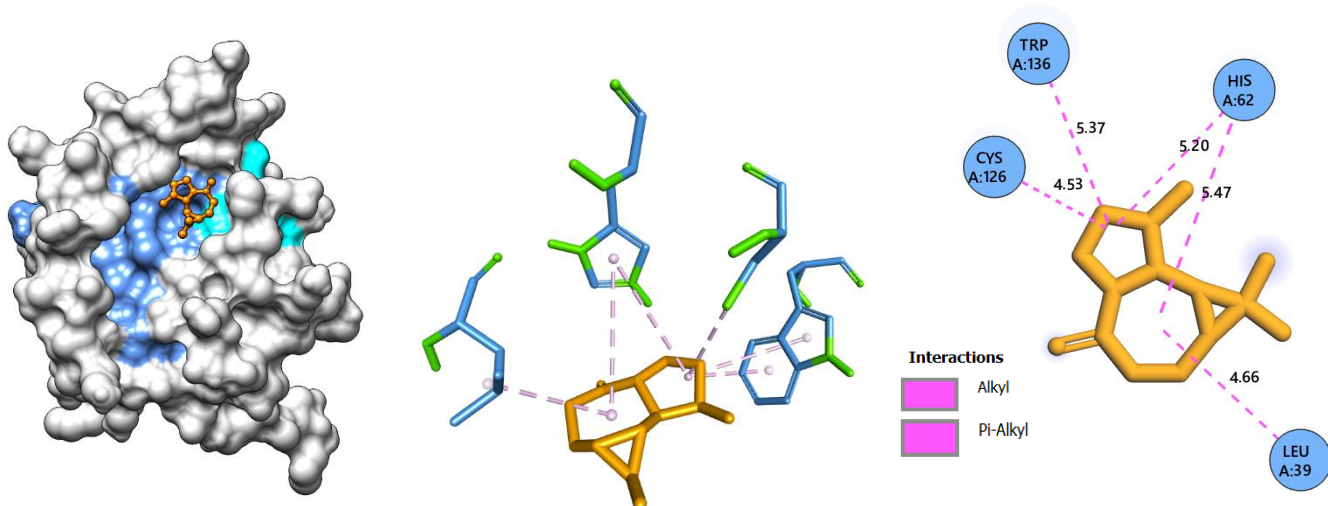


Fig. IV 25 : L'interaction : 2MLM – Aromadendrene en images 2D et 3D

*Staphylococcus aureus*, Cocci à gram positif, aero-anaérobie facultatif, est une bactérie fréquente à l'état commensal et pathogène. Elle peut être localisée sur la peau, le tube digestif, muqueuse et fosses nasales. Elle peut être responsable aux plusieurs infections cutanées, urinaire, sphère ORL (otites, sinusite, etc.). Elle peut participer aux infections nosocomiales dans les milieux hospitaliers et dans les intoxications alimentaires.

Plusieurs cibles thérapeutiques ont été signalé dans cette bactérie, nous avons sélectionné dans cette étude trois : Dihydrofolate réductase, DNA Gyrase B et la sortase A. le dihydrofolate réductase (EC : 1. 5. 1. 3 / PDB ID :6E4E) une enzyme clé dans le métabolisme des folates, elle catalyse des réactions de synthèse de novo des précurseurs de l'ADN comme la glycine et les purines. Le DNA gyrase B (EC :5. 6. 2. 2 / PDB ID :4URM) assure la rupture, le passage et la jonction de l'ADN en utilisant l'ATP. La troisième enzyme, Sortase A (EC :3. 4. 22. 70 / PDB ID : 2MLM) est une trans-peptidase qui permet l'ancrage des protéines de surface à la paroi cellulaire. Ces trois cibles ont été mise en contact avec les 42 molécules de notre échantillon dans une plateforme virtuelle de docking moléculaire afin de comprendre les cibles et les molécules les plus actives et par conséquent construire une idée claire sur le mécanisme antibactérien de notre échantillon.

Les résultats obtenus ont montré une bonne affinité d'interaction entre plusieurs ligands testés vis-à-vis les cibles thérapeutiques, 12 ligands, parmi la totalité, ont donné une bonne affinité vis-à-vis dihydrofolate réductase, 3 et 2 ligands vis avis sortase B et DNA Gyrase B respectivement. L'analyse de ces interactions en 3D et en 2D a montré l'intervention de plusieurs liaisons réversibles qui sont subdivisées en trois catégories, les liaisons hydrophobes dans la majorité des cas, les liaisons d'hydrogènes en deuxième position et les liaisons électrostatiques.

Il est clair de noter que l'hydrofolate réductase est une cible thérapeutique essentielle dans les mécanismes d'action de notre échantillon afin d'inhiber la croissance de la bactérie *S. aureus*, les molécules Aromadendrène, Alloaromadendrène, Spathuléol, Viridiflorene, Viridiflorol, *cis*-Caryophyllène ont donné les meilleurs scores (affinité supérieure à -8 kcal/mol).

4.2.L'interaction avec les cibles thérapeutiques de *E. coli* (Souche clinique)

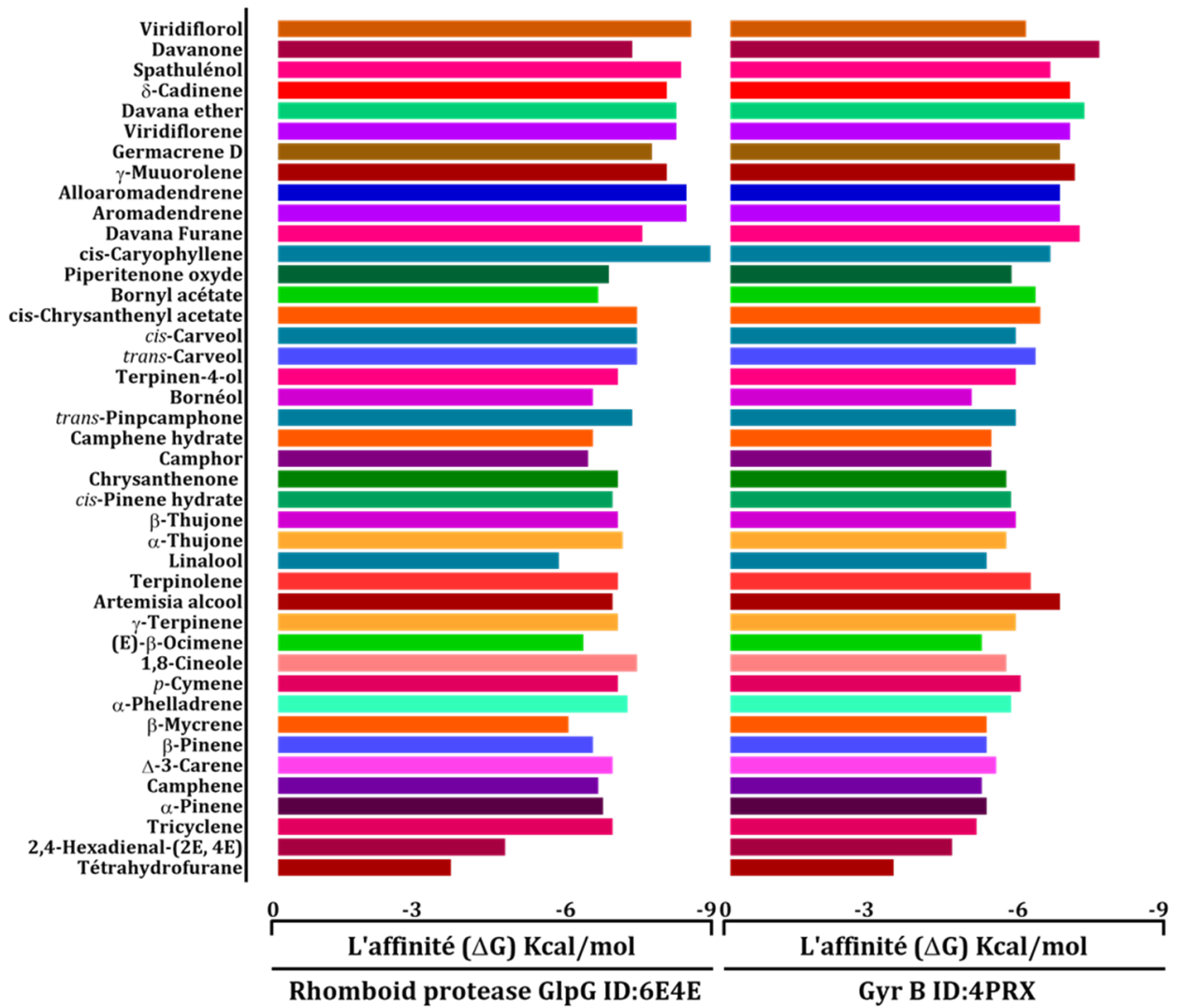


Fig. IV 26 : l'affinité des molécules vis avis les cibles thérapeutiques de *E. coli*

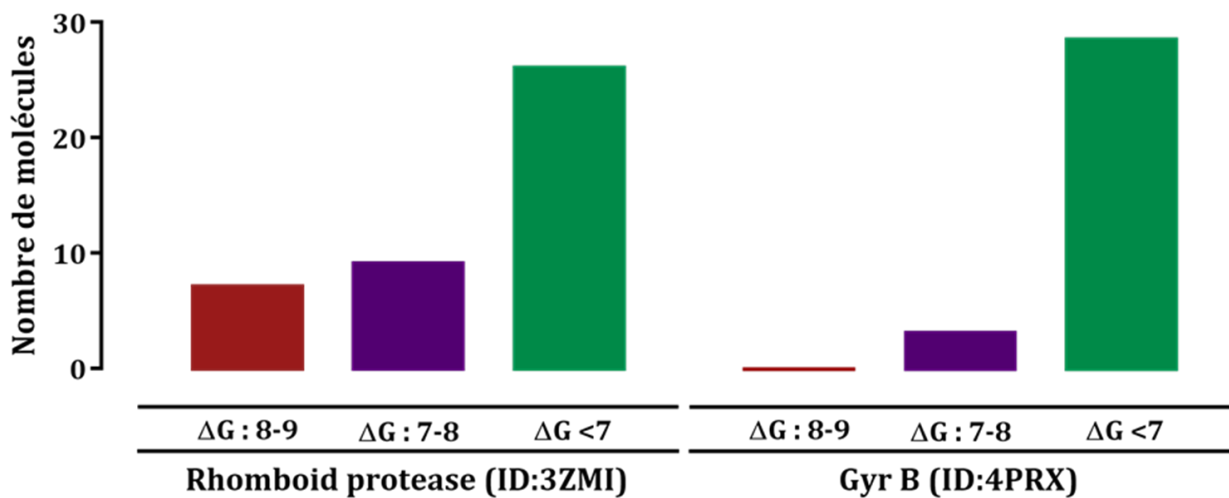
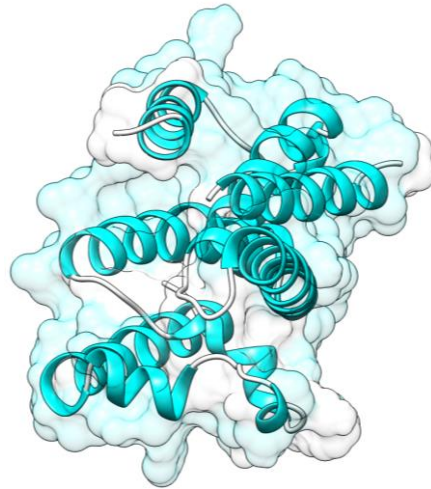


Fig. IV 26 : Classification de l'affinité des molécules pour chaque cible de *E. coli*

4.2.1. Cible thérapeutique : Rhomboid protease GlpG (ID :3ZMI)

PDB ID :3ZMI



Rhomboid protease GlpG  
*E. coli*

a. Analyse de l'interaction : 3ZMI – cis-Caryophyllène (31)

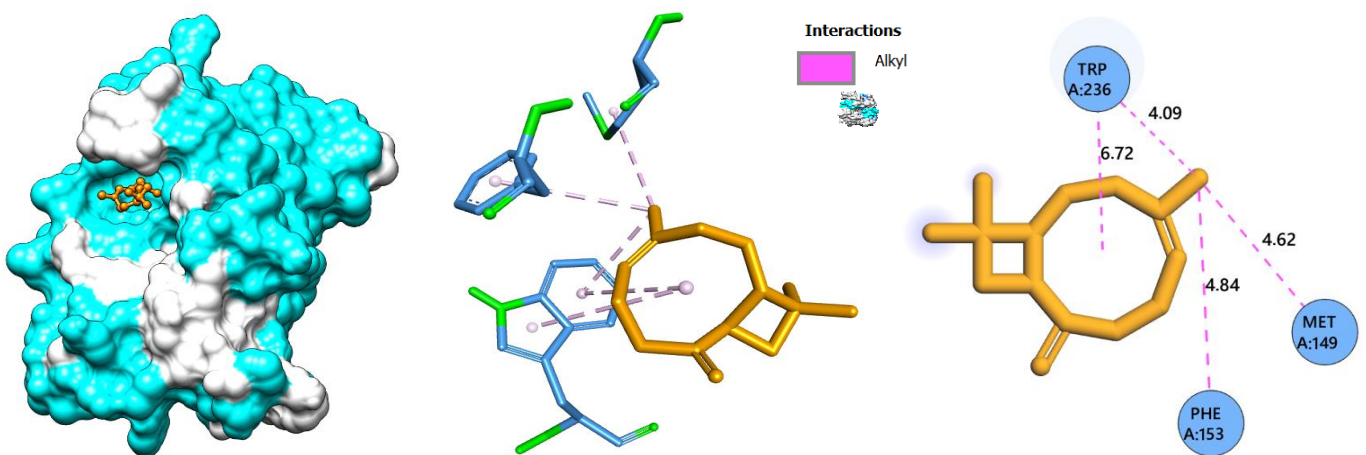


Fig. IV 27 : L'interaction : 3ZMI – cis-Caryophyllène en images 2D et 3D

b. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Viridiflorol (42)

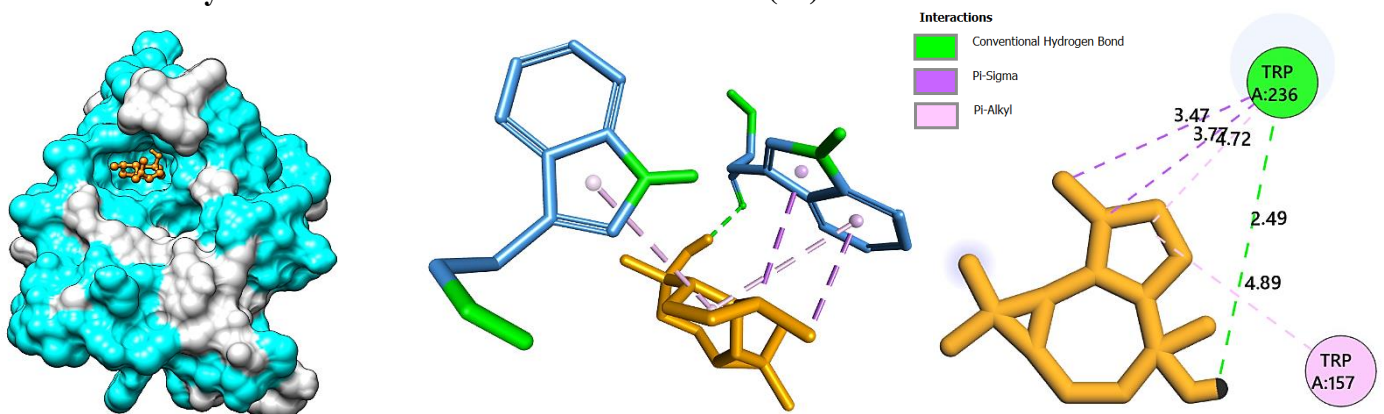


Fig. IV 28 : L'interaction : 3ZMI – cis-Caryophyllène en images 2D et 3D

d. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Aromadendrène (33)

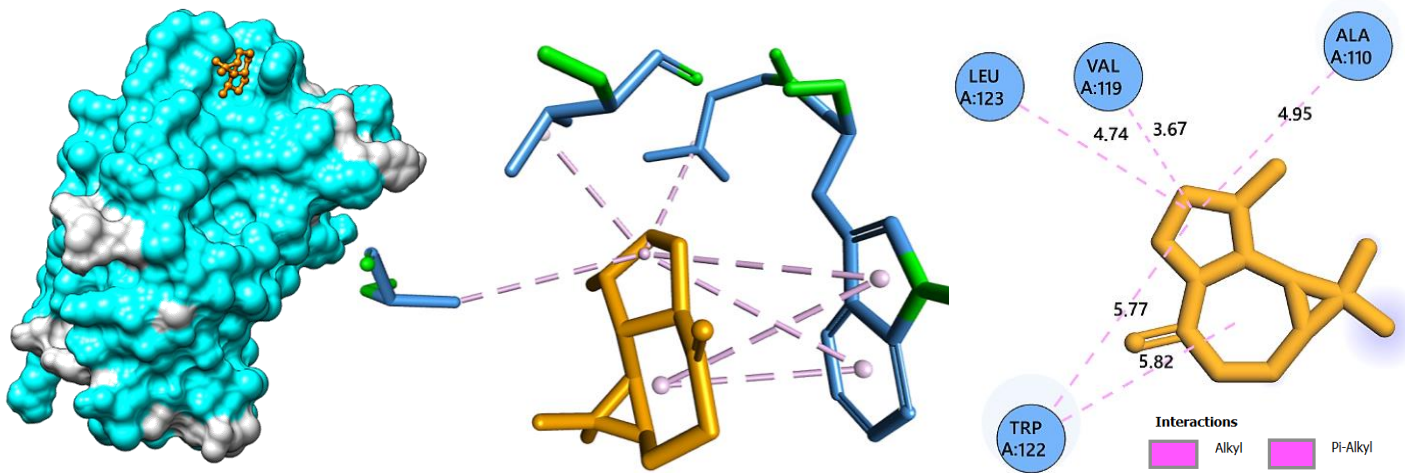


Fig. IV 29 : L'interaction : 3ZMI – Aromadendrène en images 2D et 3D

e. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Alloaromadendrène (34)

