République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Dr.Yahia Farès de Médéa

Thèse de Mémoire

Département SNV

Spécialité : Microbiologie Appliquée.

Par

Boucherit Sana
Djeddou Soumia
Miloudi Yassamine

Thème :

Evaluation in vitro et in silico de l'activité biologique de quelques extraits organique préparés à partir des plantes

Soutenu publiquement le 22/ 06/ 2022

Devant le jury composé de :

Mr. Ainas Mahfoudh	MCB –SNV– Univ Médéa	Président
Mr. Azizi Ahmed	MCA–ST– Univ Laghouat	Promoteur
Mr. Otmanine Khaled	MCB–SNV– Univ Médéa	Examinateur
Mlle. Bouzidi Amel	MCB–SNV–UNIV Médéa	Co-promotrice

Médéa 2021/2022

EVALUATION, IN VITRO ET IN SILICO DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE QUELQUES EXTRAITS ORGANIQUES PREPARES A PARTIR DES PLANTES

RESUME. La présente étude est concernée pour évaluer in vitro et in silico les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits méthanoïques et aqueuses à partir des parties aériennes des quatre plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Algérie, *Urginea maritima* L. *Smyrinuim olusatrum* L. *Arum maculatum* L. *et Acanthus mollis* L. In vitro, le potentielle antioxydant des échantillons était évalué en utilisant la technique d'inhibition du radical libre DPPH. Le test de l'antioxydant a montré que les plantes étudiées possèdent une bonne activité antioxydant. Le criblage in vitro de l'activité antimicrobienne a été réalisé en utilisant six souches bactériennes (GRAM+ et GRAM-) et deux souches fongiques, selon le test de diffusion des disques, les extraits de quatre plantes on montré un effet inhibiteur modeste contre les microorganismes testés. De nos jours, les méthodes *in silico* sont de plus en plus employées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique. L'inhibition **in silico** se fait par logiciel appelé **AutoDock Tools** consiste à déterminer l'énergie de fixation entre un **ligand** d'une substance isolée et un **récepteur** d'une bactérie, la plus faible énergie d'interaction entre ces deux derniers présente le meilleur résultat pour chaque bactérie.

MOTS-CLES. Activité biologique, in vitro, in silico, extraits organiques, criblage.

EVALUATION, IN VITRO AND IN SILICO OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME ORGANIC EXTRACTS PREPARED FROM PLANTS

Abstract. The present study is concerned to evaluate in vitro and in silico the antioxidant and antimicrobial properties of methanolic and aqueous extracts from the aerial parts of the four plants traditionally used in medicine, *Urginea maritima* L. *Smyrinuim olusatrum* L. *Arum maculatum* L. and *Acanthus mollis* L. In vitro, the antioxidant potential of the samples was evaluated using the DPPH free radical inhibition technique. The antioxidant test showed that the antioxidant test showed that the plants studied have good antioxidant activity. The extracts of four plants on showed a modest inhibitory effect against the microorganisms tested. Recently, in silico methods are increasingly used in strategies for discovering new molecules for therapeutic purposes. In silico inhibition is done by software called AutoDock Tools consists in determining the binding energy between a ligand of an isolated substance and a receptor of a bacteria, the lowest energy of interaction between these last two presents the best results for each bacterium.

MOTS-CLES. biological activity, in vitro, in silico, organic extracts, screening

التقييم المخبري و الحاسوبي للنشاط البيولوجي لبعض المستخلصات العضوية المحضرة من بعض النباتات

الملخص. أل تهتم الدراسة الحالية بتقييم الخصائص المضادة للأكسدة والميكروبات للمستخلصات المائية والميثانولية من الأجزاء الهوائية للنباتات الأربعة المستخدمة في الطب التقليدي في الجزائر ، في المختبر وفي السيليكو *Urginea maritima L. Smyrinuim olusatrum L. Arum maculatum L.* و *acanthus mollis L.* في المختبر, تم تقييم إمكانات مضادات الأكسدة للعينات باستخدام تقنية تثبيط الجذور الحرة DPPH., أظهر اختبار مضادات الأكسدة أن النباتات المدروسة لها نشاط جيد كمضاد للأكسدة .تم إجراء الفحص المخبري لنشاط مضادات الميكروبات باستخدام ست سلالات بكتيرية + GRAM) و (–GRAM وسلالتين من الفطريات؛ وفقًا لاختبار انتشار القرص, تم إجراء مستخلصات أربعة نباتات ثبت أن لها تأثيرًا مثبطًا متواضعًا ضد الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها.اليوم،تستخدم طرق السيليكو بشكل متزايد في استراتيجيات اكتشاف جزيئات جديدة للأغراض العلاجية التثبيط الحاسوبي الذي قمنا به تم بواسطة برنامج حاسوبي يدعى اوتودوك تولز يقوم بحساب طاقة التثبيط بين المجند وكذلك المستقبل في البكتيريا وتعد طاقة التثبيط الادنى هي أفضل نتائج المتحصل عليها.

الكلمات المفتاحية. الأنشطة البيولوجية, المخبري, التحري الحاسوبي,المستخلصات العضوية.

Remerciements

On remercie Dieu ﷻ le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entarues et de terminé ce mémoire.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de ***Mr. Ahmed AZIZI*** *(MCA) et le Co-promoteur* ***Mlle. Amel BOUZIDI*** *(MCB), nous les remercions pour leurs qualités d'encadrement exceptionnel pour leurs patiences, rigueurs et leurs disponibilités durant notre préparation de ce mémoire.*

Nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres du jury : ***Mahfoud AINAS, Khaled OTHMANINE*** *et* ***Djamel ATSSAMNIA.***

Notre remerciement s'adresse également à tous nos professeurs pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Sana BOUCHERIT

Soumia DJEDDOU

Yasmine MILOUDI

Dédicaces 1

Je dédie ce travail

A mes parents **BOUCHERIT Belkacem, MEKHATRI Aicha,** pour tous leurs sacrifices, leur amour, Leur tendresse, leur soutien et leurs prières Tout au long de mes études, pour toute Leur assistance et leur présence dans ma vie.

A mes frères et ma sœur **BENOTHMAN ; MOHAMMED ISHAK** et **SARA** pour leur encouragement permanente et leur soutien moral.

A tous mes amis et surtout **Zahra AISSAT**

A ma famille surtout ma grande-mère pour leur douaa

BOUCHERIT Sana

Dédicaces 2

Je dédie ce travail

A mes parents DJBEDDA ; CHETTOUJACHESSAOUDA), pour tous leurs sacrifices, leur amour, Leur tendresse, leur soutien et leurs prières Tout au long de mes études, pour toute Leur assistance et leur présence dans ma vie.

A mes frères et soeurs NOURA, SOUHIL, KARIMETDOUAA) pour leur encouragement permanent et leur soutien moral.

A tous mes amis : ZAHRA, KHAWLA, DJEDLA, MARWA, ACHIMA, SOUCHA, RATIBA, KHALIDA et SACHIRA

A ma famille surtout ma tante NOURA pour leur aide

DJEDDOU SOUMIA

Dédicaces 3

Je d die ce travail

A mes parents (MILOUDI LAMRI et BADAOUI FATIMA), pour tous leurs sacrifices, leur amour, Leur tendresse, leur soutien et leurs pri res Tout au long de mes tudes, pour toute Leur assistance et leur pr sence dans ma vie.

A mon fr re et mes sŒurs (MOHAMMED, MARWA, AYA et SIRINE) pour leur encouragement permanent et leur soutien moral.

A mes bin mes (SOUMIA ET SANA)

A ma famille surtout ma grand-m re ZAHRA pour leur douaa

MILOUDI YASSAMINE

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIÈRES *i*

ABRÉVIATIONS & NOMENCLAUTRES *iv*

LISTE DES FIGURES *Xi*

LISTE DES TABLEAUX 33 *Xiii*

INTRODUCTION GÉNÉRALE3 1

CHAPITRE 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES3

1.1 LES ACTIVITES BIOLOGIQUES 3

1.1.1 Activités antioxydante 3

1.1.1.1 Les radicaux libres et les espèces réactives 3

1.1.1.2 Le stresse oxydatif 3

1.1.1.3 Les antioxydants 3

1.1.2 Activité antimicrobienne 4

1.1.2.1 Activité antibactérienne 4

1.1.2.1.1 les antibiotiques 4

1.1.2.1.2 Les bactéries testées 4

1.1.2.1.2.1 *Pseudomonas Aeruginosa* 4

1.1.2.1.2.2 *Escherichia Coli* 4

1.1.2.1.2.3 *Salmonella typhimurium* 4

1.1.2.1.2.4 *Staphylococcus aureus* 5

1.1.2.1.2.5 *Staphylococcus epidermidis* 5

1.1.2.1.2.6 *Bacillus subtilis* 5

1.1.2.2 Activité antifongique 5

1.1.2.2.1 Champignons testées 5

1..1.2.2.1.1 *Candida albicans* 5

1.1.2.2.1.2 *Saccharomyces cerevisiae* 5

1.2 BIBLIOGRAPHIE SUR LES PLANTES ETUDIEES 6

1.2.1 *Urginea Maritima* L 6

1.2.1.1 Généralité 6

1.2.1.2 Description botanique 6

1.2.1.3 Classification systématique 6

1.2.1.4 Distribution géographique 6

1.2.1.5 Etude éthnopharmacologiques 7

1.2.2 *Smyrnium Olusatrum* L 7

1.2.2.1 Généralité 7

1.2.2.2 Description botanique 7

1.2.2.3 Classification systématique 7

1.2.2.4 Distribution géographique 8
1.2.2.5 Etude éthnopharmacologiques 8
1.2.3 *Arum Maculatum* L 8
1.2.3.1 Généralité 8
1.2.3.2 Description botanique 9
1.2.3.3 Classification systématique 9
1.2.3.4 Distribution géographique 9
1.2.3.5 Etude éthnopharmacologiques 10
1.2.4 *Acanthus Mollis* L 10
1.2.3.1 Généralité 10
1.2.3.2 Description botanique 10
1.2.3.3 Classification systématique 10
1.2.3.4 Distribution géographique 11
1.2.3.5 Etude éthnopharmacologiques 11
1.3 METABOLITE SECONDAIRE 11
1.3.1 Généralité 11
1.3.2 Principaux classes des composées phénoliques 12
1.3.2.1 Acides phénoliques 13
1.3.2.2 Les flavonoïdes 13
1.3.2.3 Les tannins 13
1.3.2.4 Les alcaloïdes 13
1.3.2.5 Les terpènes 14
1.3.3 Rôle et intérêt des composes phénoliques 14
1.4 IN SILICO 15
1.4.1 Bioinformatique 15
1.4.2 Doking moléculaire 15
1.4.3 Les étapes de Docking Moléculaire 16
1.4.4 Outil doking 16
1.4.4.1 Programme 16
1.4.4.1.1 AutoDock 18
1.4.4.1.1.1 AutoDockTools 18
1.4.4.1.2 Pymol 18
1.4.4.1.3 Discovery Studio 19
1.4.4.1.4 La Protein Data Bank (PDB) 20
1.4.4.1.5 La base des données Pubchem 20
1.4.4.2 Récepteur 21
1.4.4.3 Ligand 21
CHAPITRE 2. PRODUITS, MATERIELS & METHODES
2.1 PRODUITS CHIMIQUES 22
2.2 MATÉRIELS 22
2.2.1 Matériel analytique 22
2.2.2 Autres équipements 22
2.2.3 Les bactéries testées 22
2.2.4 Les souches fongiques testés 22
2.3 METHODES 22
2.3.1 Étude chimique 22

2.3.1.1 Préparation de la matière végétale 22
2.3.1.2 Présentation de la région de la récolte 23
2.3.1.2.1 Position géographique 23
2.3.1.2.2 Caractéristiques climatique de la région 23
2.3.1.3 Prétraitement 23
2.3.1.3.1 Séchage 23
2.3.1.3.2 Broyage 23
2.3.2 Préparation des extraits 24
2.3.2.1 Extraction aqueuse 24
2.3.2.2 Extraction méthanolique 24
2.3.3 Détermination du rendement 25
2.3.4 Étude phytochimique des extraits 26
2.3.4.1 Dosage des polyphénols 26
2.3.4.1.1 Principe 26
2.3.4.1.2 Réactifs et extraits 26
2.3.4.1.3 Mode opératoire 26
2.3.4.1.4 Expression des résultats 27
2. 3.4.2 Dosage des flavonoïdes 27
2. 3.4.2.1 Principe 27
2. 3.4.2.2 Réactifs et extraits 27
2.3.4.2.3 Mode opératoire 27
2.3.4.2.4 Expression des résultats 27
2.3.5 Évaluation des activités biologiques 28
2.3.5.1 Evaluation de l'activité antioxydant impliquant le radical DPPH 28
2.3.5.1.1 Principe 28
2.3.5.1.2 Mode opératoire 28
2.3.5.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne 29
2.3.5.2.1 Repiquage des espèces microbiennes 29
2.3.5.2.2 Préparation de l'inoculum 29
2.3.5.2.3 Préparation des disques 30
2.3.5.2.4 Ensemencement 31
2.3.5.2.5 Lecture 31
2.4 IN SILICO 32
2.4.1 Matériels 32
2.4.1.1 Microordinateur 32
2.4.1.2 Outils informatique 32
2.4.1.3 Récepteurs (Les protéines) 33

2.4.1.4 Inhibiteurs utilisés 35
2.4.2 Méthodes 36
2.4.2.1 Préparation de la protéine 37
2.4.2.2 Préparation du ligand 39
2.4.2.3 Interaction protéine ligand 40

CHAPITRE 3. RESULTATS & DISCUSSION
3.1 Caractéristiques des extraits obtenus 43
3.1.1 Rendement de l'extraction 43
3.1.2 Caractéristiques organoleptiques 43
3.2 ETUDE PHYTOCHIMIQUE 44
3.2.1 ANALYSE QUANTITATIVE 44
3.2.1.1 Détermination des composés phénoliques 44
3.2.1.1.1 Dosage des polyphenols totaux 44
3.2.1.1.2 Dosage des flavonoïdes 45
3.3 ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS 48
3.3.1 Evaluation de l'activité antioxydant 48
3.3.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne 49
3.4 IN SILICO 52
3.4.1 Interaction 52

CONCLUSION GENERALE 59
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 60
ANNEXES 64

LISTE DES ABREVIATIONS & NOMENCLATURES

Abréviation	***Signification***
Abs	Absorbance
ADT	Autodock tools
Ag	Acide gallique
$AlCl_3$	Trichlorure d'Aluminium
ATB	Antibiotique
ATCC	American Type Culture Collection
BHT	Butylhydroxytoluène
CEP	Céphalothin
CTX	Cefotaxime
DPPH	2,2-diphényl1-picrylhydrazyle
E1 MeOH	Extrait méthanolique d*'Urginea maritima* L.
E1Aq	Extrait aqueused*'Urginea maritimam* L.
E_2 MeOH	Extrait méthanolique *de Smyrnium olusatrum* L.
E_2Aq	Extrait aqueuse de *Smyrnium olusatrum* L.
E_3 MeOH	Extrait méthanolique d*'Arum maculatum* L.
E_3Aq	Extrait aqueuse d*'Arum maculatum* L.
E_4 MeOH	Extrait méthanolique d*'Acanthus mollis* L.
E_4Aq	Extrait aqueuse d*'Acanthus mollis* L.
$H_3PM0_{12}O_{40}$	Acide phosphomolybdique
$H_3PW_{12}O_{40}$	Acide phosphotungstique
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LPS	Lipopolysaccharide

Nomenclature et Symboles

Lecture	***Désignation***	***Unité***
[ ]	Concentration molaire ou massique	*(mol L^{-1})* ou *(mg L^{-1})*
$[\ ]_0$	Concentration initiale molaire ou massique	*(mol L^{-1})* ou *(mg L^{-1})*
M	Masse de l'extrait sec résultant	*(g)*
M_0	Masse de la matière végétale à traité	*(g)*
PI	Pourcentage d'inhibition	*(%)*
R	Rendement des extraits	*(%)*
R^2	Coefficient de corrélation	*(%)*

LISTE DES FIGURES

Numéros	Titres des figures	Pages
1.1	*Urginea maritima* L.	6
1.2	*Smyrnium olusatrum* L.	7
1.3	*Arum maculatum* L.	9
1.4	*Acanthus mollis* L.	10
1.5	Principes classes des composés phénoliques	12
1.6	Rôle des composés phénoliques	14
1.7	Principe général d'un programme de docking	16
1.8	Comparaison des programmes de doking les plus cités avant 2019	16
1.9	Capture d'écran ADT	18
1.10	L'interface du programme Pymol	19
1.11	Capture d'écran Discovery studio	19
1.12	L'interface de La Protein Data Bank (PDB)	20
1.13	L'interface de La base des données Pubchem	21
2.1	Protocole de préparation des extraits aqueux et méthanoliques des quatre plantes étudiées	25
2.2	Les étapes de préparation d'une suspension microbienne	30
2.3	Schéma représente l'ensemencement microbien puis le dépôt des disques	31
2.4	Exemple d'ajoute Kollman charge	37
2.5	Exemple d'ajoute Hydrogène pour la protéine	38
2.6	Capture d'écran représente l'enregistrement de la protéine	38
2.7	Capture d'écran représente l'élimination de ligand	39
2.8	Capture d'écran représente l'enregistrement du ligand 1	39
2.9	Capture d'écran représente l'enregistrement du ligand	40
2.10	Capture d'écran représente l'enregistrement de Grid	40
2.11	Capture d'écran représente le copiage de Vina	41
2.12	Capture d'écran représente les résultats obtenus par CDM	41
2.13	Capture d'écran représente l'enregistrement de la protéine et l'Output	42
2.14	Capture d'écran représente la forme 2D et 3D de l'interaction	42
3.1	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques	44
3.2	Teneurs en polyphénols des différents extraits	45
3.3	Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes	46
3.4	Teneurs en Flavonoïdes des différents extraits	47

LISTE DES TABLEAUX

Numéros	Titre des tableaux	Pages
1.1	Principe programme de doking moléculaire	17
2.1	Principales caractéristiques climatiques de la région	23
2.2	Diamètre d'inhibition du principe actif	32
2.3	Représentation de la structure PDB des protéines utilisés dans notre travail	33
2.4	Structure des inhibiteurs utilisés contre les bactéries étudiées	35
3.1	Résultats de rendement d'extraction des plantes étudiées	43
3.2	Caractéristiques organoleptiques des extraits des espèces étudiées	44
3.3	Résultats des zones d'inhibition des extraits	50
3.4	Interactions entre les molécules et les protéines	54

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'humanité est actuellement en crise économique et écologique profonde. Il y a de plus en plus de gens qui ont faim et soif. Un grand nombre de personnes ne disposent pas de soins médicaux adéquats et un accès aux médicaments. Les sources conventionnelles de médicaments et de diététique sont plus difficiles d'accès et de nouvelles maladies surviennent nécessitant de nouvelles réponses.

La recherche de la santé éternelle, de la longévité et des remèdes pour soulager la douleur et l'inconfort a conduit l'homme à explorer son environnement naturel et a conduit à l'utilisation de nombreuses plantes, produits animaux, minéraux et au développement d'une variété d'agents thérapeutiques *(Bouzidi.S ,2018)*.

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. Les ressources naturelles offrent encore des occasions importantes d'accéder à une large gamme de médicament et de diététique. Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base ; nourriture, abris, vêtements,..

Récemment, il y a eu un changement dans la tendance universelle de l'artificiel ou chimique au naturel, qui peut être nommé comme un «retour à la nature» *(Bouzidi.S., 2018)*. Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les Hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries, les virus et les champignons se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de

plus en plus *(Bouzidi.S., 2018)*.

Les avantages les plus importants de l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales dans diverses affections, sont leur sécurité en plus d'être économiques, efficacité et leur facilité de disponibilité.

De nombreuses études ***in vitro*** et ***in silico*** ont été menées pour prouver l'efficacité des ressources naturelles de médication. Un nombre énorme de plantes ont donc été exploitée en raison de leurs propriétés thérapeutiques dus essentiellement à leurs richesses en antioxydants naturels à savoir les polyphénols et les flavonoïdes etc. Parmi ces métabolites, les composés phénoliques qui sont abondants et distribués dans la majorité de la partie aérienne des plantes, présentent un large spectre d'activités biologiques, antioxydant et antimicrobiennes.

Actuellement la recherche en biologie ne peut se passer des outils informatiques pour traiter le flux de données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglo saxon " docking"). L'emploi initial du "docking" moléculaire a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand *(Chabbi.A et Nabti.K .2017)*.

Dans ce cadre se dirige notre travail qui consiste à l'évaluation, in vitro et in silico des activités biologiques des extraits aqueux et méthanoliques préparés à partir de la partie aérienne des quatre plantes étudiées (*Urginea maritima* L., *Smyrnium olusatrum* L.,*Arum maculatum* L., *Acanthus mollis* L.*)*.

En premier lieu, les activités antiradicalaire et antimicrobienne ont été étudiées. Ensuite, comprendre les mécanismes mis en jeu dans les interactions entre les microorganismes par la méthode de docking moléculaire avec le programme (AUTODOCK Tools).

Il nous a paru important de développer cet aspect en vue d'évaluer l'énergie d'interaction de ces composés et aussi de visualiser les liaisons qu'ils forment avec les récepteurs dans le cadre de valorisation ces substances naturelles végétales.

Afin de répondre aux objectifs de cette recherche, le travail a été divisé en trois parties :

1ère partie, consacré à un rappel bibliographique

2ème partie, décrit le matériel et les méthodes utilisées

3ème partie, portera sur les résultats obtenus et la discussion

1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUES

1.1 LES ACTIVITES BIOLOGIQUES

1.1.1 Activité antioxydante

1.1.1.1 Les radicaux libres et les espèces réactives

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés. Cette molécule est très instable et réagi rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre.

Les espèces réactives oxygénées ERO, classe spécifique des radicaux, incluant les radicaux libres comme le radical hydroxyl (OH-), le radical superoxyde (O_2-) et sa forme protonée (H_2O-), le radical peroxyl (ROO-) ainsi que les espèces non radicaux comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène (O_2), sont produites par divers mécanismes physiologiques a dose raisonnable. Ces espèces réactives de l'oxygène doivent être neutralisées immédiatement par différents systèmes antioxydants *(Fatteh.A., 2019)*.

1.1.1.2 Stress oxydatif

Le stress oxydatif est définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et les pro-oxydants *(Meda.N et al., 2013)*, que ce soit par un déficit dans les mécanismes de défense comprenant des composés et des enzymes antioxydantes*(Albayrak.S et al., 2013)* ou une surproduction des radicaux libres *(Duran-bedolla.J et al., 2013).*

1.1.1.3 Les antioxydants

Sont toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation des substrats *(Berger. M., 2006)*. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non enzymatiques, endogènes ou exogènes *(Mohammedi.Z., 2013)*.

