

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

## Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et la Vie  
Département de Biotechnologie et Agroécologie

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de  
Master

Option : Biotechnologies Et Pathologies Moléculaires

### THEME

**Etude de l'activité antimicrobienne, analgésique et anti-inflammatoire  
des hydrolats et essences végétales *in vitro*, *in vivo* et *in silico***

Présenté par

**BOUCHAKOUR Hala & HEIBA Maroua**

Date de Soutenance

**06/2023 à 13H00**

Devant le jury composé de =

Mme LONACI L.	MCB	Univ. Blida 1	Présidente
Mme ABD ELHUSSEIN A.	MCA	Univ. Blida 1	Examinatrice
M. BOKHATEM M.	Pr	Univ. Blida 1	Promoteur

# REMERCIEMENTS

---

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH source de toute connaissance qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Nous remercions vivement les membres de ce respectueux jury :

- Notre promoteur : Nous tenons à exprimer notre vive reconnaissance à notre promoteur, pour ses conseils précieux, sa disponibilité et sa patience tout au long de ce travail de fin d'études.
- A notre présidente du jury (Maître de Conférences à l'Université Blida 1): nous sommes très honorées que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Veuillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.
- A notre examinatrice du jury A. (Maître de Conférences à l'Université Blida 1): Vous nous avez honoré d'avoir examiné notre mémoire de fin d'études ; nous vous sommes très reconnaissantes et nous vous adressons nos sincères remerciements et soyez assurée de notre profonde gratitude.
- Monsieur le Directeur du Laboratoire d'Hygiène de Blida): Nous tenons à vous remercier chaleureusement et vivement pour nous avoir accepté dans votre laboratoire et guider tous au long de notre stage avec toute l'équipe du laboratoire.

Un immense remerciement s'adresse aussi à tous le personnel du laboratoire d'Hygiène (Blida) et ceux du laboratoire de Saidal et des laboratoires de microbiologie qui nous ont été d'une aide très précieuse pour la réalisation de la partie antimicrobienne des extraits végétaux *in vitro*.

Nous adressons nos vifs remerciement et reconnaissance à tout le corps enseignant de la Faculté, et plus particulièrement toutes celles et tous ceux qui nous ont enseigné durant notre cursus universitaire.

# RESUME

---

L'objectif assigné à ce travail consiste à valoriser les huiles et extraits naturels des plantes, comme ingrédients dans le traitement des pathologies.

Le screening des distillats végétaux a été réalisé *in vitro* sur différentes souches. An aromagramme, *Staphylococcus* est le germe le plus sensible.

C'est les souches fongiques qui demeurent les plus sensibles avec des DZI de 43 et 33 mm. Les propriétés physicochimiques *in silico* des composés majoritaires des extraits aromatiques ont été prédites en ligne, en comparaison avec médicaments de synthèse.

Tous les composés testés ont été confrontés à la règle pour la biodisponibilité orale. Le pouvoir des composés majoritaires des extraits a été mené *in silico* par docking, une enzyme impliquée dans la production des médiateurs. Les résultats obtenus ont révélé que le médicament est le composé ayant présenté la plus grande attraction pour le site actif et une énergie de liaison la plus faible, suivi par des composés végétaux avec une énergie faible.

Enfin, un modèle a été généré en superposant quatre composés ayant la plus forte affinité pour le site des caractéristiques communes.

En perspectives, les études bio-informatiques peuvent fournir une base pour la découverte de nouveaux médicaments mais nécessitent une validation expérimentale et plusieurs études *in vitro* et des essais sur des cultures cellulaire.

**Mots-clés :** Plantes endémiques ; Site actif ; Pouvoir pharmacologique ; Propriétés physico-chimiques ; Extraits des plantes.

# ABSTRACT

---

The objective assigned to this work is to promote distilled plant oils as active ingredients in the treatment and prevention of infectious pathologies.

The screening of plant distillates was carried out *in vitro* on different strains. In the aromatogram, *Staphylococcus* is the germ most sensitive to the inhibitory action of the liquid phase.

It is the fungal strains that remain the most sensitive with DZIs of 43 and 33 mm. The *in silico* physicochemical properties of the majority compounds in the aromatic extracts were predicted online, in comparison with synthetic drugs.

All compounds tested were compared to the rule for oral bioavailability. The power of the majority compounds in the extracts was carried out *in silico* by docking, an enzyme involved in the production of mediators. The results obtained revealed that the drug is the compound with the greatest attraction to the active site and the lowest binding energy, followed by a terpene compound from plant extracts with an energy lower.

Finally, a model was generated by superimposing four compounds with the highest affinity for the active site of common features.

In perspective, bioinformatics studies can provide a basis for the discovery of new drugs but require experimental validation and several *in vitro* studies and tests on cell cultures.

**Keywords:** Endemic plants; Active site; Pharmacological power; Physico-chemical properties; Plant extracts.

# ملخص

الهدف المخصص لهذا العمل هو الترويج للزيوت النباتية المقطرة كمكونات فعالة في علاج الأمراض المعدية والوقاية منها. تم إجراء فحص نواتج التقطير النباتية في المختبر على سلالات مختلفة. في المخطط العطري، المكورات العنقودية هي الجرثومة الأكثر حساسية للعمل المثبط للطور السائل.

تظل السلالات الفطرية هي الأكثر حساسية مع DZIs التي تبلغ 43 و 33 ملم. تم التنبؤ بالخصائص الفيزيائية والكيميائية للسيليكو لغالبية المركبات الموجودة في المستخلصات العطرية عبر الإنترنت، مقارنة بالأدوية الاصطناعية. وتمت مقارنة جميع المركبات التي تم اختبارها بقاعدة التوافر البيولوجي عن طريق الفم. تم تنفيذ قوة معظم المركبات الموجودة في المستخلصات في السيليكو عن طريق الالتحام، وهو إنزيم يشارك في إنتاج الوسائط. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الدواء هو المركب الأكثر جاذبية للموقع النشط وأقل طاقة ربط، يليه مركب التربين من المستخلصات النباتية بطاقة -7.34 كيلو كالوري/مول.

وأخيراً، تم إنشاء نموذج من خلال تركيب أربعة مركبات ذات أعلى درجة تقارب للموقع النشط ذي السمات المشتركة. من الناحية المنظورة، يمكن لدراسات المعلوماتية الحيوية أن توفر أساساً لاكتشاف أدوية جديدة ولكنها تتطلب التحقق التجريبي والعديد من الدراسات والاختبارات المختبرية على مزارع الخلايا.

**الكلمات المفتاحية:** النباتات المستوطنة؛ موقع نشط؛ القوة الدوائية. الخصائص الفيزيائية والكيميائية. المستخلصات النباتية.

# Table des Matières

---

Résumé

Abstract

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

## **Introduction**

### **Chapitre 1 = SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

1.1. Définitions de l'huile

1.2. Aromathérapie

1.3. Voies d'administration

1.4. Spécificité Biochimique ou Chémotype

1.5. Propriétés physico-chimiques

1.6. Classification

1.7. Domaines d'utilisation

1.8. Hydrolats ou eaux florales

### **Chapitre 2 = MATERIEL ET METHODES**

2. Matériel

2.1. Huiles étudiées

2.2. Souches microbiennes

2.3. Milieux de culture et produits chimiques

2.2. Méthodes

2.2.1. Evaluation du pouvoir *in vitro*

2.2.1.1. Technique de diffusion

2.2.1.2. Technique en phase vapeur

2.2.2. Etude du pouvoir *in silico*

2.2.2.1. Structures des ligands

2.2.2.2. Structure et préparation

2.2.2.3. Simulation de l'affinité

2.2.3. Prédiction des propriétés

2.2.4. Génération d'un modèle

## **Chapitre 3 = RESULTATS ET DISCUSSION**

3.1. Composition chimique

3.2. Evaluation du pouvoir *in vitro*

3.3. Evaluation du pouvoir *in silico*

3.4. Prédiction des propriétés

3.5. Développement d'un modèle

**Conclusion**

**Références Bibliographiques**

# Liste des Tableaux

---

**Tableau 1.1.** Notion de chémotype

**Tableau 2.1.** Souches microbiennes testées

**Tableau 2.2.** Ligands (composés majoritaires) testés

**Tableau 3.1.** Screening des huiles *in vitro* par technique de diffusion

**Tableau 3.2.** Screening des huiles par technique de diffusion en vapeur

**Tableau 3.3.** Résultats du pouvoir des composés majeurs de l'huile

**Tableau 3.4.** Différents types de liaisons établies entre ligands

**Tableau 3.5.** Prédiction des propriétés pharmacocinétiques

# Liste des Figures

---

**Figure 1.1.** Exemple de composés chimiques détectés

**Figure 2.1.** Différentes étapes

**Figure 2.2.** Illustration de la méthode

**Figure 2.3.** Structure chimique des différents composés terpéniques testés

**Figure 2.4.** Structure de la protéine du site

**Figure 2.5.** Structure de la préparée par le logiciel

**Figure 2.6.** Localisation du site actif dans la chaîne

**Figure 3.1.** Exemple de photographies des zones d'inhibition générées

**Figure 3.2.** Types d'interactions entre le site actif du récepteur protéique

**Figure 3.3.** Types d'interactions entre les composés

**Figure 3.4.** Modèle pharmacophore

**Figure 3.5.** Structure chimique de quelques composés trouvés

# Liste des Abréviations

---

BPP = Protéines de liaison plasmatique

CL = Clairance

EC = Irritation cutanée

EI = Irritation oculaire

hERG = Human ether-à-go-go-related gene

H-HT = Hépatotoxicité humaine

HIA = Absorption intestinale humaine

MH = gélose Muller-hinton

ORL = Oto-rhino-laryngologie

PM = Poids moléculaire

ROA = Toxicité aiguë chez les mammifères

SAB = Sabouraud-Chloramphénicol

SMILES = Simplified molecular input line entry specification

SNC = Système nerveux central

T1/2 = Demi-vie d'un médicament

# INTRODUCTION

---

La thérapeutique des pathologies humaines est basée principalement sur l'usage des médicaments de synthèse. A titre d'exemple, la principale indication des médicaments de synthèse est le traitement des infections.

Cependant, ces médicaments chimiques ne sont pas dénués d'effets secondaires qui sont nombreux, très fréquents parfois graves voire mortels. Etant donné leur très grande utilisation, les médicaments de synthèse font partie des médicaments les plus dangereux. De plus, l'incidence est plus élevée chez les personnes âgées ou vulnérables (Tréchet et Jouzeau, 2014).

Autre possible effet indésirable des antibiotiques est celui d'une hypersensibilité ou une réaction allergique. Des démangeaisons ou éruptions cutanées peuvent survenir immédiatement médicamenteuse (Blumenthal et al., 2019).

Il demeure intéressant de disposer de nouveaux produits à visée thérapeutique, notamment pour des affections. En outre et face au problème soulevé depuis plusieurs années par l'antibiorésistance ou encore les effets indésirables des médicaments de synthèse conventionnelles, une alternative prometteuse à l'usage de ces médicaments synthétiques semble être celle des molécules naturelles bioactives (Verbeke, 2006 ; Goetz et Ghedira, 2012).