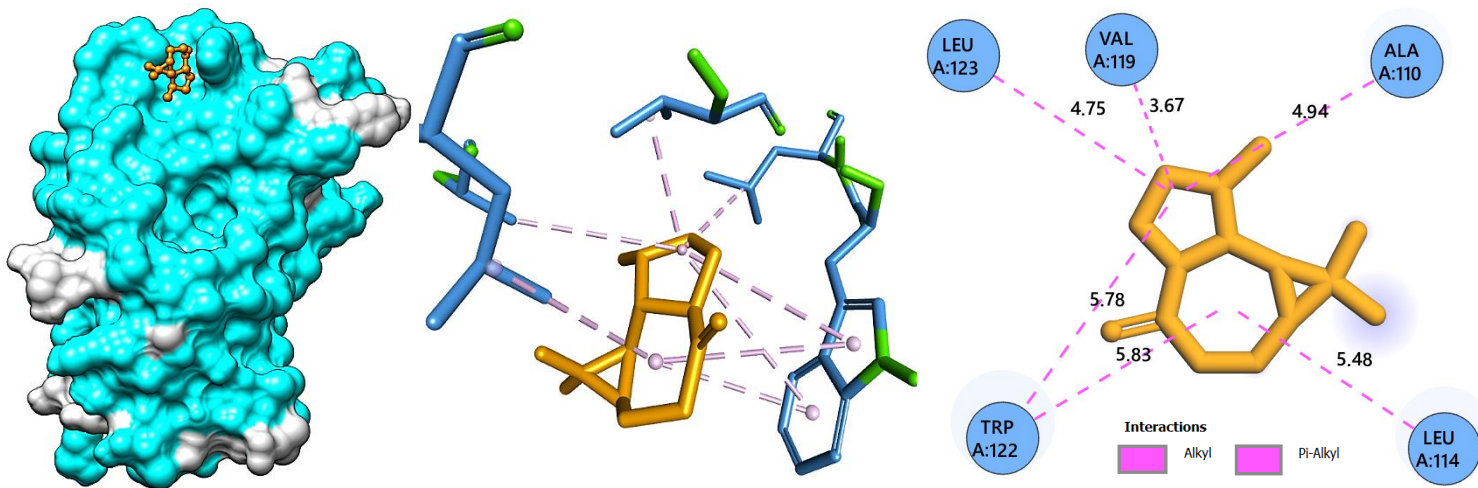


Fig. IV 30 : L'interaction : 3ZMI – Alloaromadendrène en images 2D et 3D

f. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Spathuléol (40)

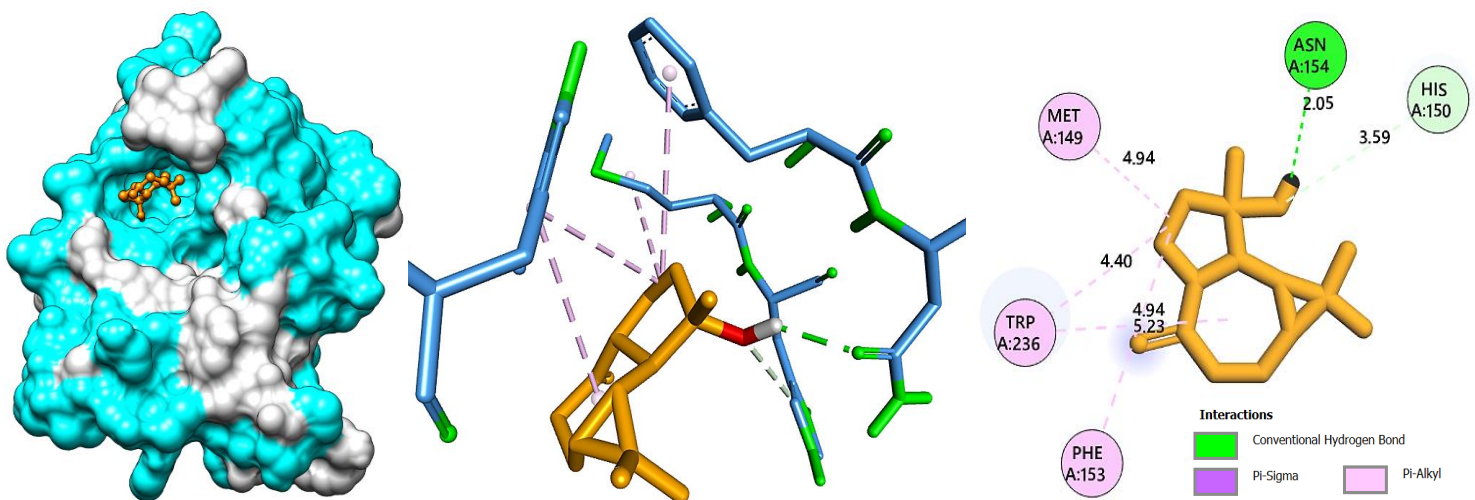


Fig. IV 31 : L'interaction : 3ZMI – Spathuléol en images 2D et 3D

g. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Viridiflorene (37)

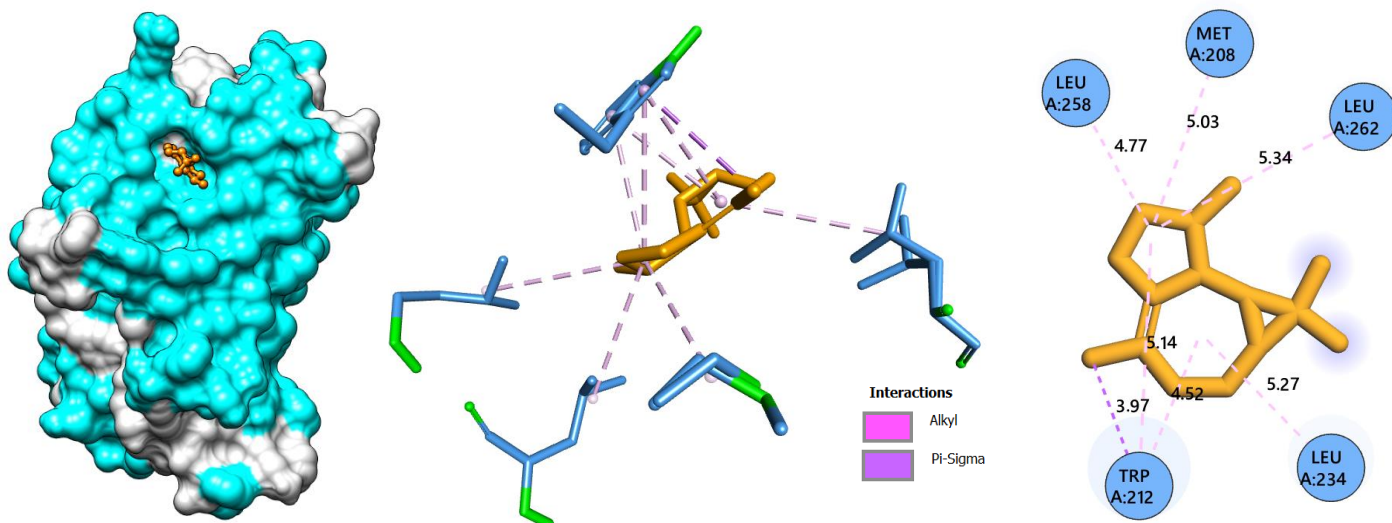


Fig. IV 32 : L'interaction : 3ZMI – Spathuléol en images 2D et 3D

h. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Davana éther (38)

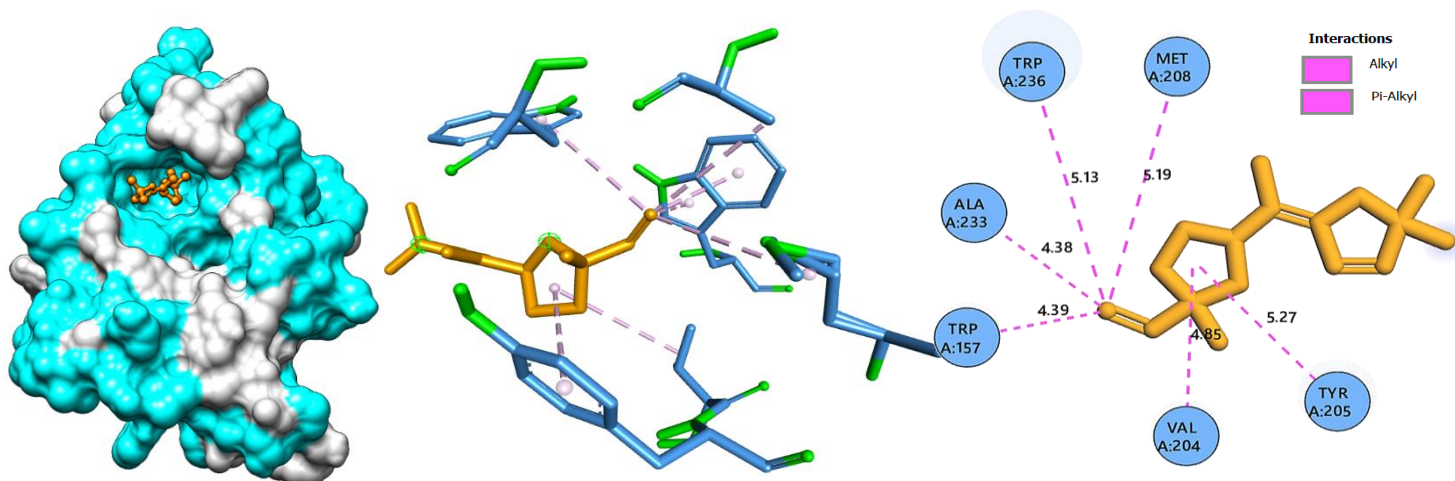


Fig. IV 33 : L'interaction : 3ZMI – Davana éther en images 2D et 3D

i. Analyse de l'interaction : 3ZMI –  $\delta$ -Cadinene (39)

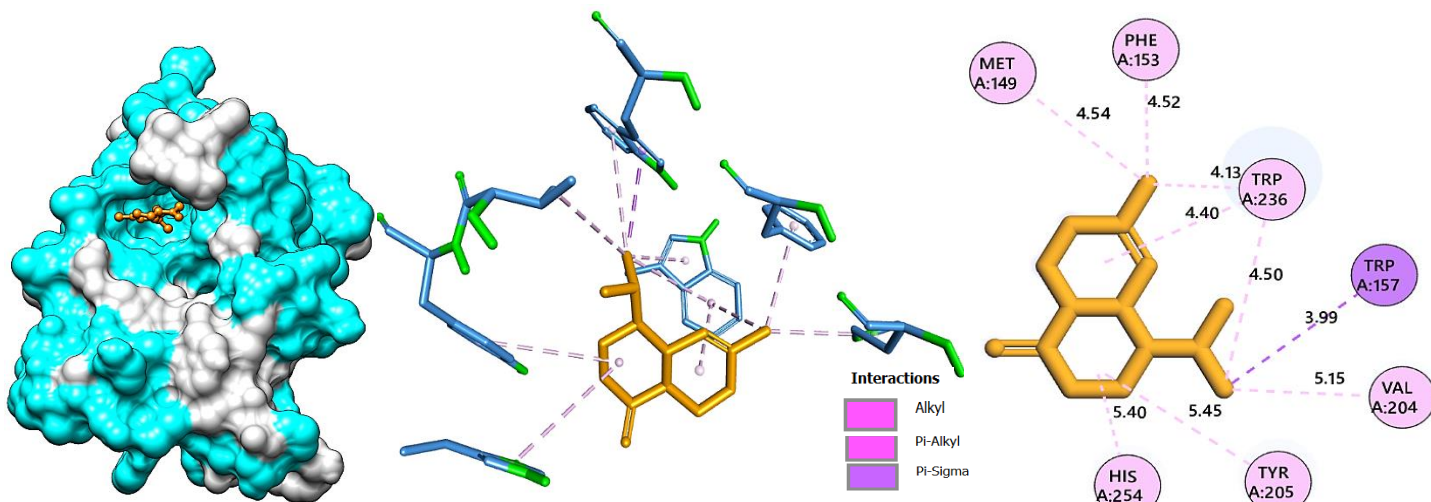


Fig. IV 34 : L'interaction : 3ZMI –  $\delta$ -Cadinene en images 2D et 3D

j. Analyse de l'interaction : 3ZMI –  $\gamma$ -Muurolène (35)

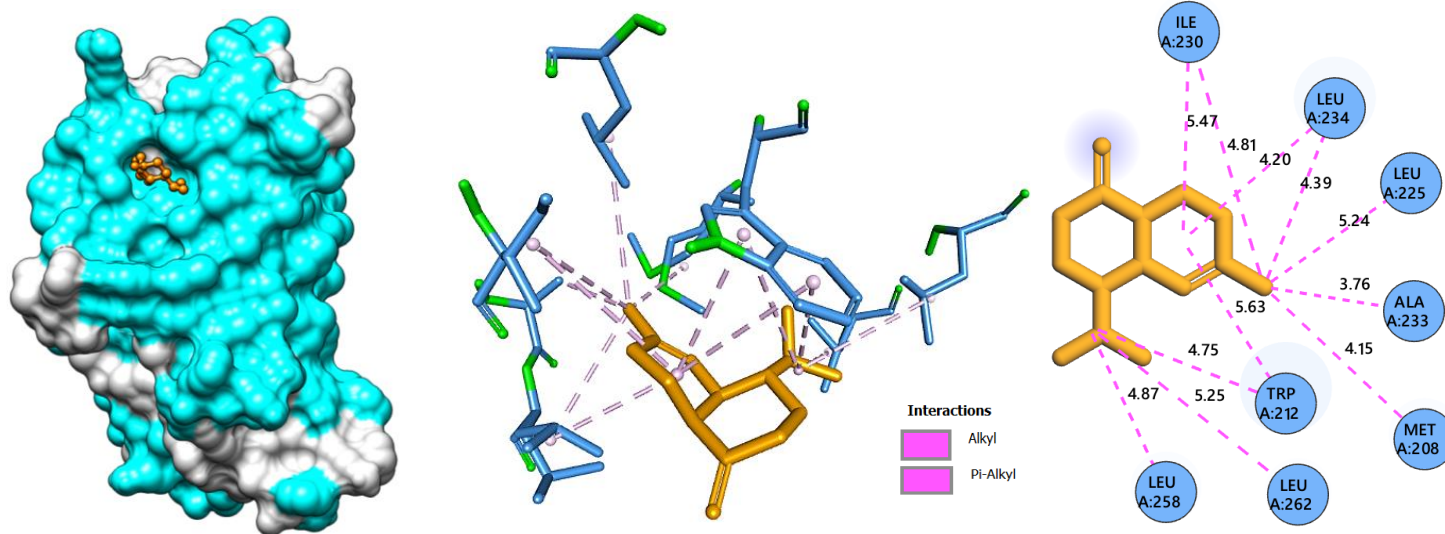


Fig. IV 35 : L'interaction : 3ZMI –  $\gamma$ -Muurolène en images 2D et 3D

k. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Germacrene D (36)

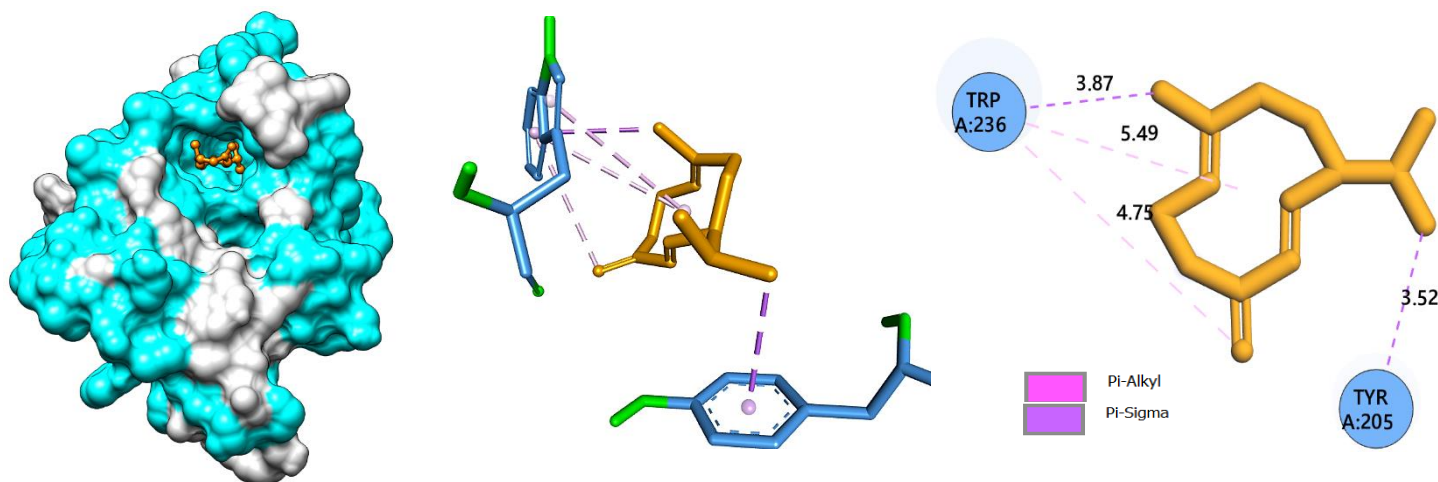


Fig. IV 36 : L'interaction : 3ZMI – Germacrene D en images 2D et 3D

l. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Davana furane (32)

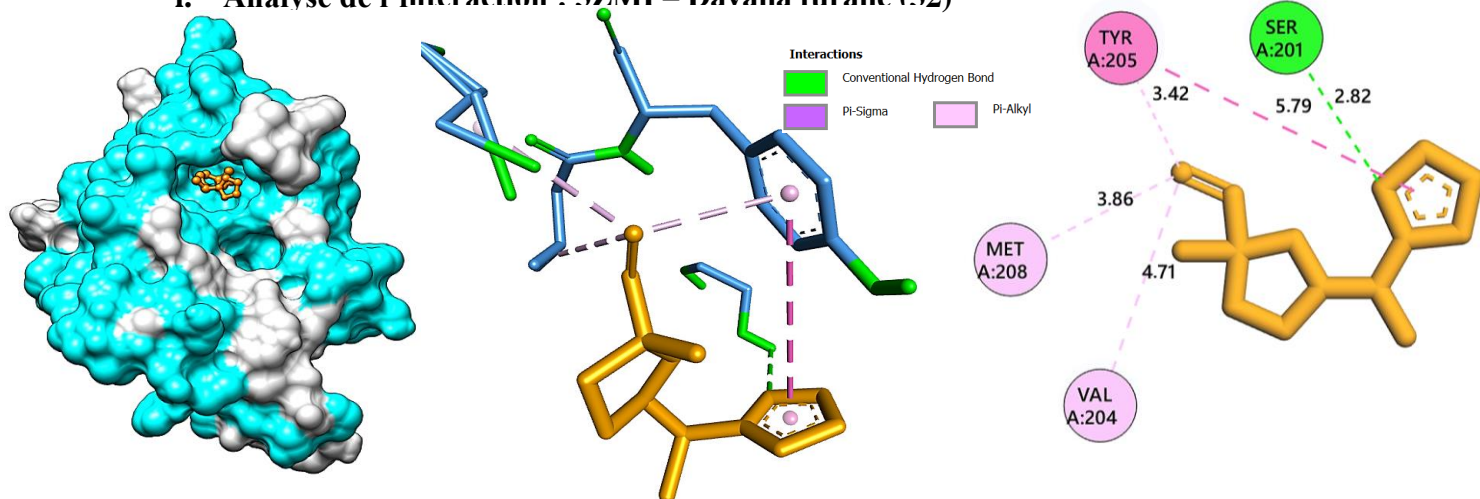


Fig. IV 37 : L'interaction : 3ZMI – Davana furane en images 2D et 3D

m. Analyse de l'interaction : 3ZMI – 1,8-Cinéole (11)