1.1.2 Activité antimicrobienne

1.1.2.1 Activité antibactérienne

Les bactéries sont responsables de diverses infections dans les organismes vivants. Les chercheurs ont espéré pouvoir éradiquer certaines maladies avec la découverte des antibiotiques. Malheureusement la large utilisation de ces médicaments a généré une résistance croissante des bactéries face aux antibiotiques. Dans cette perspective, il y a eu un grand intérêt pour la recherche de nouvelles substances biologiquement actives et efficaces comme alternative à partir des ressources naturelles *(Fatteh.A., 2019)*.

1.1.2.1.1 Les antibiotiques

Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes, ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes, dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme, ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier, mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales *(Rahimi.F et al., 2021)*.

1.1.2.1.2 Les bactéries testées

1.1.2.1.2.1 *Pseudomonas Aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie en forme de bâtonnet hétérotrophe motile gram négatif d'environ 1 à 5 de long et 0,5 à 1 de large, c'est un aérobie facultatif. C'est une importante bactérie du sol. *P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste *(Diggle.S et al., 2020)*.

1.1.2.1.2.2 *Escherichia Coli*

Escherichia Coli est un micro-organisme polyvalent capable de survivre et de prospérer dans différents habitats écologiques. C'est un anaérobie facultatif à Gram négatif qui réside généralement dans l'intestin humain en tant que bactérie commensale. Cependant, certains membres de cette espèce ont également le potentiel de provoquer des infections graves, tant intestinales qu'extra-intestinales, dans les établissements de soins de santé ainsi que dans la communauté *(Paganini.J et al., 2021)*.

1.1.2.1.2.3 *Salmonella typhimurium*

Salmonella typhimurium est une bactérie pathogène à gram négatif, qui se trouve principalement dans la lumière intestinale. Elle provoque souvent de diarrhées chez les nourrissons et les jeunes enfants et conduit à des intoxications alimentaires. La résistance aux médicaments de *Salmonella typhimurium* a présenté de graves complications chez les patients cliniques *(Cuiping.Y et al., 2022)*.

1.1.2.1.2.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie gram positive et cocoïde, qui peut coloniser les narines et la peau humaines sans causer de maladie. Cependant, c'est un agent pathogène opportuniste qui peut provoquer une infection lorsqu'il accède à un environnement hôte vulnérable par des conditions telles que des plaies profondes. En d'autres termes, *S.aureus* est une bactérie qui réside étroitement dans le corps humain mais qui est dangereuse *(Chang.J et al., 2020)*.

1.1.2.1.2.5 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus épidermidis est une bactérie gram positive *(Havansoe Krogh. A et al., 2019)*, naturellement non pathogène et commensale de la peau et des muqueuses chez l'homme et les mammifères. Cependant *S.épidermidis* peut être considérée comme un pathogène opportuniste pour les immunodéprimés *(Silvestre.O.P et al., 2019)*.

1.1.2.1.2.6 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est une bactérie à Gram positif omniprésente qui démontre une adaptabilité génétique inhabituelle, lui permettant de coloniser des habitats très divers. Contrairement à plusieurs des plus de 200 espèces de *Bacillus* classées, *B. subtilis* est non pathogène mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire. Elle affiche une grande diversité génétique même parmi des souches étroitement apparentées *(Kaspar.F et al., 2019)*.

1.1.2.2 Activité antifongique

1.1.2.2.1 Champignons testées

1.1.2.2.1.1 *Candida albicans*

Le *Candida albicans* est un champignon microscopique, habituellement inoffensif et présent au niveau des voies génitales, du tube digestif, de la bouche et sur la peau. Il peut parfois devenir pathogène *(Della Valle.A.C., 2019)*. Si l'hôte devient immunodéprimé, sa prolifération le rend pathogène. Chez les patients atteints du SIDA, la candidose oropharyngée (OPC) est une infection opportuniste courante.

1.1.2.2.1.2 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae est un champignon ascomycète ubiquitaire. C'est une levure qui est retrouvée chez l'homme sous forme commensale *(Zaid Saoud.M et al., 2020)*. Elle est largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire pour son rôle dans la fabrication de plusieurs aliments, notamment le pain et les boissons fermentées *(Zaid Saoud.M et al., 2020)*.

1.2 BIBLIOGRAPHIE SUR LES PLANTES ETUDIEES

1.2.1 *Urginea maritima* L.

1.2.1.1 Généralité

Urginea maritima L. *Baker*, est une plante médicinale bulbeuse vivace actuellement menacée d'extinction. Il est communément appelé scilles. Une plante herbacée avec un sous-sol organe de stockage de la famille des Liliacées originaire du bassin méditerranéen et bien adapté à son type de climat *(Belhaddad.O et al .,2017)* .

1.2.1.2 Description botanique

Feuille glabre, à Marge lisse. Périanthe étoilé, tépale brièvement soudés à la base, long 8-12 mm, blanc, à uneseule nervure pourpreouverte. Bractée plus courtes que les pédicelles. Filets blanc, anthèresbasifixes. Grainesnoires, brillante. Géophyte a bulbe (*Daoudi.A et al., 2017*).

1.2.1.3 Classification systématique

Selon *Daoudi.A et al. (2017)* la Classification systématique d'*Urginea maritima* L.est la suivante :



Fig.1.1 *Urginea maritima* L.
(Photo personnelle 2022)

Règne: **Plantae**
Classe: **Monocotyledoneae**
Ordre: **Asparagales**
Famille: **Asparagaceae**
Genre: **Urginea L**
Espèce: ***Urginea maritime* L. *Baker***
Nom vernaculaire en Arabe : **الباصول البحري**

1.2.1.4 Distribution géographique

La plante est distribuée généralement dans les pentes des collines,les terrains sablonneux près de la merméditerranée et dans certaines regions de l'Afrique du nord,le moyen-orient, l'Europe et dans les iles canaries. *(Bouhadjeb.A et al ., 2018). Urginea maritima* L. a deux variétés en fonction de leurs bulbes : rouge et blanche. La variété rouge (scille rouge) est

prédominante en Tunisie, Algérie et la Grèce. La variété blanche est prédominantes au Maroc *(Bouhadjeb.A et al., 2018)*.

1.2.1.5 Etude éthnopharmacologiques

Cette plante est utilisée pour traiter les problems dermatologiques avec un indice de fidélité de 17.50 %, en plus elle est utilisée sous forme de goutte sur les yeux pour traiter les douleurs de l'oeille et ceci après broyage et filtration du bulbe *(El Hafian et al., 2014).* Aussi elle est utilisée pour traiter les pathologies digestives *(Mehdioui et Kahouadji., 2007)*, les problems cardiaques et la coqueluche *(Hmamouchi., 2019).* Cette plante est recommandée pour traiter aussi l'hépatite *(Benkhnigue et al., 2019).* Les femmes de la compagne l'utilisent comme abortif par voie interne ouen fumigations vaginales *(Deepak et al., 2003)*.

1.2.2 *Smyrnium olusatrum* L.

1.2.2.1 Généralité

C'est une plante de plaine que l'on trouve couramment dans les haies vives, berges couvertes, falaises maritimes et bords de routes. Elle est communément connue sous le nom d'Alexanders en anglais ou maceron en français (*Daroui-Mokaddem.H., 2012)*.

1.2.2.2 Description botanique

C'est une plante bisannuelle robuste, globuleuse et parfumée au céleri. Les feuilles sont 2-3 pennées, vert foncé et brillantes. Les fleurs sont jaunes, courtement pédicellées et regroupées en de nombreuses ombelles. Largement ovoïde et comprimé latéralement (Messaoudi.C et al., 2013).

1.2.2.3 Classification systématique

Selon *Daroui-Mokaddem.H (2012)* la Classification systématique de *Smyrnium olusatrum*

L.est la suivante :



Fig.2. *Smyrnium olusatrum* L.

(Photo personnelle2022)

Règne : **Plantae**

Classe : **dicotylédones**

Ordre : **Apiales**

Famille : **Apiaceae**

Genre : **Smyrnium**

Espèce : ***Smyrnium olusatrum* L.**

Nom vernaculaire en Arabe :**السمورنيون البقلي**

1.2.2.4 Distribution géographique

La répartition des espèces en Europe s'étend des pays bordant le bassin méditerranéen à sa limite nord en Ecosse. Son établissement sur les iles de la méditerranée peut être attribué aux agences humaines car les graines fraiches ne flottent pas. Le *Smyrnium olusatrum* L.est originaire des régions méditerranéennes : Afrique du nord, Maroc, Algérie, Tunisie, Europe méridionale : Grèce, Italie, ex-Yougoslavie, France, Portugal, Espagne, Asie occidentale : Turquie, chypre, Palestine, Liban, Syrie *(Daroui-Mokaddem.H., 2012)*.

1.2.2.5 Etude éthnopharmacologiques

Outre les culinaruses, cette plantes était employee comme medicinal pendant les grecs et les roman ages, Les différentes parties de la plantes (tige, feuilles et racines) étaient utilisées comme antiscorbutique, antiasthmatique, stomachique, le jus de la racine pour ses proprieties diurétiques et laxatives aromatiques, stimulantes de l'appétit *(Cherif.H et al., 2020 .Papaioannou.F et al., 2010)*.

1.2.3 *Arum maculatum* L.

1.2.3.1 Généralité

Arum maculatum L. est une espèce de plantes forestières communes de la famille des Araceae, elle est répandue dans le nord de l'Europe tempère et est connue sous une abondance des noms connus notamment tête de serpent, Arum sauvage, lys d'Arum, pinte de coucou, bobines,

féculents et merle de sillage. Toutes parties de cette plantes sont considérées comme toxiques *(Kishen.G et al, 2018)*.

1.2.3.2 Description botanique

L'*Arum maculatum* L. est une plante formant une touffe de feuilles en forme de flèche. Brillantes, elles sont souvent dotées de petites tâches noires, d'où le surnom d'arum tacheté. Au mois de mai ou d'avril, la plante dévoile une grande fleur. Ce que l'on assimile à une fleur est en réalité une spathe vert-jaunâtre en forme de cornet. Après la floraison à l'automne, des bouquets de baies orange apparaissent. Mesurant entre 30 *cm* et 45 *cm* de haut, cette plante vivace illumine les sous-bois avec ses petites baies vives *(Audrey C ., 2022)*.

1.2.3.3 Classification systématique

Selon *Atalay.T et al. (2020)* la Classification systématique d'Arum *maculatum* L.est la suivante :



Fig.3. *Arum maculatum* L.
(Photo personnelle2022)

Règne **: Plantae**
Classe : **Equisetopsida**
Ordre : **Alismatales**
Famille : **Araceae**
Genre : **Arum**
Espèce : ***Arum maculatum* L.**
Nom vernaculaire en Arabe :**اللوف الابقع**

1.2.3.4 Distribution géographique

Arum maculatum L. fait partie de la famille des Araceae, largement distribuée dans de nombreux pays d'Europe et du Moyen-Orient Est. On la trouve également dans le nord de l'Irak, communément appelé Kardi. Elle est répandue dans la Turquie et au Caucase *(Kadri.Z et al., 2016)*.

1.2.3.5 Etude éthnopharmacologiques

Arum maculatum L.est traditionnellement utilisé pour le contrôle de nombreuses maladies et affections telles que les douleurs rénales *(Comlekcioglu.N et al., 2021)*.

1.2.4 *Acanthus mollis* L.

1.2.3.1 Généralité

Acanthus mollis L. est une plante herbacée vivace de la famille des Acanthacées, originaire de la région méditerranéenne *(Matos,P et al., 2018)*,aussi appelée acanthe molle ou acanthe à feuilles larges. Elle est utilisée comme plante ornementale et médicinale *(Jara,C et al., 2017)*, connue pour ses feuilles ayant servie motif architectural.

1.2.3.2 Description botanique

L'Acanthe à feuilles molles présente une touffe évasée, son genre vient du mot grec (akantha) qui signifie épine, en référence aux bords dentelés des feuilles de certaines espèces, composée d'un feuillage semi-persistant et très décoratif. De très grandes feuilles (30-80 *cm* de long), molles, à divisions larges, lobées dentées, vert brillant. La croissance reste verte toute l'année dans les climats doux. Les feuilles sont inclinées avec des épines. Tiges de beau, pâle lilas et blanc, les fleurs apparaissent au début de l'été et peuvent atteindre une hauteur de quatre à cinq pieds. Les fleurs peuvent être coupées pour des arrangements à l'intérieur ou séchées *(Hamimed.S et al. 2020)*.

1.2.3.3 Classification systématique

Selon *Hamimed.S et al. (2020)* la Classification systématique d'*Acanthus mollis* L.est la suivante :



Règne : **Plantae**

Classe : **Magnoli-opsida**

Ordre : **Lamiaies**

Famille : **Acanthaceae**

Genre : **Acanthus**

Espèce : ***Acanthus mollis* L.**

Nom vernaculaire en Arabe : **الاقنثة**

Fig.1.4 *Acanthus mollis* L.

(Photo personnel 2022)

1.2.3.4 Distribution géographique

C'est une plante herbacée vivace originaire de la région méditerranéenne du Portugal et du nord-ouest de l'Afrique aux Balkans *(Yi-Lin..L et al., 2020)*.

1.2.3.5 Etude éthnopharmacologiques

L*'Acanthe molle* est utilisée comme diurétique, anti-inflammatoire et apaisante des muqueuses du tube digestif et du tractus urinaire et en externe pour la cicatrisation des plaies et des brûlures *(Matos.P et al., 2018)*. Les feuilles et les racines sont préparées en bain contre les irritations de la peau utilisés en infusion ou cataplasme *(Rhattas,M et al., 2016)*. Et en lavement contre les maladies infectieuses du colon et les hémorroïdes. Sa sève, réputée pour être tonifiante et stimulante, était réservée aux guerriers qui en buvaient avant de partir au combat.

1.3 METABOLITE SECONDAIRE

1.3.1 Généralité

Les métabolites secondaires sont présents en très grand nombre et avec une importante variété structurale. Ils sont des molécules organiques complexes synthétisés et accumulés en petites quantités par les plantes autotrophes. Ce sont des produits à structure chimique souvent complexe, ils sont très dispersés et très différents selon le type d'espèce. Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores et dans les relations entre la plante et son environnement *(Fatteh.A., 2019)*.

Ces molécules biologiques ne sont pas, par définition, nécessaires et vitaux pour la cellule ou l'organisme mais elles ont la particularité d'avoir des effets biologiques sur d'autres organismes.

Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plantes et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique *(Fatteh.A., 2019)*.

Les polyphénols, également dénommés composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir, cependant l'élément structural de base est un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, ester, hétéroside…etc.). Ce sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires**.** Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) *(Fatteh.A., 2019)*.

1.3.2 Principaux classes des composées phénoliques

Les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Ces composés peuvent être regroupés en plusieurs catégories qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base, ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation etc.) et enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides généralement)**.**On distingue terpènes, alcaloïdes, coumarines, acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, stilibénoides, lignanes, xanthones. (*Fatteh.A., 2019)*.

Les différentes classes de ces composés phénoliques sont représentées dans la figure suivante :

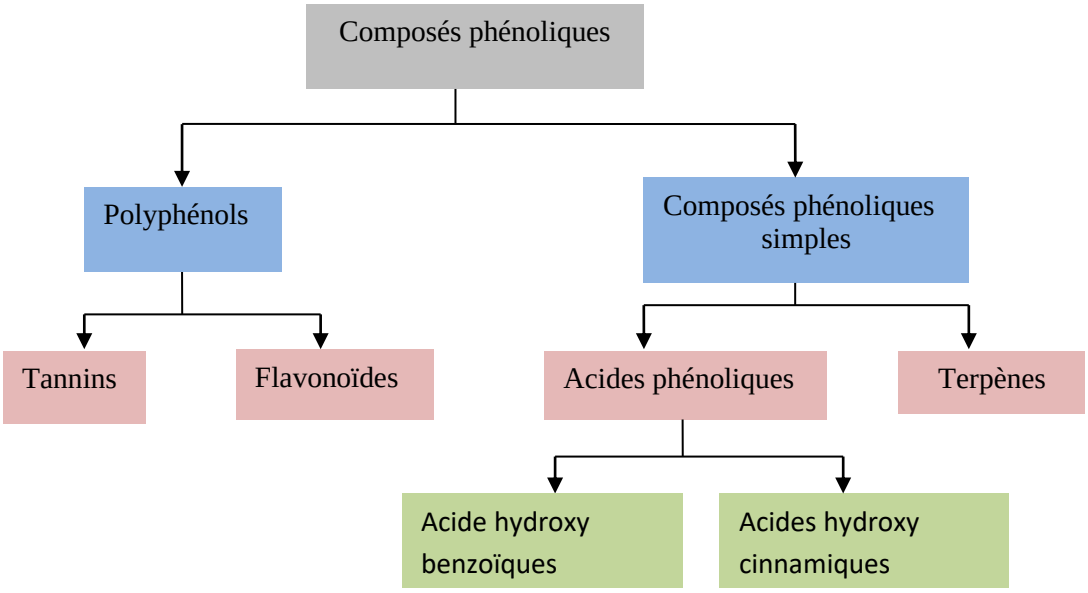


Fig.1.5 Principes classes des composées phénoliques

1.3.2.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des substances phytochimiques ayant au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxy-phénolique. La dénomination générale d'acides phénoliques englobe les formes les plus simples des composés phénoliques qui se séparent en deux grands groupes distincts: les acides hydroxybenzoïques qui sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure en C6-C1, ils sont très communs aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'ester ou d'hétérosides, et les acides hydroxycinnamiques qui dérivent de l'acide cinnamique et possèdent une structure en C6- C3 *(Fatteh.A., 2019)*.

1.3.2.2 Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme Latin *flavus,* (*flavus*= jaune). Les flavonoïdes sont une classe importante de polyphénols. Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées chez les plantes. Ils peuvent être présents dans toutes les parties des plantes : racines, tiges, bois, écorce, feuilles, graines, fleurs et fruits où ils sont responsables de la couleur de ces derniers (généralement jaune). La structure de base de ces composés est le diphényle propane à 15 atomes de carbones (C6-C3-C6). Essentiellement, la structure se compose de deux cycles aromatiques A et B, reliés par un pont de 3-carbones, habituellement sous la forme d'un noyau hétérocyclique, C *(Bouadjeb.A et al., 2018)*.

1.3.2.3 Les tannins

Les tannins sont des molécules polyphénoliques de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines des plantes, ils sont du grand intérêt pour la nutrition et la médecine à cause de leur capacité antioxydante puissante et leur effet protecteur possible sur la santé humaine. La plupart des propriétés biologiques des tannins sont liées au pouvoir qu'ils ont de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines. Les liaisons non covalentes, hydrogènes et hydrophobes participent à la formation du complexe tannins-protéine *(Belkhiri.F., 2009)*.

1.3.2.4 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques cycliques contenant de l'azote de faible poids moléculaire et appartiennent à une vaste catégorie de métabolites secondaires alcalins. Ils ont un caractère lipophile très prononcé qui leur permet d'être solubles dans les solvants organiques et ces composés, en réagissant avec les acides, donnent naissance à des sels qui deviennent solubles dans l'eau. Les alcaloïdes forment un groupe hétérogène de composés organiques, défini par la fonction amine qui confère à leurs constituants des propriétés chimiques propres, associées à une toxicité généralement élevée et également à une action pharmacologique importante. La

puissante activité physiologique de nombreux alcaloïdes a conduit à leur utilisation comme produits pharmaceutiques, stimulants, narcotiques et poisons *(Ribeiro.M., 2016)*.

1.3.2.5 Les terpènes

Les terpènes sont largement présents dans la nature. Ils sont un grand et classe variée d'hydrocarbures qui sont produits par une grande variété de plantes et par certains animaux. Elles sont également abondamment trouvées dans les fruits, les légumes et les fleurs .Leur concentration est généralement élevée dans les plantes structures reproductrices et feuillage pendant et immédiatement après la floraison. Les terpènes sont également un élément majeur composant des résines végétales. Dans les plantes, ils fonctionnent comme infochimiques, attractifs ou répulsifs, tels qu'ils sont responsable du parfum typique de nombreuses plantes .D'autre part, de fortes concentrations de terpènes peuvent être toxiques et sont donc une arme importante contre herbivores et pathogènes *(Paduch.R et al., 2007)*.