Par ailleurs, de nombreuses HE ont un effet anti-infectieux et antalgique. Leur action peut permettre de contrôler ou de diminuer la douleur, ou encore d'agir sur ses causes, par exemple en luttant contre l'inflammation. La bibliographie regorge d'études sur le pouvoir antimicrobien des HE et actuellement, personne ne peut nier l'action des huiles sur les souches bactériennes ou fongiques résistantes aux antibiotiques.

Une approche récente consiste à combiner l'utilisation des HE et des antibiotiques. C'est là une nouvelle stratégie pour surmonter les problèmes de résistance et des effets secondaires (De Billerbeck, 2007 ; Bouyahya et al., 2018).

L'objectif assigné à notre travail consiste à étudier le pouvoir antibactérien et antifongique (sur des souches de références et isolées cliniquement) des extraits aromatiques des plantes médicinales et des arbres à parfum.

Le pouvoir a été évalué à travers l'utilisation de deux méthodes microbiologiques complémentaires sur plusieurs bactéries et champignons filamenteux.

Aussi et pour mettre en évidence l'effet inhibiteur des molécules majoritaires sur un récepteur protéique responsable de la synthèse de plusieurs médiateurs chimiques, nous avons opté pour la prédiction des propriétés (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) et la génération d'un modèle à partir des meilleurs composés inhibiteurs.

# Chapitre 1

# SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

---

## 1.1. Définitions

L'AFNOR (Association Française de Normalisation) a donné une définition précise et officielle de l'HE, qui doit être « obtenue à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche » (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012 ; Do et al., 2015).

## 1.2. Aromathérapie

L'usage aromatique des plantes est très ancien - les Egyptiens y avaient déjà recours en 4 000 av. J.C. pour l'embaumement des morts - même si les premières études sur la définition précise de l'aromathérapie et ses effets ne remontent qu'à la fin du 19e siècle.

Le terme aromathérapie a été inventé par le parfumeur René-Maurice Gattefossé. Celui-ci fut le premier à découvrir le pouvoir des HE en plongeant sa main blessée par une explosion survenue dans son laboratoire dans une bassine remplie d'huile de lavande. Il fut immédiatement soulagé (Micozzi, 2018). Utilisant les HE et les essences aromatiques, l'aromathérapie est une branche de la phytothérapie.

En 1975, Pierre Franchomme, pharmacologue et aromatalogue, apporte un progrès décisif en proposant de prendre en compte la notion de « chémotype », véritable « carte d'identité chimique de la plante » recensant les molécules aromatiques principales qui la caractérisent et sont à l'origine de ses propriétés. Aujourd'hui, l'aromathérapie est de plus en plus étudiée scientifiquement.

## 1.3. Voies d'administration

Les HE sont des produits très concentrés et très actifs, il est donc inutile d'en prendre de grandes quantités quelle que soit la façon dont elles sont employées. Les modes principaux d'utilisation sont l'application sur la peau (bains, massages), la diffusion dans l'air ambiant (inhalations) et la voie orale (gouttes à avaler) (Millet, 2010).

### 1.3.1. Application sur la peau

Pour les massages, elles doivent être préalablement diluées dans une base d'huile végétale dans laquelle une ou plusieurs HE sont incorporées. On obtient ainsi une lotion qui est utilisée en massage ou en friction, pour permettre une absorption des composants aromatiques (Couic-Marinier, 2018).

### 1.3.2. Diffusion dans l'air ambiant

La diffusion des HE par voie aérienne s'appuie sur leur évaporation naturelle. Il existe deux méthodes, selon le résultat recherché.

- L'inhalation par fumigation (après dilution dans l'eau chaude) peut être utile en cas de refroidissement.

Pour purifier l'atmosphère et les voies respiratoires, la diffusion peut se faire grâce à un brûle-parfum qui accélère l'évaporation de l'HE sous l'action de la chaleur (Gigon et al., 2019).

### 1.3.3. Administration orale

Pour cet usage, il est recommandé de consulter un médecin phytothérapeute. En effet, les HE concentrent les substances actives et nécessitent une posologie bien adaptée pour prévenir tout risque de toxicité et d'irritation des muqueuses digestives.

## 1.4. Spécificité Biochimique

Il peut en exister une grande quantité dont les propriétés médicales et pharmacologiques varient du tout au tout. Le chémotype d'une HE est très important en aromathérapie : il permet de procéder à une classification de chaque huile selon des connaissances botaniques précises et surtout d'obtenir des produits hautement qualitatifs (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

**Tableau 1.1.** Notion de chémotype.

<b>Origine géographique</b>	<b>Chémotype</b>	<b>Propriétés thérapeutiques</b>
Maroc	Cinéole-1,8 (eucalyptol)	Antiseptique broncho-pulmonaire
<i>Provence</i>	Camphre $\geq$ 20-30% (rend les animaux craintifs)	Anti-rhumatismal, troubles cardiaques, hypertenseur
<i>Espagne</i>	Camphre = 5%	Idem avec moins d'effets secondaires
<i>Corse</i>	Acétate de bornyle, verbénone	Hépatoprotecteur, digestif

Dans ces conditions, une huile sans chémotype peut s'avérer inefficace ou toxique. Il existe des « labels » sur les différents emballages qui garantissent la caractérisation des HE :

- HEBBD : Huile Botaniquement et Biochimiquement Définie
- HECT : Huile Chémotypée
- Composants Majoritaires
- Botaniquement Défini (Laurain-Mattar, 2018).

### 1.5. Propriétés physico-chimiques

- A base température, certaines cristallisent (anis, menthe des champs, thym saturéoïde).
- Elles sont très solubles dans les huiles grasses (meilleur solvant), et solubles dans l'alcool (de titre élevé), les graisses, l'éther et la plupart des solvants organiques.
- Elles sont plus légères que l'eau (sauf cannelle, girofle, sassafras, graines de carotte) et non miscibles.
- Elles possèdent un indice de réfraction élevé et ont souvent un pouvoir rotatoire.
- Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation, mais ne rancissent pas. Elles ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

### 1.6. Classification

- HE riches en aldéhydes (HE de cannelle (aldéhyde cinnamique), HE de citronnelle (citral et geranial), HE d'*Eucalyptus citriodora* (citronellal)) ;
- HE riches en cétones (HE de carvi (carvone), HE de sauge (thuyone), HE de thuya (thuyone), HE de camphrier (camphre)) ;
- HE riches en phénols (HE de thym (thymol), HE de sarriette (carvacrol), HE d'origan (thymol et carvacrol), HE de girofle (eugénol)) ;
- HE riches en éthers (HE d'anis vert), HE de fenouil (anéthol), HE d'*Eucalyptus globulus* (eucalyptol)) ;
- HE sulfurées (HE d'ail (diallyl disulfide et trisulfide)).

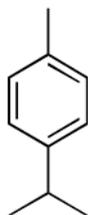
---

## 1. Terpenes

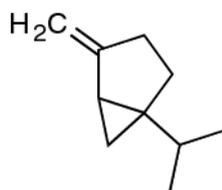
-Monoterpenes

**Carbure monocyclic**

Cymene ("y") or p.cymene



Sabinene



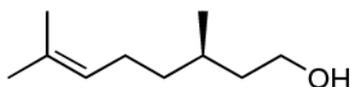
**Carbure bicyclic**

Alpha-pinene

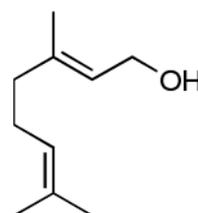


**Alcohol acyclic**

Citronellol

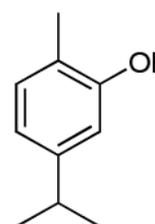


Geraniol



**Phenol**

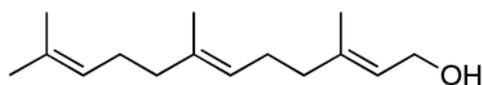
Carvacrol



-Sesquiterpenes

**Carbure**

Farnesol



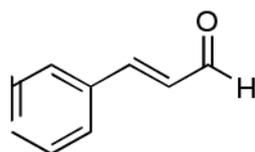
H<sub>2</sub>C<sup>+</sup>

---

## 2. Aromatic compounds

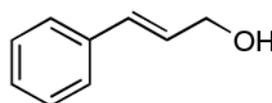
**Aldehyde**

Cinnamaldehyde



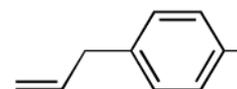
**Alcohol**

Cinnamyl alcohol



**Phenol**

Chavicol



**Methoxy derivative**

Anethole

**Methoxy derivative**

Estragole

**Methylene dioxy c**

Safrole

**Figure 1.1.** Exemple de composés chimiques détectés.

## **1.7. Domaines d'utilisation**

En raison de leurs diverses propriétés, les HE sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance.

### **1.7.1. Industrie agroalimentaire**

Les HE jouent un rôle capital dans l'aromatisation des aliments. En effet, elles donnent la saveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger, thym, laurier).

### **1.7.2. Parfumerie et cosmétologie**

Elles présentent environ 60 % des matières premières de l'industrie des parfums, des savons et des cosmétiques. Il faut dire qu'en cosmétiques, les HE sont aussi utilisées dans la formulation des shampoings et des laits de beauté.

### **1.7.3. Pharmacie**

L'industrie pharmaceutique les utilise dans le domaine des antiseptiques externes elle tire parti des propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques des HE.

## Chapitre 2

# MATERIEL ET METHODES

---

### 2. Matériel

#### 2.1. Huiles étudiées

Les extraits végétaux ont été fournis par la société de production des HE. Nous avons conservé ces HE dans des flacons stériles et teintés à température ambiante.

#### 2.2. Souches microbiennes

Nous avons utilisé plusieurs souches microbiennes pour évaluer le pouvoir *in vitro*. Toutes les souches ont été fournies par le laboratoire d'hygiène. Les souches testées sont rapportées dans le tableau 2.1.

**Tableau 2.1.** Souches microbiennes testées dans le screening.

<b>Souches microbiennes</b>
<b>Bactéries à Gram -</b>
<i>Pseudomonas ATCC</i>
<i>Klebsiella</i>
<b>Bactéries à Gram +</b>
<i>Staphylococcus</i>
<b>Champignons filamenteux</b>
<i>Aspergillus</i>

ATCC : souche de référence (ATCC = American Type Culture Collection).

#### 2.3. Milieux de culture et produits chimiques

Par ailleurs, nous avons aussi testés plusieurs antibiotiques, aussi bien pour les bactéries à Gram+ que les Gram-, comme par exemple Ticarcilline-acide clavulanique (TIM, 85 µg), Azétronam (ATM, 30 µg), Céfotaxime (CTX, 30 µg), Amoxicilline (AMC, 30 µg).