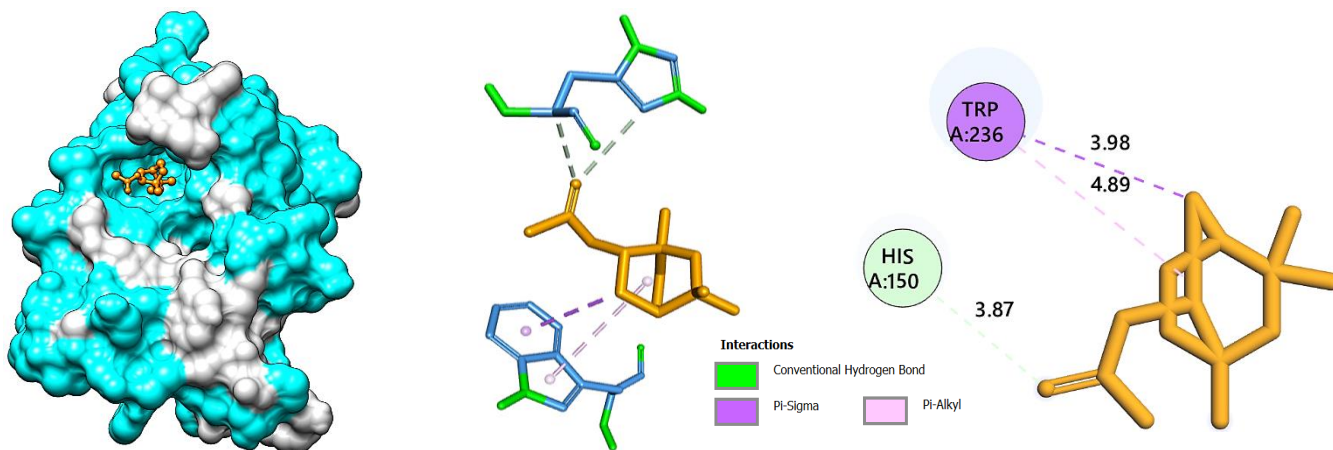


Fig. IV 38 : L'interaction : 3ZMI – 1,8-Cinéole en images 2D et 3D

n. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Terpinen-4-ol (25)

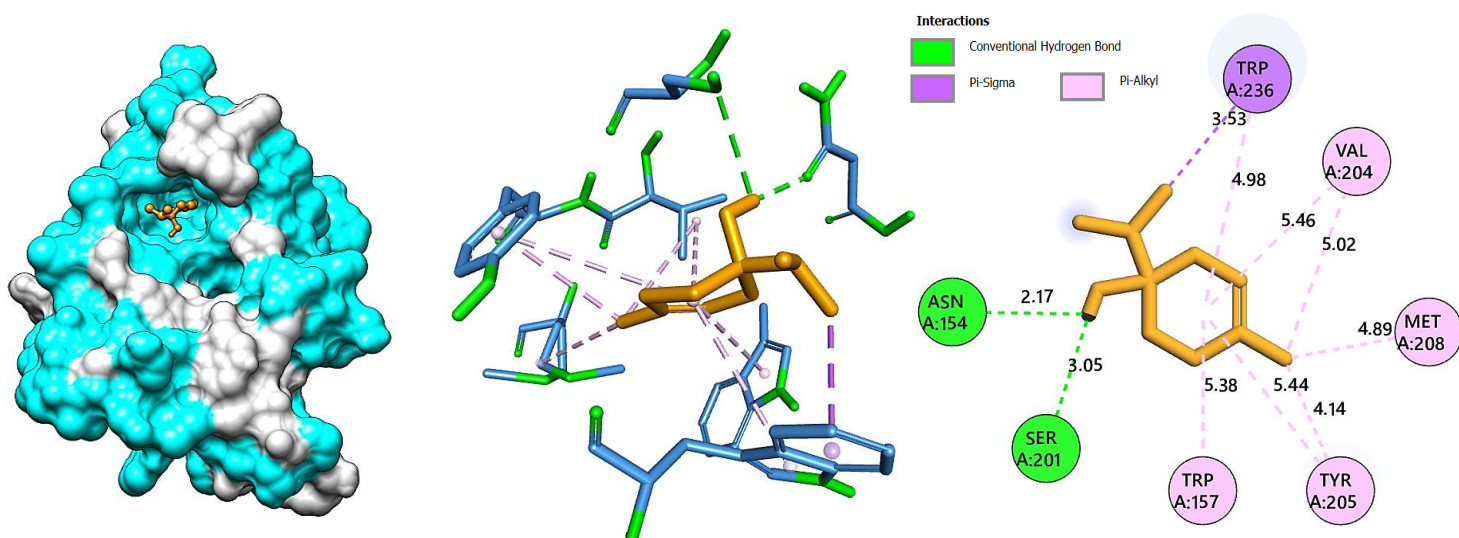


Fig. IV 39 : L'interaction : 3ZMI – Terpinen-4-ol en images 2D et 3D

o. Analyse de l'interaction : 3ZMI – cis-Carveol (26)

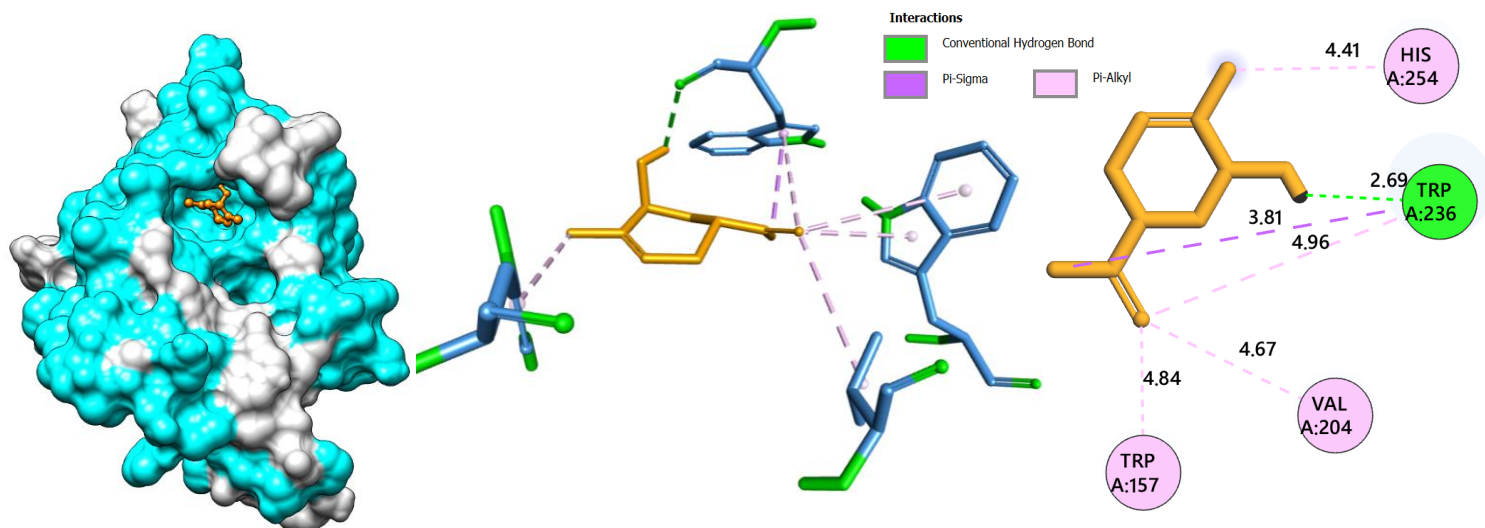


Fig. IV 40 : L'interaction : 3ZMI – cis-Carveol en images 2D et 3D

p. Analyse de l'interaction : 3ZMI – cis-Chrysanthenyl acétate (27)

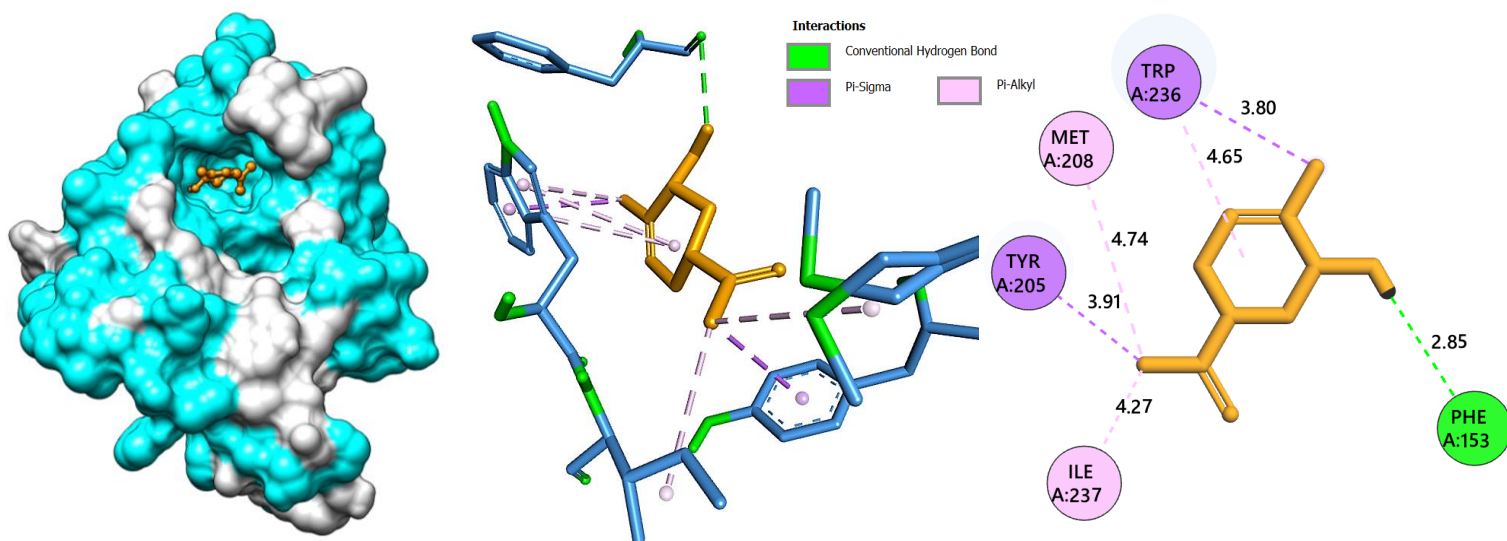


Fig. IV41 : L'interaction : 3ZMI – cis-Chrysanthenyl acétate en images 2D et 3D

q. Analyse de l'interaction : 3ZMI – trans-Pinocamphone (23)

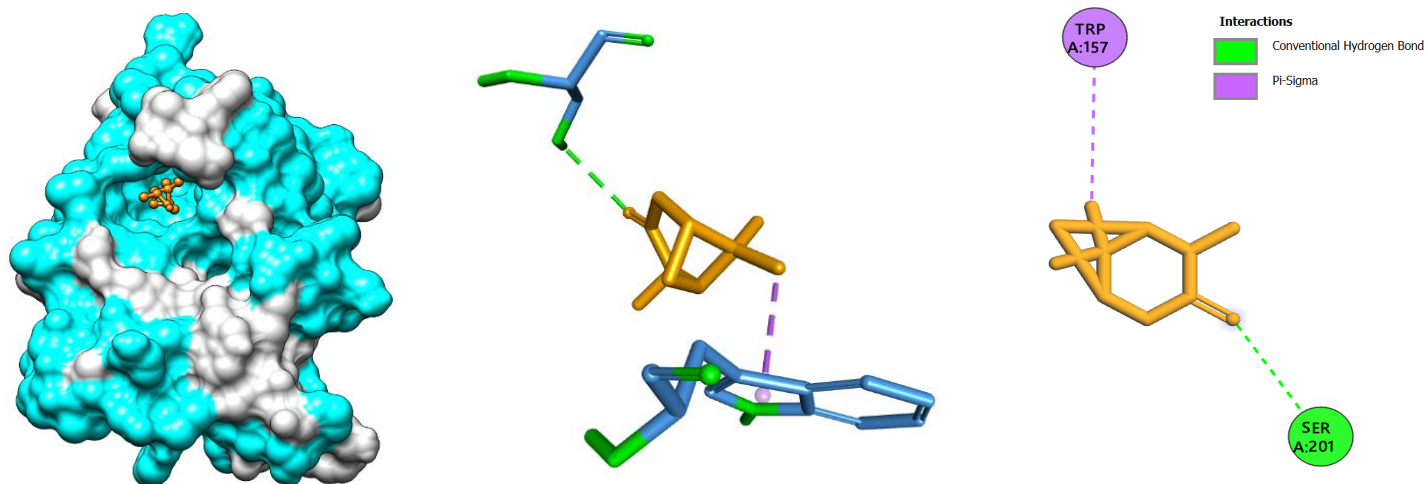


Fig. IV 42 : L'interaction : 3ZMI – trans-Pinocamphone en images 2D et 3D

r. Analyse de l'interaction : 3ZMI – Davanone (41)

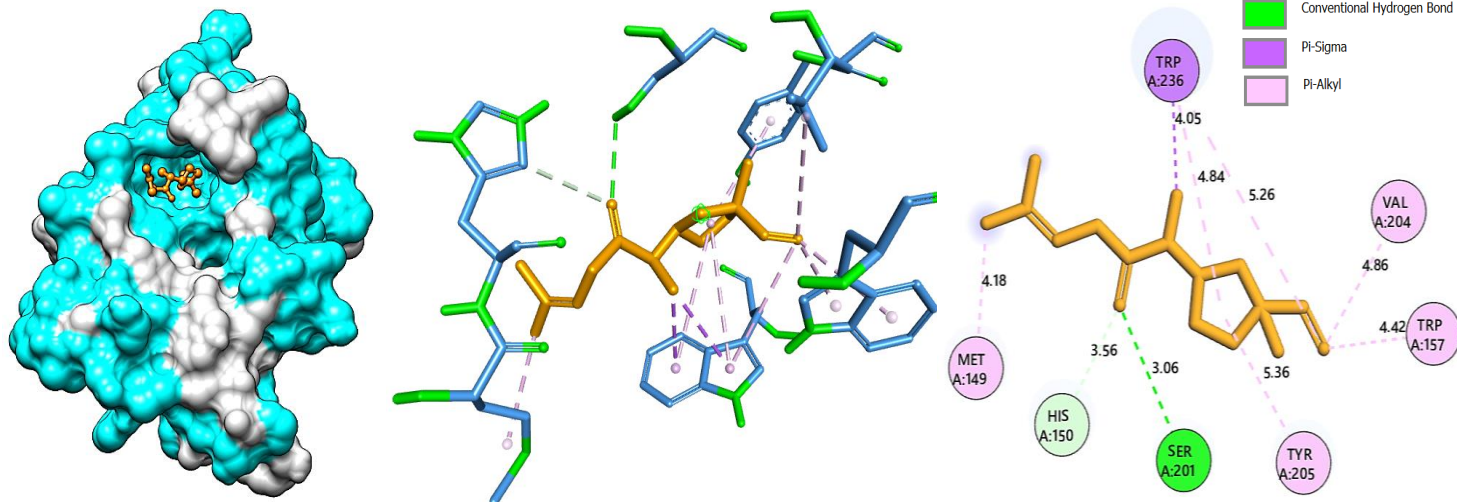


Fig. IV 43 : L'interaction : 3ZMI – Davanone en images 2D et 3D

s. Analyse de l'interaction : 3ZMI –  $\alpha$ -Phellandrène (09)

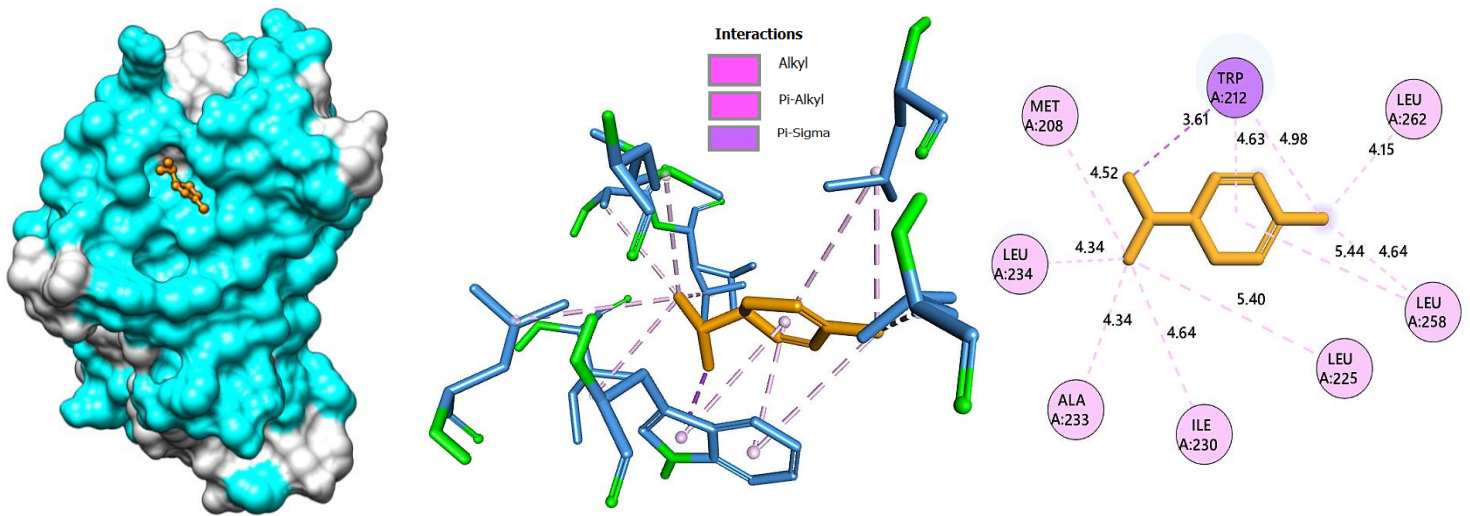


Fig. IV 44 : L'interaction : 3ZMI –  $\alpha$ -Phellandrène en images 2D et 3D

t. Analyse de l'interaction : 3ZMI –  $\alpha$ -Thujone (17)