1.3.3 Rôle et intérêt des composes phénoliques

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. Ils ont la capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires. Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Ces composés sont réputés aussi pour leur caractère antioxydante, neutralisant les radicaux libres et limitant ainsi certains dommages oxydatifs responsables de plusieurs maladies. En outre, un grand nombre de polyphénols sont reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et anticancéreuses. Plusieurs études ont été réalisées sur l'impact de la consommation de végétaux sur la santé. La plupart d'entre elles ont mis en évidence une baisse du facteur de risque pour de nombreuses affections telles que l'infarctus et le cancer *(Fatteh.A., 2019).*

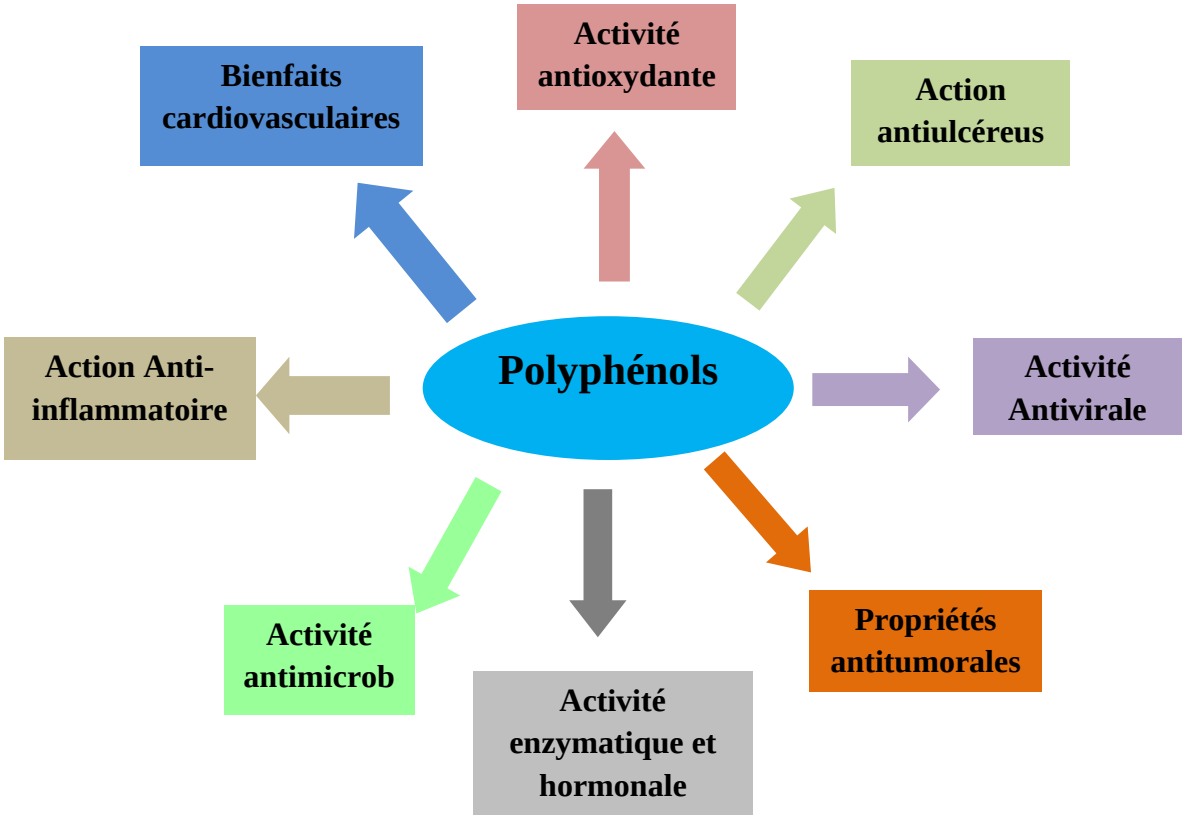


Fig.1.6 Rôle des composés phénoliques

1.4 IN SILICO

1.4.1 Bioinformatique

Bioinformatique et Biologie computationnelle sont devenus des mots à la mode dans le monde de la science d'aujourd'hui. Il y a quelques décennies, les gens considéraient la biologie et l'informatique comme deux domaines entièrement différents. L'un apprendrait sur les êtres vivants et leurs fonctions tandis que l'autre apprendrait sur les ordinateurs et les théories sous-jacentes. Cependant, à l'heure actuelle, il semble y avoir une simple séparation entre les deux domaines et ces nouveaux domaines ont émergé comme une combinaison à la fois de l'informatique et de la biologie. L'emploi des outils de l'informatique dans la recherche en biologie, chimie et médecine est devenu incontournable. Une des applications de la bioinformatique utilisée actuellement est le Docking, celui-ci est une méthode de modélisation moléculaire qui, à travers une simulation permet de prédire l'interaction entre une protéine et un ligand. Ce criblage rend possible la sélection des molécules dont l'activité biologique est la plus probable. Cette technique d'étude in silico est plus rapide, plus efficace et moins coûteuse par rapport aux méthodes expérimentales classiques *(Michael F Dunn., 2010).*

1.4.2 Docking Moléculaire

Le Docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français), in silico vise à prédire la structure et l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation d'un complexe moléculaire « ligand-protéine » ou « protéine-protéine », à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales in vitro. Le Docking moléculaire permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie *(Beautrait A., 2008).*

1.4.3 Les étapes de Docking Moléculaire

La première (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
La deuxième (le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées *(Houamdi S et al., 2021).*

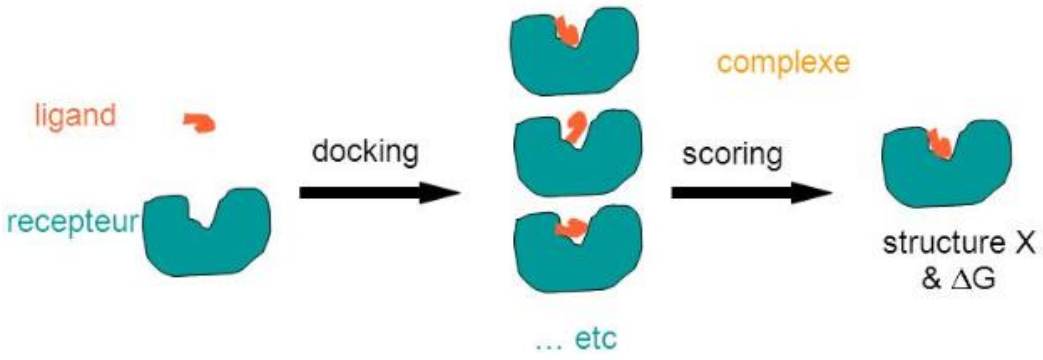


Fig.1.7 Principe général d'un programme de docking

1.4.4 Outil Docking

Les éléments indispensables pour pratiquer un docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire de nature protéique appelée : cible, une petite molécule appelée ligand et un programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi *(Tifourak D., 2019).*

1.4.4.1 Programme

Le docking moléculaire à pour objectif essentiel de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Initié au début des années 1980, ce domaine s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de produits biologiquement actifs. Plus de 30 programmes de docking moléculaire (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement: AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM *(Tifourak Dalal., 2019)*, comme il a été présenté dans la figure ci-dessous.

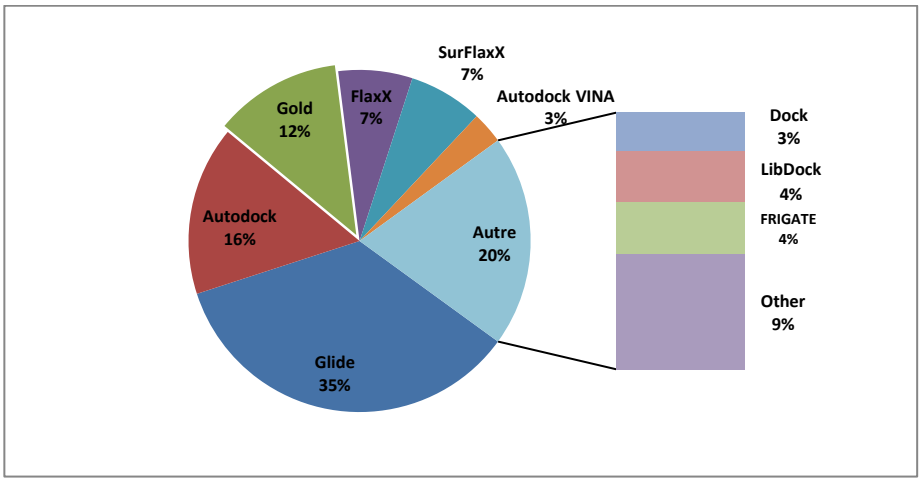


Fig.1.8 Comparaison des programmes de docking les plus cités avant 2019

Au fil des années, on note l'apparition d'un nombre important de programmes de docking moléculaire avec une grande diversité des algorithmes de recherche, illustrées dans le tableau suivant :

Tableau.1.1 Principaux programmes de Docking moléculaire *(Taylor et al., 2003)*.

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

1.4.4.1.1 AutoDock

L'étape de docking moléculaire est réalisée grâce au sous-programme AutoDock. Est une suite d'outils de docking automatisés. Il est conçu pour prédire comment de petites molécules, telles que des substrats ou des médicaments candidats, se lient à un récepteur de structure 3D connue *(Sayeh Meddour.I et al., 2020)*. On a utilisé un logiciel d'autodock :

1.4.4.1.1.1 AutoDockTools

AutoDockTools, ou ADT, est l'interface graphique gratuite d'AutoDock développée par le même laboratoire qui développe AutoDock. Elle permet de configurer, d'exécuter et d'analyser les amarrages AutoDock et les cartes d'affinité AutoGridisocontour, ainsi que pour calculer les surfaces moléculaires, d'afficher les rubans de structure secondaire, de calculer les liaisons hydrogène et de faire de nombreuses autres fonctions *(Ahmedou A., 2021).*

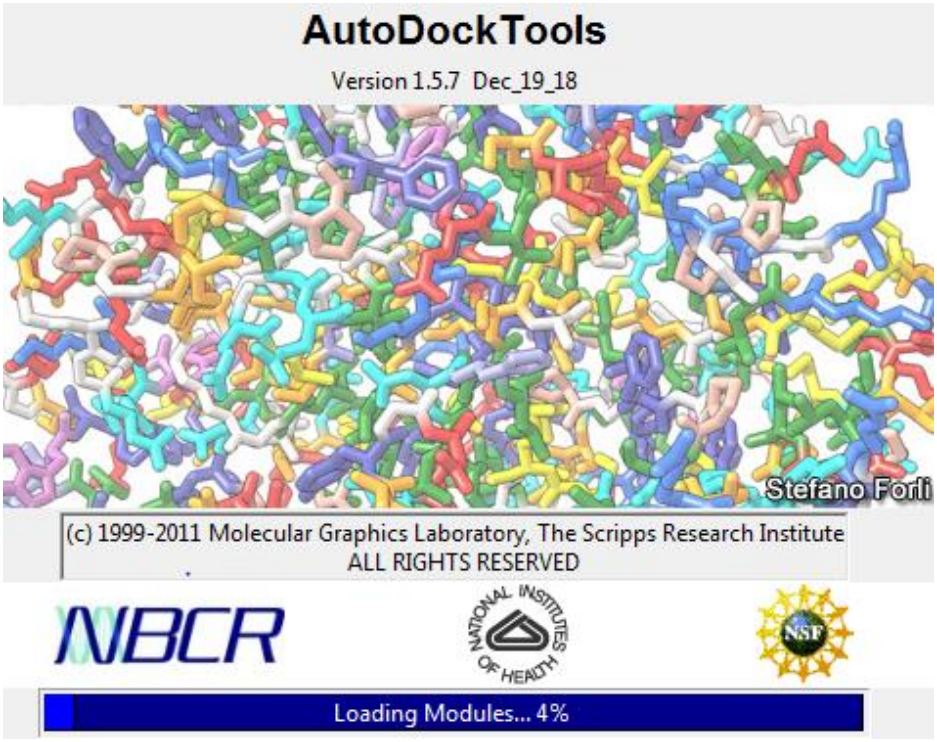


Fig.1.9 Capture d'écran ADT

1.4.4.1.2 Pymol

PyMOL, un outil graphique moléculaire multiplateforme, a été largement utilisé pour la visualisation tridimensionnelle (3D) des protéines, des acides nucléiques, des petites molécules, des densités d'électrons, des surfaces et des trajectoires. Il est également capable d'éditer des molécules, de lancer des rayons et de faire des films. Ce logiciel basé sur Python,

aux côtés de nombreux outils de plug-in Python, a été développé pour améliorer ses utilitaires et faciliter la conception de médicaments dans PyMOL *(Shuguang.Y et al., 2017)*.

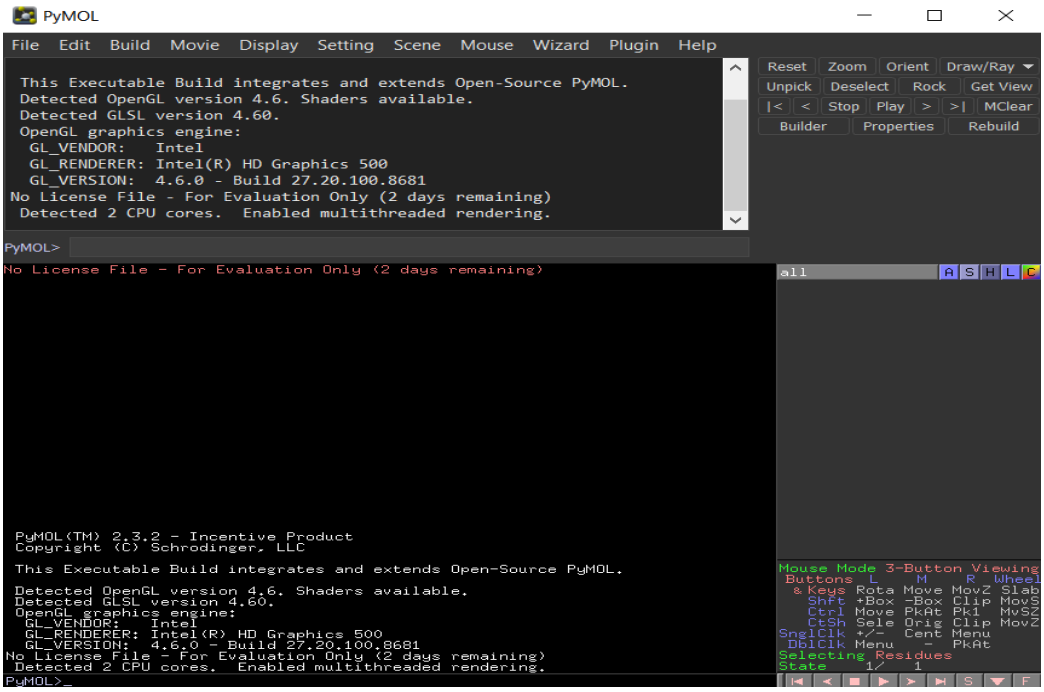


Fig.1.10 L'interface du programme Pymol

1.4.4.1.3 Discovery Studio

Discovery Studio est une suite de logiciels pour stimuler les systèmes de petites molécules et macromolécules. Il couvre les domaines suivants: simulations, conception de ligands, modélisation de pharmacophore, conception basée sur la structure, QSAR et ADMET *(Ahmedou A., 2021)*.

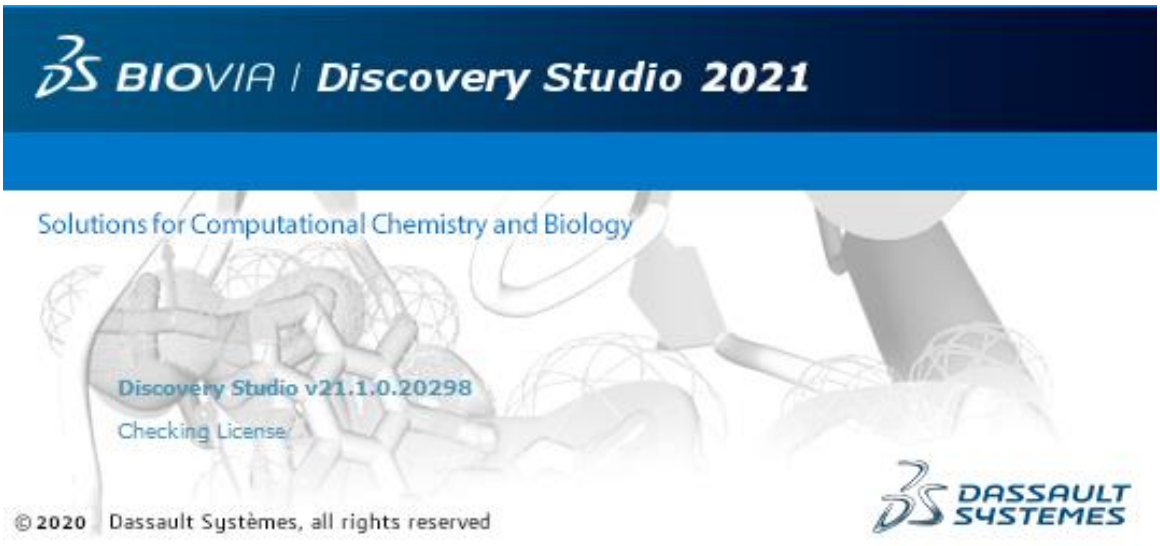


Fig.1.11 Capture d'écran Discovery studio

1.4.4.1.4 La Protein Data Bank (PDB)

La Protein Data Bank (PDB) est la seule base de données mondiale pour les structures 3D des macromolécules biologiques. Les structures sont déposées par des scientifiques du monde entier et sont accessibles gratuitement. Beaucoup de grands journaux scientifiques demandent aux auteurs de déposer leurs structures sur la PDB. La PDB a, selon son site, une communauté internationale d'utilisateurs qui inclut des biologistes (dans des domaines comme la biologie structurale, la biochimie, la génétique ou la pharmacologie) ; d'autres scientifiques (dans des champs comme la bioinformatique, le développement des logiciel pour l'analyse et la visualisation des données) ; des étudiants et éducateurs (tous niveaux) ; des journalistes, illustrateurs, auteurs de manuels et le grand public. La PDB est ainsi visitée par environ 140 000 visiteurs uniques par mois, d'environ 140 pays différents *(Dorey.S., 2012)*.

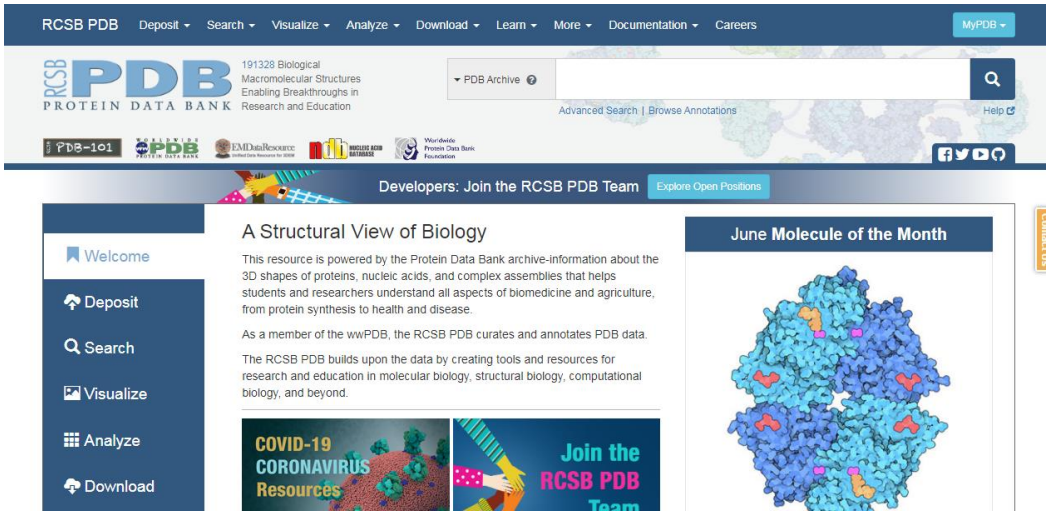


Fig.1.12 L'interface de La Protein Data Bank (PDB)

1.4.4.1.5 La base des données Pubchem

Depuis son lancement en 2004, la base de données PubChem est devenue une source d'information clé sur les produits chimiques pour les scientifiques, les étudiants et le grand public. Chaque mois, notre site Web et nos services de programmation fournissent des données à plusieurs millions d'utilisateurs dans le monde. PubChem contient principalement de petites molécules, mais aussi des molécules plus grosses telles que des nucléotides, des glucides, des lipides, des peptides et des macromolécules chimiquement modifiées. Nous recueillons des informations sur les structures chimiques, les identifiants, les propriétés chimiques et physiques, les activités biologiques, les brevets, la santé, la sécurité, les données de toxicité et bien d'autres *(Trad.M., 2020).*

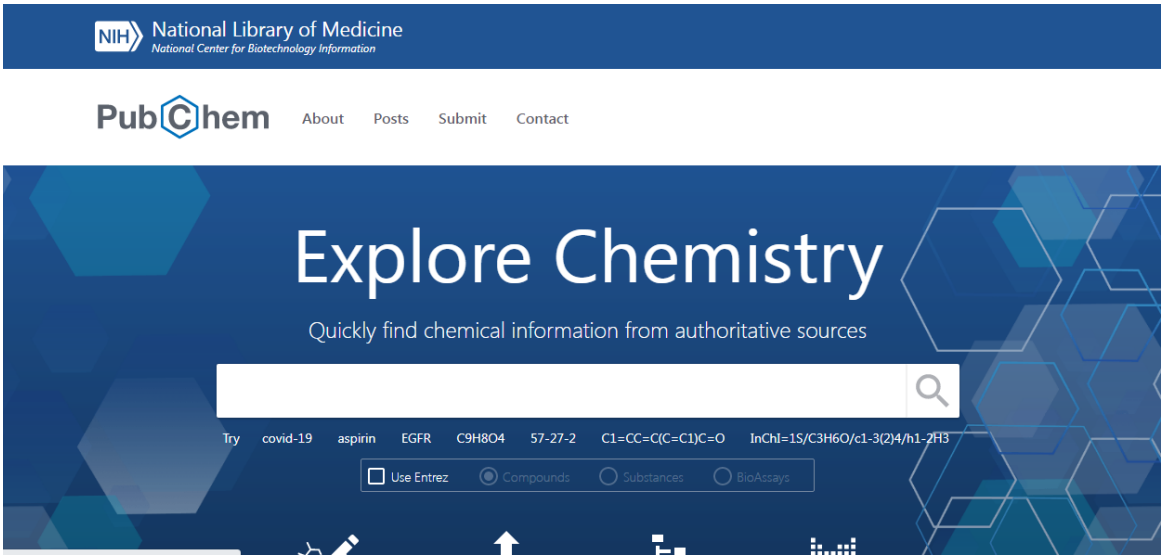


Fig.1.13 L'interface de La base des données Pubchem

1.4.4.2 Récepteur

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand. Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB« Protein Data Bank », (en anglais), la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN) *(Tifourak.D., 2019).*

1.4.4.3 Ligand

Ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : la première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimique. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl pour ne citer que ces exemples *(Tifourak D., 2019).*

2. MATERIELS & METHODES

2. MATERIELS & METHODES

2.1 PRODUITS CHIMIQUES

Méthanol (alcool, CH_3OH), éthanol (alcool, C_2H_5OH), DMSO (Diméthyle sulfoxide, C_2H_2OS), eau de javel, eau distillée, acide gallique($C_7H_6O_5$), bicarbonate de sodium (Na_2CO_3), trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle $C_{18}H_{12}N_5O_6$), Hypochlorite de sodium (NaOCl), quercétine (flavonoïde, $C_{15}H_{10}O_7$).

2.2 MATÉRIELS

2.2.1 Matériel analytique

Réfrigérateur (LIEBHERR), Étuve (MEMMERT et BINDER), Spectrophotomètre (SP-3000 nano OPTIMA), Balance(PIONEER), Centrifugeuse(OHAUS), Agitateur (P.SELECTA AGIMATIC-U), Balance à précision (KERN ALS 220-UV), vortex (SELECTA), Balance(VWR), Densitomètre (GRAMT-BIO).

2.2.2 Autres équipements

Boites de Pétri, papier filtre, tubes à essaies, pissettes, micropipettes, tube gradué, mortier, spatule, erlenmeyers, coton hydrophile, entonnoir, papier aluminium, règle graduée.

2.2.3 Les souches bactériennes testées

Pseudomonase aeruginosa (ATCC 9027), *Staphylococcus èpidermidis* (ATCC 9027), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphyloccocus aureus* (ATCC 6538), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)

2.2.4 Les souches fongiques testés

Candida albicans (ATCC 10231), *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763)

2.3 METHODES

2.3.1 Étude chimique

2.3.1.1 Préparation de la matière végétale

Un échantillonnage aléatoire sur le terrain a été réalisé en mois de janvier 2022 au niveau de la région de Médéa à 981 *m* d'altitude pour la récolte de quatre espèces de plantes ; *Urginea maritima* L., *Smyrnium olusatrum* L., *Arum maculatum* L. et *Acanthus mollis* L. Les parties aériennes de ces quatre espèces ont été séparées et séchées puis conservées dans des sacs en papier.

2.3.1.2 Présentation de la région de la récolte

2.3.1.2.1 Position géographique

La wilaya de Médéa est située au Nord de l'Algérie, au cœur de l'Atlas Tellien une telle position stratégique a fait de Médéa une zone de transit principale et un trait d'union entre le Tel et le Sahara d'une part et entre les Hauts Plateaux de l'Est et ceux de l'Ouest.