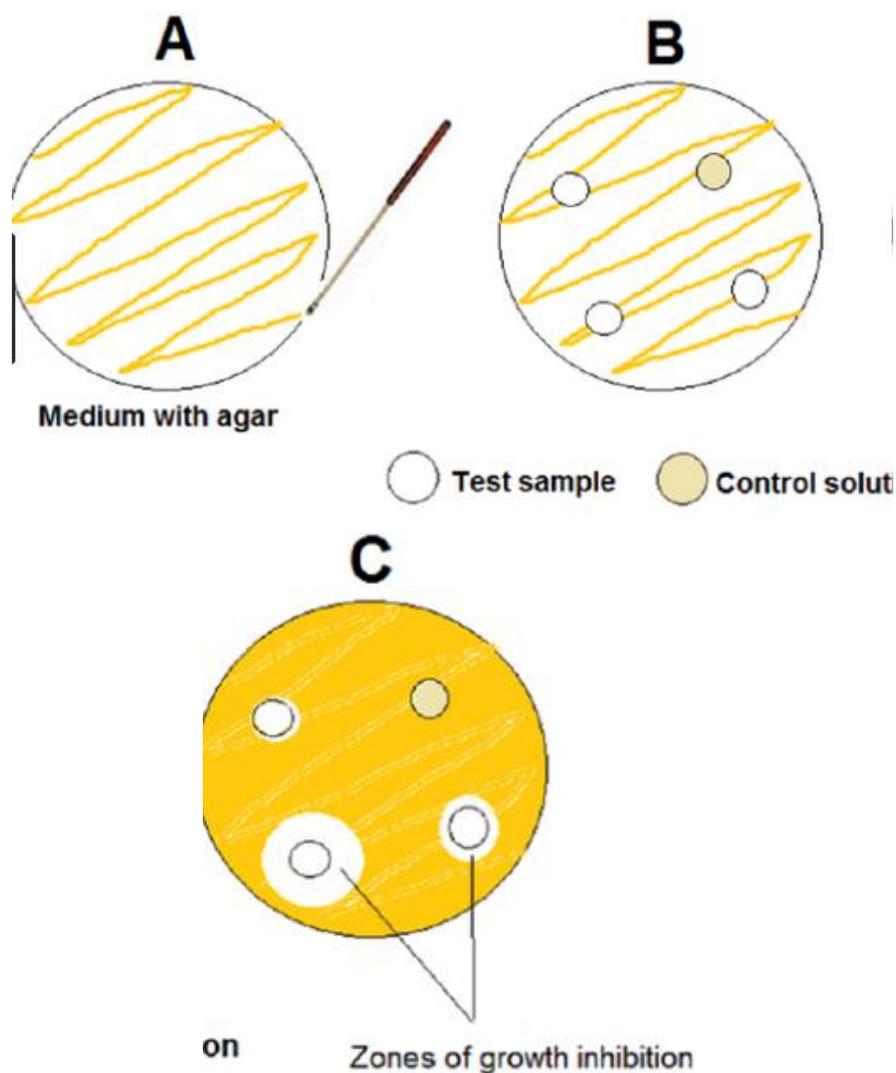
Des disques de 9 mm de diamètre (Antibiotica-Testblattchen, Allemagne) sont utilisés pour les imprégner en HE.

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Evaluation du pouvoir *in vitro*

#### 2.2.1.1. Technique de diffusion

L'évaluation du pouvoir inhibiteur est identique à celui de l'antibiogramme. La boîte Pétri est incubée dans l'étuve à température adéquate (37°C/24h pour les bactéries et à température ambiante du laboratoire pendant 5 jours pour les champignons filamenteux). Les HE diffusent à partir du disque au sein de la gélose et détermine un gradient de concentration.

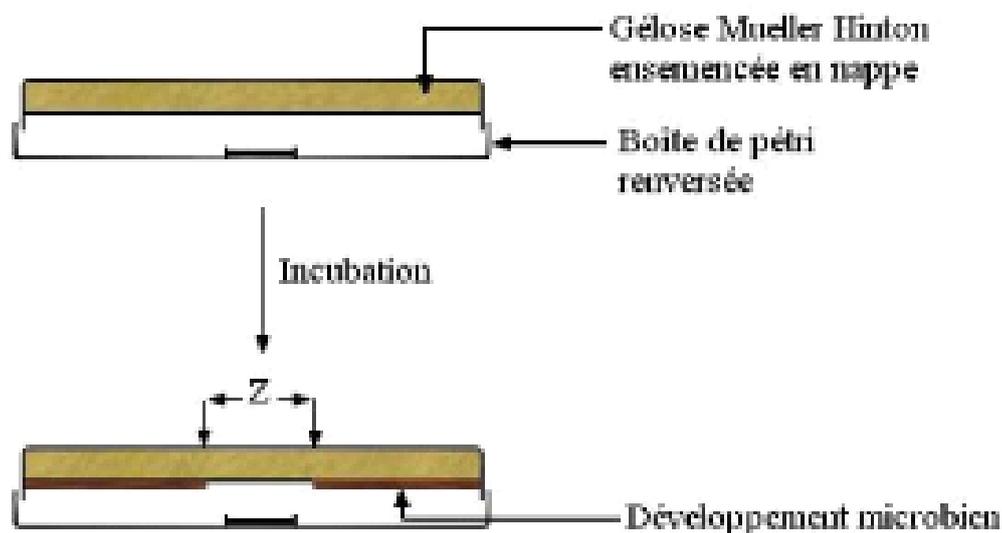


**A)** Ensemencement de la souche microbienne sur milieu gélosé ; **B)** Dépôt des disques imprégnés par une HE ; **C)** Lecture des zones d'inhibition après incubation à température adéquate.

**Figure 2.1.** Différentes étapes de l'aromatogramme (images.google.com).

#### 2.2.1.2. Technique de vapeur

Le disque ou papier filtre sera imprégné en HE puis déposé sur couvercle de la boîte de Pétri sans qu'il y ait contact direct avec le milieu gélosé (Figure 2.3).



**Figure 2.2.** Illustration de la méthode de microatmosphère (images.google.com).

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par une zone translucide sur la gélose de contour plus ou moins nette, à tendance circulaire. Le résultat final sera exprimé en DZI (mm).

### 2.2.2. Etude du pouvoir *in silico*

L'enzyme est exprimée de manière constitutive dans de nombreux tissus, et est impliquée dans la régulation des fonctions physiologiques telles que la protection de la muqueuse gastrique, la régulation de la circulation sanguine et la formation des thrombocytes.

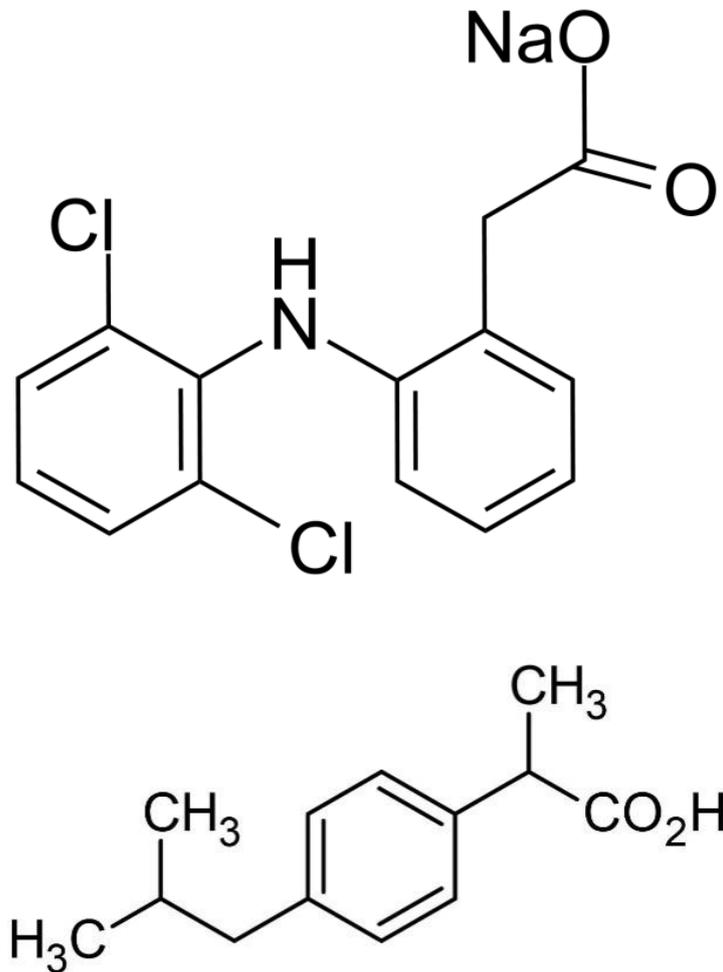
#### 2.2.2.1. Structures des ligands

En inhibant l'enzyme, les médicaments réduisent la production de prostaglandines et atténuent ainsi l'inflammation et la douleur. Toutes les molécules ont été téléchargées sous format SDF du site PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

**Tableau 2.2.** Ligands (composés majoritaires) testés.

Synonyme	ID	Formule moléculaire	PM	SMILES
4-Carvomethenol	11230	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	CC1=CCC(CC1)(C(C)C)O
Nuprin	3672	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	206	CC(C)CC1=CC=C(C=C1)C(C)C(=O)O
Prophenatine	5018304	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> C <sub>12</sub> N NaO <sub>2</sub>	318	C1=CC=C(C(=C1)CC(=O)[O-] -NC2=C(C=C2)Cl.[Na+]

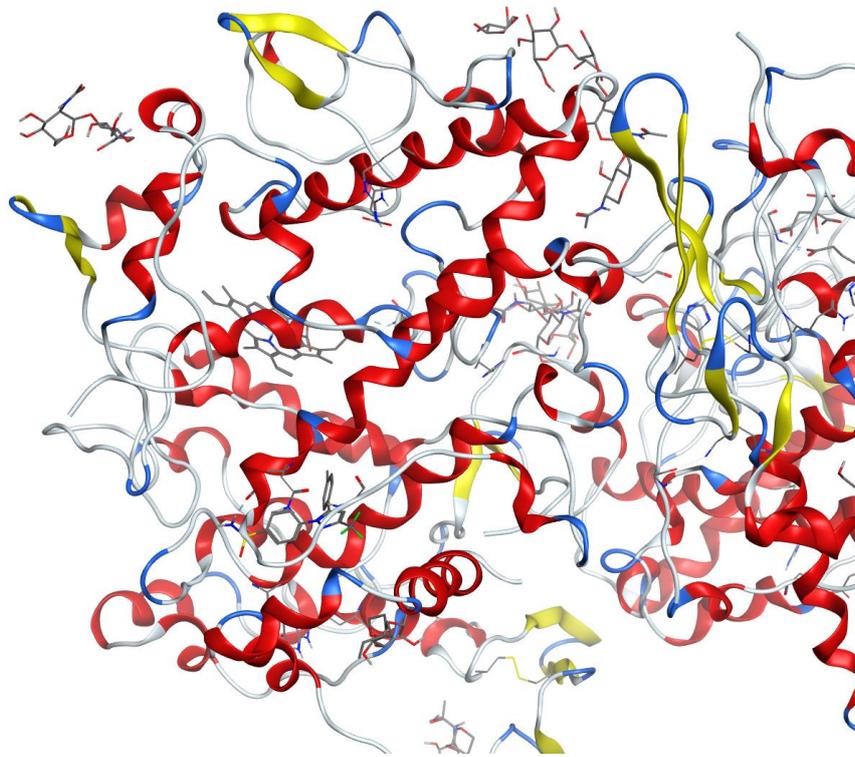
SMILES = Simplified molecular input line entry specification ; PM = Poids moléculaire (g/mole); ID = Identifiant.