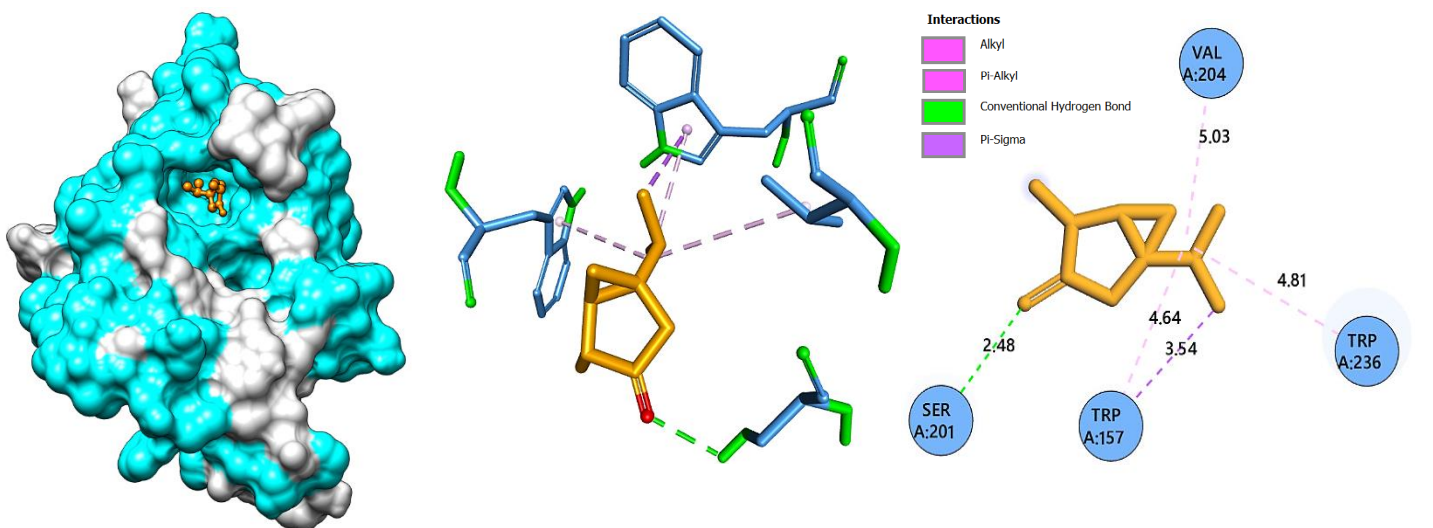
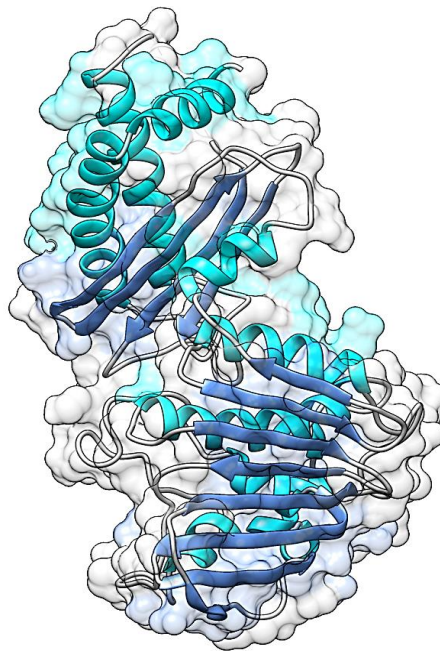


Fig. IV 45 : L'interaction : 3ZMI –  $\alpha$ -Thujone en images 2D et 3D

4.2.2. Cible thérapeutique : GyrB (ID :4PRX)

PDB ID : 4PRX



Gyr B – *E. coli*

a. Analyse de l'interaction :4PRX – Davanone (41)

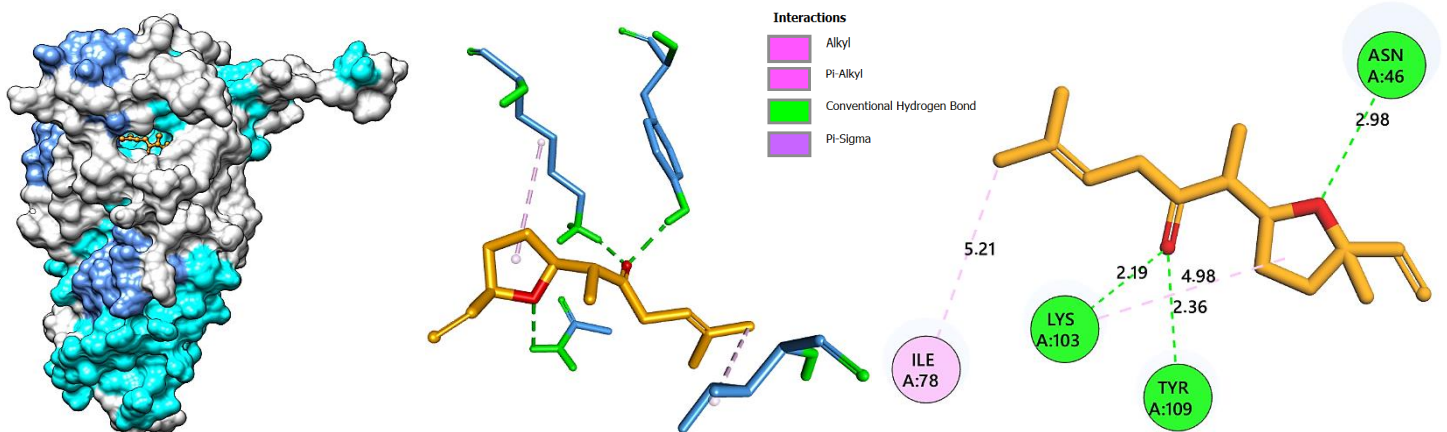


Fig. IV 46 : L'interaction : 4PRX – Davanone en images 2D et 3D

b. Analyse de l'interaction : 4PRX – Davana éther (38)

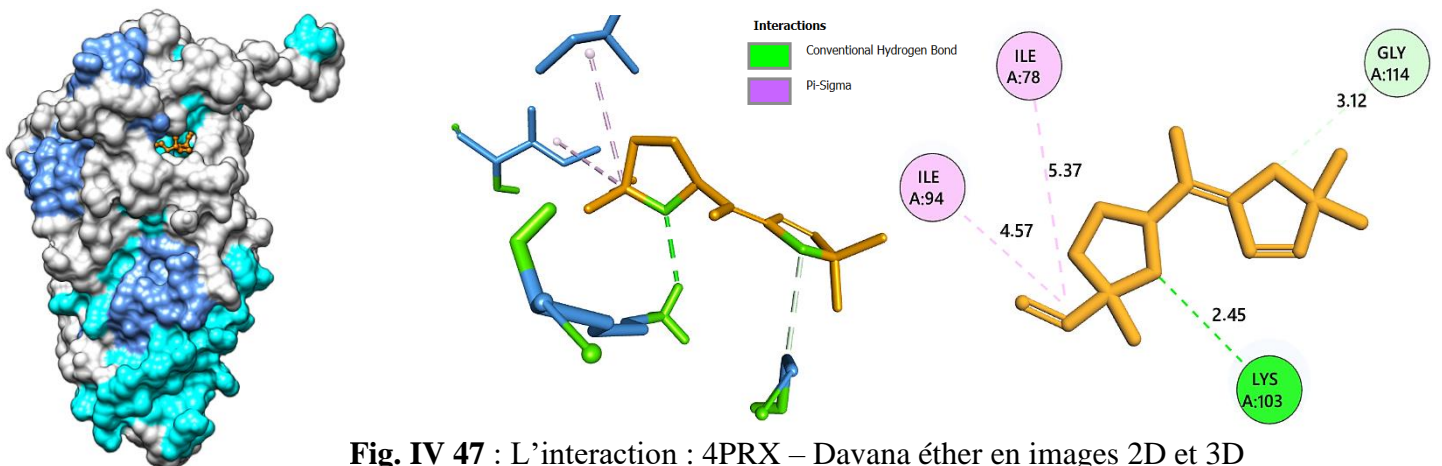


Fig. IV 47 : L'interaction : 4PRX – Davana éther en images 2D et 3D

La bactérie *Escherichia coli* est, une espèce pathogène, Gram négatif largement disséminée, elle participe dans une large gamme d'infections urinaires, cutanées, entériques, sphère ORL et autres. Cette bactérie peut provoquer des prostatites et des maladies pelviennes inflammatoires. Plusieurs souches sont responsables à une bactériémie ou une méningite particulièrement chez les nouveaux nés et les nourrissons prématurés.

Deux cibles thérapeutiques ont été sélectionné pour comprendre le mécanisme antimicrobien de notre huile essentielle, protéase Rhomboïde (EC :3. 4. 21. 105 / PDB ID : 3ZMI) et Gyr B (EC : 5. 6. 2. 2 / PDB ID : 4PRX). La première est une enzyme qui clive les domaines transmembranaires en utilisant le dyade catalytique (Serine, histidine). Le GyrB permet la rupture, le passage et la jonction de la molécule d'ADN. Ces deux protéines ont été mis en contact avec les 42 composants de notre échantillon afin de déterminer les ligands les plus interactifs.

Une bonne affinité a été enregistré entre 19 ligands et la première protéine cible, la protéase rhomboïde. Le meilleur score est pour le ligand Cis-Caryophyllène avec un score -8,8 kcal/mol. Parallèlement, des affinités modérées ont été enregistrées vis-à-vis la deuxième cible, seulement quatre molécules qui ont dépassé le niveau de -7 Kcal/mol, ce qui rend la protéase rhomboïde un une cible intéressante par rapport nos composés. En plus, le caractère apolaire de l'huile étudiée a permis d'établir des liaisons de type hydrophobique dans la majorité des interactions étudiées, tandis que les autres types d'interactions, y inclue les interactions hydrogènes, ont été minoritaires.

4.3.L'interaction avec les cibles thérapeutiques de *Pseudomonas aeruginosa*

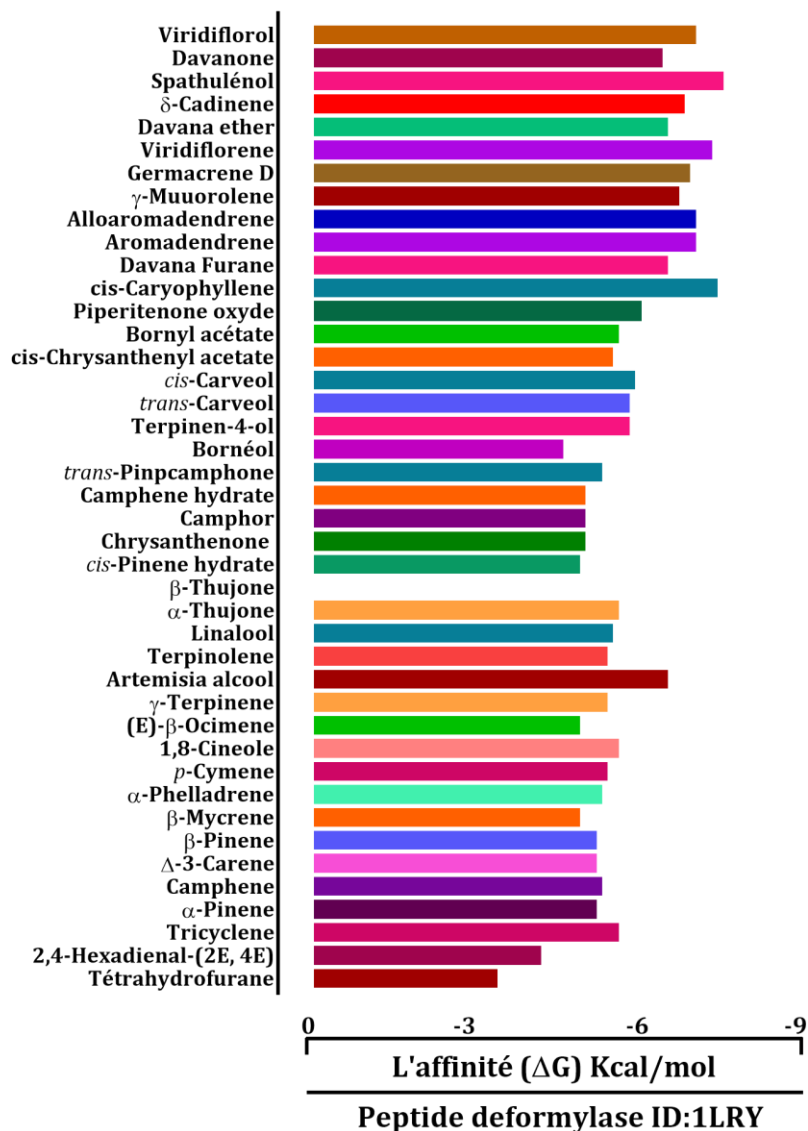


Fig. IV 48 : l'affinité des molécules vis avis les cibles thérapeutiques de *P. aeruginosa*

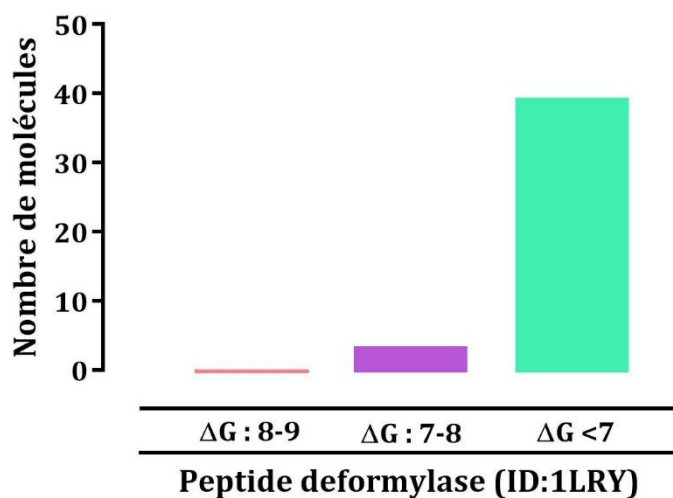
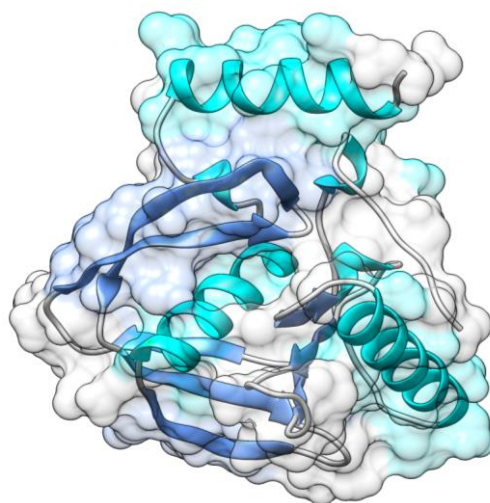


Fig. IV 49 : Classification de l'affinité des molécules pour chaque cible de *P. aeruginosa*

4.3.1. Cible thérapeutique : Peptide Deformylase (ID :1LRY)

PDB ID : 1LRY



Peptide deformylase / *P. aeruginosa*

a. Analyse de l'interaction :1LRY – cis-Caryophyllène (31)

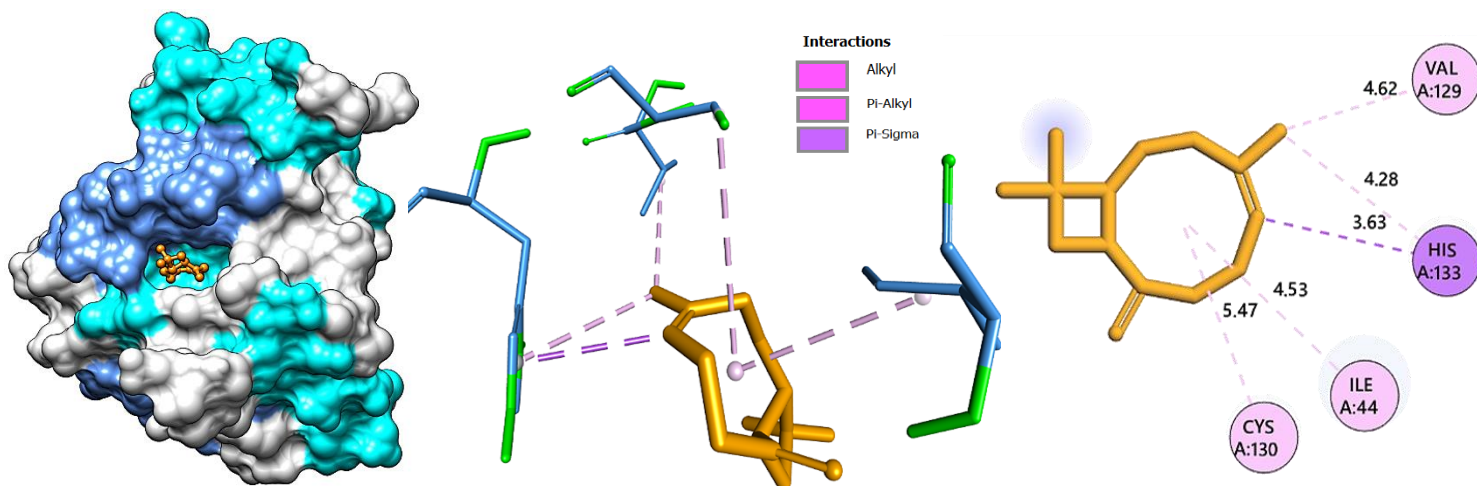


Fig. IV 50 : L'interaction : 1LRY – cis-Caryophyllène éther en images 2D et 3D

b. Analyse de l'interaction :1LRY – Viridiflorene (37)