Le climat de Médéa se caractérise par une altitude qui s'atteint 1240 *m* au-dessus du niveau de la mer, sa position sur les monts de l'Atlas Tellien et son exposition aux vents et aux vagues de courants venant de l'Ouest.

Médéa, commune de la wilaya de Médéa, limitée par la wilaya de Blida au Nord, la daïra de Ouzera à l'Est, la daïra de Si Mahjoub au Sud et la daïra de Ouamri à l'ouest.

2.3.1.2.2 Caractéristiques climatique de la région

Le tableau montre les principales caractéristiques climatiques de la station de la récolte

Tableau 2.1 Principales caractéristiques climatique de la région

Station	Nord de Médéa)
Altitude *(m)*	1240
Précipitations *(mm/an)*	500
M *(°C)*	14,4
Bioclimats	méditerranéen sous continentale

2.3.1.3 Prétraitement

2.3.1.3.1 Séchage

Les parties aériennes des plantes *(Urginea maritima* L., *Smrynum olusatrum* L., *Arum maculatum* L., *Acanthus mollis* L.*)* ont été fraichement récoltées, débarrassées de toutes poussières et toutes autres impuretés puis lavées avec de l'eau distillée et laissées sécher dans l'étuve à 70 °*C* pendant 2 jours (Annexe 3).

2.3.1.3.2 Broyage

Après séchage, les parties aériennes des plantes ont été broyées en poudre fine puis stockées dans des bocaux fermés afin de la protéger de l'humidité et la lumière (Annexe 3).

2.3.2 Préparation des extraits

2.3.2.1 Extraction aqueuse

Selon le protocole de *Mbiantcha et al., (2011)* avec quelques modifications, l'extraction a été réalisée comme suit:

- Macération de 50 *g* de poudre du matériel végétal broyé dans 500 *ml* d'eau distillée.
- Agitation magnétique à température ambiante pendant 24 *h*.
- Le macérât a été soumis à une double filtration : sur coton hydrophile puis sur papier filtre wattman n°1.
- Les extraits aqueux sont ensuite séchés à l'étuve (64°*C*) pendant 7jours.
- Les extraits secs obtenus sont broyés et conservés à 4°*C* jusqu'à l'utilisation (Annexe3).

2.3.2.2 Extraction métanolique

L'extraction a été réalisée selon les étapes suivantes (*Coulibaly et al, 2011)*:

- Macération de 50 *g* de poudre végétale dans 200 *ml* de méthanol.
- Agitation magnétique à température ambiante pendant 24 *h.*
- Le macérât métanolique a été soumis à une double filtration : sur coton hydrophile puis sur papier filtre wattmann°1.
- Les extraits métanoliques obtenus sont ensuite séchés à l'étuve (45°*C*) pendant 7jours.
- Les extraits secs obtenus sont broyés et conservés à 4°*C* jusqu'à leur utilisation (Annexe 3)**.**

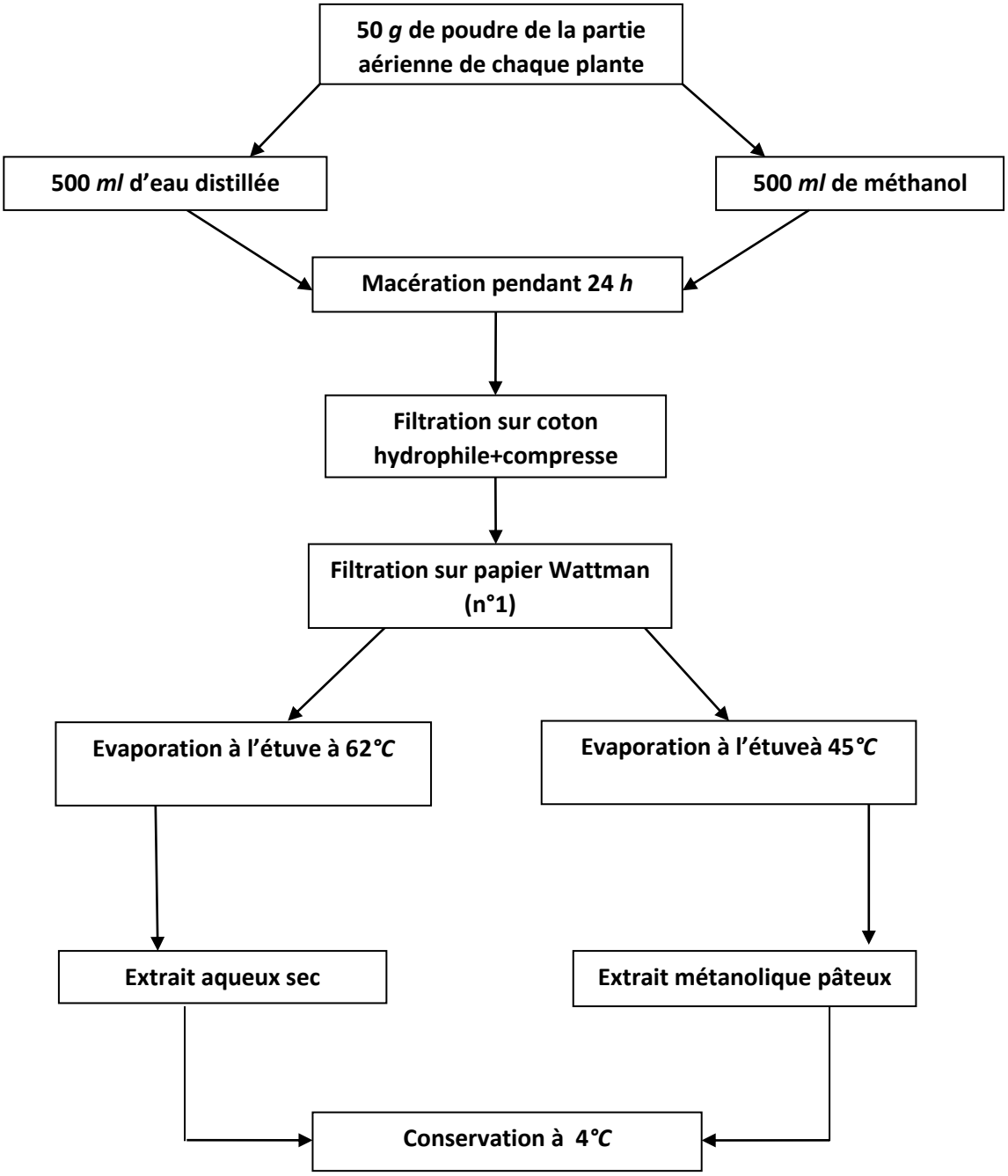


Fig.2.1 Protocole de préparation des extraits aqueux et métanoliques des plantes étudiées

2.3.3 Détermination du rendement

Le rendement signifie la masse de l'extrait obtenu après évaporation du solvant par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à l'extraction.

Le rendement des extraits métanolique et aqueux a été calculé selon la formule suivante:

$$R = \left(\frac{M}{M0}\right) \times 100 \quad \textbf{(Eq2.1)}$$

Où :

R : rendement exprimé en pourcentage %

M : la masse en gramme de l'extrait sec résultant

M_0 : la masse en gramme de la matière végétale

2.3.4 Étude phytochimique des extraits

2.3.4.1 Dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques des différents extraits est estimée selon la méthode de Folin-Ciocalteu *(Belkhiri et al, 2017)***.**

2.3.4.1.1 Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMo12O40). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 *nm* est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

2.3.4.1.2 Réactifs et extraits

Polyphénol témoin : l'acide gallique

- Réactifs de Folin-Ciocaleu : 9 *ml* d'eau distillée ont été ajoutées à 10 *ml* du réactif deFolin-Ciocalteu.
- Le bicarbonate de sodium à 7,5 % : 2 g de bicarbonate sodium ont été dissous dans 100 *ml* d'eau distillée.
- Les extraits métanoliques et aqueux: solubilisés dans le méthanol absolu.

2.3.4.1.3 Mode opératoire

Pour la courbe d'étalonnage :

Une gamme de 6 concentrations d'acide gallique allant de 150 à 10 *µg/ml* a été préparée à partir d'une solution mère de 1 *mg/ml* de concentration.

Pour le dosage des polyphénols :

1 *ml* de réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté à 200 *µl* de l'échantillon à dosé. Après 4 *min* d'incubation, 800 *µl* d'une solution de carbonate de sodium (7.5 %) sont additionnés au milieu réactionnel. Après une incubation à l'obscurité pendant 2 heures, l'absorbance a été mesurée à 760 *nm* avec un spectrophotomètre.

Le blanc du test contient: 200 *µl* de méthanol, 1 *ml* de Folin– Ciocalteu et 800 *µl* de Na_2CO_3, Pour chaque extrait, le test est réalisé en triplicata (Annexe 4).

2.3.4.1.4 Expression des résultats

La concentration de la teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats ont été exprimés en *µg* d'équivalent acide gallique / *mg* d'extrait sec (mg EAG/g MS).

2. 3.4.2 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits *(Baghiani et al, 2010)*.

2. 3.4.2.1 Principe

La méthode se base sur la formation d'un complexe jaune très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

2. 3.4.2.2 Réactifs et extraits

- Le chlorure d'aluminium: 2 *mg* de Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) dissous dans 50 *ml* de l'eau distillée.
- Solution métanolique mère du standard : 40 *µg* de quercétine dissous dans 1 ml de méthanol.
- Les extraits métanoliques et aqueux: dissous dans le méthanol absolu.

2.3.4.2.3 Mode opératoire

- Pour la courbe d'étalonnage :

Une gamme de 6 concentrations de quercétine allant de 40 à 1.5 *µg /ml* a été préparée à partir d'une solution mère de 40 *µg /ml* de concentration

- Pour le dosage des polyphénols :

A 1 *ml* de chaque échantillon, a été ajouté 1 *ml* de la solution de trichlorure d'aluminium préparée à 2 % dans le méthanol absolu. L'absorbance est lue à 430 *nm* après dix minutes d'incubation (Annexe 4).

2.3.4.2.4 Expression des résultats

La concentration en flavonoïde a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine. Les résultats sont exprimés en *µg* équivalent quercétine par *mg* d'extrait sec (mg EQ/g ES).

2.3.5 Évaluation des activités biologiques

2.3.5.1 Evaluation de l'activité antioxydante impliquant le radical DPPH

La méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) est la plus simple à réaliser in vitro. Le DPPH est largement employé pour évaluer le balayage de divers produits naturels et il est considéré comme un composé modèle pour les radicaux libres de ces produits.

Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits naturels des parties aériennes des plantes : *Urginea maritima* L., *Smyrnium olusatrum* L., *Arum maculatum* L. *et Acanthus mollis* L. en vue de leur valorisation en tant que source d'antioxydants (Annexe 5).

2.3.5.1.1 Principe

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPH•) est un radical organique libre, stable et de couleur rouge pourpre. En présence de composés anti radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la forme libre en solution dépend de la nature, de la concentration et de la puissance de la substance anti radicalaire. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :

$$\mathbf{DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet}}$$

(Violet) (Jaunâtre)

Où (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical $DPPH^{\bullet}$ pour le transformer en molécule DPPH-H. Le $DPPH^{\bullet}$ est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 *nm (Fatteh.A., 2019)*.

2.3.5.1.2 Mode opératoire

Pour la mesure de cette activité antiradicalaire, 50 *µl* de chaque extrait (1 *mg/ml*) sont mélangés avec 1 *ml* du DPPH. Après agitation au vortex, les tubes sont placés à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 *min* pour réagir. L'absorbance est mesurée à 517 *nm* contre un blanc (témoin négatif).

Le témoin positif utilisé est un antioxydant de synthèse: le 2,6-di-tbutyl-4-methylphenol ou butylhydroxytoluène (BHT).

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition et calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange selon la formule suivante :

$$PI = [(DOtémoin - DOextrait)/DOtémoin] \times 100 \quad \textbf{(Eq.2.2)}$$

Où :

PI : pourcentage d'inhibition.

DO témoin : absorbance du témoin négatif

DO extrait : absorbance de la solution d'extrait

2.3.5.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

La détermination de la zone d'inhibition permet une estimation du caractère de sensibilité ou de résistance de la souche microbienne vis-à-vis des extraits testés. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés par un pied à coulisse en *mm* annexe (6). L'activité antimicrobienne des extraits (aqueuses et méthanoliques) des parties aériennes des plants *(Urginea maritima* L., *Smyrinium olusatrum* L. ,*Arum maculatum* L.et *Acanhus mollis* L.) été évaluée contre huite souches référentielles (*Salmonella typhimurium , Escherichia coli ,Staphyloccocus aureus ,Staphyloccocus épidermidis , Bacillus subtilis ,Pseudomonase aeroginosa ,Candida albicans et Saccharomyces cerevisiae)* sensibles et résistants aux antibiotiques (CTX , HLG , TEC , RIF , RP et CEP)**.**

2.3.5.2.1 Repiquage des souches microbiennes

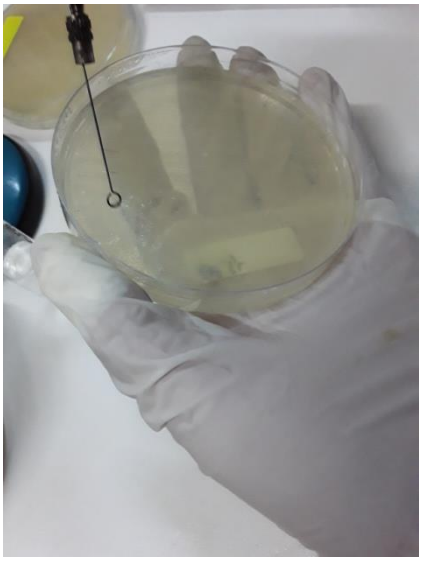
Les différentes espèces microbiens ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °*C* pour les bactéries et 24°*C* pour les champignons afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum (Annexe 6).

2.3.5.2.2 Préparation de l'inoculum

Pour préparer l'inoculum, on racle 4 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture de 24 *h*, sur le milieu d'isolement puis déchargées dans de l'eau physiologique stérile. La suspension microbienne est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex et sa turbidité est ajustée à 0,5 *McFarland,* soit une densité optique égale à 0,08 à 0,10 ; lue à une longueur d'onde de 625 *nm* correspondant à 108 *UFC/ml.*



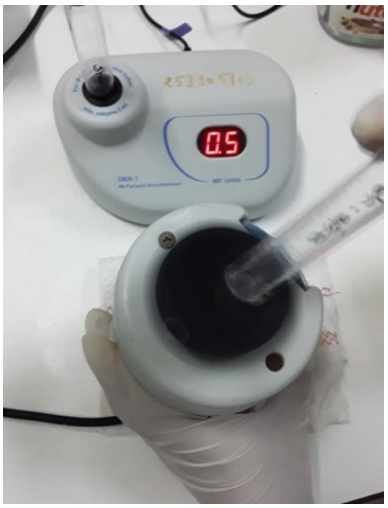
1- Stérilisation du matériel



2- Isolement des colonies



3- Préparation de l'inoculum



4- Homogénéisation avec le vortex et mesure avec le densitomètre

Fig.2.2 Les étapes de préparation d'une suspension microbienne

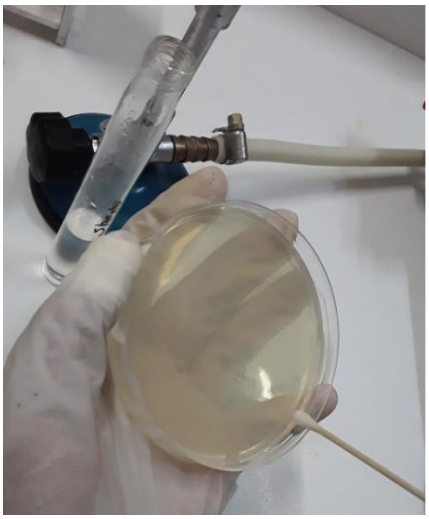
2.3.5.2.3 Préparation des disques

Nous avons utilisé le papier Wattman N°3, coupé en disque de 8 *mm* de diamètre. Ces disques doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Ces derniers, une fois préparés, sont placés dans une boite de pétri (en verre) contenant 10 *ml* d'eau distillée et stérilisés pendant 20 *mn* à 120 *°C*.

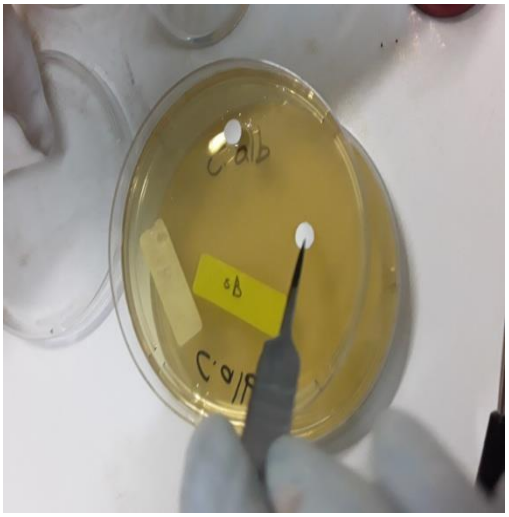
2.3.5.2.4 Ensemencement

Les milieux de culture ont été coulés dans des boites de pétri stériles, les souches microbiennes sont ensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon. L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier-filtre, contenant les échantillons à tester (25 μl) d'extrait sont déposés à la surface de la gélose. L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 *h* d'incubation à 37° C pour les bactéries et 24°*C* pour les champignons. Les extraits préparés sont dilués dans le DMSO car il n'a aucun pouvoir antimicrobien.



Ensemencement bactérien



Dépôt des disques

Fig.2.3 Schéma représente l'ensemencement microbien puis le dépôt des disques

2.3.5.2.5 Lecture

Après incubation, la lecture s'effectue en mesurant le diamètre d'inhibition de la croissance microbienne. Cette distance millimétrique est ensuite reportée sur une échelle de concordance afin que la souche soit interprétée sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis du principe actif étudié. Plus la zone d'inhibition mesurée est grande, plus le germe est sensible.

La sensibilité des différentes souches vis-à-vis de l'extrait étudié est classée selon le diamètre d'inhibition et selon les critères présentés dans le tableau suivants :

Tableau 2.2 Diamètre d'inhibition du principe actif

Diamètre (Ø)	Symbole	Sensibilité
<8 *mm*	(-)	Non sensible
9-14 *mm*	(+)	Sensible
15-19 *mm*	(++)	Très sensible
>20 *mm*	(+++)	extrêmement sensible

2.4 IN SILICO

Afin de connaître les biomolécules contenues dans les extraits pour démarrer l'évaluation ***in silico***, nous avons recherché leur composition chimique en se basant sur quelques articles scientifiques qui ont fait les analyses qualitatives des extraits par HPLC. A partir des résultats trouvés, nous avons choisi de travailler sur la vanilline pour *Urginea maritima* L. *(Chare.N et al., 2017)* et *(Kakouri.E et al., 2019)*, methyl-1-benzyl-2oxocylooctane pour *Smyrnium olusatrum* L. *(Daroui-Mokaddem.H ., 2012)*, le P-cresol pour l'*Arum maculatum* L. *(Çolak.F et al., 2009)* et le benzoxazine pour l*'Acanthus mollis* L. *(Bhattarai.B et al., 2022)*.

Nous avons utilisé des logiciels et des sites web pour réaliser ce travail ***in silico***.

2.4.1 Matériels

2.4.1.1 Microordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé deux micro-ordinateurs. Les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7.

2.4.1.2 Outils informatique

AutoDock Tools (1.5.7): *http://ccsb.scrippe.edu/mgltools/downloads/*

Pymol (2.3.2): *http://pymol.org/2/*

PDB (Protein Data Bank): *http://www.rcsb.org*

PubChem: *https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov*

Discovery studio visualizer: *https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer*

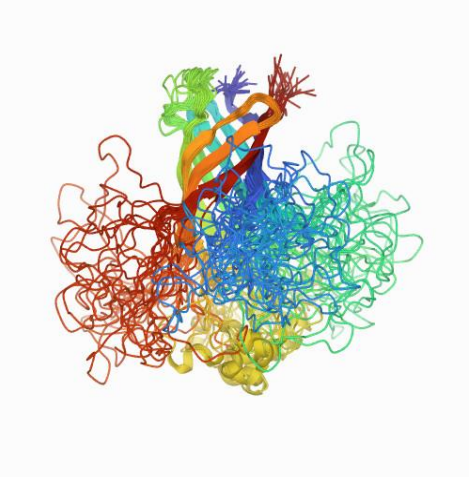
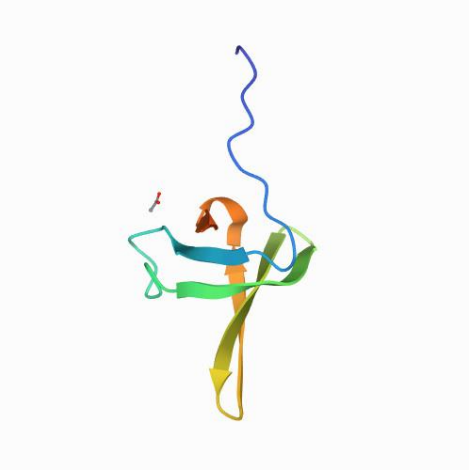
https://proteins.plus/pages/about

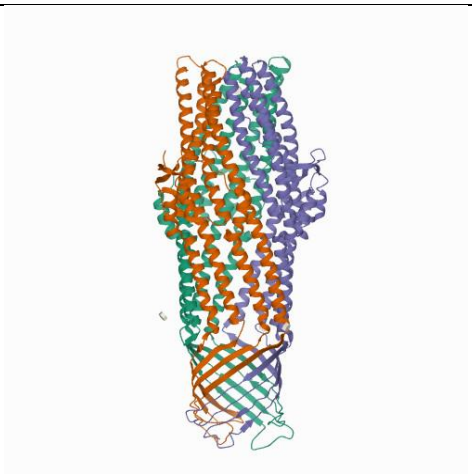
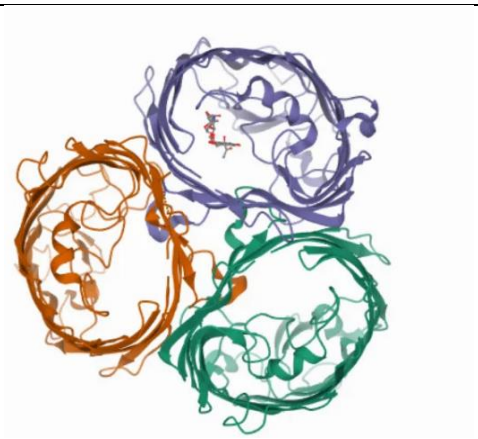
2.4.1.3 Récepteurs (Les protéines)

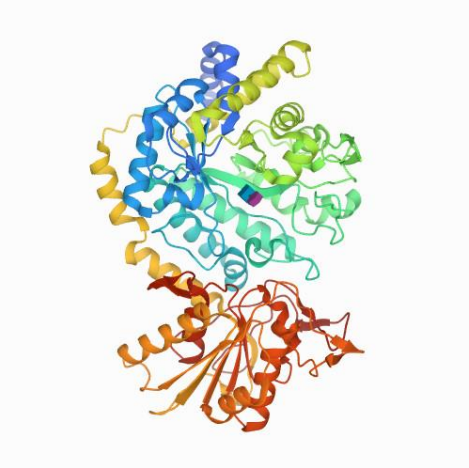
Dans notre travail, nous avons utilisé les protéines sous le format Pdb, elle est téléchargée à partir de la Protein Data Bank (PDB) en introduisant son code.