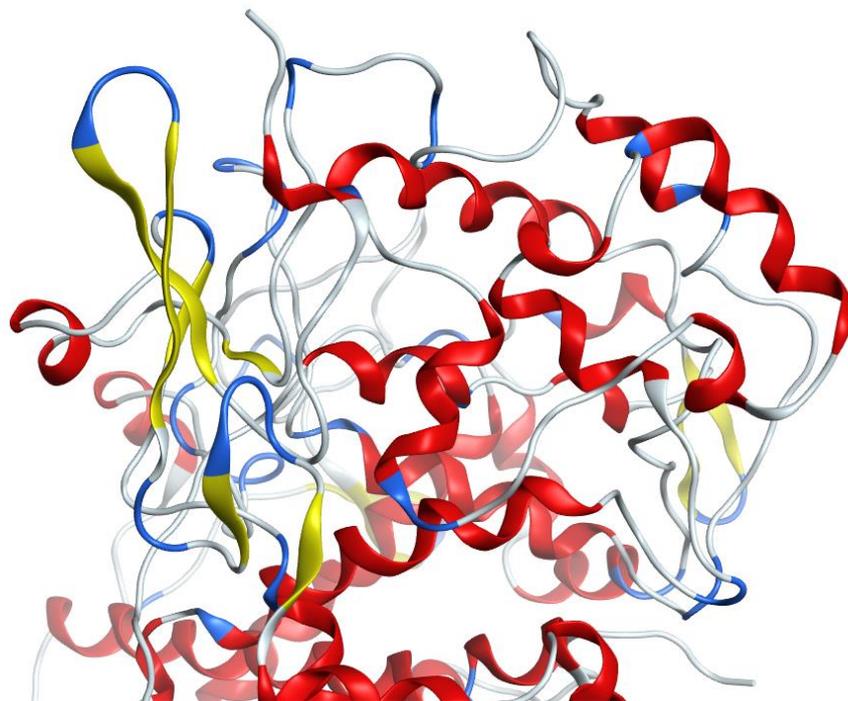
**Figure 2.3.** Structure chimique des différents testés.

#### 2.2.2.2. Structure et préparation

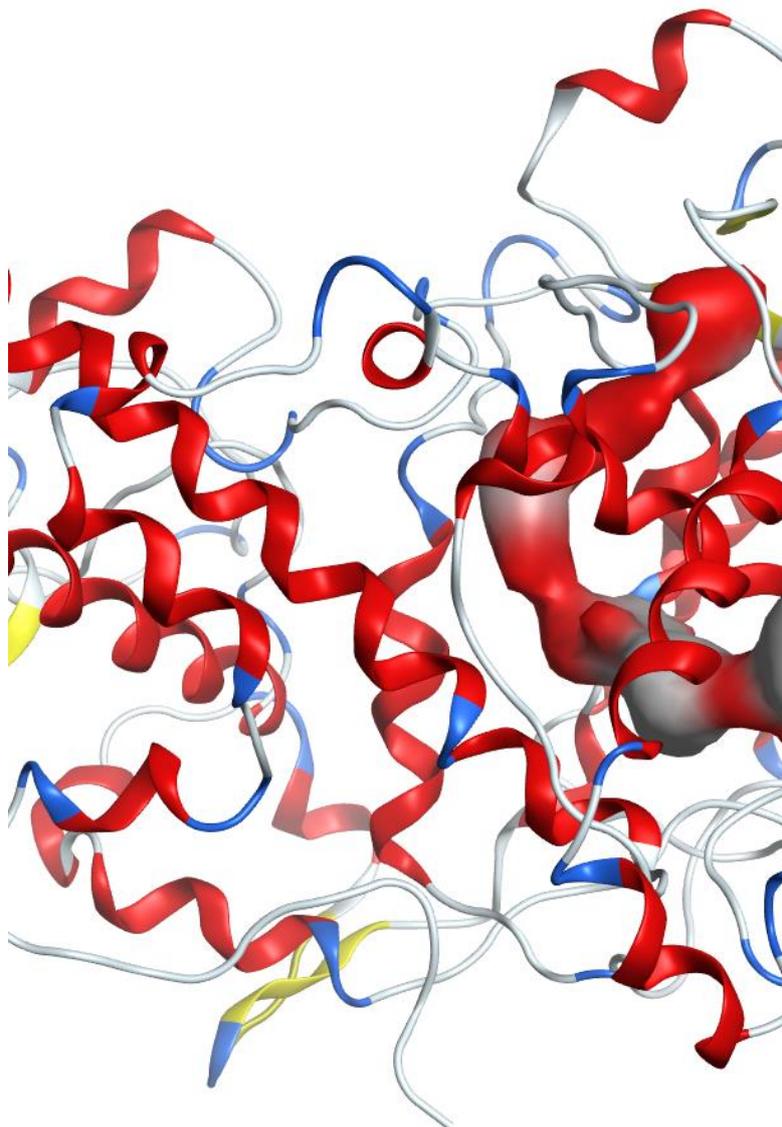
La structure 3D de l'enzyme a été téléchargée de la base de données protéique PDB (<https://www.rcsb.org/structure/3KK6>) sous le format PDB (Figure 2.4). L'enzyme impliquée dans la synthèse des prostaglandines. Les médicaments inhibent l'activité de l'enzyme ce qui peut réduire l'inflammation, la douleur et la fièvre. Nous avons préparé cette protéine par élimination des molécules Hetatom (eau et différents ligands) et suppression de la chaîne B (Figure 2.5) et, à la fin, la détermination des coordonnées du site catalytique (Figure 2.6).



**Figure 2.4.** Structure de la protéine téléchargée du site PDB.



**Figure 2.5.** Structure préparée.



**Figure 2.6.** Localisation du site actif.

### **2.2.2.3. Simulation de l'affinité**

La simulation de l'affinité a été réalisée par amarrage moléculaire en utilisant le logiciel qui permet le criblage virtuel pour la découverte computationnelle de médicaments et pouvant être aussi utilisé pour cribler des bibliothèques de composés par rapport à des cibles médicamenteuses potentielles.

### **2.2.3. Prédiction des propriétés**

Les propriétés sont un ensemble de propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des composés qui sont importantes pour leur absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité.

Dans notre étude, nous avons opté pour le logiciel pour évaluer et prédire les propriétés physicochimiques et pharmacocinétique régissant les paramètres.

Cette règle est un ensemble de critères utilisés en chimie médicinale pour évaluer la probabilité qu'un composé donné soit biodisponible, c'est-à-dire qu'il puisse être absorbé et distribué dans l'organisme.

#### **2.2.4. Génération d'un modèle**

La génération est un processus qui vise à identifier les caractéristiques moléculaires clés qui sont nécessaires pour qu'un composé interagisse avec une cible biologique spécifique. Les étapes typiques de la génération consistent à collecter et recueillir des données sur les composés ou ligands ayant présenté la meilleure affinité pour le site catalytique de la cible.

## Chapitre 3

# RESULTATS ET DISCUSSION

---

### 3.1. Composition chimique

Leur composition chimique n'a pas été réalisée (non disponibilité de l'appareillage chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse). Par conséquent et pour mieux cerner les composés majoritaires présents dans ces HE, une revue de littérature a été menée à travers la recherche des travaux antérieurs dans différentes bases de données (DSpace, NCBI et PubChem) et moteurs de recherche scientifiques (Google scholar, Bing).

Il en ressort de cette étude que la composition chimique peut varier en fonction de différents facteurs tels que la géographie, les conditions de croissance et les méthodes d'extraction. Cependant, les principaux composants de cette essence comprennent plusieurs molécules terpéniques, comme par exemple  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène, limonène, myrcène, terpinéol.

La combinaison de ces différents composés est responsable des propriétés thérapeutiques. Les hydrocarbures monoterpéniques, principalement  $\alpha$ -pinène, myrcène ou limonène, se sont révélés être la fraction terpénique.

Une étude comparative du profil chimique des HE obtenu pour les plantes algériennes a montré des différences à la fois qualitatives et quantitatives. En effet, les hydrocarbures monoterpéniques sont représentés principalement par des pourcentages élevés d' $\alpha$ -pinène dans la plupart des articles, avec des valeurs très différentes. Dans certaines études sur les feuilles de plantes marocaines, le viridiflorol est un autre composé important.

### 3.2. Evaluation du pouvoir *in vitro*

L'évaluation du pouvoir a été réalisée *in vitro* en utilisant deux méthodes complémentaires à savoir la diffusion en milieu gélosé et en phase vapeur. Les résultats sont rapportés en diamètre de zone d'inhibition (DZI) et consignés dans les tableaux 3.1 et 3.2.

De tous les micro-organismes testés, il apparaît clairement que le *Staphylococcus* est le germe le plus sensible à l'action inhibitrice de la phase liquide, suivi par le *Pseudomonas*.

Cependant et par manque de répétition, aucune étude statistique n'a été possible entre différentes souches testées.

**Tableau 3.1.** Screening antimicrobiens *in vitro* par technique de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme).

Souches microbiennes	Volume (µL par disque)					
<b>Bactéries à Gram -</b>						
<i>P. aeruginosa</i>	10	20	30	10	20	30
<b>Bactéries à Gram +</b>						
<i>S. aureus</i>	12	22	33	11	15	15
<b>Champignons filamenteux</b>						
<i>Aspergillus ATCC</i>	-	-	-			

ATCC : American type culture collection ; (-) : aucune zone d'inhibition

En microatmosphère, c'est toujours les Gram positifs qui est encore une fois la bactérie la plus sensible au pouvoir inhibiteur de la phase vapeur. Il est important de signaler que les autres bactéries à Gram – sont résistants.