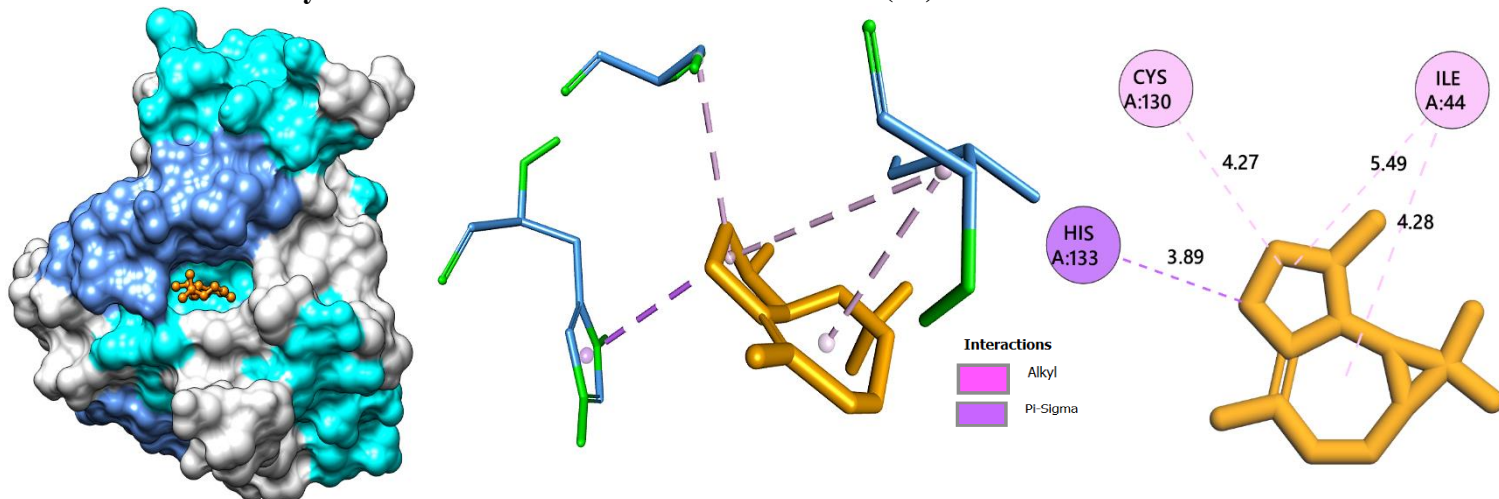
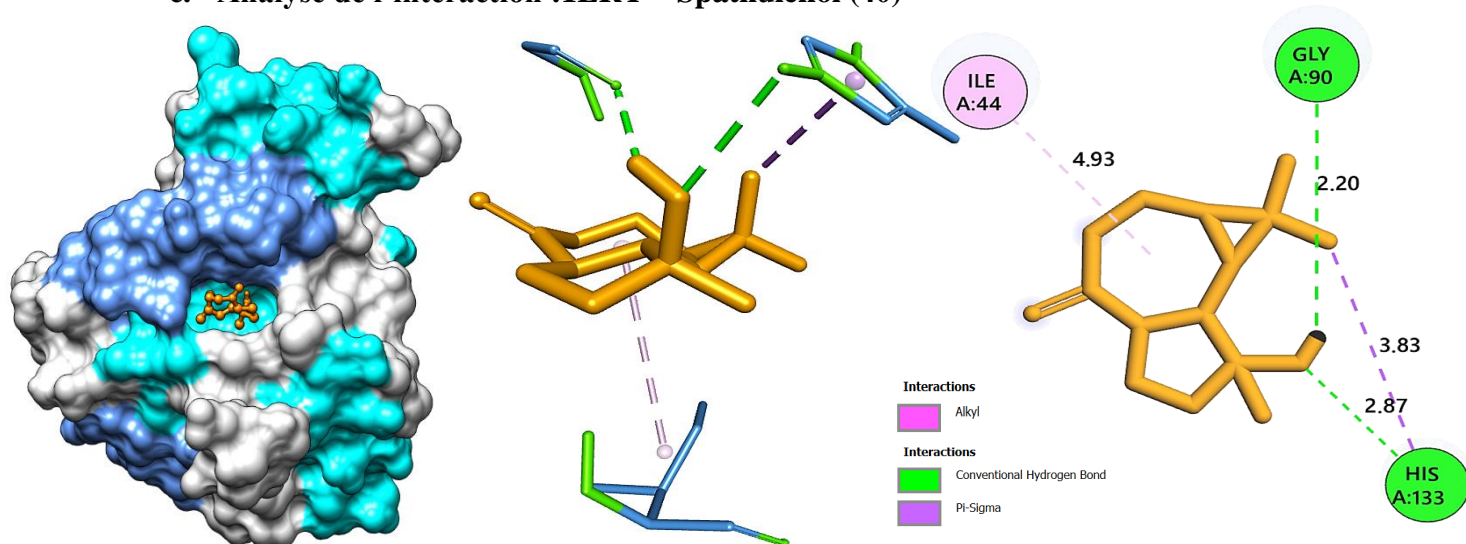


Fig. IV 51 : L'interaction : 1LRY – Viridiflorene éther en images 2D et 3D

## c. Analyse de l'interaction :1LRY – Spathuléol (40)



**Fig. IV 52** : L'interaction : 1LRY – Spathuléol en images 2D et 3D

*Pseudomonas aeruginosa*, bacilles à gram négatif, elle peut être dans certaines conditions pathogène et très résistante, particulièrement responsable d'infections nosocomiales. Elle peut infecter l'œil, les plaies, les urines, gastro-intestinales et poumons, les méninges... etc. c'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement notamment chez les immunodéprimés.

Dans ce travail, on a sélectionné une seule cible bactérienne, la plus importante, chez *P. aeruginosa*, le peptide deformylase (EC :3. 5. 1. 88 / PDB ID : 1LRY). C'est une enzyme responsable de la modification structurale des protéines nouvellement synthétisées par une suppression du groupe formyle de la Méthionine N-terminal, c'est une tâche essentielle à l'activité des protéines synthétisées.

Parmi 42 molécules testées, seulement trois qui ont dépassé la barrière de -7 Kcal/mol qui sont cis-Caryophyllène, Viridiflorene et Spathuléol. Ces molécules établissent des liaisons faibles, réversibles, de différents types hydrogènes et hydrophobiques (Alkyl,  $\pi$ -Alkyl,  $\pi$ -sigma).

4.4.L'interaction avec les cibles thérapeutiques de *Listeria monocytogenes*

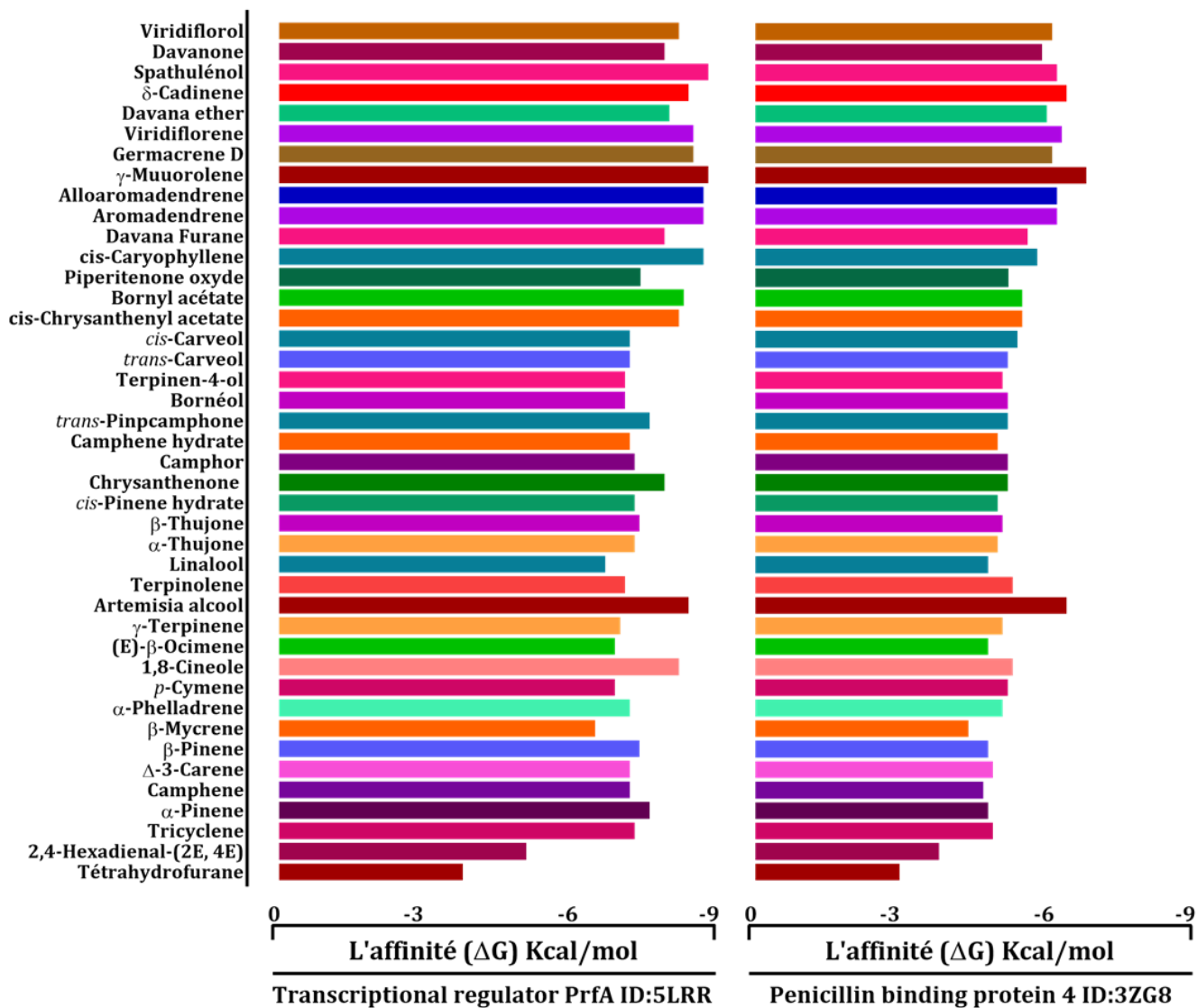


Fig. IV 53 : l'affinité des molécules vis avis les cibles thérapeutiques de *L. monocytogenes*

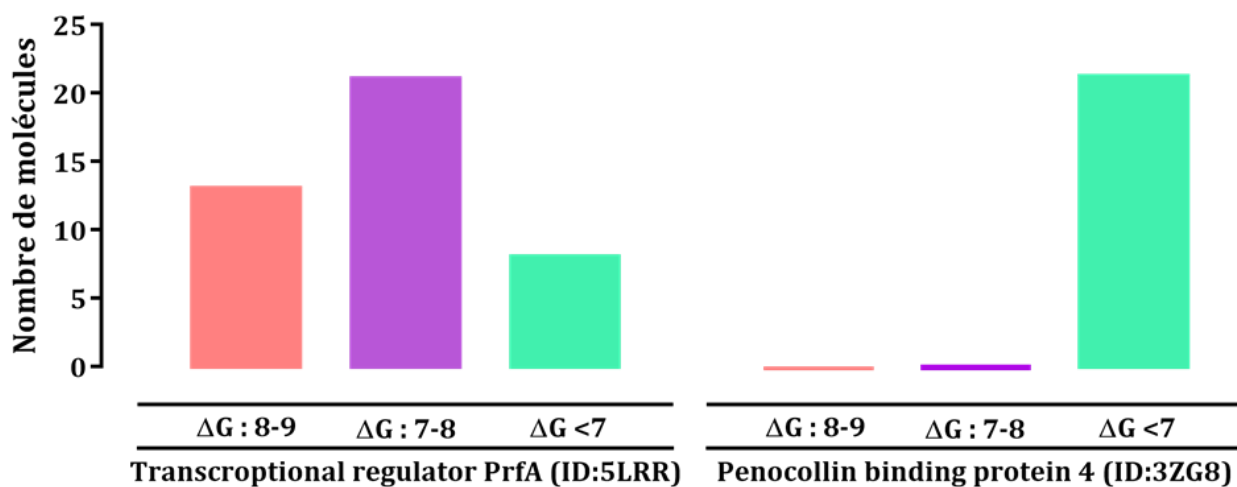
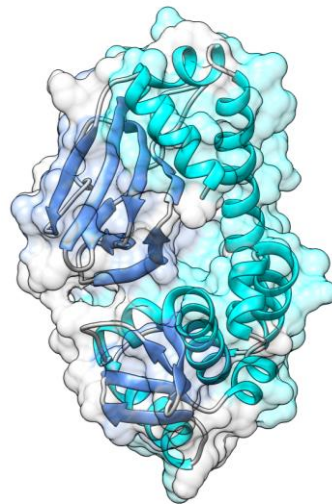


Fig. IV 54 : Classification de l'affinité des molécules pour chaque cible de *L. monocytogenes*

4.4.1. Cible thérapeutique : PrfA (ID :5LRR)

PDB ID : 5LRR



Transcriptional regulator PrfA – *L. monocytogenes*

a. Analyse de l'interaction :5LRR –  $\gamma$ -Muuroène (35)

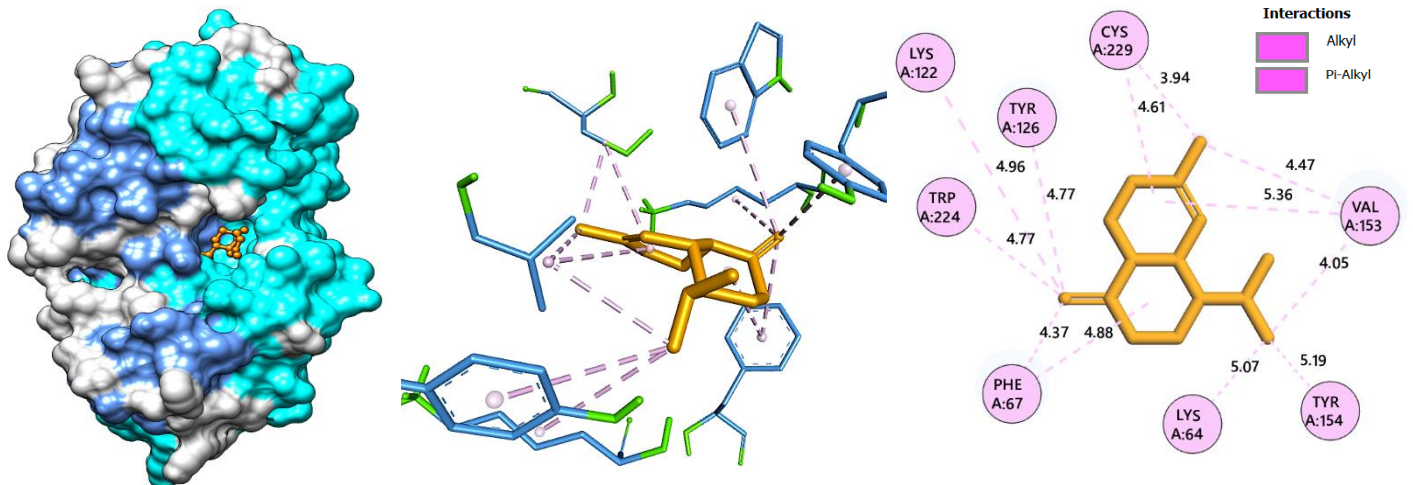


Fig. IV 55 : L'interaction : 5LRR –  $\gamma$ -Muuroène en images 2D et 3D

b. Analyse de l'interaction :5LRR – Aromadendrène (33)

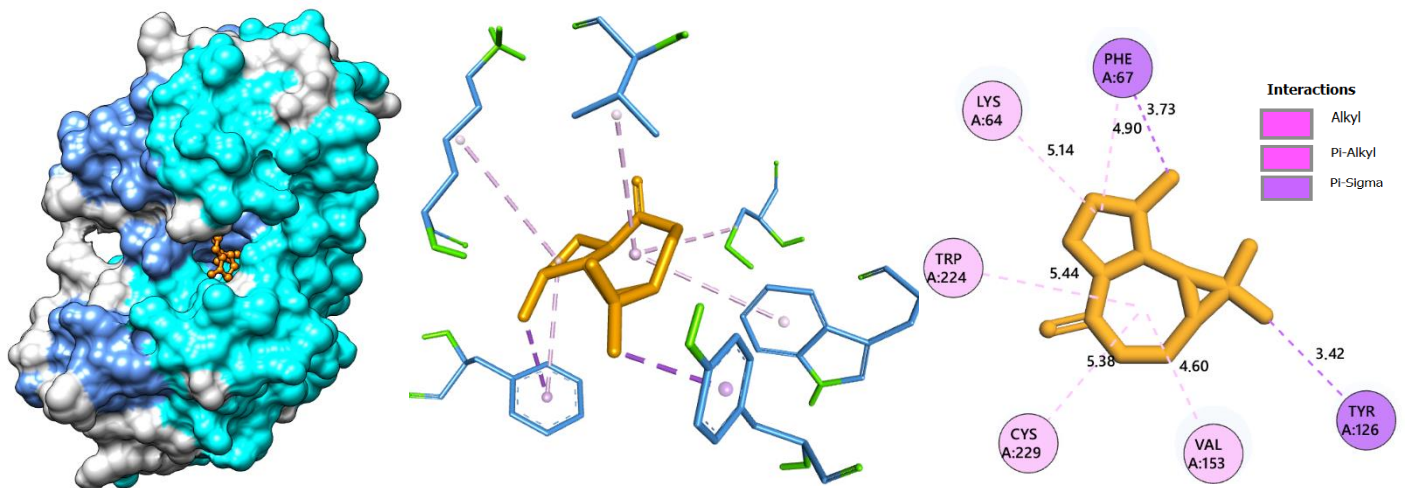


Fig. IV 56 : L'interaction : 5LRR – Aromadendrène en images 2D et 3D

c. Analyse de l'interaction :5LRR – Alloaromadendrone (34)

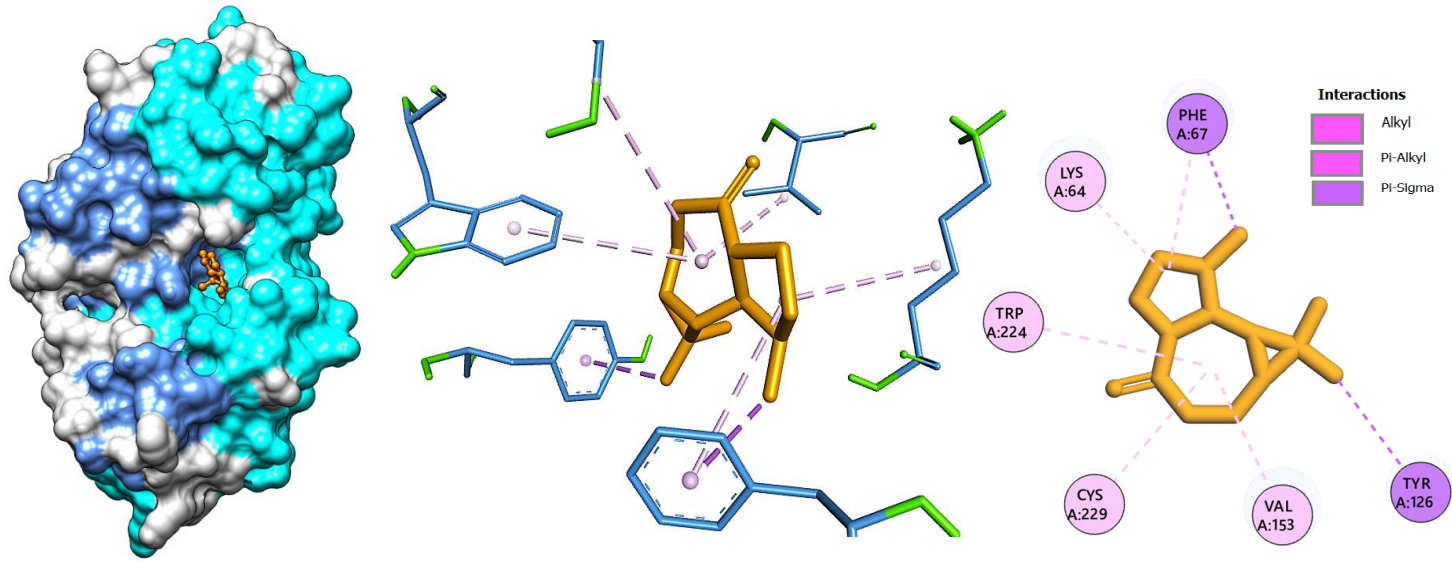


Fig. IV 57 : L'interaction : 5LRR – Alloaromadendrone en images 2D et 3D

La bactérie *Listeria monocytogenes* est une bactérie Gram négatif, la seule espèce pathogène du genre *Listeria* pour l'être humain en provoquant ce qu'on appelle une Listériose. Elle peut contaminer les différents types d'aliments. Les personnes les plus exposés à cette bactérie sont les femmes enceintes, les personnes âgées et personnes souffrant du cancer.