La protéine (2n6p) utilisée pour *Pseudomonas aeroginosa,* (6A7K) pour *Escherichia Coli* (4ANN) pour *Staphylococcus aureus, (5bun)* pour *Salemonelle typhimrium* et (4gyK) pour *Bacillus subtilis* (Tableau 2.3).

Tableau 2.3 Représentation de la structure pdb des protéines utilisés dans notre travail

Bactéries	**Pdb**	**Structure3D**
P. aeroginosa	2n6p	
E. coli	6A7K	

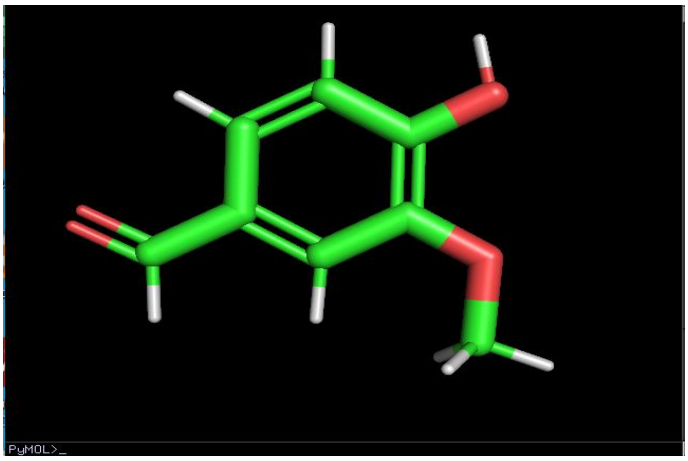
S. aureus	4ANN	
S. typhimurium	5bun	
	4KR8	

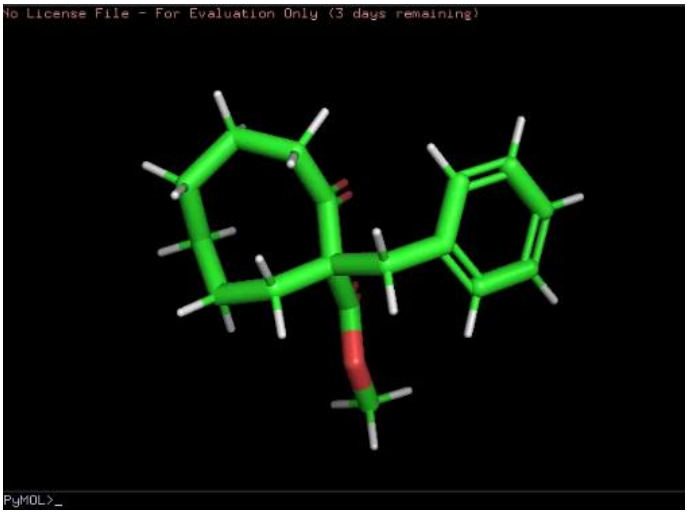
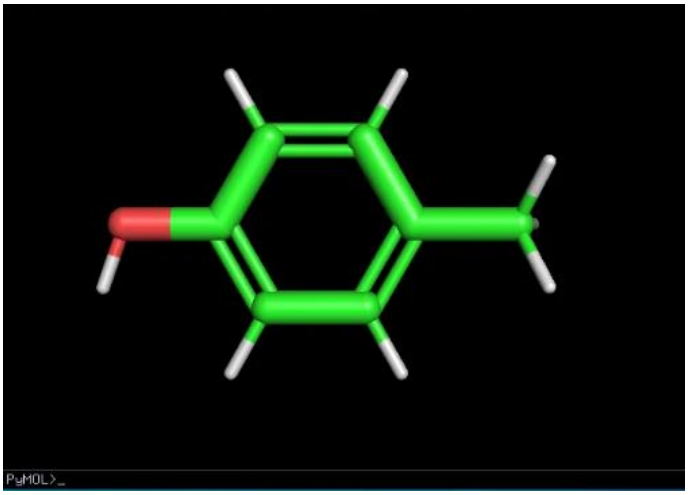
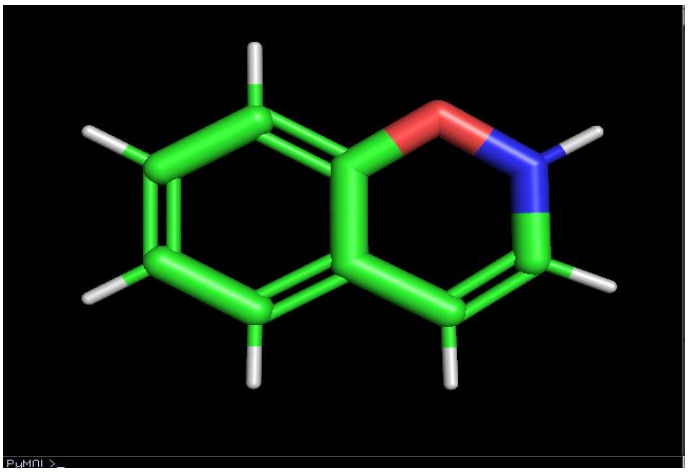
B. subtilis	4gyK	

2.4.1.4 Inhibiteurs utilisés

Nous avons utilisé différents inhibiteurs sous forme PDB pour chaque bactérie, ils sont indiqués dans le tableau suivant (Tableau.2.4):

Tableau.2.4 Structure des inhibiteurs utilisés contre les bactéries étudiées

Plante	**Inhibiteurs utilisés**	**Structure réalisée par Pymol**
Urginea maritima L.	Vanilline	

Smyrinium olusatrum L.	methyl-1-benzyl-2oxocylooctane	
Arum maculaum L.	P-cresol	
Acanthus mollis L.	Benzoxazine	

2.4.2 METHODES

Les structures 3D des protéines utilisées dans notre travail pour les 5 bactéries (*E.coli* , *P.aeroginosa* , *B.subtilis, S.typhimrium et S.aureus*) est téléchargée à partir de 'Protein Data Bank' et les ligands de PubChem. Après avoir extraire ou télécharger les fichiers en pdb,

l'outil AutoDock Tools (ADT) est lancé. Pour avoir les meilleurs résultats il faut inhiber les bactéries en obtenant les meilleures interactions et les meilleures positions des inhibiteurs dans les protéines pour trouver un site actif pour une protéine cible, afin d'avoir les conformations avec l'énergie de liaison libre, qui aide à décider quel ligand candidat interagit le mieux avec un récepteur protéine cible.

2.4.2.1 Préparation de la protéine

1. Ouvrir un nouveau dossier dans le bureau avec un sous titre (exemple : *Acanthus +Salmonella typhimurium*).

2. Télécharger la molécule (plante) sous forme 3D (SDF) avec le Pubchem et coller dans le dossier (*Acanthus + Salmonella typhimurium*).

3. Télécharger la protéine (bactérie) sous forme PDB avec le PDB Homepage et coller dans le dossier (*Acanthus + Salmonella typhimurium*).

4. Copier la protéine dans l'Autodock tools et retirer l'eau si elle est présente dans la molécule (Edit→Delete water→Edit→Charger→Add Kollman charge) et ajouter l'Hydrogène à la protéine (Edit→hydrogene→Add).

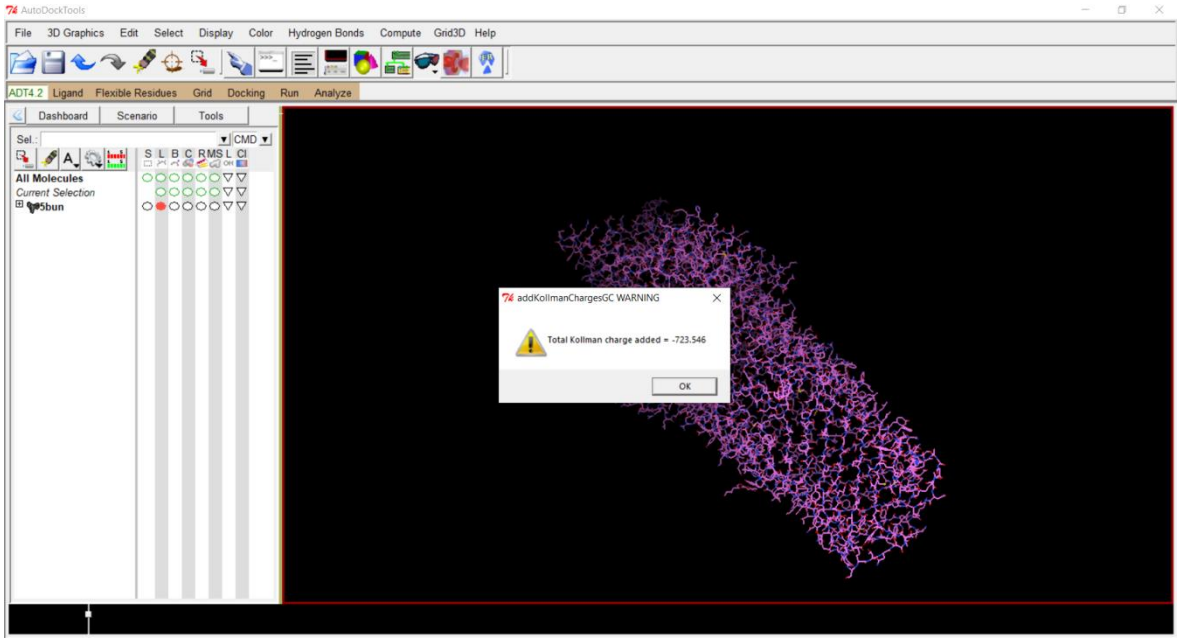


Fig. 2.4 Exemple d'ajout de kollman charge

5. Choisir ajouter Polar Only été n'utilisant la méthode No Bond Order**,** cliquez sur **yes** pour renuméroter, ensuit OK pour ajouter les hydrogènes polaires.

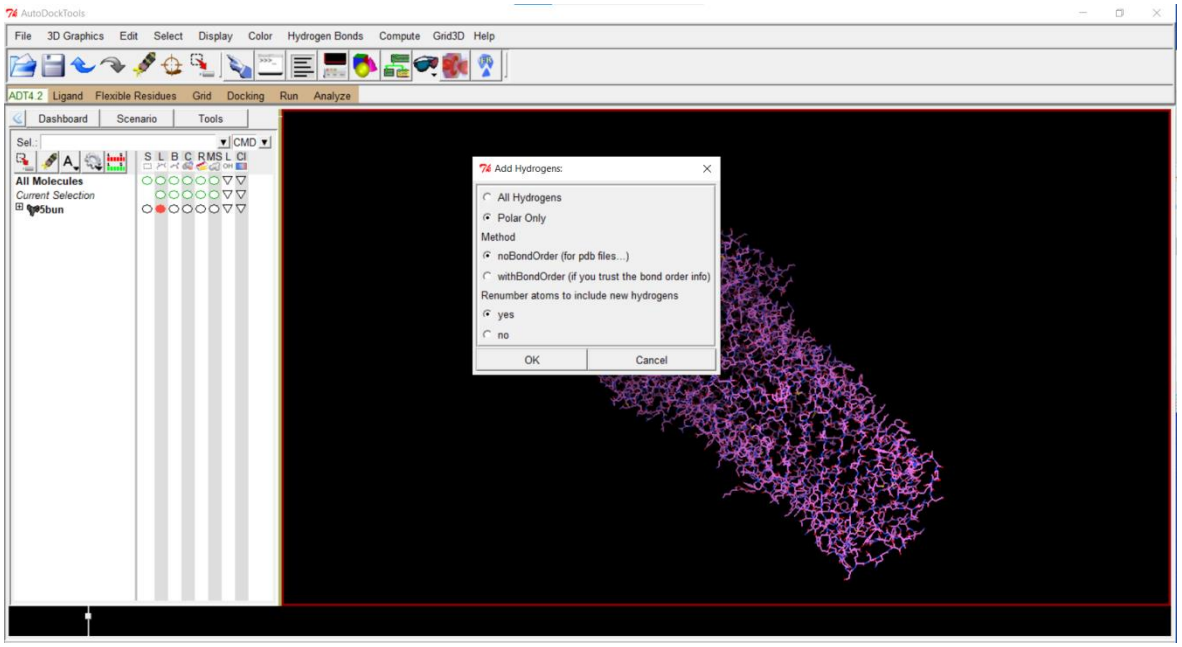


Fig.2.5 Exemple d'ajout Hydrogène pour la protéine

6. Certaines protéines contiennent plusieurs chaines, donc on doit choisir la meilleur chaine pour la fixation, et supprimer les chaines dont on n'a pas besoin par : Edit→ Delete→ Delete Selected Atoms→ Continue

7. Ensuite sauvegarder les changements effectués (Grid→Macromoleculs→Choose) et enregistrer sous titre (Protien.pdbqt) dans le dossier choisit.

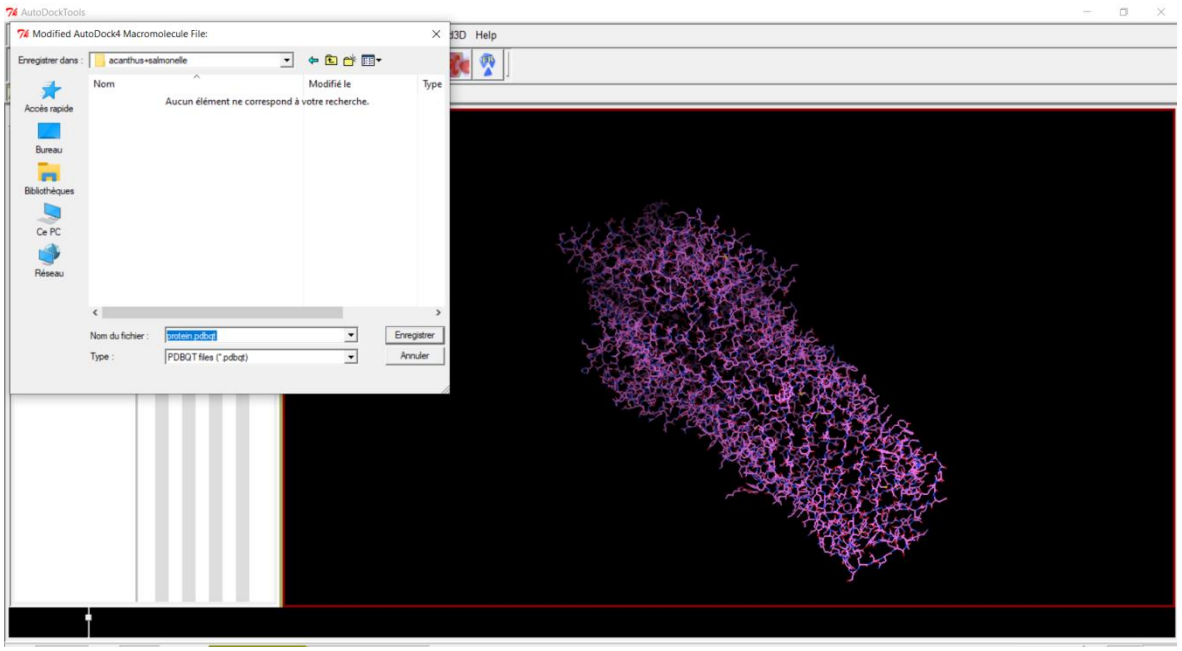


Fig.2.6 Capture d'écran représente l'enregistrement de la protéine

8. Copier la protéine dans Discovery studio pour éliminer le ligand(Cntr+H>click sur ligand>devenir>jaune>supprimer).

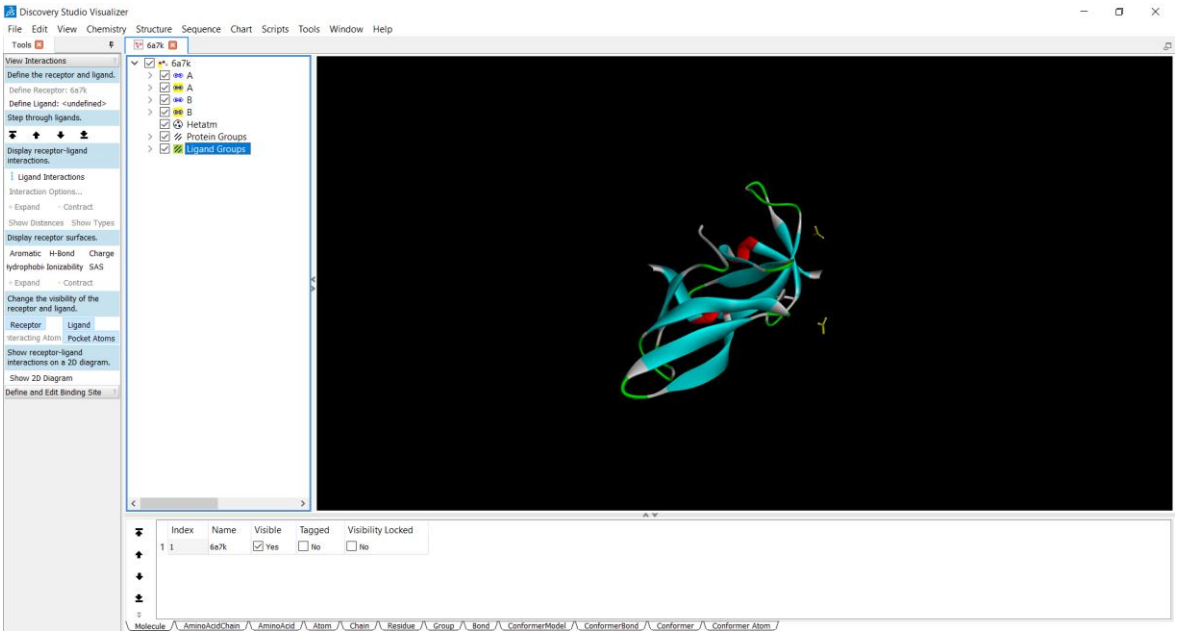


Fig.2.7 Capture d'écran représente l'élimination de ligand

2.4.2.2 Préparation du ligand

1. Pour obtenir la forme 3D on copie la molécule dans le Pymol (File →Export molecul →Sélection →conformer 3D) on choisit la forme PDB puis on enregistre sous titre ligand1.

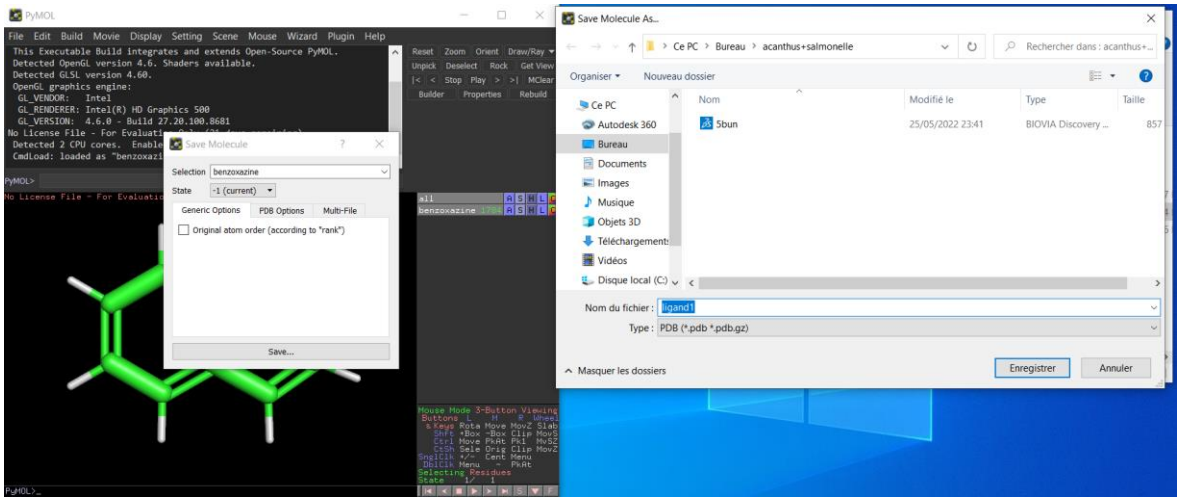


Fig.2.8 Capture d'écran représente l'enregistrement du ligand1

2. On copie le ligand 1 dans l'Autodock tools (ligand→Input→Choose→Select molecule"ligand1"→Ligand→Output) on enregistre (ligand.pdbqt) sous forme PDB dans le dossier (*Acanthus* +salmonelle).

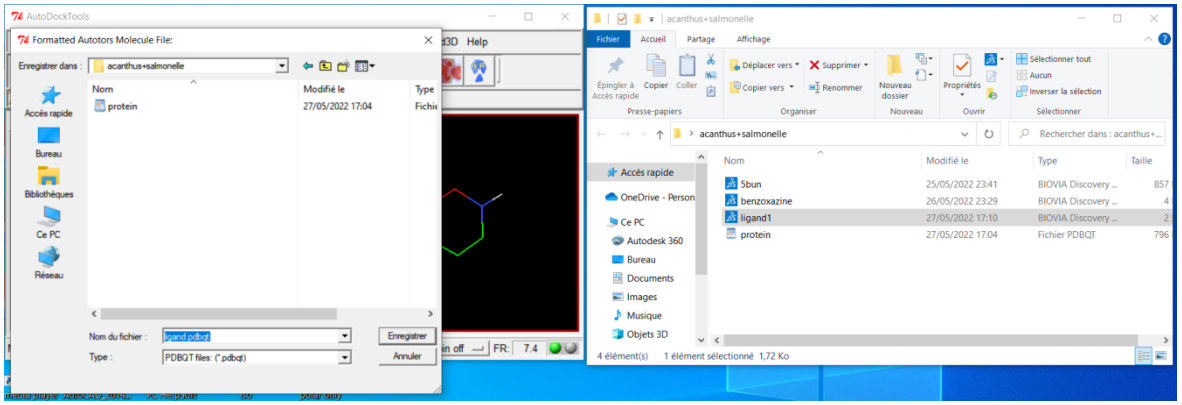


Fig.2.9 Capture d'écran représente l'enregistrement du ligand

2.4.2.3 Interaction protéine ligand

1. On copie la protéine (protein.pdbqt) et le ligand (ligand.pdbqt) dans l'Autodock tools (Grid→ Macromolecule →choose → Protein→No) après (Grid→Gridbox size 40→file) et on enregistre sous titre (Grid.txt).