**Tableau 3.2.** Screening antimicrobiens *in vitro* par technique de diffusion en phase vapeur (microatmosphère).

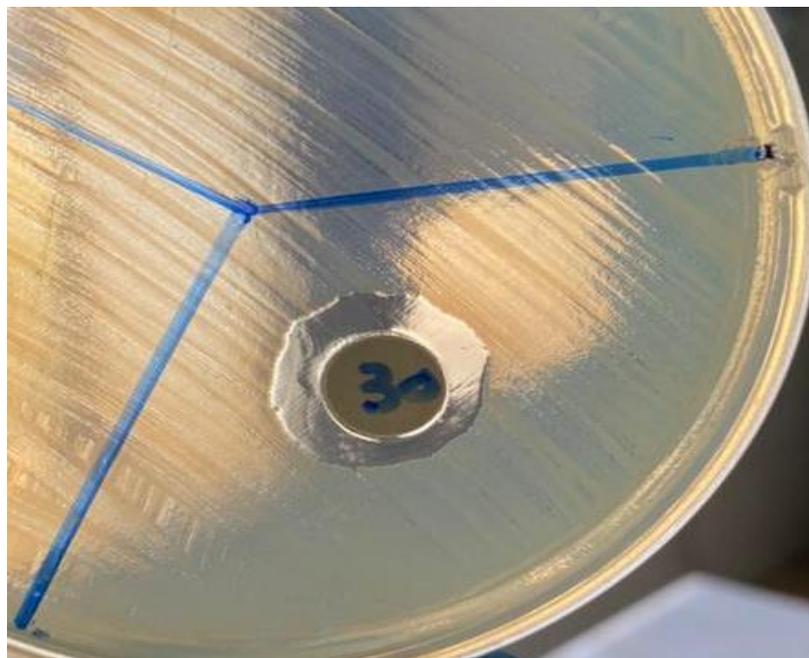
Souches microbiennes	Volume en HE (µL par disque)					
<b>Bactéries à Gram -</b>						
	20	30	40	20	30	40
<i>P. aeruginosa</i>	25	35	60	35	-	-
<b>Bactéries à Gram +</b>						
<i>Staphylococcus</i>	-	-	-	-	10	20
<b>Champignons filamenteux</b>						
<i>Aspergillus</i>	-	10	20	-	-	30

ATCC : American type culture collection ; (-) : aucune zone d'inhibition.

Les HE ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs.

Par ailleurs, l'activité des HE est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Evalués séparément sous la forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'HE de composition semblable.

Eu égard des vertus hémostatiques et cicatrisantes, est idéale pour stopper les saignements ainsi que pour régénérer la peau lésée. Et grâce à ses autres propriétés anti-infectieuses et antibactériennes, elle permet également d'enrayer le risque d'infection et place la plaie dans les meilleures conditions pour guérir et cicatriser le plus rapidement possible.



**Figure 3.1.** Exemple de photographies.

### 3.3. Evaluation du pouvoir *in silico*

Dans notre étude, les médicaments de synthèse qui ont été choisis pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants terpéniques. Les résultats du docking et des simulations sont rapportés dans le tableau 3.3

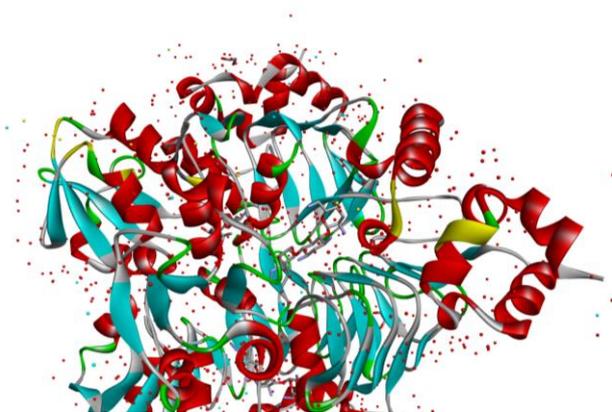
La liaison des différents ligands testés et composés terpéniques avec le site catalytique du récepteur protéique est souvent hautement spécifique et dépend des interactions chimiques et physiques entre le ligand et les résidus d'acides aminés du récepteur.

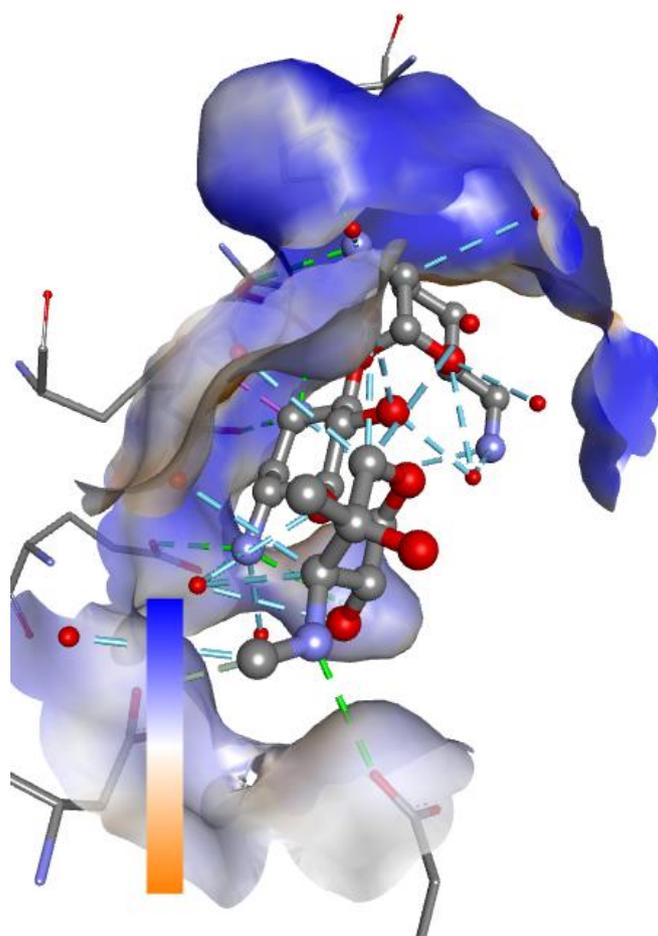
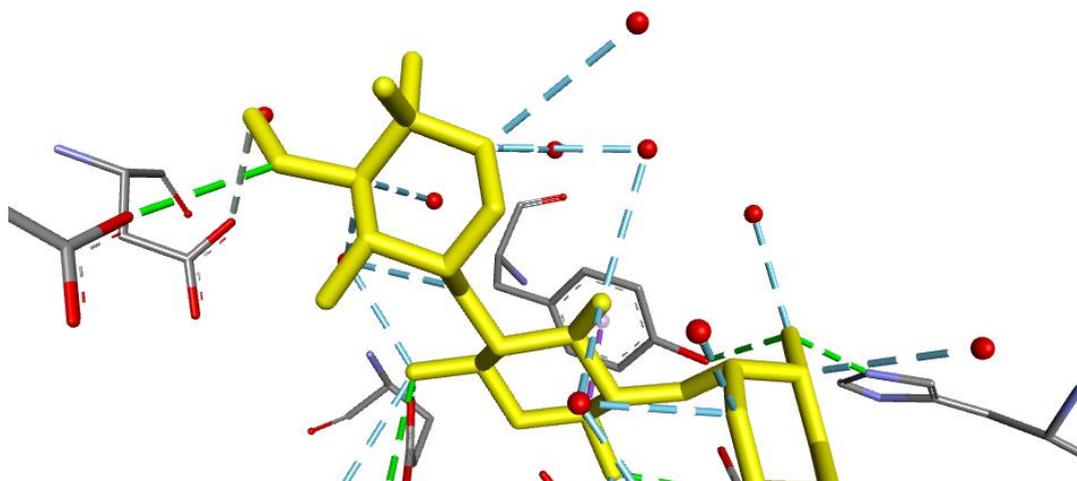
Ces interactions ligand-protéine ont été visualisées à l'aide de différents logiciels.

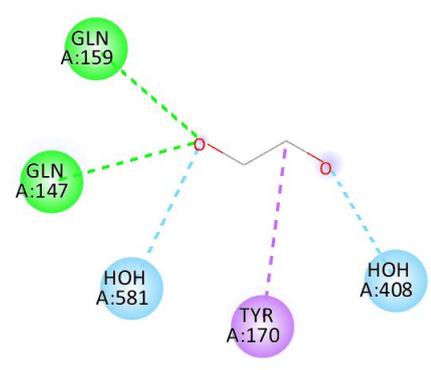
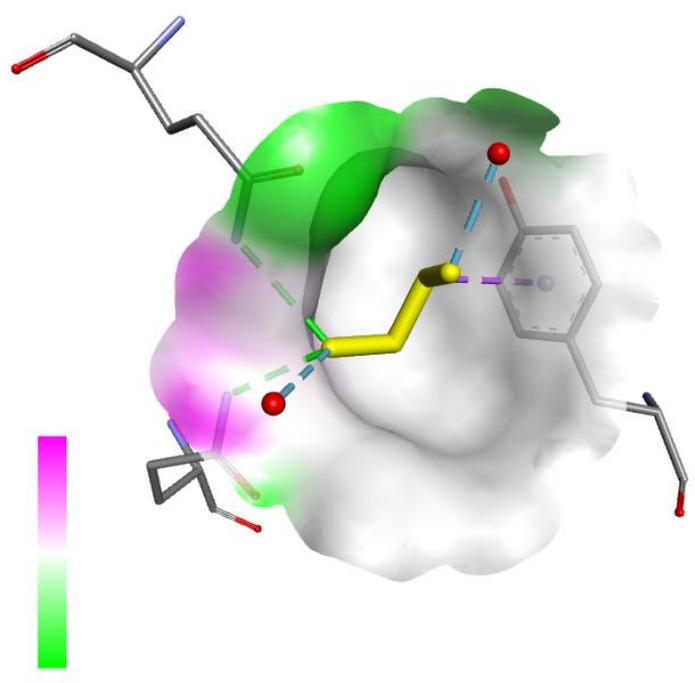
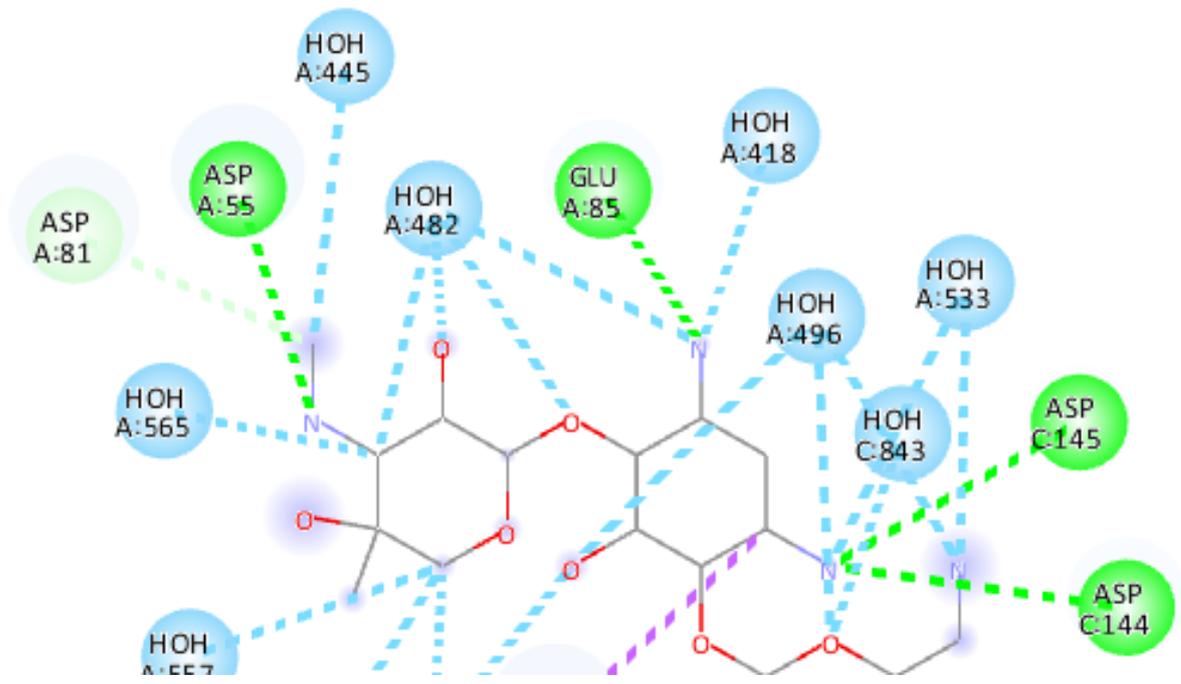
Les résultats des différentes interactions établies sont illustrés dans les figures 3.2 et 3.3 et le tableau 3.4.