Pour analyser l'interaction avec cette bactérie, deux cibles thérapeutiques ont été sélectionnées, le facteur de régulation transcriptionnelle de *prfA* (PDB ID : 5LRR) et la protéine fixatrice de pénicilline (PDB ID : 3ZG8). Pour cette dernière, aucune molécule n'a été dépassé le seuil de -7 Kca/mol, alors que pour la première, une large gamme des molécules a bien réagi avec cette cible. La meilleure affinité a été enregistrée pour  $\gamma$ -Muuroène (-8.6 Kcal/mol).

## 5. Les propriétés ADMET

## 5.1. Les propriétés physicochimiques

Tab. IV 2 : les propriétés physicochimiques des ligands sélectionnés

N°	Composé	PM	Volume	Densité	Log S	Log P	Log D
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	204.190	245.610	0.831	-6.163	5.906	4.682
33	Aromadendrène	204.190	239.690	0.852	-5.695	4.585	4.389
34	Alloaromadendrène	204.190	239.690	0.852	-5.695	4.585	4.389
36	$\gamma$ -Muuroène	204.190	245.610	0.831	-5.541	5.060	4.456
37	Viridiflorene	204.190	239.690	0.852	-5.870	5.128	4.623
38	Davana éther	234.160	260.554	0.899	-3.281	3.381	3.410
39	$\delta$ -Cadinene	204.190	245.610	0.831	-5.287	5.215	4.444
40	Spathuléol	220.180	248.481	0.886	-4.688	4.032	3.726
41	Davanone	236.180	269.111	0.878	-3.213	3.405	2.714
42	Viridiflorol	222.200	251.117	0.885	-4.051	3.979	3.818

## 5.2. Chimie médicale

Tab. IV 3 : les propriétés médicales des ligands sélectionnés

N°	Composé	Règle de Lipinski	Règle de Pfizer	Règle GSK	Triangle d'or
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	Accepté	Réfusé	Réfusé	Accepté
33	Aromadendrène	Accepté	Réfusé	Réfusé	Accepté
34	Alloaromadendrène	Accepté	Réfusé	Réfusé	Accepté
36	$\gamma$ -Muuroène	Accepté	Réfusé	Réfusé	Accepté
37	Viridiflorene	Accepté	Réfusé	Réfusé	Accepté
38	Davana éther	Accepté	Réfusé	Accepté	Accepté
39	$\delta$ -Cadinene	Accepté	Réfusé	Réfusé	Accepté
40	Spathuléol	Accepté	Réfusé	Réfusé	Accepté
41	Davanone	Accepté	Réfusé	Accepté	Accepté
42	Viridiflorol	Accepté	Réfusé	Réfusé	Accepté

## 5.3. Absorption des ligands

Tab. IV 4 : L'absorption des ligands sélectionnés

N°	Composé	Perméabilité MDCK	Absorption intestinale
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	1.5e <sup>-05</sup>	---
33	Aromadendrène	2.2e <sup>-05</sup>	---
34	Alloaromadendrène	2.2e <sup>-05</sup>	---
36	$\gamma$ -Muuroène	1.5e <sup>-05</sup>	---
37	Viridiflorene	1.6e <sup>-05</sup>	---
38	Davana éther	2.6e <sup>-05</sup>	---
39	$\delta$ -Cadinene	1.5e <sup>-05</sup>	---
40	Spathuléol	1.9e <sup>-05</sup>	---
41	Davanone	2.1e <sup>-05</sup>	---
42	Viridiflorol	3.2e <sup>-05</sup>	---

### 5.4. Distribution des ligands

Tab. IV 5 : la distribution dans l'organisme des ligands sélectionnés

N°	Composé	Fixation sur protéines plasmatiques	Volume de distribution	Barrière hématoencéphalique
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	95.289%	4.138	++
33	Aromadendrène	93.569%	1.647	+++
34	Alloaromadendrène	93.569%	1.647	+++
36	$\gamma$ -Muuroène	96.234%	3.605	++
37	Viridiflorene	98.045%	5.308	++
38	Davana éther	97.535%	2.106	--
39	$\delta$ -Cadinene	96.018%	3.986	++
40	Spathulénol	78.718%	0.919	+++
41	Davanone	90.998%	1.651	++
42	Viridiflorol	93.442%	1.179	++

### 5.5. Métabolisme des ligands

Tab. IV 6 : L'inhibition des sites métaboliques par les ligands sélectionnés

N°	Composé	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	-	-	-	++	--
33	Aromadendrène	-	--	-	---	--
34	Alloaromadendrène	-	--	-	---	--
36	$\gamma$ -Muuroène	-	--	+	---	--
37	Viridiflorene	--	-	-	---	--
38	Davana éther	---	+	--	+	++
39	$\delta$ -Cadinene	+	--	+	---	--
40	Spathulénol	--	---	--	---	---
41	Davanone	---	---	---	---	-
42	Viridiflorol	--	---	--	---	---

### 5.6. Excrétion des ligands

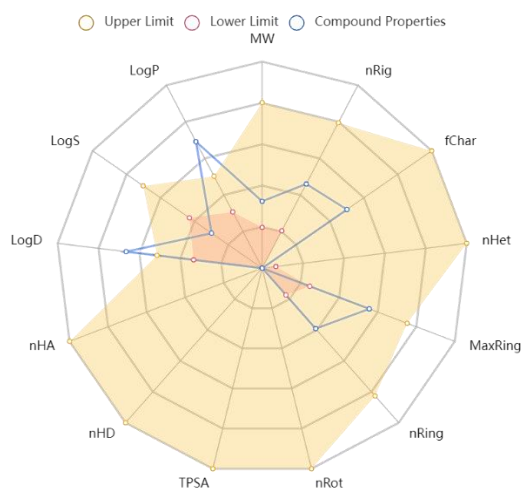
Tab. IV 7 : L'éliminations des ligands sélectionnés

N°	Composé	La clearance	Temps de demi-vie
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	9.943	0.048
33	Aromadendrène	13.563	0.040
34	Alloaromadendrène	13.563	0.040
36	$\gamma$ -Muuroène	7.728	0.047
37	Viridiflorene	15.056	0.032
38	Davana éther	6.060	0.356
39	$\delta$ -Cadinene	6.927	0.054
40	Spathulénol	14.582	0.064
41	Davanone	13.720	0.582
42	Viridiflorol	18.537	0.083

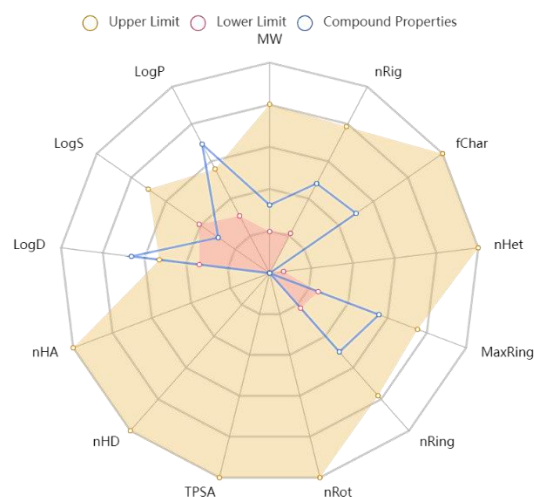
5.7.Toxicité des ligands

Tab. IV 8 : la toxicité des ligands sélectionnés

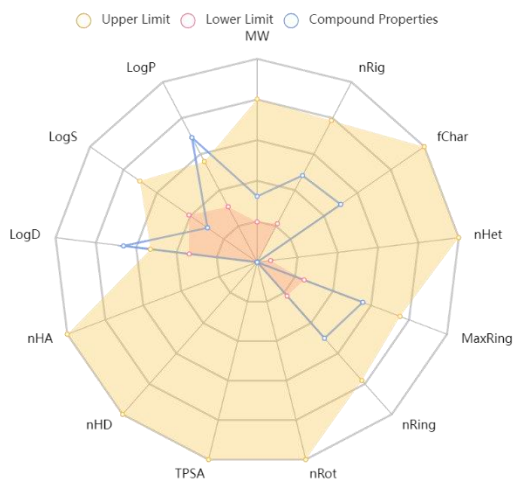
N°	Composé	hépatotoxicité	Toxicité respiratoire	Toxicité cutanée
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	--	---	--
33	Aromadendrène	--	++	---
34	Alloaromadendrène	--	++	---
36	$\gamma$ -Muuroène	--	--	---
37	Viridiflorene	--	-	---
38	Davana éther	++	+++	+++
39	$\delta$ -Cadinene	--	--	---
40	Spathuléol	--	++	---
41	Davanone	-	--	--
42	Viridiflorol	--	+++	---



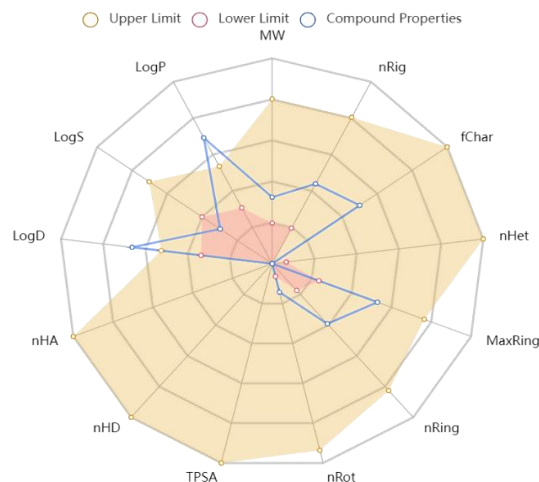
***cis*-Caryophyllène**



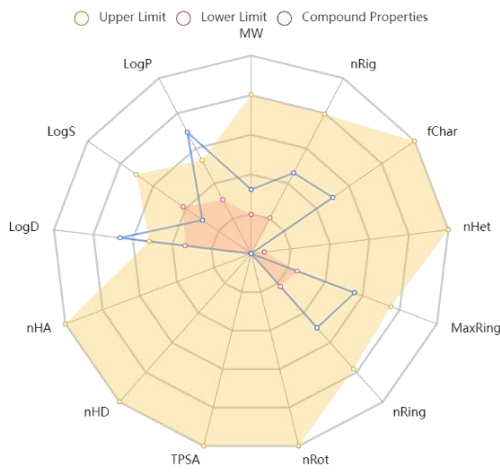
**Aromdendrène**



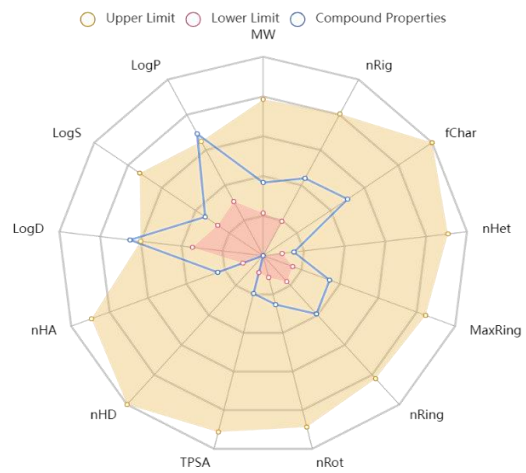
**Alloaromdendrène**



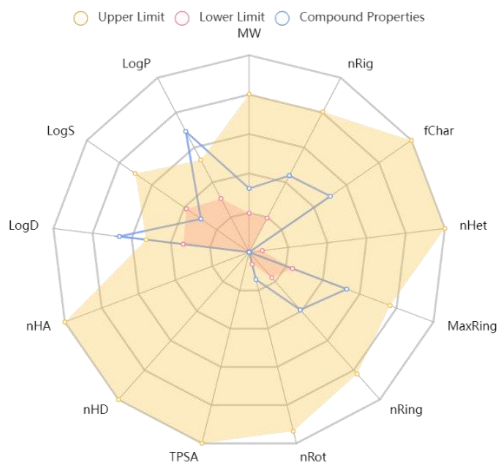
**$\gamma$ -Muuroène**



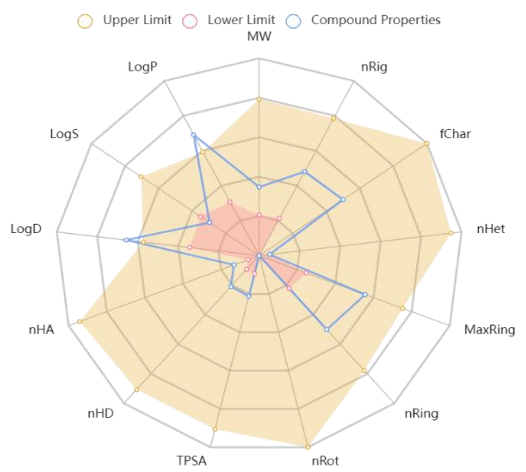
**Viridiflorene**



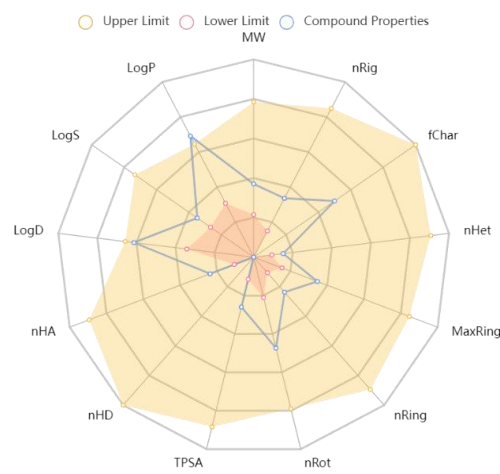
**Davana éther**



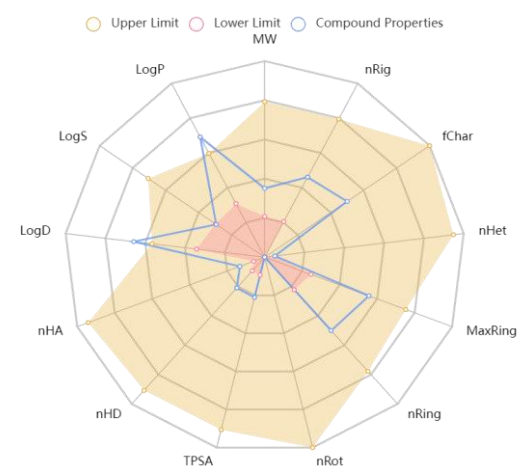
**δ-Cadinene**



**Spathuléol**



**Davanone**



**Viridiflorol**

**Fig. IV 58 : les propriétés ADMET des ligands sélectionnés**



---

# **Conclusion**

# **Perspectives**

---

## ❖ Conclusion générale

Ce travail s'insère dans le cadre de connaissance et valorisation des huiles essentielles d'une plante particulière dans la médecine traditionnelle local *l'Artemisia herba-alba*. Après la récolte de la plante, la récupération de l'huile essentielle, la caractérisation moléculaire et l'activité antimicrobienne *in vitro* et *in silico*, les résultats ont montré des propriétés antimicrobiennes intéressante vis-à-vis six bactéries largement disséminées dans les maladies infectieuses de la communauté algérienne. Les outils de bio-informatiques structurale ont donné une bonne compréhension des mécanismes d'interactions entre les molécules bioactives et les cibles thérapeutiques sélectionnées pour chaque bactérie. Parallèlement, les profils pharmacocinétique et toxiques ont révélé les propriétés thérapeutiques des molécules actives et les ont considérés comme des molécules candidates au tant qu'agents antimicrobiens d'origine naturels.

## ❖ Perspectives énoncées

- Elargir la gamme d'étude en intégrant autres huiles de plantes aromatique afin de valoriser les vertus thérapeutiques des produits naturels.
- Manipuler des autres techniques antimicrobiennes pour déterminer les valeurs de CMI. Ainsi, multiplier les souches à tester afin de prendre une vue large sur le comportement antimicrobien des huiles étudiées.
- Pour une bonne continuation, il est préférable de caractériser les différents mécanismes d'action moléculaires et cellulaires en pratiquant les différentes combinaisons afin de caractériser des éventuelles formes synergiques
- LA sélection des souches multi-résistantes particulièrement aux antibiotiques de la dernière génération, ça va donner une autre dimension aux résultats obtenus
- La possibilité d'étudier les propriétés pharmacocinétiques et le profil de toxicité *in vivo*, en utilisant un modèle de l'expérimentation animal

- Tooure, D. (2015). Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire (Doctoral dissertation, Université Felix Houphoët Boigny, Côte d'Ivoire).
- Boutefnouchet, S., Champy, P., Girard, C., Grovel, O., Hennebelle, T., Poupon, E., & Seguin, E. (2020). Pharmacognosie: Obtention et propriétés des substances actives médicamenteuses d'origine naturelle. Elsevier Health Sciences.
- PEREZ PENA, H. (2023). Computer-aided Molecular Design and Modeling of Tubulin Targeting Agents.
- Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K., Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F., & Kaloustian, J. (2010). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* issued from the district of Biskra (Algeria). *Phytothérapie*, 8, 277-281.
- Bachrouch, O., Ferjani, N., Haouel, S., & Jemâa, J. M. B. (2015). Major compounds and insecticidal activities of two Tunisian *Artemisia* essential oils toward two major coleopteran pests. *Industrial Crops and Products*, 65, 127-133.
- Moufid, A., & Eddouks, M. (2012). *Artemisia herba alba*: a popular plant with potential medicinal properties. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 15(24), 1152-1159.
- Benkhaira, N., Ech-Chibani, N., & Fikri-Benbrahim, K. (2021). Ethnobotanical survey on the medicinal usage of two common medicinal plants in Taounate Region: *Artemisia herba-alba* Asso and *Ormenis mixta* (L.) Dumort. *Ethnobotany Research and Applications*, 22, 1-19.
- Gacem, M. A., Ould El Hadj-Khelil, A., Boudjemaa, B., & Gacem, H. (2020). Phytochemistry, Toxicity and Pharmacology of *Pistacia lentiscus*, *Artemisia herba-alba* and *Citrullus colocynthis*. *Sustainable Agriculture Reviews* 39, 57-93.
- Abou El Hamd, H. M., El-Sayed, M. A., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., & Mohamed, N. S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products*, 4(1), 1-25.
- Belhattab, R., Amor, L., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Figueiredo, A. C. (2014). Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(2), 243-251.
- Mohsen, H., & Ali, F. (2009). Essential oil composition of *Artemisia herba-alba* from southern Tunisia. *Molecules*, 14(4), 1585-1594.
- Mohamed, A. E. H. H., El-Sayed, M., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., & Mohamed, N. S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products*, 4(1).
- El Ouahdani, K., Es-Safi, I., Mechchate, H., Al-Zahrani, M., Qurtam, A. A., Aleissa, M., ... & Bousta, D. (2021). *Thymus algeriensis* and *Artemisia herba-alba* essential oils: chemical analysis, antioxidant potential and in vivo anti-inflammatory, analgesic activities, and acute toxicity. *Molecules*, 26(22), 6780.
- Khlifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., & Bouajila, J. (2013). Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and chemical toxicology*, 55, 202-208.
- Messaoudene, D., Belguendouz, H., Ahmedi, M. L., Benabdekader, T., Otmani, F., Terahi, M., ... & Touil-Boukoffa, C. (2011). Ex vivo effects of flavonoids extracted from *Artemisia herba alba* on cytokines and nitric oxide production in Algerian patients with Adamantiades-Behçet's disease. *Journal of Inflammation*, 8(1), 1-9.