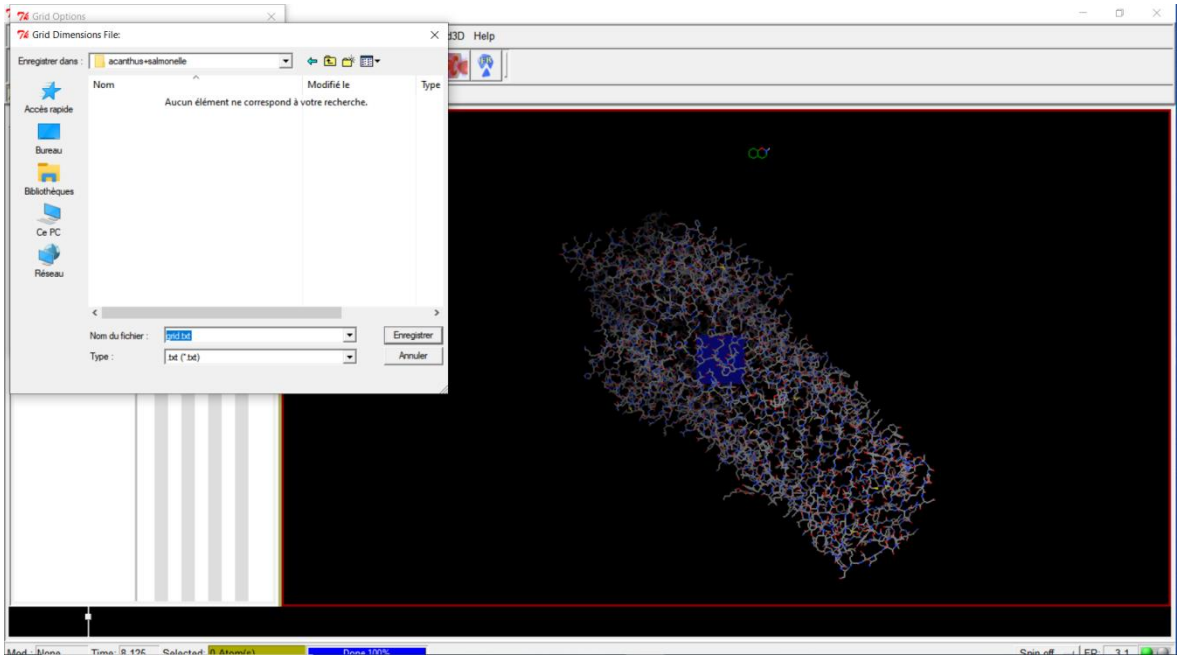


Fig.2.10 Capture d'écran représente l'enregistrement de Grid

2. Les 3 fichiers de l'autodock Vina qui se trouve dans le disque C (Program Files (x86) →The Scripps Research Institute →Vina) sont copiés dans le dossier (*Acanthus* +salmonelle).

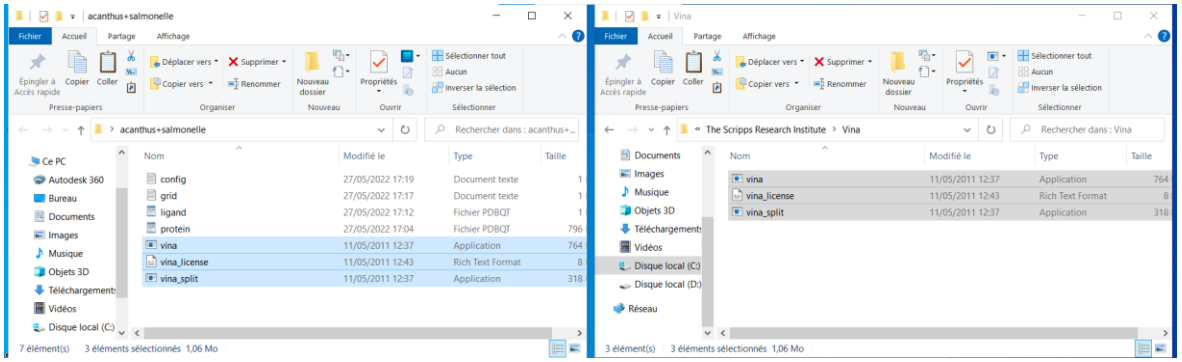


Fig.2.11 Capture d'écran représente le copiage de Vina

3. Ouvrir un nouveau document (Config) qui comporte les informations de l'interaction entre la protéine et le ligand

4. Ouvrir l'application invite de commande "CMD" (cd →copier le lien de dossier →Entre →copier tous les noms de l'interaction →Entre) pour obtenir les résultats suivants.

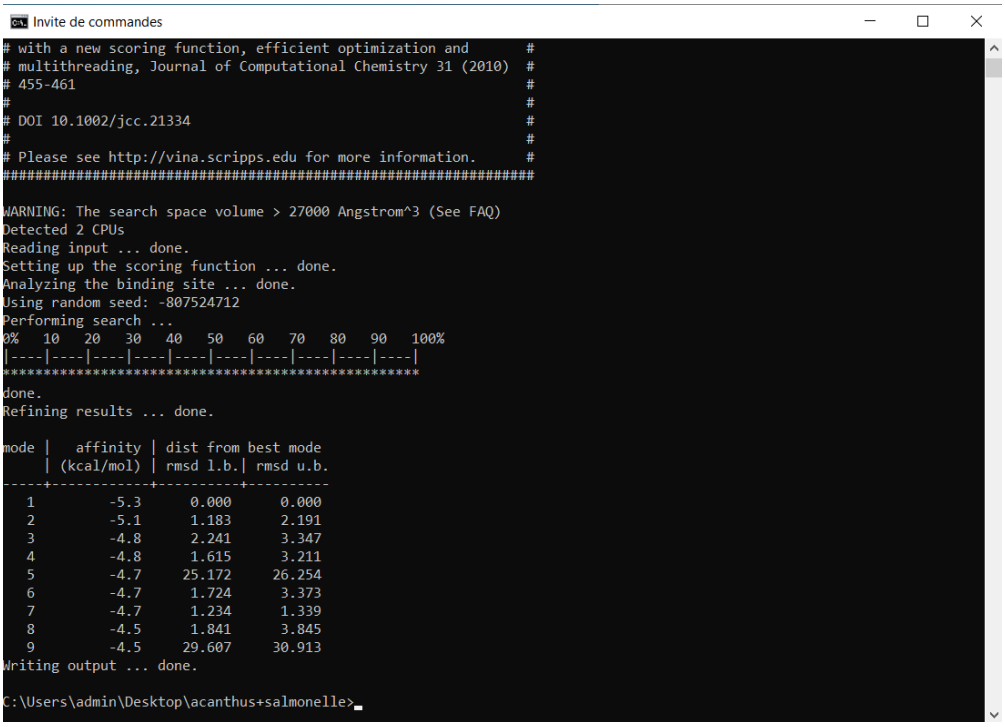


Fig.2.12 Capture d'écran représente les résultats obtenus par CMD

5. Après l'obtention des deux fichiers (output et log) on copie la protéine et l'output dans le Pymol (File →Export molecule →Al) on enregistre sous titre (Example : *Acanthus mollis* L. + *Salmonella typhimurium*).

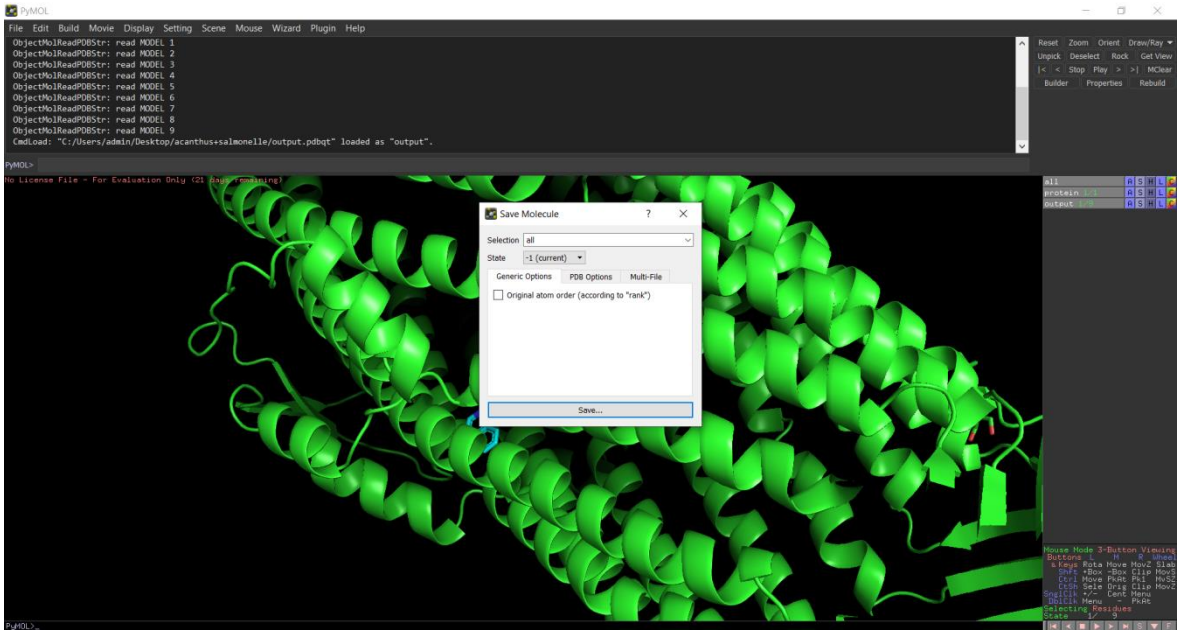


Fig. 2.13 Capture d'écran représente l'enregistrement de la protéine et l'output

6. Ce dernier doit être ouvert avec le logiciel discovry studio 2021 clients pour l'obtention des sites d'interaction ainsi que la forme 2D.

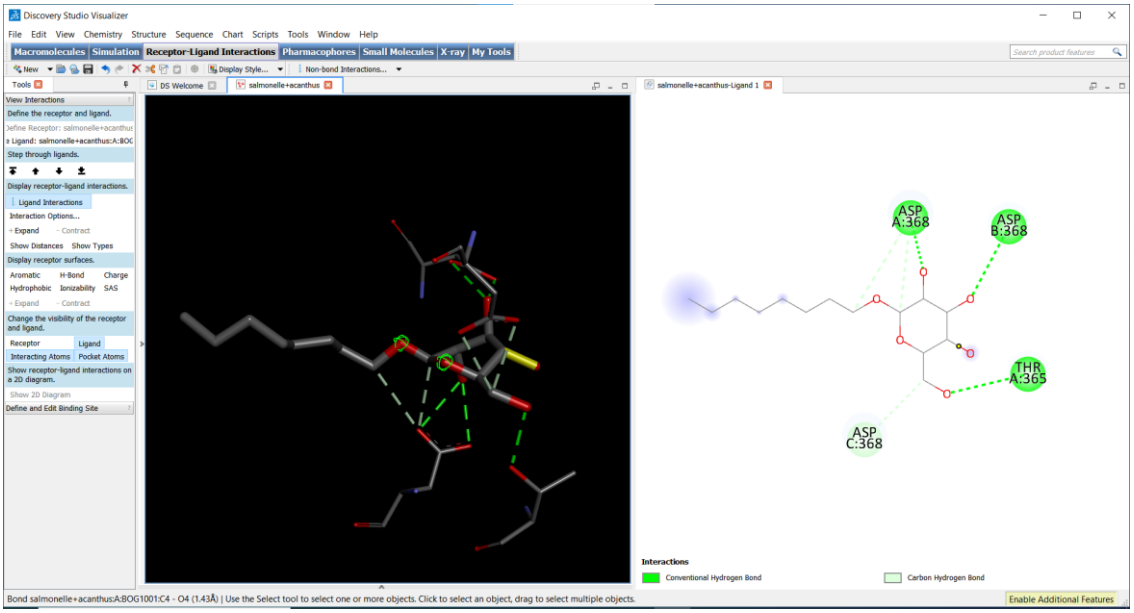


Fig. 2.14 Capture d'écran représente la forme 2D et 3D de l'interaction.

3.RESULTATS & DISCUSSION

3. RESULTATS & DISCUSSION

3.1 Caractéristiques des extraits obtenus

Les résultats de l'extraction des extraits des plantes étudiées, incluent les rendements des extraits obtenus, ainsi que leurs caractères organoleptiques.

3.1.1 Rendement de l'extraction

La détermination des rendements est réalisée à partir du poids des extraits obtenus, après évaporation à sec par rapport au poids initial (tableau3.1). Les rendements sont calculés par la moyenne des deux essais ± l'écart-type pour chaque extraction selon (l'équation 2.1).

Les résultats obtenus lors de cette étude révèlent que les extraits aqueux présentent le rendement le plus élevé de 22,8% pour l'*Arum maculatum* L., suivi par 17,2 % pour *Smyrnium olusatrum* L., puis l'extrait d'*Urginea maritima*L. Avec 15,44% et finalement l'extrait de l'*Acanthus mollis* L. avec 4,12%.

Les extraits méthanolique de *Smyrnium olusatrum* L. et aqueux de l'*Acanthus mollis* L. ont les rendements les plus faibles avec 3,48% et 4,12%, respectivement.

Tableau.3.1 Résultats de rendement d'extraction des plantes étudiées

Extrait	Rendement (%)
E1 Aq	15,44
E2 Aq	17,2
E3 Aq	22,8
P4 Aq	4,12
E1 MeOH	7,1
E2 MeOH	3,49
E3 MeOH	9,68
E4 MeOH	6,02

Plusieurs paramètres peuvent influencés les rendements d'extraction à partir d'une matière végétale. Cette variation peut dépendre, d'une part, de l'influence de la technique et du solvant d'extraction et d'autre part, de celle du cycle végétatif, ainsi que la période de récolte et la localisation géographique. Le temps de séchage de la plante influe également sur le rendement des extraits.

3.1.2 Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques d'un extrait sont des données nécessaires pour l'appréciation de la qualité de ce dernier. En effet, il est généralement admis que ces caractéristiques peuvent être corrélées avec la composition chimique. Ces caractères sont résumés dans le (tableau 3.2).

Tableau 3.2 Caractéristiques organoleptiques des extrais des espèces étudiées

	aspect	Couleur	Odeur
E1 Aq	Solide	Marron	Faible
E2 Aq	Solide	Noisette	Faible
E3 Aq	Solide	Marron foncée	Faible
E4 Aq	solide	Marron café	Agréable
E1 MeOH	Solide	Marron foncée	Faible
E2 MeOH	Solide	Vert d'âtre	Agréable
E3 MeOH	Pâteux	Vert d'âtre	Agréable
E4 MeOH	Pâteux	Vert Empire	Fort

3.2 ETUDE PHYTOCHIMIQUE

3.2.1 ANALYSE QUANTITATIVE

3.2.1.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait a été calculée, à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (annexe 5, figure 3.1).

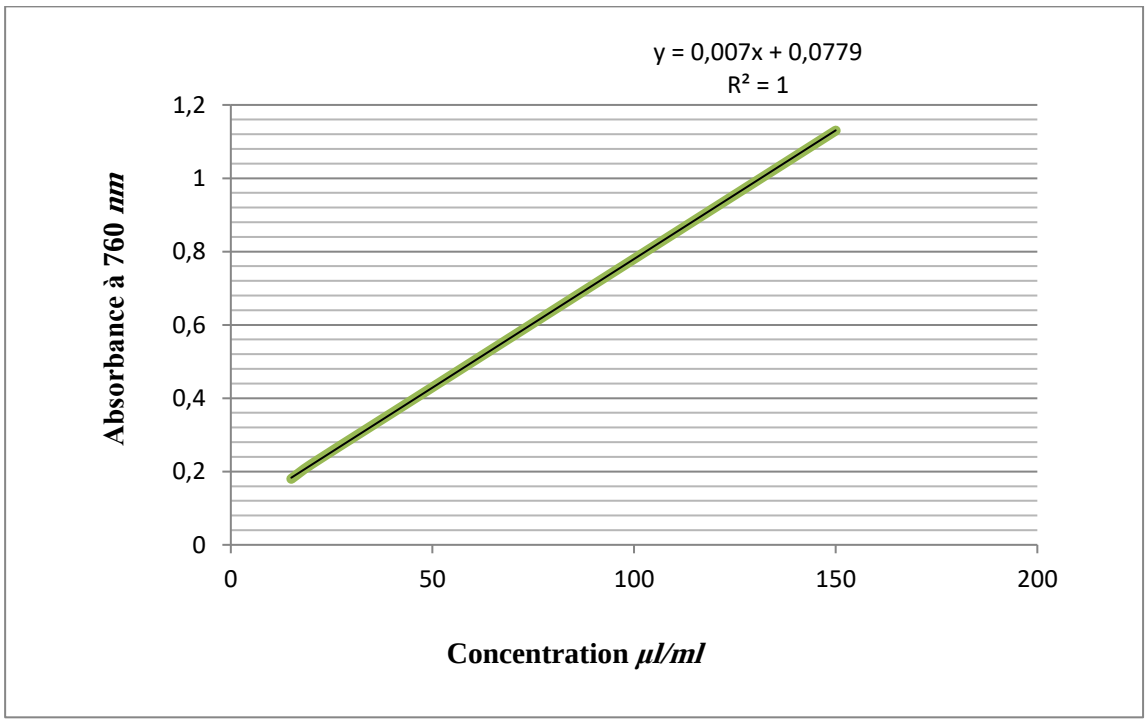


Fig.3.1 Courbe d'étalonnage d'acide gallique

D'après les résultats obtenus, la teneur en polyphénols totaux des extraits dosés varie entre (14,14µg EAG/mg) et (38,1414µg EAG/mg). L'extrait méthanolique de *Smyrnium olusatrum* L. représente la teneur la plus élevée en polyphénols (38,14µg EAG/mg), suivie par l'extrait méthanolique de l'*Arum maculatum* L. (27,57 µg EAG/mg) d'extrait, puis l'extrait aqueux d'*Urginea maritima* L. et méthanolique de l'*Acanthus mollis* L. (24 et 26 µg EAG/mg respectivement). L'extrait aqueux de *Smyrnium olusatrum* L. représente la teneur la plus faible en polyphénols (14,14 µg EAG/mg) qui sont illustrées dans la (Fig.3.2).

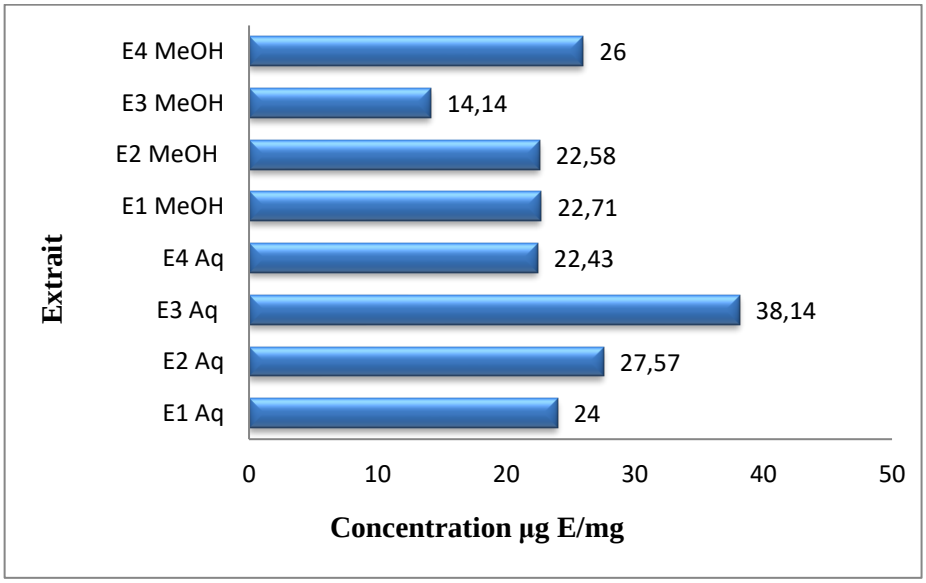


Fig.3.2 Teneurs en polyphénols des différents extraits

Des travaux de recherchés réalisés par *Zhang .L (2022)* et ses collaborateurs ont montré que les extraits méthanolique et aqueux d'*Urginea maritima* L. ont une teneur en polyphénols totaux de l'ordre de (19,99 et 31,56 µg EAG/mg) respectivement.

Les teneurs en polyphénols totaux de l'*Arum maculatum* L. sont significativement inférieurs à ceux rapportés par *Doğan.G (2019)* et *Farahmandfar.R (2018)* avec (32,919et 39,85 µg EAG/mg) respectivement.

Pour les extraits de l'*Acanthus mollis* L., la teneur en polyphénols totaux est la moitié des valeurs trouvés par *Jara.C (2017)* et ses collaborateurs (50,27 µg EAG/mg).

3.2.1.2 Dosage des flavonoïdes

La détermination des teneurs en flavonoïdes a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec des solutions étalons de la quercétine (figure3.3, annexe 5).

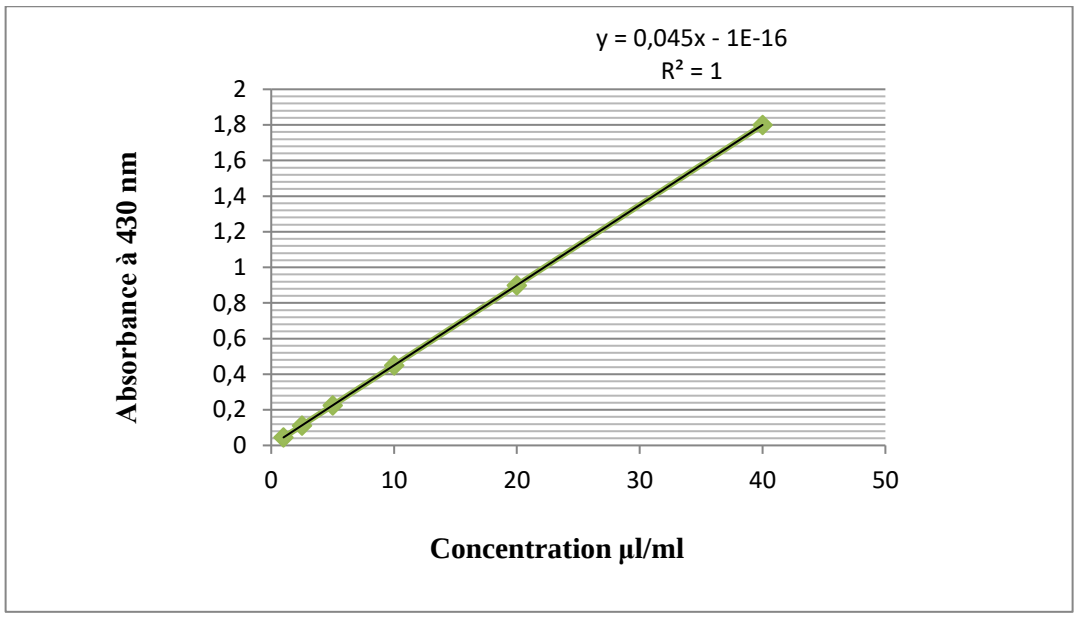


Fig.3.3 Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes

D'après la figure 3.4, les teneurs en flavonoïdes obtenues pour les huit extraits des plantes étudiées, varient entre 5,22et 17µg EQ/mg. D'après la même figure, l'extrait méthanolique d'*Urginea maritima* L. représente la teneur la plus élevée (17µg EQ/mg), suivi par l'extrait aqueux d'*Arum maculatum*L. (13,46 µg EQ/mg), puis par les extraits aqueux et méthanoliques de *Smyrnium olusatrum* L. , *Acanthus mollis* L. , *Smyrnium* olusatrum L. et *Arum maculatum* L. L'extrait aqueux d'*Urginea maritima* L. et extrait méthanolique d'*Acanthus mollis* L. ont les plus faibles teneurs en flavonoïdes (5,46 et 5,22 µg EQ/mg respectivement).