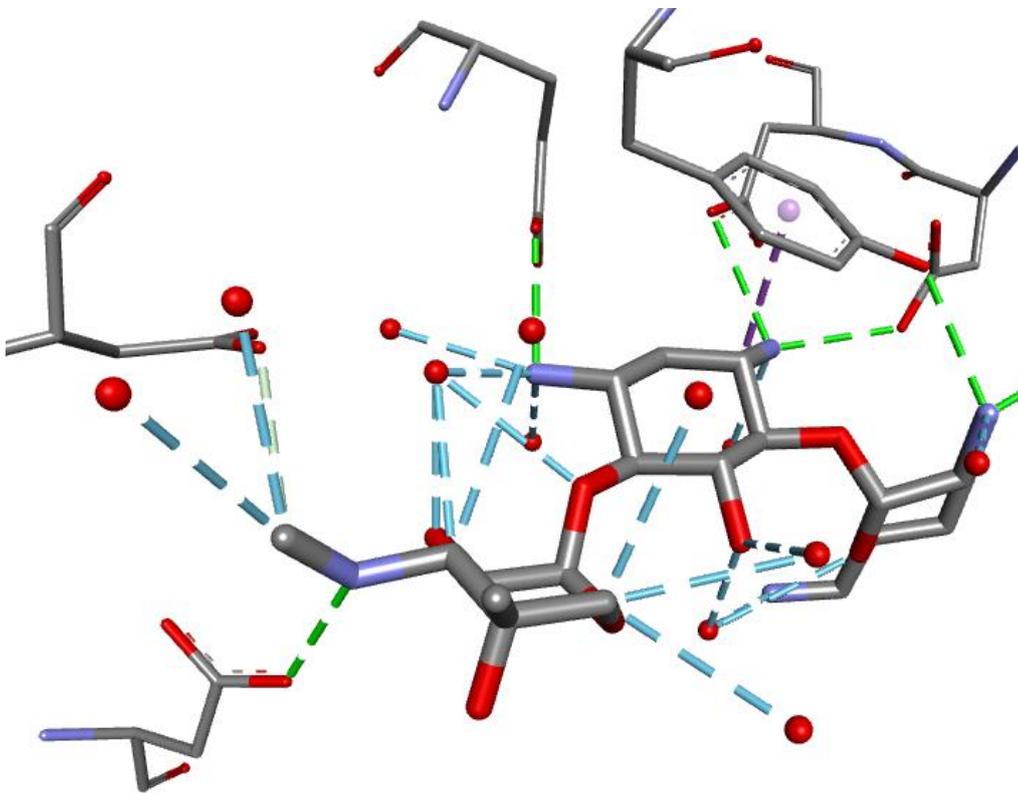
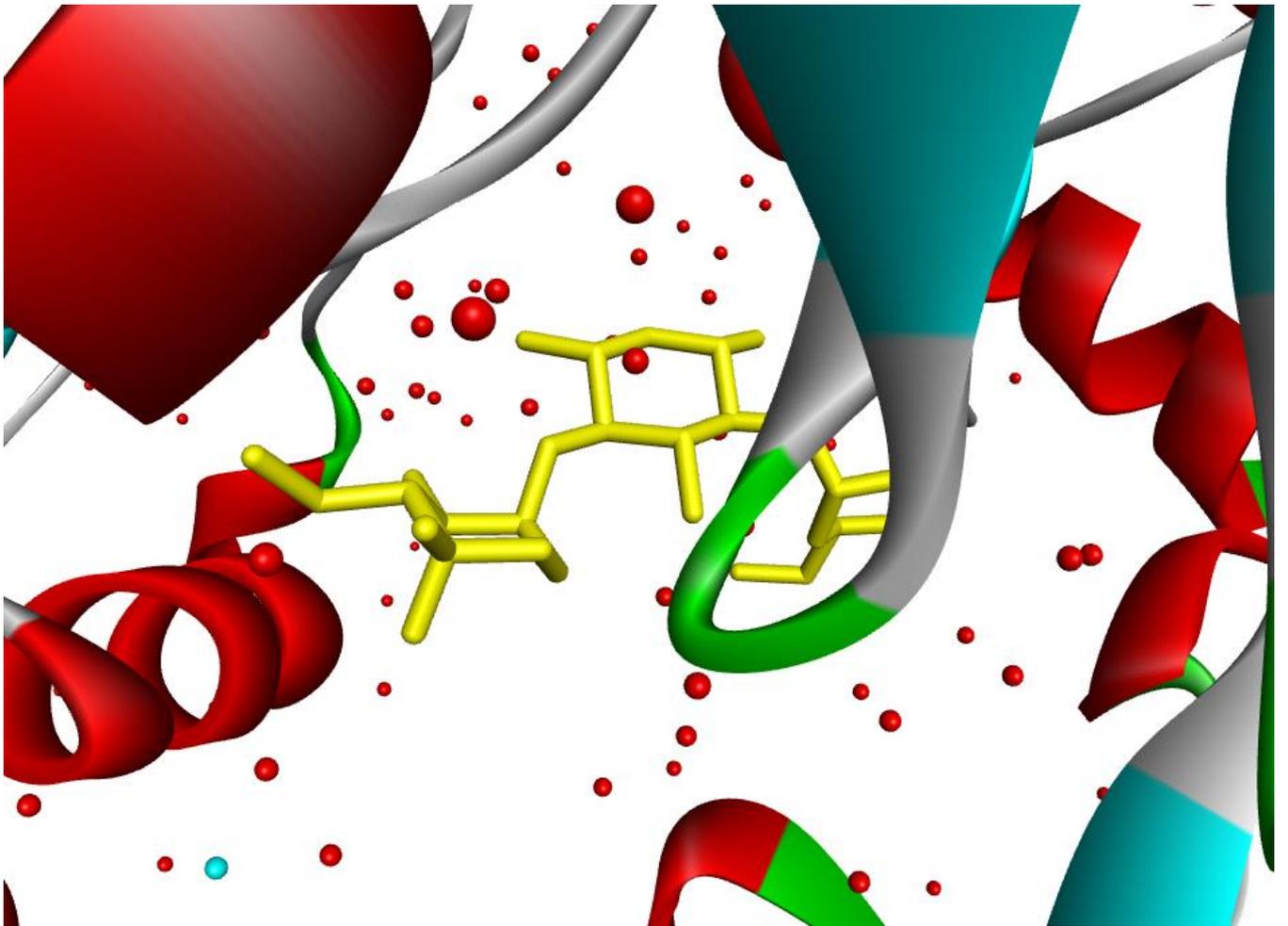
**Tableau 3.3.** Résultats du pouvoir antibactérien des composés majeurs en comparaison avec des médicaments de synthèse.

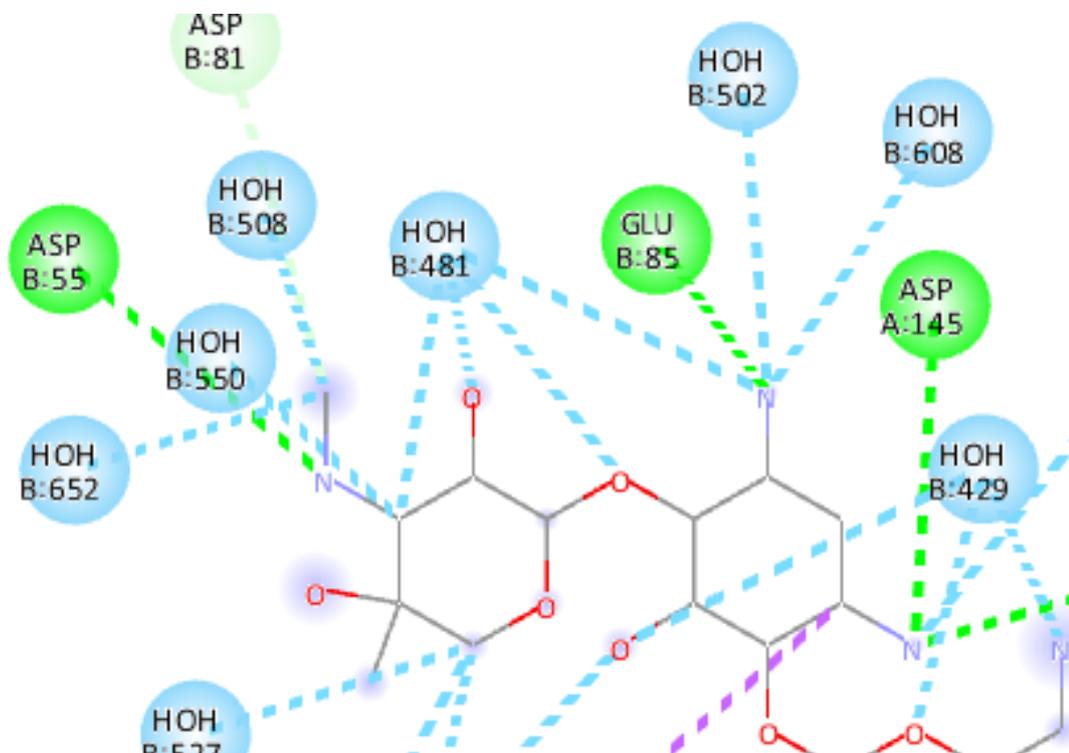
Famille	Energie d'affinité (kcal/mol)
Acide phénylacétique	-8.3
Monoterpène hydrocarboné	-7.28
Monoterpène hydrocarboné	-7.19
Sesquiterpène	-6.10
Alcool monoterpénique	-6.00
Aldéhyde	-5.79
Alcool monoterpénique	-4.64
Monoterpène bicyclique	-3.60
Monoterpène hydrocarboné	-3.59
Monoterpène hydrocarboné	-3.41