- Salih, R. O. (2017). Validation of traditional use of *Atremisia herba-alba* as anti-spasmodic on rat intestine.
- Tits, M. (2010). Place et importance de la phytothérapie en thérapeutique moderne. In *Plantes médicinales et aromatiques*.
- BOUKHATEM, M. N., FERHAT, A., & KAMELI, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. A., Casabianca, H., ... & Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, 483(1-2), 220-243.
- Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.
- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.
- Bouyahya, A., El Omari, N., Belmehdi, O., Lagrouh, F., El Jemli, M., Marmouzi, I., ... & Dakka, N. (2021). Pharmacological investigation of *Ajuga iva* essential oils collected at three phenological stages. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(1), 75-83.
- Aziz, Z. A., Ahmad, A., Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., ... & Ashraf, G. M. (2018). Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential—a review. *Current drug metabolism*, 19(13), 1100-1110.
- Stratakos, A. C., & Koidis, A. (2016). Methods for extracting essential oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (pp. 31-38). Academic Press.
- Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. *Food Engineering Reviews*, 7, 275-297.
- Filly, A., Fernandez, X., Minuti, M., Visinoni, F., Cravotto, G., & Chemat, F. (2014). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: From laboratory to pilot and industrial scale. *Food chemistry*, 150, 193-198.
- Yousefi, M., Rahimi-Nasrabadi, M., Pourmortazavi, S. M., Wysokowski, M., Jesionowski, T., Ehrlich, H., & Mirsadeghi, S. (2019). Supercritical fluid extraction of essential oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 182-193.
- Brattoli, M., Cisternino, E., Dambruoso, P. R., De Gennaro, G., Giungato, P., Mazzone, A., ... & Tutino, M. (2013). Gas chromatography analysis with olfactometric detection (GC-O) as a useful methodology for chemical characterization of odorous compounds. *Sensors*, 13(12), 16759-16800.
- Al-Rubaye, A. F., Hameed, I. H., & Kadhim, M. J. (2017). A review: uses of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique for analysis of bioactive natural compounds of some plants. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 9(1), 81-85.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

- Raut, J. S., & Karuppaiyl, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial crops and products*, 62, 250-264.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25.
- KERBOUCHE, L. (2010). *Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de labiacées et de cupressacées* (Doctoral dissertation, INA).
- Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). *La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*. Springer.
- Fuentes, C., Fuentes, A., Barat, J. M., & Ruiz, M. J. (2021). Relevant essential oil components: A minireview on increasing applications and potential toxicity. *Toxicology mechanisms and methods*, 31(8), 559-565.
- Devi, M. P., Chakrabarty, S., Ghosh, S. K., & Bhowmick, N. (2015). Essential oil: its economic aspect, extraction, importance, uses, hazards and quality. *Value addition of horticultural crops: recent trends and future directions*, 269-278.
- Fan, J., Fu, A., & Zhang, L. (2019). Progress in molecular docking. *Quantitative Biology*, 7, 83-89.
- Sulimov, V. B., Kutov, D. C., & Sulimov, A. V. (2019). Advances in docking. *Current medicinal chemistry*, 26(42), 7555-7580.
- Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: a review. *Biophysical reviews*, 9, 91-102.
- Chaudhary, K. K., & Mishra, N. (2016). A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *databases*, 3(4), 1029.
- Mohn, F., Repp, J., Gross, L., Meyer, G., Dyer, M. S., & Persson, M. (2010). Reversible bond formation in a gold-atom-organic-molecule complex as a molecular switch. *Physical Review Letters*, 105(26), 266102.
- Murray, J. S., & Politzer, P. (2011). The electrostatic potential: an overview. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 1(2), 153-163.
- Ben-Naim, A. Y. (2012). *Hydrophobic interactions*. Springer Science & Business Media.
- Auffinger, P., Hays, F. A., Westhof, E., & Ho, P. S. (2004). Halogen bonds in biological molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(48), 16789-16794.
- Naqvi, A. A. T., & Hassan, M. I. (2017). Methods for docking and drug designing. In *Oncology: Breakthroughs in research and practice* (pp. 876-890). IGI Global.
- de Azevedo, W. F. (Ed.). (2019). *Docking screens for drug discovery*. New York, NY: Humana Press.
- Stefaniu, A. (Ed.). (2019). *Molecular Docking and Molecular Dynamics*. BoD-Books on Demand.
- Dastmalchi, S. (Ed.). (2016). *Applied Case Studies and Solutions in Molecular Docking-Based Drug Design*. IGI Global.
- Afnor (2000) Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse (tome 1) – Monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2. volumes 1 et 2) mars
- Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., & Hakim, Y. (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*, (3), 37.

- Seddik, M. (2010). *Analyse physico-chimique, chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle d'Ammoides verticillata de la région d'Adrar: Etude de son activité biologique et anti-oxydante* (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).
- Amira, B., Manal, L., & Zahra, L. F. (2022). *Extraction D'huile Essentiel D'une Plante Medicinale Ruta chalepensis De La Region De Boussaada Et Test Antimicrobienne* (Doctoral dissertation).
- Fertout-Mouri, N., Latrèche, A., Mehdadi, Z., Toumi-Bénali, F., & Khaled, M. B. (2017). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(6), 346-353.
- ABDELHADI, R., ABID, I., & BOUZOUINA, F. Z. H. (2020). *Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du laurier noble* (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791.
- J. Eberhardt, D. Santos-Martins, A. F. Tillack, and S. Forli. (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- O. Trott, A. J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 31 (2010) 455-461
- UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. *J Comput Chem*. 2004 Oct;25(13):1605-12.
- Open Babel development team. (2016). *Open Babel*. Retrieved from [http://openbabel.org/wiki/Main\\_Page](http://openbabel.org/wiki/Main_Page)
- Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146-157.
- Bender, B. J., Gahbauer, S., Luttens, A., Lyu, J., Webb, C. M., Stein, R. M., ... & Shoichet, B. K. (2021). A practical guide to large-scale docking. *Nature protocols*, 16(10), 4799-4832.
- Bitencourt-Ferreira, G., Pintro, V. O., & de Azevedo, W. F. (2019). Docking with autodock4. *Docking Screens for Drug Discovery*, 125-148.
- ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database Jie Dong, Ningning Wang, Zhijiang Yao, Lin Zhang, Yan Cheng, Defang Ouyang, Aiping Lu, Dongsheng Cao\* *Journal of cheminformatics*, 2018, 10, 29.

---

# **Annexes**

---

## ❖ Annexe 1 : Composition des milieux de culture utilisés

## • Milieu Muller-Hinton

- Infusion de viande .....300 g
- Hydrolysate de caséine .....17,5 g
- Amidon..... 1,5 g
- Agar .....17 g
- pH = 7,4

## • Bouillon nutritif

- Extrait de viande.....3g
- Peptone.....5g
- Eau distillée .....1000 ml
- pH=6,8

## • Eau physiologique

- NaCl .....9g
- Eau distillée.....1000 ml

## ❖ Annexe 2 : la turbidité de l'inoculum avant l'ensemencement

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhi</i>	<i>B. subtilis</i>
DO à 620 nm	0.095	0.10	0.089	0.097	0,08	0,11

## ❖ Annexe 3 : Résultats détaillés de l'antibiogramme

	A. Herba-alba		Antibiotiques		DMSO
	100%	50%	AB1	AB2	
<i>E. coli</i>	15	12	AMC 11	TIC 15	SA
	14	13	AMC 11	TIC 13	SA
	17	13	AMC 09	TIC 16	SA
<i>S. aureus</i>	23	15	IMP 10	FA 26	SA
	28	17	IMP 08	FA 22	SA
	25	16	IMP 09	FA 27	SA
<i>B. subtilis</i>	39	13	CTX 23	RIF 29	SA
	37	14	CTX 22	RIF 31	SA
	38	14	CTX 26	RIF 32	SA
<i>L. monocytogenes</i>	11	12	E 23	TE 23	SA
	12	15	E 24	TE 27	SA
	15	10	E 20	TE 25	SA
<i>P. aeruginosa</i>	14	NA	FF 27	LEV26	SA
	12	NA	FF 28	LEV27	SA
	13	NA	FF 30	LEV25	SA
<i>S. typhi</i>	13	09	CAZ 29	FOX 28	SA
	14	10	CAZ 28	FOX 30	SA
	11	09	CAZ 24	FOX 31	SA

❖ Annexe 4 : l'affinité des molécules vis-à-vis les cibles thérapeutiques de *S. aureus*

	Molécules	<i>Staphylococcus aureus</i>		
		Dihydrofolate réductase 6E4E	DNA Gyrase B 4URM	Sortase A 2MLM
		Energie libre de Gibbs (Kcal/mol)		
1	Tétrahydrofurane	- 3.3	- 3.1	- 2.7
2	2,4-Hexadienal-, (2E, 4E)	- 4.4	- 4.4	- 3.8
3	Tricyclene	- 5.5	- 4.6	- 5.2
4	$\alpha$ -Pinène	- 5.8	- 4.9	- 5.3
5	Camphène	- 5.5	- 4.8	- 5.2
6	$\Delta$ -3-Carène	- 5.7	- 5.1	- 5.3
7	$\beta$ -Pinène	- 5.8	- 4.8	- 5.2
8	$\beta$ -Myrcène	- 5.1	- 5.2	- 5.0
9	$\alpha$ -Phellandrène	- 5.9	- 5.5	- 5.4
10	<i>p</i> -Cymène	- 6.0	- 5.6	- 5.4
11	1,8-Cinéole	- 6.7	- 5.6	- 5.6
12	(E)- $\beta$ -Ocimène	- 5.6	- 5.4	- 5.1
13	$\gamma$ -Terpinène	- 6.0	- 5.6	- 5.4
14	Artemisia alcool	- 7.5	- 6.5	- 6.6
15	Terpinolène	- 5.9	- 5.7	- 5.2
16	Linalool	- 5.7	- 5.0	- 4.8
17	$\alpha$ -Thujone	- 6.0	- 5.4	- 5.5
18	$\beta$ -Thujone	- 5.9	- 5.4	- 5.4
19	<i>cis</i> -Pinène hydrate	- 6.3	- 5.1	- 5.2
20	Chrysanthenone	- 6.1	- 5.1	- 5.3
21	Camphor	- 6.2	- 4.7	- 5.1
22	Camphène hydrate	- 5.9	- 5.0	- 5.2
23	<i>trans</i> -Pinocamphone	- 6.3	- 5.2	- 5.2
24	Bornéol	- 5.7	- 4.9	- 5.2
25	Terpinen-4-ol	- 6.0	- 5.8	- 5.5
26	<i>trans</i> -Carveol	- 5.9	- 6.2	- 5.3
27	<i>cis</i> -Carveol	- 6.1	- 5.8	- 5.3
28	<i>cis</i> -Chrysanthenyl acétate	- 6.8	- 5.7	- 5.4
29	Bornyl acétate	- 6.4	- 5.4	- 5.6
30	Piperitenone oxyde	- 6.0	- 5.3	- 5.0
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	- 8.2	- 6.2	- 6.7
32	Davana furane	- 6.8	- 5.9	- 6.0
33	Aromadendrène	- 8.5	- 6.6	- 7.0
34	Alloaromadendrène	- 8.5	- 6.6	- 7.0
35	$\gamma$ -Muuroolène	- 7.8	- 6.9	- 7.1
36	Germacrene D	- 7.9	- 7.0	- 6.7
37	Viridiflorene	- 8.3	- 7.6	- 6.6
38	Davana éther	- 7.7	- 6.1	- 6.8
39	$\delta$ -Cadinene	- 7.8	- 6.9	- 6.6
40	Spathuléol	- 8.4	- 6.8	- 6.9
41	Davanone	- 7.1	- 6.1	- 5.9
42	Viridiflorol	- 8.2	- 6.7	- 6.7
43	Ligand natif			

## ❖ Annexes 5 : les interactions moléculaires avec Dihydrofolate reductase (ID :6E4E)

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E - Aromadendrene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:VAL6 – ring 5C	5,36481	Hydrophobique	Alkyl
A:LEU20 – ring 7C	5,24202	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:ILE14	4,97819	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C9 - A:LEU20	4,12829	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C9 - A:ILE50	5,15841	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE92 – Ring 7C	4,86905	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:PHE98 – Ring 5C	5,16356	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E – Alloaromadendrene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ALA7 – ring 7C	5,3994	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:LEU20	5,13371	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:ILE50	5,26175	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE92 – ring 7C	4,65227	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:PHE92 – ring 5C	5,06297	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E - Spathuléol

La liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
Ligand:H - A:ALA7:O	2,69186	Hydrogen Bond	H-Donor
A:LEU20 – ring 7C	5,34403	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE92 - ring 7C	4,74164	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E - Viridiflorene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ALA7 – ring 7C	5,22493	Hydrophobique	Alkyl
A:LEU20 - ring 7C	5,20903	Hydrophobique	Alkyl
A:VAL31 - ring 7C	5,43473	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:LEU20	5,26929	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:ILE50	5,06613	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE92 - Ring 7C	5,10749	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:PHE92 - Ring 5C	4,87163	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E - Viridiflorol

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
Ligand:H - A:THR46:O	2,91274	Hydrogen Bond	H-donor
Ligand:C - A:PHE92	3,7088	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:LEU20 – ring 7C	4,5592	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:LEU20	4,89765	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE92 – ring 5C	4,85864	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E – Cis-caryophyllene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:LEU20 – ring 9C	4,58816	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:VAL31	3,67482	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE92 – ring 9C	5,20268	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:PHE92 - Ligand:C	4,45744	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E – Germacrene D

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ALA7 – ring 10 C	5,33834	Hydrophobique	Alkyl
A:LEU20 – ring 10 C	4,79041	Hydrophobique	Alkyl
Ligand :C - A:LEU20	4,61035	Hydrophobique	Alkyl
Ligand :C - A:ILE50	4,49769	Hydrophobique	Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E –  $\gamma$ -Myurolene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ALA7 – ring 6C	5,14603	Hydrophobique	Alkyl
A:LEU20 – ring 6C	4,93034	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:LEU20	4,82919	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:ILE50	5,21307	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:LEU28	5,15093	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:VAL31	3,88422	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:VAL6	4,67607	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:ILE14	4,36475	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE92 - Ligand:C	4,65855	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:PHE98 - Ligand:C	5,21298	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E –  $\delta$ -Cadinene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
Ligand:C - A:PHE92	3,81417	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:LEU20 – ring 6C	4,64782	Hydrophobique	Alkyl
A:ILE50 – ring 6C	4,16857	Hydrophobique	Alkyl
A:ILE50 – ring 6C	4,64232	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:LEU20	4,11844	Hydrophobique	Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E – Davana ether

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ILE50 – ring 5C	4,01971	Hydrophobique	Alkyl
A:LEU54 – ring 5C	5,08959	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:ILE50	4,36532	Hydrophobique	Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E – Artemisia alcool

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
Ligand:H - A:ASP27:OD1	2,49799	Hydrogen Bond	H-Donor
Ligand:H - A:ASP27:OD2	2,54006	Hydrogen Bond	H-Donor
A:LEU20 – ring 6C	5,29974	Hydrophobique	Alkyl
A:LEU28 - ring 6C	5,48181	Hydrophobique	Alkyl
A:VAL31 - ring 6C	5,41878	Hydrophobique	Alkyl
A:ILE50 - ring 6C	5,37106	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:LEU28	4,70125	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:VAL31	4,18516	Hydrophobique	Pi-Alkyl
Ligand:C - A:LEU54	4,13928	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:PHE92 – ring 6C	4,47483	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 6E4E – Davanone

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ALA7:HN - ligand:O	2,36154	Hydrogen Bond	H-Donor
Ligand:C - A:PHE92	3,78204	Hydrophobique	Pi-Sigma
Ligand:C - A:ILE50	4,12723	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:LEU54	4,90996	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:ILE14	4,11571	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE92 - ligand:C	4,82207	Hydrophobique	Pi-Alkyl

## ❖ Annexes 6 : les interactions moléculaires avec DNA Gyrase B (ID :4URM)

Tableau récapitulatif des interactions 4URM – Viridiflorene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ILE86 – ring 7C	4,32192	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:ILE86	4,28821	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:ILE102	4,12124	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:ILE86	4,95934	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:ILE175	5,20282	Hydrophobique	Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 4URM – Viridiflorene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ILE86 – ring 10C	4,85382	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:ILE86	4,67232	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:PRO87	4,82455	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:ILE102	4,01856	Hydrophobique	Alkyl

## ❖ Annexes 7 : les interactions moléculaires avec Sortase A (ID :2MLM)

Tableau récapitulatif des interactions 2MLM –  $\gamma$ -Muuroène

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
Ligand:C - A:TRP136	3,38784	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:ALA34 – ring 6C	4,59435	Hydrophobique	Alkyl
A:ALA60 - ring 6C	4,97793	Hydrophobique	Alkyl
A:CYS126 - ring 6C	5,0464	Hydrophobique	Alkyl
ring 6C - A:LEU39	4,17395	Hydrophobique	Alkyl
Ligand:C - A:CYS126	4,74499	Hydrophobique	Alkyl
A:TYR129 - Ligand:C	4,96405	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP136 - ring 6C	5,42205	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP136 - Ligand:C	4,77427	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP136 - Ligand:C	4,38595	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 2MLM – Alloaromadendrène

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:VAL110 – ring 5C	5,29909	Hydrophobique	Alkyl
A:ILE124 – ring 7C	4,60634	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:LEU111	4,59363	Hydrophobique	Alkyl
Ring 5C - A:ILE141	3,96676	Hydrophobique	Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 2MLM – Aromadendrène

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:LEU39 – ring 7C	4,65897	Hydrophobique	Alkyl
A:CYS126 – ring 5C	4,53008	Hydrophobique	Alkyl
A:HIS62 – ring 7C	5,47287	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:HIS62 – ligand 5C	5,20328	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP136 – ligand 5C	4,84518	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP136 – ligand 5C	3,81407	Hydrophobique	Pi-Alkyl