D'après ces travaux, nous avons noté la richesse des plantes médicinales *Urginea maritima* L., *Smyrnium olusatrum* L., *Arum maculatum* L. *et Acanthus mollis* L. en métabolites secondaires essentiellement les polyphénols et les flavonoïdes.

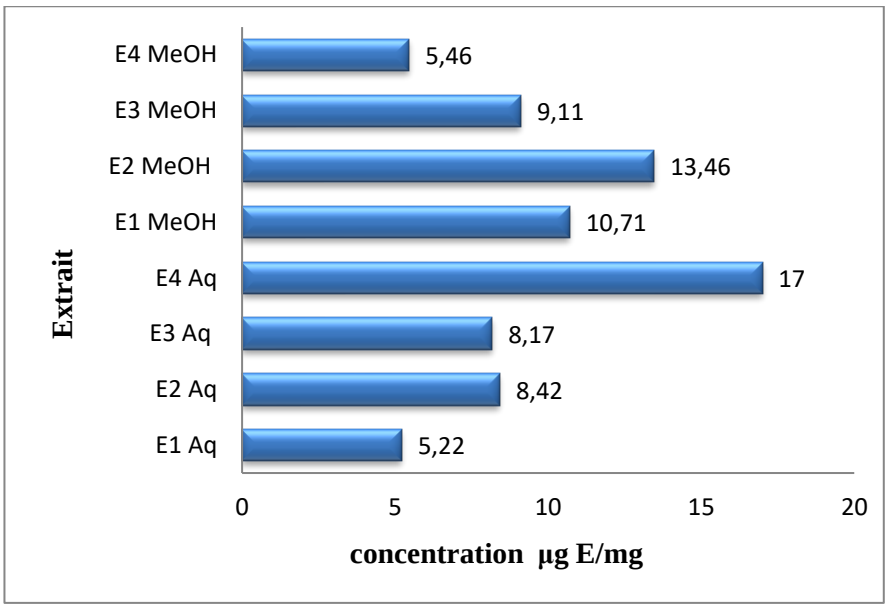


Fig.3.4 Teneurs en Flavonoïdes des différents extraits

D'après nos résultats, la partie aérienne de l'*Urginea maritima* L. présente une teneur faible en flavonoïde par comparaison avec celle trouvée par Zhang. L et al (2022) (10,15 µg EQ/mg et 34,67 µg EQ/mg).

Jara.C et ses collaborateurs *(2017)* ont montré que les extraits aqueusx et méthanoliques d'*Acanthus mollis* L. ont une teneur en flavonoïde égale à 1,16 µg EQ/mg. Par contre des teneurs de l'ordre de et 52,04µg EQ/mg ont été trouvé par *Farahmandfar.R (2018)* et *Doğan.G (2018)* respectivement.

Selon *Sánchez-Rodríguez.E et al (2011)*, *Ksouri.R et al (2007)* et *Korus.J* avec ses collaborateurs *(2006)*, ces différences des teneurs en flavonoïde observées pour les mêmes espèces pourraient être expliquées par les différences climatiques, en effet, certaines études ont montré l'impact des paramètres de l'environnement sur le taux et la biosynthèse de composés phénoliques par les plantes comme l'intensité de la lumière, la température, la salinité et les caractéristiques du sol.

En effet, l'augmentation de la température et l'ensoleillement pourrait causer une accumulation de composés phénoliques dans la plante pour la protéger des rayons UV. En effet, il est bien connu que les flavonoïdes et les acides phénoliques ont un rôle important dans les mécanismes de défense des plantes, *Dixon R.A(1995)* et *Dixon R.A* avec ses collaborateurs *(2001)*. Ce qui pourrait expliquer les fortes teneurs en composés phénoliques des plantes.

3.3 ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS

L'étude des activités biologiques des substances bioactives de ces plantes médicinales s'est réalisée essentiellement par les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits.

3.3.1 Evaluation de l'activité antioxydante

Dans la présente étude, l'activité antioxydante des huit extraits aqueux et méthanoliques des plantes choisies a été évaluée par le test DPPH. Les résultats obtenus sont présentés dans la (Fig.3.5).

D'après ces résultats, nous remarquons que les différents extraits des quatre plantes ont montré une bonne activité antioxydante allant de 65,57 à 76,85% d'inhibition.

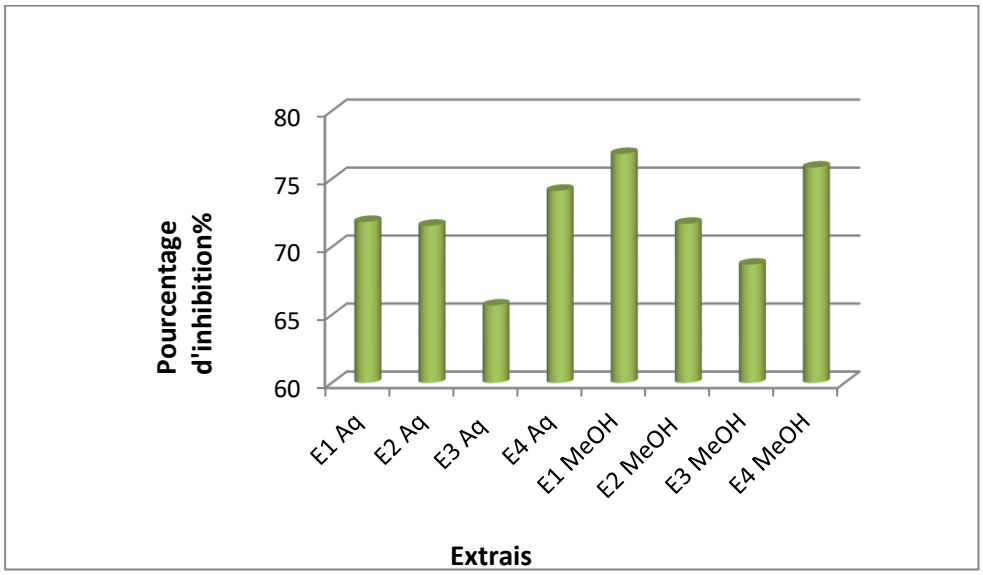


Fig.3.5 Pourcentage d'inhibition DPPH des différents extraits

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par *Zhang.L* et ses collaborateurs *(2022)* qui ont montré que les extraits d'*Urginea maritima* L. ont présenté un pouvoir antioxydant moyen à l'encontre du radical (19,44% à 36,99%).

Farahmandfar.R (2018), Ebril.N et al (2018) ont trouvé que le pouvoir réducteur des extraits de l'*Arum maculatum* L. varie entre (32,41% et 39,5%) ce qui confirme nos résultats.

Nos résultats ne sont pas accord avec les résultats de qui ont évalué l'activité antioxydant des deux extraits.

Pour les extraits aqueux et méthanoliques des parties aériennes d'*Acanthus mollis* L. *Jara.C et al (2017)* ont signalé une activité antiradicalaire basse (1,86%) ce qui est en désaccord avec nos résultats.

Van Acker.S et ses collaboraturs *(1996)*, ces résultats nous permettent de conclure que l'activité antioxydante observée pourrait être attribuée à la composition chimique des extrais, riches en phénols connus par leurs capacités antioxydantes élevées. Certains composés phénoliques tels que les dérivés de l'acide benzoïque (acides gallique, protocatéchique,...) sont capables de réduire les radicaux libres oxydants comme l'anion superoxyde, le peroxyle, l'alkoxyle et l'hydroxyle après libération d'hydrogène, ou par la chélation d'ions métalliques initiateurs de la peroxydation lipidique c'est selon *Jia.Z.S* et al *(1998) et Zhou.B* et al *(2005)*. Les pouvoirs antioxydants d'un composé phénolique sont en fonction du nombre de noyau aromatique et de leurs substitutions *Hagerman.A.E* et ses collaborateurs *(1998)*.

3.3.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'étude bactériologique nous a permis de noter des zones d'inhibition contre 5 souches (*Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Staphyloccocus aureus, Bacillus subtilis*, *Pseudomonase aeruginosa*) avec des diamètres d'inhibition entre 10 et 16 *mm* (tableau 3.4).
D'après les résultats trouvés, l'extrait au méthanol présente une activité antimicrobienne importante contre ces souches bactériennes, suivie par l'extrait aqueux, mais ils ne manifestent pas d'activités fongicides contre les souches *Candida albicans et Saccharomyces cerevisiae* et la souche bactérienne *Staphyloccocus épidermidis*.
Ces mêmes résultats montrent que le diamètre d'inhibition des deux extraits de l*'Urginea maritima* L. varie entre 12*mm* et 16*mm* contre les souches : *Salmonella typhimurium* , *Escherichia coli* , *Bacillus subtilis* et *Pseudomonase aeruginosa* pour des concentrations variant entre 5 et 10 *mg/ml*.
Les extraits des deux espèces l'*Arum maculatum* L. et*Smyrnium olusatrum* L. ont montré une activité moyenne et similaire avec un diamètre d'inhibition variant entre 11*mm* et 14 *mm*.
L'extrait méthanolique d'*Acanthus mollis* L.a montré une activité moyenne (de 11*mm* à 14*mm*) pour les deux concentrations 5 et 10*mg*à l'encontre de quatre souches bactériennes *(Salmonella typhimurium, Staphyloccocus aureus, Bacillus subtilis et Pseudomonas eaeruginosa*), par contre l'extrait aqueux d'*Acanthus mollis* L. reste inactif vis-à-vis aux souches testées.

Le diamètre de la zone d'inhibition dépend principalement de nombreux facteurs, par exemple: la capacité de diffusion des substances (présentent dans les extraits) dans le milieu gélose, pouvoir antimicrobien des substances diffusés, la croissance et activité métabolique des microorganismes dans le milieu, en plus en fonction de la date de récolte il aura des variations très importante dans la composition chimique et de l'activité.

Tableau.3.3 Résultats des zones d'inhibition des extraits

	Antibiotique	E1 Aq	E2 Aq	E3 Aq	E4 Aq	E1 MeOH	E2 MeOH	E3 MeOH	E4 MeOH
Salmonella typhimurium	CTX 36	16 ++	00 -	00 -	00 -	15 ++	11 +	11 +	12 +
Escherichia coli	HLG 28 S	13 +	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	11 +
Staphyloccocus aureus	TEC 29 S	00 -	15 ++	00 -	00 -	00 -	00 -	11 +	11 +
Staphyloccocusépidermidis	RIF 42 S	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -
Bacillus subtilis	RP 40 S	13 +	00	14 +	00	14 +	14 +	10 +	14 +
Pseudomonaseaeruginosa	CEP 22 S	12 +	13 +	13 +	00	12 +	00 -	22 ++	12 +
Candida albicans	__	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -
Saccharomyces cerevisiae	__	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -	00 -

(S) : sensible ; (-) : Résistante ; (+) : sensible ; (++) : très sensible

Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par plusieurs études qui ont démontré que les extraits méthanoliques et aqueux des quatre plantes ont des pouvoirs antimicrobiens.

D'après *Belhaddad.O et al (2017)*, *Salmonella typhimurium* est inhibé par l'extrait méthanolique d'*Urginea maritima* L. avec une zone d'inhibition de 9*mm*de diamètre.
Selon *Minarec.E* et ses collaborateurs *(2012)*, la plante *Smyrnium olusatrum* L. possède une activité antimicrobienneavec des zones d'inhibition allant de 13 à 25 *mm*, qui est proche de nos résultats trouvé avec les souches *Staphyloccocus aureus* et *E. coli.*

D'autres travaux de recherche avec *Pseudomonase aeruginosa (Daroui-Mokaddem.H (2012)* ont montré une activité antibactérienne de 20 *mm* de diamètre qui est meilleure que celle trouvée dans notre étude (13 *mm*de diamètre).

Ebril.N et al(2018) sont étudiés l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique d'*Arum maculatum* L.sur les souches *Staphyloccocus aureus* et *Pseudomonase aeruginosa.* les zones d'inhibition sont 22,67 et 27,67 *mm* respectivement qui concordant avec nos résultats.

Pour la souche *Salmonella typhimurium* une bonne activité antibactérienne a été notée dans notre étude par contre aucun effet inhibiteur n'a été signalé dans la recherche de *ÇOLAK.F et al (2009)*.

Selon *Comlekcioglu.N et al (2021)*, l'extrait aqueux d'*Arum maculatum* L. a exercé des pouvoirs inhibiteurs sur *Staphyloccocus aureus* (20 *mm)* alors que *Bacillus subtilis* s'est avérée résistante, ces résultats s'opposent à nos résultats.

Le mode d'action des extraits dépend du type de microorganismes, du type d'extrait et de sa concentration. En général, les bactéries Gram(-) sont plus résistantes que les bactéries Gram(+). Ce constat peut être dû à l'action de certains composés d'une part et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries G- qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrante, d'autre part.

L'activité des principes actifs et des extraits végétaux peut dépendre de leur composition chimique. Elle peut être liée à la polarité des substances bioactives, aux conditions de séchage, de broyage de la plante et dépend également de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principes actifs .Par conséquent, il est suggéré que les extraits phénoliques soient utilisés comme source potentielle d'agents antimicrobiens naturels contre les souches multi-résistantes (*Fatteh.A., 2019).*

Ces différents effets inhibiteurs observés pourraient être expliqués par la différence en compositions chimiques entre les divers extraits, selon *Manach.C* et ses collaborateurs *(2005)*, notamment en polyphénols et en flavonoïdes, connus par leur pouvoir antibactérien puissant *Manach.C* et ses collaborateurs *(2005) et Chang.S.T* et ses collaborateurs *(2001)*,

D'apres *Ávila.H.Pet al (2008)*, Les polyphénols entraînent des lésions irréversibles sur les membranes, le site et le nombre de groupe hydroxyle de ces polyphénols et qui sont supposés être liés à leur toxicité relative aux micro-organismes.

Le diamètre de la zone d'inhibition dépend principalement de nombreux facteurs, par exemple: la capacité de diffusion des substances (présentent dans les extraits) dans le milieu gélose, pouvoir antimicrobien des substances diffusés, la croissance et activité métabolique des microorganismes dans le milieu, en plus en fonction de la date de récolte il aura des variations très importante dans la composition chimique et de l'activité.

3.4 IN SILICO

Les résultats des interactions entre les molécules des plantes et les protéines bactériennes sont présentés dans le tableau ci-dessous, qui montre tous les sites d'interactions possibles par le logiciel Discovery studio visualizer.

3.4.1 Interaction

Interaction 6a7k et vanilline

L'énergie minimale de fixation est: -4.2*Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés LYS16A.

Interaction 4gyk et vanilline

L'énergie minimale de fixation est: -5.4 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant ARG131A .ASN318A. HIS222A. ARG191A. LYS221A. ASP123A.

Interaction 2n6p et vanilline

L'énergie minimale de fixation est:-4.9 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant ARG10A .GLY46A. MET200A. GLN44A. GLY12A.

Interaction 5bun et vanilline

L'énergie minimale de fixation est: -4.8 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant ASP368A. ASP368B. ASP368C. ARG 364C.

Interaction 4gyket methyl-1-benzyl-2oxocylooctane

L'énergie minimale de fixation est: -7.0 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant ARG131A .ARG191A. HIS222A. LYS221A. ASP123A.

Interaction 2n6p et methyl-1-benzyl-2oxocylooctane

L'énergie minimale de fixation est:-5.8 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant LEU150AA. VAL166A. TYR168A. PRO196A. TRP197A.

Interaction 5bun et methyl-1-benzyl-2oxocylooctane

L'énergie minimale de fixation est: -5.5Kcal/mol, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés ASP368A. ASP368B. ASP368C. ARG364C

Interaction 4annet methyl-1-benzyl-2oxocylooctane

L'énergie minimale de fixation est: -6.5 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant ASP368A. ASP368B. ASP368C. ARG364A.

Interaction 4gyket p-Cresol

L'énergie minimale de fixation est: -4.8 Kcal/mol, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant ARG131A .ASN318A. HIS222A. ARG191A. LYS221A. ASP123A.

Interaction 2n6p et p-Cresol

L'énergie minimale de fixation est: -4.3 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminéssuivant MET52A.

Interaction 4KR8 et p-Cresol

L'énergie minimale de fixation est: -5.3 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés LYS16C. ARG60C. ARG77C. TYR97C. ARG130C. ASP108C. SER114C. TYR112C. GLU116C.

Interaction 4annet p-Cresol

L'énergie minimale de fixation est: -6.2 *Kcal/mol*, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant PHE114A. LEU116A. VAL145A. PHE150A.

Interaction 6a7k etbenzoxazine

L'énergie minimale de fixation est: -4.9 Kcal/mol, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant LYS16A.

Interaction 4gyketbenzoxazine

L'énergie minimale de fixation est: -5.4 Kcal/mol, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant ARG131A. HIS222A. ASN318A. ARG191A. LYS221A. ASP123A.

Interaction 5bun etbenzoxazine

L'énergie minimale de fixation est: -5.3 Kcal/mol, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant ASP368A. ASP368B. ASP368C.THR365A.

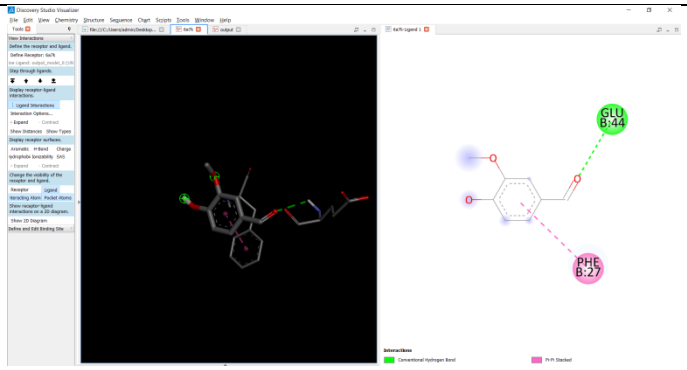
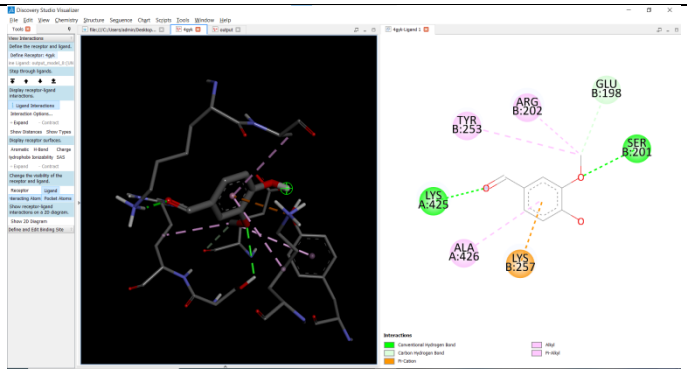
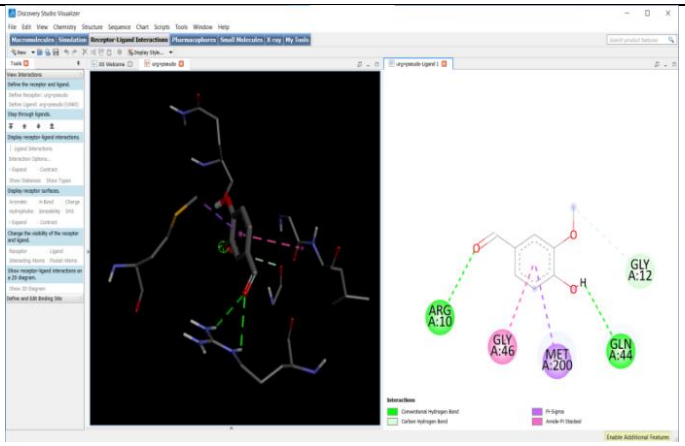
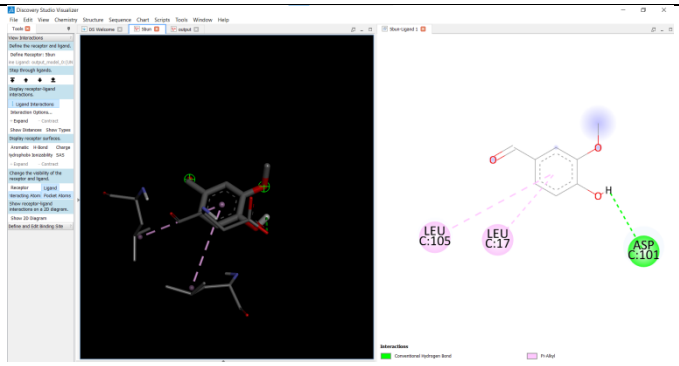
Interaction 4ann etbenzoxazine

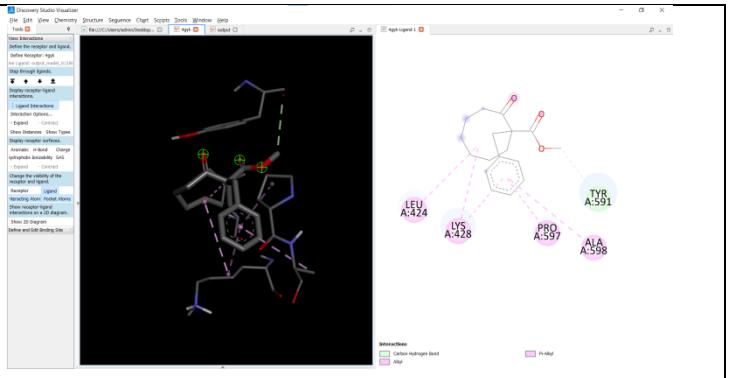
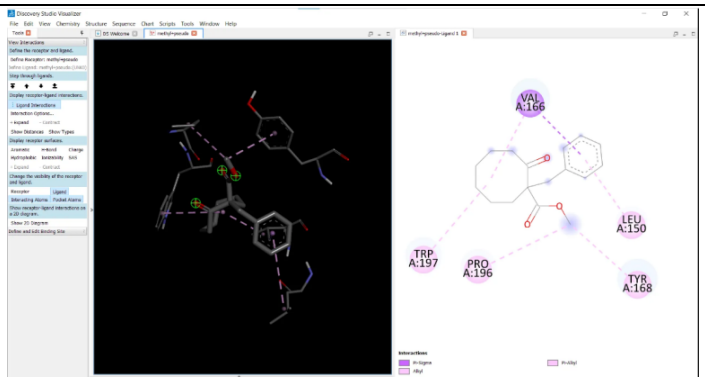
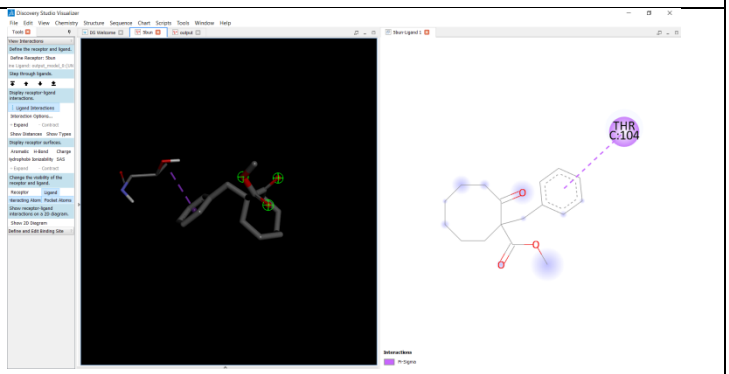
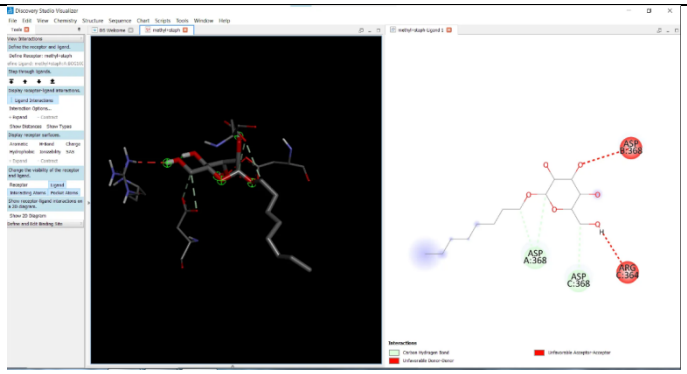
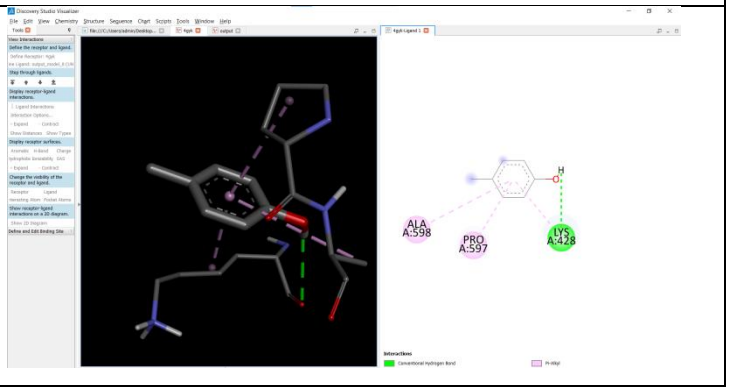
L'énergie minimale de fixation est: -7.0 Kcal/mol, le ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant VAL145A. PHE114A. GLU105A.