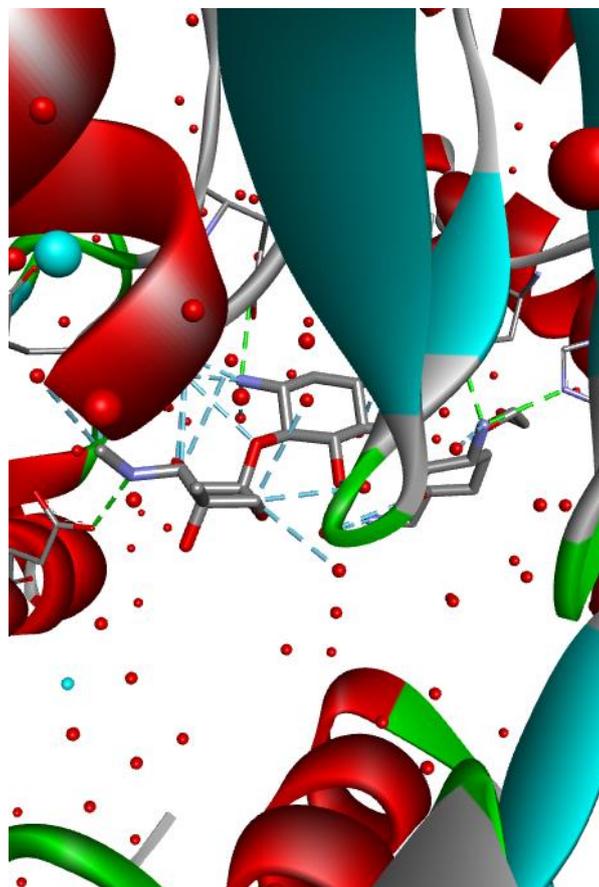


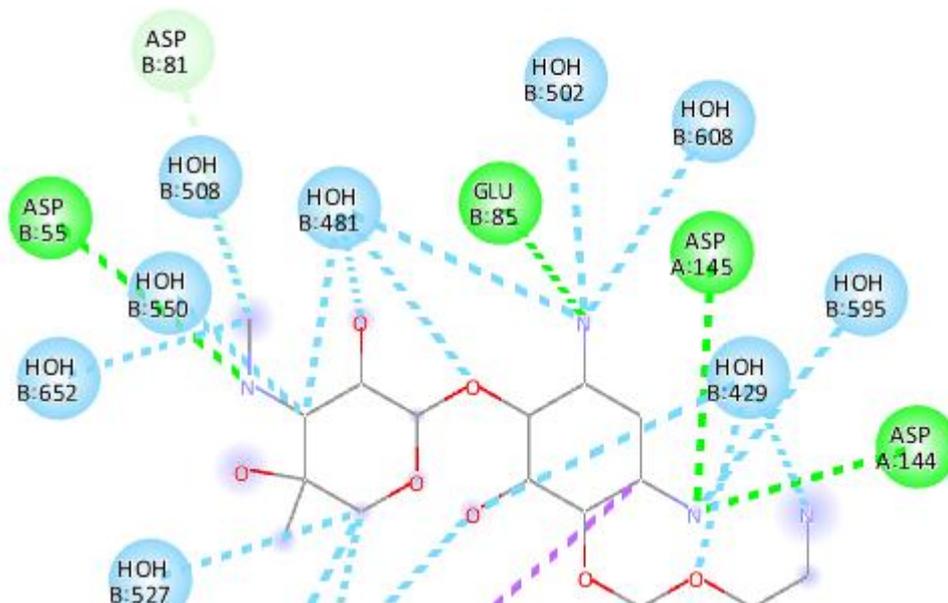
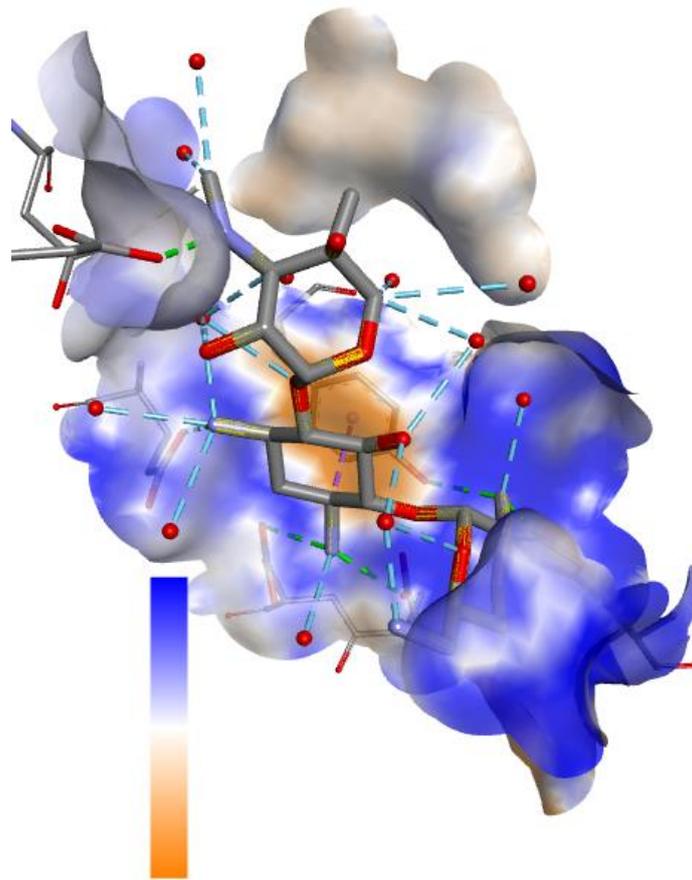






**Figure 3.2.** Types d'interactions entre les composés testés et le site actif du récepteur protéique de l'enzyme.





**Figure 3.3.** Types d'interaction entre les composés terpéniques de l'huile et le site actif du récepteur .

Le contrôle a formé différents types d'interactions avec les acides du site actif, tels que des liaisons hydrogène, électrostatiques cationiques et hydrophobiques. Le même constat a été noté avec l'autre médicament.

**Tableau 3.4.** Différents types de liaisons établies.

<b>Acide aminé</b>	<b>Nature de liaison</b>
	Liaison H
HIS9	
ARG3	Liaison H ; Electrostatique
ARG20	Liaison H ; Electrostatique
LEU23	Hydrophobique
VAL19	
LEU52	Liaison H ; Electrostatique
ILE53	
ALA27	
ALA27	
ALA27	
ILE53	
VAL49	
HIS9	
TYR55	
ALA27	Liaison H ; Electrostatique
ALA27	
ILE53	
ILE53	
LEU52	
ILE53	
VAL49	
LEU31	
LEU59	
LEU31	

La connaissance de l'interaction ligand-protéine peut être utilisée pour concevoir de nouveaux médicaments ou pour améliorer l'efficacité des médicaments existants. Les études de docking moléculaire peuvent être utilisées pour identifier et concevoir de nouveaux composés capables de se lier de manière sélective à ces cibles inflammatoires et d'inhiber leur activité.

Plusieurs mécanismes d'action ont été proposés pour expliquer l'activité. Une étude a montré qu'il peut inhiber la production de cytokines, telles que l'interleukine-1 $\beta$  et le facteur de nécrose tumorale- $\alpha$ , dans des cellules immunitaires. En outre, le limonène peut agir comme un antioxydant, ce qui peut aider à réduire les dommages oxydatifs associés à l'inflammation. Des études ont également montré que le composé peut avoir des effets bénéfiques sur le système immunitaire.

Cependant, il convient de noter que la plupart des études sur l'activité ont été menées *in vitro* ou sur des modèles animaux, et des études cliniques chez l'homme sont nécessaires pour confirmer son efficacité et son innocuité.

Ces interactions dynamiques peuvent avoir un impact important sur l'activité du composé et doivent être évaluées expérimentalement. Les essais biologiques sont nécessaires pour évaluer la spécificité des composés.

### 3.4. Prédiction des propriétés

Les propriétés physicochimiques ont été déterminées à l'aide du logiciel, en comparaison avec des médicaments de synthèse (Tableau 3.5). Enfin, tous les composés testés ont été confrontés à la règle 5 de Lipinski et celle de GSK qui met en exergue les composés ayant un profil le plus favorable.

**Tableau 3.5.** Prédiction des propriétés des différents ligands testés.

	Acetate	Terpinen-4-Ol	Oxyde
<b>LogP</b>	4.1	3.06	4.8
<b>HIA</b>	0.004	0.004	0.005
<b>CL</b>	15	14.3	5.4
<b>hERG</b>	0.006	0.01	0.01
<b>ROA</b>	0.02	0.02	0.006
<b>Classe</b>	5	4	5

Parmi les différents paramètres prédits, nous pouvons citer la solubilité aqueuse (LogS) d'un composé exprimée en log mol/L.

Parmi les paramètres dont la prédiction a été signalée comme non satisfaisante, il y a la pénétration de la barrière hémato-encéphalique (BBB). Les médicaments qui ciblent le SNC doivent être capables de traverser la BBB pour atteindre leur site d'action.

Les prédictions peuvent être utilisées pour évaluer la faisabilité de la conception d'une molécule pour une application thérapeutique particulière, identifier les propriétés pharmacocinétiques critiques et les domaines à risque de toxicité potentielle, et guider l'optimisation de la structure de la molécule pour améliorer les propriétés pharmacocinétiques et minimiser la toxicité. P

### 3.5. Développement d'un modèle

Un modèle pharmacophore est une description tridimensionnelle des caractéristiques essentielles d'une molécule qui lui sont nécessaires pour interagir avec une cible biologique. Les modèles de pharmacophore sont utilisés dans la découverte de médicaments pour identifier de nouveaux composés susceptibles d'avoir l'activité biologique souhaitée. Un modèle a été généré (Figure 3.4) en superposant quatre composés ayant la plus forte affinité pour identifier des caractéristiques communes. La disposition spatiale de ces caractéristiques est également importante, et le modèle pharmacophore précisera les distances et les angles entre eux.