❖ Annexe 8 : l'affinité des molécules vis-à-vis les cibles thérapeutiques de *E. coli*

	molécules	Escherichia coli	
		Rhomboid protease GlpG 3ZMI	GyrB 4PRX
1	Tétrahydrofurane	- 3.5	- 3.3
2	2,4-Hexadienal-, (2E, 4E)	- 4.6	- 4.5
3	Tricyclène	- 6.8	- 5.0
4	$\alpha$ -Pinène	- 6.6	- 5.2
5	Camphène	- 6.5	- 5.1
6	$\Delta$ -3-Carène	- 6.8	- 5.4
7	$\beta$ -Pinène	- 6.4	- 5.2
8	$\beta$ -Myrcène	- 5.9	- 5.2
9	$\alpha$ -Phellandrène	- 7.1	- 5.7
10	<i>p</i> -Cymène	- 6.9	- 5.9
11	1,8-Cinéole	- 7.3	- 5.6
12	(E)- $\beta$ -Ocimène	- 6.2	- 5.1
13	$\gamma$ -Terpinène	- 6.9	- 5.8
14	Artemisia alcool	- 6.8	- 6.7
15	Terpinolène	- 6.9	- 6.1
16	Linalool	- 5.7	- 5.2
17	$\alpha$ -Thujone	- 7.0	- 5.6
18	$\beta$ -Thujone	- 6.9	- 5.8
19	<i>cis</i> -Pinène hydrate	- 6.8	- 5.7
20	Chrysanthène	- 6.9	- 5.6
21	Camphor	- 6.3	- 5.3
22	Camphène hydrate	- 6.4	- 5.3
23	<i>trans</i> -Pinocamphone	- 7.2	- 5.8
24	Bornéol	- 6.4	- 4.9
25	Terpinen-4-ol	- 6.9	- 5.8
26	<i>trans</i> -Carveol	- 7.3	- 6.2
27	<i>cis</i> -Carveol	- 7.3	- 5.8
28	<i>cis</i> -Chrysanthényle acétate	- 7.3	- 6.3
29	Bornyle acétate	- 6.5	- 6.2
30	Piperitenone oxyde	- 6.7	- 5.7
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	- 8.8	- 6.5
32	Davana furane	- 7.4	- 7.1
33	Aromadendrène	- 8.3	- 6.7
34	Alloaromadendrène	- 8.3	- 6.7
35	$\gamma$ -Muuroloène	- 7.9	- 7.0
36	Germacrene D	- 7.6	- 6.7
37	Viridiflorene	- 8.1	- 6.9
38	Davana éther	- 8.1	- 7.2
39	$\delta$ -Cadinène	- 7.9	- 6.9
40	Spathuléol	- 8.2	- 6.5
41	Davanone	- 7.2	- 7.5
42	Viridiflorol	- 8.4	- 6.0

**Annexes 9 : les interactions moléculaires avec Rhomboid protéase GlpG (ID :3ZMI)**

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – cis-Caryophyllène

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
Ligand C - A:MET149	4,62273	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE153 - ligand:C	4,84114	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - ring 9C	5,3941	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - ring 9C	4,75869	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - ligand:C	4,0889	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Aromadendrène

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ALA110 - ligand	4,95232	Hydrophobique	Alkyl
A:VAL119 - ligand	3,66729	Hydrophobique	Alkyl
ligand - A:LEU123	4,74184	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP122 – ligand	5,03268	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP122 – ligand	5,16326	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP122 - ligand	4,3143	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP122 - ligand	5,43399	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Aromadendrène

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ALA110 - ligand	4,95232	Hydrophobique	Alkyl
A:VAL119 - ligand	3,66729	Hydrophobique	Alkyl
ligand - A:LEU123	4,74184	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP122 – ligand	5,03268	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP122 – ligand	5,16326	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP122 - ligand	4,3143	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP122 - ligand	5,43399	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Alloaromadendrène

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:VAL119 - :UNL1	3,67209	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1 - A:LEU123	4,75193	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP122 - :UNL1	5,03447	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP122 - :UNL1	5,17313	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP122 - :UNL1	4,32089	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP122 - :UNL1	5,43776	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:VAL119 - :UNL1	3,67209	Hydrophobique	Pi-Alkyl
:UNL1 - A:LEU123	4,75193	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Spathuléol

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:H - A:ASN154:OD1	2,04645	Hydrogen Bond	H-Donor
A:HIS150:CD2 - :UNL1:O	3,58958	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1 - A:MET149	4,93925	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE153 - :UNL1	5,23028	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	4,94065	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	4,40371	Hydrophobique	Pi-Alkyl
:UNL1:H - A:ASN154:OD1	2,04645	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:HIS150:CD2 - :UNL1:O	3,58958	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Viridiflorene

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:C - A:TRP212	3,96762	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:LEU234 - :UNL1	5,27047	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1 - A:MET208	5,03469	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1 - A:LEU258	4,76788	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1 - A:LEU262	5,33839	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	4,34771	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	4,76914	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	4,13676	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	4,33977	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Davana éther.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:VAL204 - :UNL1	4,8455	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:ALA233 - :UNL1:C	4,3779	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:MET208	5,18726	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP157 - :UNL1:C	3,71776	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP157 - :UNL1:C	3,87992	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TYR205 - :UNL1	5,26523	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1:C	5,13142	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI –  $\delta$ -Cadinene.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:C - A:TRP157	3,99329	Hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:MET149	4,54261	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:VAL204	5,14811	Hydrophobique	Alkyl
A:PHE153 - :UNL1:C	4,52096	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP157 - :UNL1:C	5,26098	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TYR205 - :UNL1	5,44819	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1:C	4,39698	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	4,39685	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1:C	4,12793	Hydrophobique	Pi-Alkyl

A:TRP236 - :UNL1:C	5,38988	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:HIS254 - :UNL1	5,40276	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI –  $\gamma$ -Muuroène.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ILE230 - :UNL1	5,46655	Hydrophobique	Alkyl
A:ALA233 - :UNL1:C	3,7592	Hydrophobique	Alkyl
A:LEU234 - :UNL1	4,19704	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1 - A:LEU258	4,86885	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1 - A:LEU262	5,25	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:MET208	4,15421	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:LEU225	5,23796	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:ILE230	4,80871	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:LEU234	4,39269	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	4,76584	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	5,39724	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	5,02309	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	4,38659	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Germacrene D.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:C - A:TRP236	3,87183	Hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:TYR205	3,5197	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:TRP236 - :UNL1	5,10076	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	5,2173	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1:C	4,75493	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Davana furane.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:SER201:HG - :UNL1:O	2,82285	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1 - A:TYR205	5,78517	Hydrophobique	Pi-Pi T-shaped
:UNL1:C - A:VAL204	4,70518	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:MET208	3,8604	Hydrophobique	Alkyl
A:TYR205 - :UNL1:C	3,4151	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – 1,8 Cinéole.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:HIS150:CA - :UNL1:O	3,47479	Hydrogen Bond	H-Donor
A:HIS150:CD2 - :UNL1:O	3,70214	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:C - A:TRP236	3,97703	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:TRP236 - :UNL1	4,88879	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Terpinen-4-ol.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:H - A:ASN154:OD1	2,16692	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:H - A:SER201:OG	3,04957	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:C - A:TRP236	3,53257	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:VAL204 - :UNL1	5,45529	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:VAL204	5,01893	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:MET208	4,89359	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP157 - :UNL1	5,37859	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TYR205 - :UNL1	5,44133	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TYR205 - :UNL1:C	4,14004	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	4,97552	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – cis-Carveol.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:C - A:TRP236	2,69199	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:C - A:VAL204	3,80623	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:TRP157 - :UNL1:C	4,67101	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP157 - :UNL1:C	4,01552	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1:C	5,15795	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:HIS254 - :UNL1:C	4,95916	Hydrophobique	Pi-Alkyl
:UNL1:C - A:TRP236	4,40815	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – cis-Chrysanthenyl acétate.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:H - A:PHE153:O	2,84639	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:C - A:TRP236	3,7992	Hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:TYR205	3,90988	Hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:MET208	4,73875	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:ILE237	4,27077	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	4,70458	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1:C	4,38794	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	5,16397	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – trans-Pinocamphone.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:SER201:HG - :UNL1:O	2,90651	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:C - A:TRP157	3,6736	Hydrophobique	Pi-Sigma

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – trans-Pinocamphone.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:SER201:HG - :UNL1:O	3,0595	Hydrogen Bond	H-Donor
A:HIS150:CD2 - :UNL1:O	3,56353	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:C - A:TRP236	3,96763	Hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:TRP236	3,73763	Hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:VAL204	4,86156	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:MET149	4,18096	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP157 - :UNL1:C	3,74189	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP157 - :UNL1:C	4,31886	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TYR205 - :UNL1	5,36321	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	5,19102	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1:C	5,25548	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	5,41709	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI –  $\alpha$ -Phellandrène.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:C - A:TRP212	3,60907	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:ALA233 - :UNL1:C	4,34039	Hydrophobique	Alkyl
A:LEU258 - :UNL1	5,43557	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:LEU258	4,63609	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:LEU262	4,14879	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:MET208	4,51569	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:LEU225	5,40132	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:ILE230	4,63945	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:LEU234	4,34222	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	4,65429	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP212 - :UNL1	4,08088	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP212 - :UNL1:C	4,98251	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI –  $\alpha$ -Thujone.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:SER201:HG - :UNL1:O	2,48189	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:C - A:TRP157	3,54109	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:VAL204 - :UNL1	5,03376	Hydrophobique	Alkyl
A:TRP157 - :UNL1	4,63976	Hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP236 - :UNL1	4,81414	Hydrophobique	Pi-Alkyl

**Annexes 10 : les interactions moléculaires avec GyrB (ID : 4PRX)**

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Davanone.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:ASN46:HD21 - :UNL1:O	2,98014	Hydrogen Bond	H-Donor
A:LYS103:HZ2 - :UNL1:O	2,18909	Hydrogen Bond	H-Donor
A:TYR109:HH - :UNL1:O	2,36159	Hydrogen Bond	H-Donor
A:LYS103 - :UNL1	4,98418	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:ILE78	5,21263	Hydrophobique	Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions 3ZMI – Davana ether

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:LYS103:HZ1 - :UNL1:O	2,45457	Hydrogen Bond	H-Donor
A:GLY114:CA - :UNL1:O	3,11834	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1 - A:ILE78	5,36785	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1 - A:ILE94	4,5742	Hydrophobique	Alkyl

❖ Annexe 11 : l'affinité des molécules vis-à-vis les cibles thérapeutiques de *P. aeruginosa*

		<i>P. aeruginosa</i>
		Peptide Deformylase 1LRY
1	Tétrahydrofurane	- 3.4
2	2,4-Hexadienal-, (2E, 4E)	- 4.1
3	Tricyclène	- 5.5
4	$\alpha$ -Pinène	- 5.1
5	Camphène	- 5.2
6	$\Delta$ -3-Carène	- 5.1
7	$\beta$ -Pinène	- 5.1
8	$\beta$ -Myrcène	- 4.8
9	$\alpha$ -Phellandrène	- 5.2
10	<i>p</i> -Cymène	- 5.3
11	1,8-Cinéole	- 5.5
12	(E)- $\beta$ -Ocimène	- 4.8
13	$\gamma$ -Terpinène	- 5.3
14	Artemisia alcool	- 6.4
15	Terpinolène	- 5.3
16	Linalool	- 5.4
17	$\alpha$ -Thujone	- 5.5
18	$\beta$ -Thujone	- 5.4
19	<i>cis</i> -Pinène hydrate	- 4.8
20	Chrysanthenone	- 4.9
21	Camphor	- 4.9
22	Camphène hydrate	- 4.9
23	<i>trans</i> -Pinocamphone	- 5.2
24	Bornéol	- 4.5
25	Terpinen-4-ol	- 5.7
26	<i>trans</i> -Carveol	- 5.7
27	<i>cis</i> -Carveol	- 5.8
28	<i>cis</i> -Chrysanthenyl acétate	- 5.4
29	Bornyl acétate	- 5.5
30	Piperitenone oxyde	- 5.9
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	- 7.3
32	Davana furane	- 6.4
33	Aromadendrène	- 6.9
34	Alloaromadendrène	- 6.9
35	$\gamma$ -Muuroolène	- 6.6
36	Germacrene D	- 6.8
37	Viridiflorene	- 7.2
38	Davana éther	- 6.4
39	$\delta$ -Cadinene	- 6.7
40	Spathuléol	- 7.4
41	Davanone	- 6.3
42	Viridiflorol	- 6.9

## ❖ Annexe 12 : les interactions moléculaires avec 1LRY

Tableau récapitulatif des interactions : 1LRY – cis-Caryophyllène.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:C - A:HIS133	3,63499	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:ILE44 - :UNL1	4,52611	Hydrophobique	Alkyl
A:CYS130 - :UNL1	5,47256	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:VAL129	4,62346	Hydrophobique	Alkyl
A:HIS133 - :UNL1:C	4,27716	Hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions : 1LRY – Viridiflorene.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
:UNL1:C - A:HIS133	3,8891	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:ILE44 - :UNL1	4,27695	Hydrophobique	Alkyl
A:CYS130 - :UNL1	4,26667	Hydrophobique	Alkyl
:UNL1 - A:ILE44	5,48652	Hydrophobique	Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions : 1LRY – Spathuléol.

Liaison	Distance (Å)	Catégorie	Type d'interaction
A:HIS133:HE2 - :UNL1:O	2,87094	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:H - A:GLY90:O	2,20256	Hydrogen Bond	H-Donor
:UNL1:C - A:HIS133	3,83084	Hydrophobique	Pi-Sigma
A:ILE44 - :UNL1	4,92672	Hydrophobique	Alkyl

❖ Annexe 13 : l'affinité des molécules vis-à-vis les cibles thérapeutiques de *L. monocytogenes*

Molécules		<i>Listeria monocytogenes</i>	
		Transcriptional regulator PrfA 5LRR	Penicillin binding protein 4 3ZG8
		Binding energy (Kcal/mol)	
1	Tétrahydrofurane	- 3.7	- 2.9
2	2,4-Hexadienal-, (2E, 4E)	- 5.0	- 3.7
3	Tricyclene	- 7.2	- 4.8
4	$\alpha$ -Pinène	- 7.5	- 4.7
5	Camphène	- 7.1	- 4.6
6	$\Delta$ -3-Carène	- 7.1	- 4.8
7	$\beta$ -Pinène	- 7.3	- 4.7
8	$\beta$ -Myrcène	- 6.4	- 4.3
9	$\alpha$ -Phellandrène	- 7.1	- 5.0
10	<i>p</i> -Cymène	- 6.8	- 5.1
11	1,8-Cinéole	- 8.1	- 5.2
12	(E)- $\beta$ -Ocimène	- 6.8	- 4.7
13	$\gamma$ -Terpinène	- 6.9	- 5.0
14	Artemisia alcool	- 8.3	- 6.3
15	Terpinolène	- 7.0	- 5.2
16	Linalool	- 6.6	- 4.7
17	$\alpha$ -Thujone	- 7.2	- 4.9
18	$\beta$ -Thujone	- 7.3	- 5.0
19	<i>cis</i> -Pinène hydrate	- 7.2	- 4.9
20	Chrysanthenone	- 7.8	- 5.1
21	Camphor	- 7.2	- 5.1
22	Camphène hydrate	- 7.1	- 4.9
23	<i>trans</i> -Pinocamphone	- 7.5	- 5.1
24	Bornéol	- 7.0	- 5.1
25	Terpinen-4-ol	- 7.0	- 5.0
26	<i>trans</i> -Carveol	- 7.1	- 5.1
27	<i>cis</i> -Carveol	- 7.1	- 5.3
28	<i>cis</i> -Chrysanthenyl acétate	- 8.1	- 5.4
29	Bornyl acétate	- 8.2	- 5.4
30	Piperitenone oxyde	- 7.3	- 5.1
31	<i>cis</i> -Caryophyllène	- 8.6	- 5.7
32	Davana furane	- 7.8	- 5.5
33	Aromadendrène	- 8.6	- 6.1
34	Alloaromadendrène	- 8.6	- 6.1
35	$\gamma$ -Muuroène	- 8.7	- 6.7
36	Germacrene D	- 8.4	- 6.0
37	Viridiflorene	- 8.4	- 6.2
38	Davana éther	- 7.9	- 5.9
39	$\delta$ -Cadinene	- 8.3	- 6.3
40	Spathuléol	- 8.7	- 6.1
41	Davanone	- 7.8	- 5.8
42	Viridiflorol	- 8.1	- 6.0

## ❖ Annexe 14 : les interactions moléculaires avec 5LRR

Tableau récapitulatif des interactions : 5LRR–  $\gamma$ -Muuroène.

liaison	Distance	categorie	type
A:VAL153 - :UNL1	5,35708	hydrophobique	Alkyl
A:CYS229 - :UNL1	4,6114	hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:LYS122	4,95874	hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:VAL153	4,46851	hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:CYS229	3,93561	hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:LYS64	5,07167	hydrophobique	Alkyl
:UNL1:C - A:VAL153	4,05092	hydrophobique	Alkyl
A:PHE67 - :UNL1	4,87731	hydrophobique	Pi-Alkyl
A:PHE67 - :UNL1:C	4,37417	hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TYR126 - :UNL1:C	4,77065	hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TYR154 - :UNL1:C	5,19271	hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP224 - :UNL1:C	5,35708	hydrophobique	Pi-Alkyl

Tableau récapitulatif des interactions : 5LRR– Aromadendrene.

liaison	Distance	categorie	type
:UNL1:C - A:TYR126	3,41629	hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:PHE67	3,73112	hydrophobique	Pi-Sigma
A:LYS64 - :UNL1	5,13858	hydrophobique	Alkyl
A:VAL153 - :UNL1	4,59692	hydrophobique	Alkyl
A:CYS229 - :UNL1	5,38477	hydrophobique	Alkyl
A:PHE67 - :UNL1	4,89622	hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP224 - :UNL1	5,43786	hydrophobique	Pi-Alkyl
:UNL1:C - A:TYR126	3,41629	hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:PHE67	3,73112	hydrophobique	Pi-Sigma

Tableau récapitulatif des interactions : 5LRR– Alloaromadendrene.

liaison	Distance	categorie	type
:UNL1:C - A:TYR126	3,41486	hydrophobique	Pi-Sigma
:UNL1:C - A:PHE67	3,72328	hydrophobique	Pi-Sigma
A:LYS64 - :UNL1	5,1292	hydrophobique	Alkyl
A:VAL153 - :UNL1	4,60132	hydrophobique	Alkyl
A:CYS229 - :UNL1	5,38039	hydrophobique	Alkyl
A:PHE67 - :UNL1	4,90335	hydrophobique	Pi-Alkyl
A:TRP224 - :UNL1	5,43775	hydrophobique	Pi-Alkyl