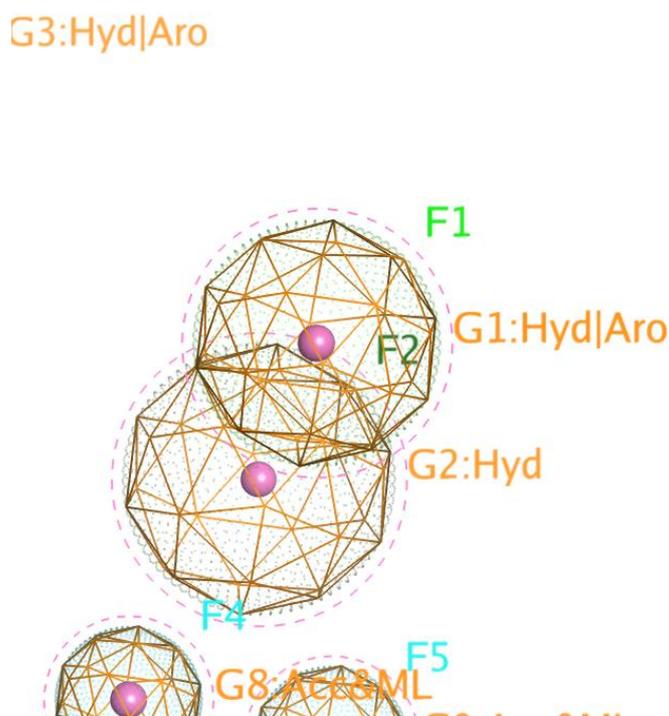
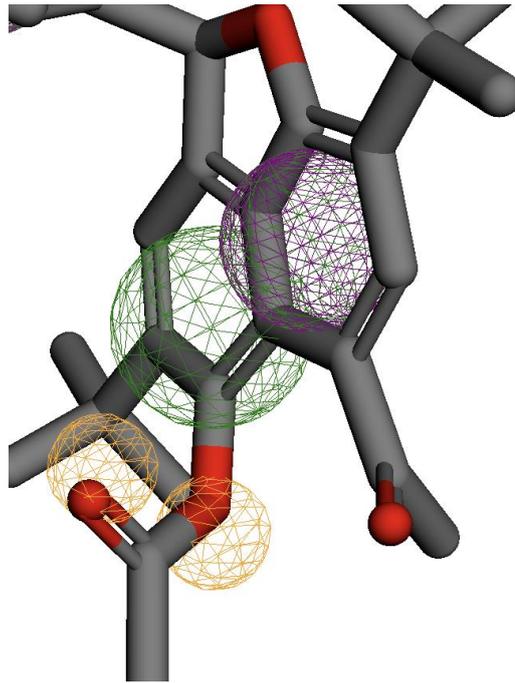


Figure 3.4. Modèle généré par superposition des ligands.

La bibliothèque de criblage virtuelle est recherchée pour les composés qui ont le même pharmacophore que la molécule cible (Figure 3.5).



**Figure 3.5.** Structure chimique de quelques composés trouvés.

Les études peuvent être utilisées pour identifier des motifs moléculaires communs dans des composés connus pour avoir une activité. Les études peuvent fournir une base solide pour la conception rationnelle de nouveaux composés, mais des essais biologiques sont nécessaires pour confirmer leur activité et évaluer leur toxicité potentielle.

# CONCLUSION

---

Produites comme métabolites secondaires par les plantes à parfum, les extraits sont toujours utilisés comme substances aromatisantes en parfumeries, en industrie cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine.

Le premier objectif de notre étude était de réaliser une revue de littérature concernant la composition chimique afin de mieux cerner leur composés majoritaires et caractéristiques présents, les chémotypes existants, ainsi que les différentes familles biochimiques. Aussi, les principaux composants détectés par les études antérieures comprennent plusieurs molécules terpéniques, oxygénées et hydrocarbonées.

L'autre objectif assigné au cours de ce travail était l'évaluation de l'activité des végétaux *in vitro* sur une plusieurs souches bactériennes de référence ou isolées cliniquement. L'huile a démontré un pouvoir important sur les Gram en comparaison avec les souches qui ont montré une très grande résistance au pouvoir inhibiteur. Le même constat a été rapporté en utilisant la technique la phase vapeur.

Il apparait clairement que le médicament de synthèse et le composé terpénique sont les composés ayant présenté la plus grande affinité et une énergie de liaison la plus faible. Différents types d'interaction ont été formés.

En finalité, un modèle a été généré par superposition des composés ayant la plus forte pour le site actif enzymatique.

Les études *in silico* peuvent fournir une base solide pour la conception rationnelle de nouveaux composés, mais des essais biologiques sont nécessaires pour confirmer leur activité pharmacologique et évaluer leur propriété.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- 1) Andrianjafy, C., & Peyrin-Biroulet, L. (2018). Thérapies complémentaires et alternatives: quelle place dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales?. *Hegel*, 8(3), 190-198.
- 2) Angane, M., Swift, S., Huang, K., Butts, C. A., & Quek, S. Y. (2022). Essential oils and their major components: an updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. *Foods*, 11(3), 464.
- 3) Aribi-Zouioueche, L., & Couic-Marinier, F. (2021). Huiles essentielles et chiralité moléculaire. *Comptes Rendus. Chimie*, 24(3), 397-414.
- 4) Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2009). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC press.
- 5) Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2009). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC press.
- 6) Blain, H., Jouzeau, J. Y., Netter, P., & Jeandel, C. (2000). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs. Intérêt et perspectives. *La Revue de Médecine Interne*, 21(11), 978-988.
- 7) Blumenthal, K. G., Peter, J. G., Trubiano, J. A., & Phillips, E. J. (2019). Antibiotic allergy. *The Lancet*, 393 (10167), 183-198.
- 8) Bosson, L., & Dietz, G. (2005). *L'Hydrothérapie*. Bruxelles: Editions Amyris.
- 9) Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., & Dakka, N. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), S173-S183.
- 10) Cheng, F., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2013). In silico ADMET prediction: recent advances, current challenges and future trends. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 13(11), 1273-1289.
- 11) Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- 12) Couic-Marinier, F. (2018). Les huiles essentielles en pratique, administration et précautions d'emploi. *Actualités pharmaceutiques*, 57(580), 26-29.
- 13) Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 18-21.
- 14) Couic-Marinier, F., Touboul, A., & Bernardeau, B. (2021). Les fondamentaux du conseil en aromathérapie. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(604), S8-S11.

- 15) Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Chemical biology: methods and protocols*, 243-250.
- 16) da Silva Rivas, A. C., Lopes, P. M., de Azevedo Barros, M. M., Costa Machado, D. C., Alviano, C. S., & Alviano, D. S. (2012). Biological activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene enantiomers. *Molecules*, 17(6), 6305-6316.
- 17) Demiot, C., Koçak, F., & Buxeraud, J. (2020). Approche médicamenteuse de l'insuffisance veineuse. *Actualités Pharmaceutiques*, 59(594), 13-15.
- 18) Do, T. K. T., Hadji-Minaglou, F., Antoniotti, S., & Fernandez, X. (2015). Authenticity of essential oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 66, 146-157.
- 19) Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
- 20) Fernandez, X., André, C., & Casale, A. (2014). Hydrolats et eaux florales: vertus et applications. Vuibert.
- 21) Garreta, R. (2007). Des simples à l'essentiel: de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales. Presses Univ. du Mirail.
- 22) Ghasemi, J. B., Abdolmaleki, A., & Shiri, F. (2017). Molecular docking challenges and limitations. In *Pharmaceutical Sciences: Breakthroughs in Research and Practice* (pp. 770-794). IGI Global.
- 23) Herowati, R., & Widodo, G. P. (2017). Molecular docking analysis: Interaction studies of natural compounds to anti-inflammatory targets. *Quantitative Structure-activity Relationship*, 63(10.5772).
- 24) Hirota, R., Roger, N. N., Nakamura, H., Song, H. S., Sawamura, M., & Suganuma, N. (2010). Anti-inflammatory effects of limonene from yuzu (*Citrus junos* Tanaka) essential oil on eosinophils. *Journal of Food Science*, 75(3), H87-H92.
- 25) Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6), 435-448.
- 26) Landecker, H. (2021). La résistance aux antibiotiques et la biologie de l'Histoire. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 15(15-3).
- 27) Tréchet, P., & Jouzeau, J. Y. (2014). Bases chimiques et pharmacologiques. *Revue Française d'Allergologie*, 54(3), 212-217.
- 28) Lappas, C. M., & Lappas, N. T. (2012). D-Limonene modulates T lymphocyte activity and viability. *Cellular Immunology*, 279(1), 30-41.
- 29) Laroche, M. L. (2022). Perturbation du microbiote intestinal par les médicaments. *Actualités Pharmaceutiques*, 61(613), 43-44.
- 30) Laurain-Mattar, D. (2018). Critères de qualité des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(580), 18-20.

- 31) Micozzi, M. S. (2018). Plant Essential Oils and Aromatherapy. *Fundamentals of Complementary, Alternative, and Integrative Medicine-E-Book*, 409.
- 32) Millet, F. (2010). Les formes galéniques et les huiles essentielles. *Phytothérapie*, 8(1), 33-36.
- 33) Mohsen, S., Dickinson, J. A., & Somayaji, R. (2020). Mise à jour sur les effets indésirables des traitements antimicrobiens en pratique communautaire. *Canadian Family Physician*, 66(9), e228-e237.
- 34) Montastruc, J. L., Bondon-Guitton, E., Abadie, D., Lacroix, I., Berreni, A., Pugnet, G., & Montastruc, F. (2016). Pharmacovigilance: risques et effets indésirables de l'automédication. *Therapies*, 71(2), 249-255.
- 35) Paparoupa, M., & Gillissen, A. (2016). Is Myrtol® standardized a new alternative toward antibiotics?. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 143.
- 36) Pillon, F. (2014). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(534), 43-46.
- 37) Qing, X., Lee, X. Y., De Raeymaecker, J., Tame, J. R., Zhang, K. Y., De Maeyer, M., & Voet, A. (2014). Pharmacophore modeling: advances, limitations, and current utility in drug discovery. *Journal of Receptor, Ligand and Channel Research*, 7, 81-92.
- 38) Rehman, M. U., Tahir, M., Khan, A. Q., Khan, R., Oday-O-Hamiza, Lateef, A., & Sultana, S. (2014). D-limonene suppresses doxorubicin-induced oxidative stress and inflammation via repression iNOS, and NFκB in kidneys of Wistar rats. *Experimental Biology and Medicine*, 239(4), 465-476.
- 39) Rollinger, J. M., Haupt, S., Stuppner, H., & Langer, T. (2004). Combining ethnopharmacology and virtual screening for lead structure discovery: as application example. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 44(2), 480-488.
- 40) Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., & Alvala, M. (2019). Molecular docking in modern drug discovery: Principles and recent applications. *Drug Discovery and Development-New Advances*, 2, 1-21.
- 41) Verbeke, N. (2006). L'aromathérapie comme alternative crédible à l'antibiothérapie. *Préparatrice en pharmacie*, 20.
- 42) Vieira, A. J., Beserra, F. P., Souza, M. C., Totti, B. M., & Rozza, A. L. (2018). Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chemico-Biological Interactions*, 283, 97-106.
- 43) Vishwakarma, R. K., Negi, A., & Negi, D. S. (2022). Development of potential inhibitor as anti-inflammatory agents from leaves of Lantana camara by in-vitro analysis, molecular docking and ADMET prediction. *Journal of the Indian Chemical Society*, 99(10), 100694.
- 44) Zhang, X., Liu, T., Fan, X., & Ai, N. (2017). In silico modeling on ADME properties of natural products: classification models for blood-brain barrier permeability, its application to

traditional Chinese medicine and in vitro experimental validation. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 75, 347-354.