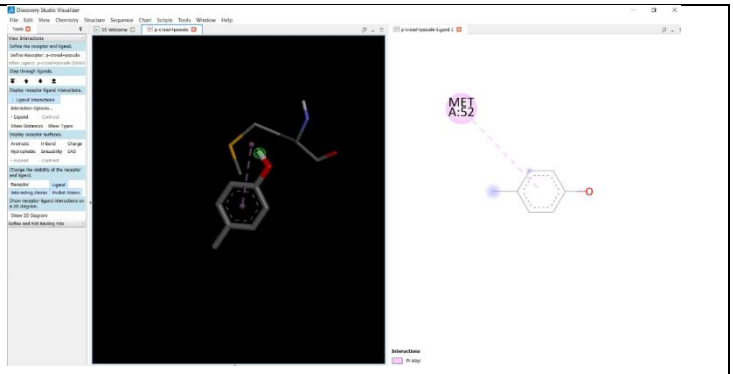
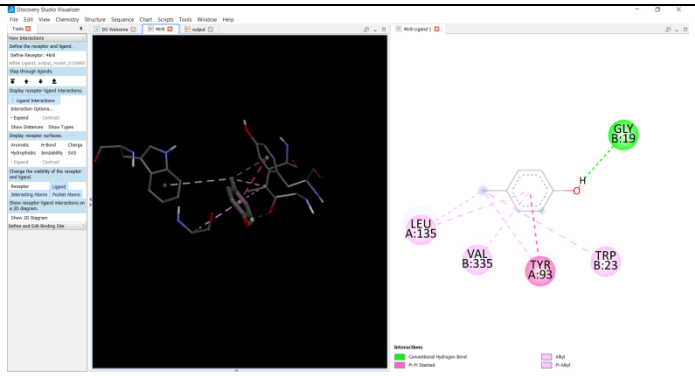
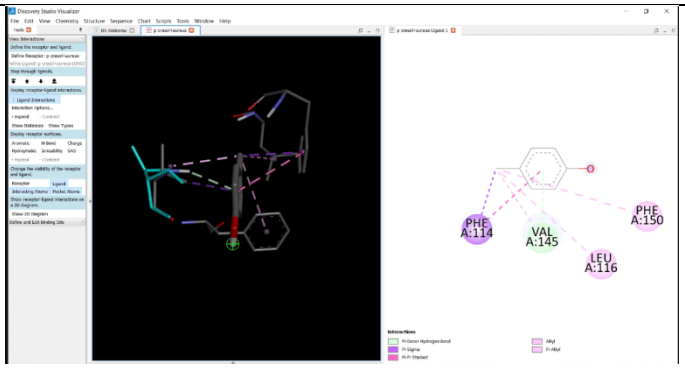
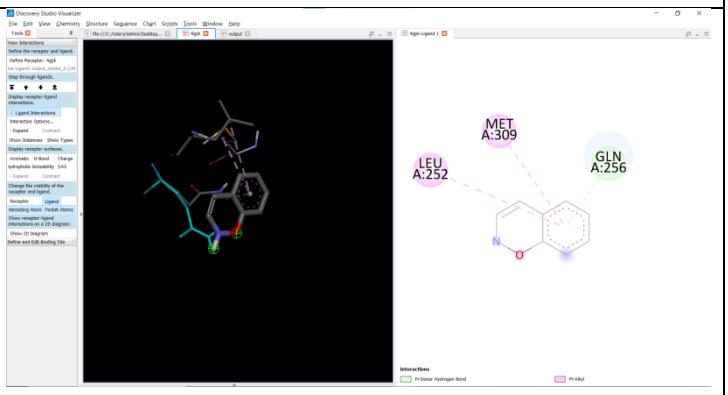
Interaction 2n6p et 2.4-dihydrory1.4benzoxazin3-one(DIBOA)

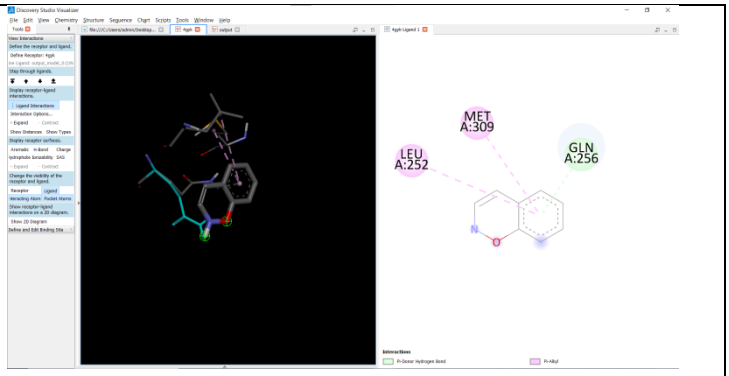
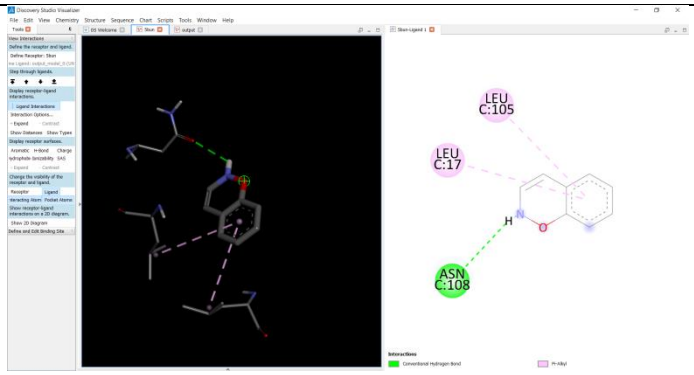
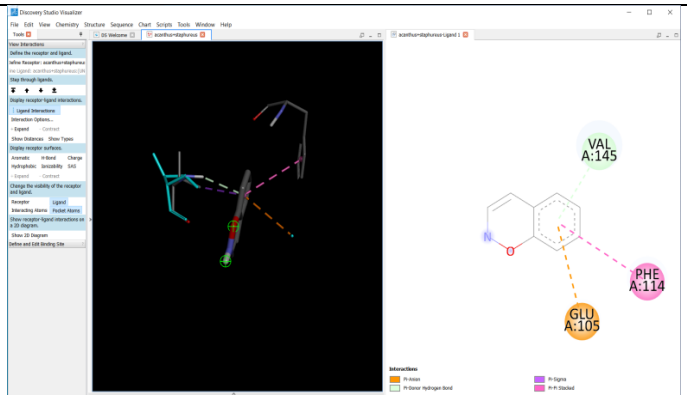
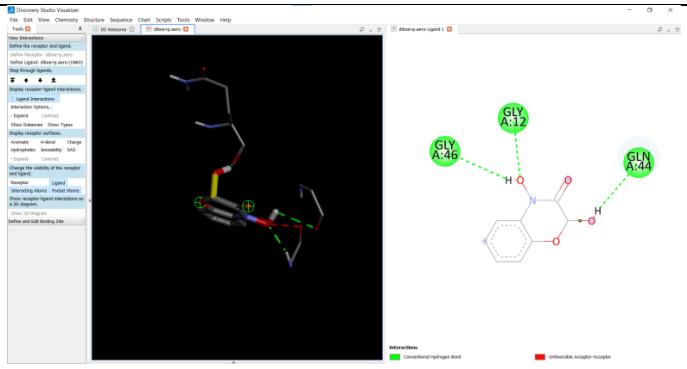
L'énergie minimale de fixation est: -6.0 Kcal/mol, la ligand est fixe par des liaison hydrogène avec les acides aminesle ligand est fixé par des liaisons hydrogène avec les acides aminés suivant GLY12A. GLY46A. GLN44A.

Tableau.3.4 Interactions entre les molécules et les protéines

Plante	Bactérie	Interaction
Urgineamaritima L. (Vanilline)	*E.coli*	
Urgineamaritima L. (Vanilline)	*B.subtilis*	
Urginea maritima L. (Vanilline)	*p. aeruginosa*	
Urginea maritima L. (Vanilline)	*S.typhimurium*	

Smyrinium olusatrum L. (methyl-1-benzyl-2oxocylooctane)	*B.subtilis*	
Smyrinium olusatrum L. (methyl-1-benzyl-2oxocylooctane)	*P.aeruginosa*	
Smyrinium olusatrum L. (methyl-1-benzyl-2oxocylooctane)	*S.typhimurium*	
Smyrinium olusatrum L. (methyl-1-benzyl-2oxocylooctane)	*S.aureus*	
Arum maculatum L. (p-Cresol)	*B.subtilis*	

*Arum maculatum*L. (p-Cresol)	*P. aeruginosa*	
Arum maculatum L. (p-Cresol)	*S.typhimurium*	
*Arum maculatum*L. (p-Cresol)	*S.aureus*	
Acanthus mollis L. (benzoxazine)	*E.coli*	

Acanthus mollis L. (benzoxazine)	*B.subtilis*	
Acanthus mollis L. (benzoxazine)	*S.typhimurium*	
Acanthus mollis L. (benzoxazine)	*S.aureus*	
Acanthus mollis L. (2.4-dihydroxy 1.4-benzoxazin3-one)	*P.aeruginosa*	

La fixation des molécules d'extrait de la plante sur la membrane bactérienneprovoque des modificationdans le systèmebactérien.

Selon*Fitzgerald.D.J et al(2004)*,la**vanilline** provoque une perturbation membranaire et entraînant la dissipation des gradients ioniques et l'inhibition de la respiration.

Ainsi *Rosales hurtado.M (2019)*, l'inhibiteur**benzoxazine** se fixe sur la membrane bactérienne qui provoque l'inhibition de transfert du phosphate dans le système bactérien (autophosphorylation de KinA et transphosphorylation de Spo0F).

Les études de *Daroui-mokaddem.H(2012)*,montrent que **methyl-1-benzyl-2oxocylooctane** c'est un inhibiteur monoterpène cyclique qui est connu par son activité antimicrobienne en raison de son caractère lipophile en s'intégrant au niveau de la membrane cellulaire. Ceci a pour conséquence une altération de la membrane et une augmentation de sa fluidité. Permettant ainsi un efflux plus au moins important des composants intra-cytoplasmiques, la mort microbienne s'en suit.

L'inhibiteur **p-crésol** fait partie de la grande famille des phénols qui possède un pouvoir bactéricide qui altère soit la paroi soit la membrane bactérienne *Khalil.W.M et al (2018).*

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le travail que nous avons abordé, repose sur l'évaluation in vitro et in silico de l'activité biologique de quelques extraits organiques prépares a partir des plantes.

Qualitativement plusieurs familles de composés chimiques sont détectées dans la partie aérienne d'*Urginea maritima* L., *Smyrinium olusatrum* L., *Arum maculatum* L.et *Acanthus mollis* L., tels que : les flavonoïdes, les tannins, les alcaloïdes, les terpènes. Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteun, cette dernière révèle la présence des quantités moyennement importantes en polyphénols. Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, donc ces plantes contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies infectieuses, et les maladies cardiovasculaires.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes selon la méthode de diffusion disque. Les résultats indiquent que les deux extraits (aqueux, méthanoique) de chaque plante possèdent une activité antimicrobienne sur les bactéries testées. Donc ses souches éprouvent de la sensibilité vis à vis de ces extraits.

Pour les résultats obtenus après l'étude bio-informatique ont montré la présence des interactions indiquent que les composés étudiés ont des bonnes caractéristiques donnent l'espoir pour les considérer comme des bons candidats médicamenteux.

En perspective, les résultats obtenus dans cette étude sont intéressants, mais ils peuvent être approfondis par des études complémentaires tel que :

- D'utiliser d'autre méthode pour l'évaluation de l'activité antioxydante telle que FRAP, TRAP, ORAC...etc.
- Réalisation de tests complémentaires tels que les activités anti-inflammatoire et inhibition d'enzymes.
- Il serait aussi très utile de tester la toxicité in vivo afin de s'assurer de son innocuité totale chez un modèle animal de choix, dans le but de mettre en place des traitements naturels.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Ahmado A. (2021).** Conseption de nouveaux inhibiteurs de 3CLpro-SARS-COV-2 par approch in silico. Mémoire master de biotéchnologie médicale. Université Mohammed V-Rabat
2. **Amine, D., Mohamed B., Zoubida, H., Jamal, I. and Laila, N.(2017).** Activite Antifongique Des Extraits Aqueux De Calendula Officinalis L, Urginea Maritima (L.) Baker Et Chenopodium Ambrosioides L. European Scientific Journal, ESJ, 13(24), p.483.
3. **Atalay.O et YILDIZ K. (2020).***ARUM MACULATUM* (YILAN YASTIĞI) BİTKİSİ VE ANTİPARAZİTER ÖZELLİKLERİ. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni.
4. **Audrey.C(2022)**.*Arum maculatum* L" fiche culture" détente jardin
5. **Ávila H. P., Albino Smânia E.F., Delle Monache F., Júnior Artur S., (2008).** Structure–activity relationship of antibacterial chalcones. Bioorganic and Medicinal Chemistry. 16:9790–9794.
6. **Baghiani.A,Khennouf.S, Amira.S, Arrar.,L (2010).** Effect de certains composés phénoliques et des tannins de Quercus sur le peroxydation lipidique . World applied Science journal 8(9);1144-1149.
7. **Balasundram, N., Sundram, K. et Samman, S., (2006).**Composés phénoliques dans les plantes et sous-produits agro-industriels : activité antioxydante, occurrence et utilisations potentielles. Chimie alimentaire, 99(1), pp.191-203.
8. **Beautrait, A., Leroux, V., Chavent, M., Ghemtio, L., Devignes, M., Smaïl-Tabbone, M., Cai, W., Shao, X., Moreau, G., Bladon, P., Yao, J. et Maigret, B. (2008).** Criblage virtuel en plusieurs étapes à l'aide de VSM-G : aperçu et validation de l'enrichissement par correspondance géométrique rapide. Tourillon de modélisation moléculaire, 14(2), pp.135-148.
9. **Belhaddad.O,Caref.N ;Aamamra.S ,Zerargui.F ,Baghiani.A ,Khennouf.S et Arar.L (2018).**Fractionnement chromatographique des activités antioxydants et antibactériennes de l'extrait méthanoïque d'Urginea maritime. Dépôt institutionnel de l'université Farhat abbas .Sétis1.30(1):127-134.
10. **Belkhiri.F (2009).** Activité antimicrobien et antioxydant des extraits du TamusCommunis L et Carthamuscaeruleurs L. Thèse magistère en Microbiologie. Université Farhat Abbes. Sétif
11. **Benkhnigue.O,Samlhi.S,BenAkka.F, Dahmani.J,Douira.AetZidane.L (2019**) .Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région Oun Rabia (MarocMaroc) .Plant Archives 19(2).
12. **Berger, M. (2006)**. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutrition Clinique et Métabolisme, 20(1), pp.48-53.
13. **Bolou.G,Attioua.B, N'guessan.A, Coulibaly.A, N'guessan.J,Djaman.A (2011).**Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de Terminalia glaucescens planch. sur Salmonella typhi et Salmonella typhimurium.Bulletin de la société royale des sciences de Liège.
14. **Bouhadjeb.A,Bouzaout.S(2018).** Évaluation de l'activité antioxydant in vitro des extraits de fleurs d'Urgineamaritima. Thèse master académique en Biologie. Université Mohammed Seddik Ben ahia.Jijel.
15. **Chang, J., Lee, R. et Lee, W.(2020).** La poursuite de Staphylococcus aureus se poursuit : le rôle des cellules persistantes. Archives of Pharmacal Research , 43(6), pp.630-638.
16. Chang S.T., Chan S.P.E., 2001. Antibacterial activity of leaf essential oil and components from Cinnamomum osmophloeum. Journal of Ethnopharmacology. 77: 123-127.
17. **Cherif Hamida, S., Zalegh, I., Saidi, F., Benmanssour, N., González-Mas, M., Blázquez, M., Ait Mhand, R. et Akssira, M.(2020).** composition et effet antibactérien de Smyrnium olusatrum L. Huile Essentielle de Fruit. Journal méditerranéen de chimie, 10(6), p.577.
18. ÇOLAK Ferdağ ,SAVAROĞLU Filiz ,İLHAN Semra, (2009). Antibacterial and Antifungal Activities of Arum maculatum L. Leaves Extracts ,Journal of Applied Biological Sciences 3(3): 13-16.
19. **Comlekcioglu, N., Çolak, S. et Aygan, A. (2021)**. Une étude sur la bıoactıvıté des extraits végétaux obtenus à partir des feuilles d'Arum maculatum par dıfferentes technıques

d'extraction. Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam , 16(1-2), pp.41-46.

20. **Coulibaly.A, Bolou.G, Attioua.B, N'guessan.A, N'guessan.J et Djaman(2011).**Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de Terminalia glauescens planch sur salmonelle.
21. **Daroui Mokaddem.H (2012). Etude** phytochimique et biologique des espèces Eucalyptus globulusglobulus,Smyrniumolusatrum ,Asterscusmaritimas et Chrysthemumtrifurcatum.Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar. Annaba.
22. Dory S. (2012). Les logicieles de visualisation moléculaire dans l'enregistrement des sciences de la vie et de la terre :conception usages. Thése de Doctarat de l'ecole normale superieure de CACHAN.
23. **Diggle, S. et Whiteley, M.(2020)**. Profil microbien : Pseudomonas aeruginosa : pathogène opportuniste et rat de laboratoire. Microbiologie, 166(1), pp.30-33.
24. **Dixon R.A. (2001).** Natural products and plant disease resistance. Nature. 411:843– 847.
25. **Dixon R.A., Paiva N.L., (1995).** Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell. 7(7):1085-1097.
26. **DOĞAN G. (2019).** Evaluation of protective effect of *arum maculatum* against dextran sulfate sodium- induced experimental colitis in rats.memoire biochemistry science and technology. Graduate school of natural & applied sciences.
27. **Ebril n., Arslan M et Murathan Z.T. (2018).** ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL, AND ANTIMUTAGENIC EFFECTS AND BIOCHEMICAL CONTENTS OF *ARUM MACULATUM L.* THAT IS A MEDICAL PLANT FROM TURKISH FLORA**.** Fresenius Environmental Bulletin 8709-8714.
28. **Fatteh.S (2019).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant et antibactrien) des extraits de la plante Teumriumpaliam L sous espèce Thymoïdes de la région Beni SouidekBiskra.Thèse de doctorat en chimie. Université MaculatumKhider .Biskra.
29. **Farahmandfa R., Kenari R.E., Asnaashari M., Shahrampour D et BakhshandehT. (2018).** Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activitiesof *Arum maculatum* leaves extracts as affected by varioussolvents and extraction methods. Wiley Periodicals, Inc. 7:465–475.
30. **Fitzgerald D J ,Stratford M ,Gasson M J ,Ueckert J ,Bos A and Narbad A,(2004).**Mode of antimicrobial action of vanillin against Escherichia coli, Lactobacillus plantarum and Listeria innocua ,Journal of Applied Microbiology, p 97, 104–113 .
31. **Hagerman A.E., Riedl K.M., Jones G.A., Sovik K.N., Ritchard N.T., Hartzfeld P.W., (1998).** High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46:1887-1892.
32. **Hussein.Z, Ibrahim.N et Al Shmgani.H (2016).** Évaluation de hypotoxicité des extraits méthanoïques de feuilles de l'Arum maculatum. IIOAB journal.
33. **Jara, C., Leyton, M., Osorio, M., Silva, V., Fleming, F., Paz, M., Madrid, A. et Mellado, M., (2017).** Antioxydant, phénolique et antifongique profils d'Acanthus mollis (Acanthaceae). Recherche sur les produits naturels, 31(19), pp.2325-2328.
34. **Jia Z.S., Zhou B., Yang L., Wu L.-M., Liu Z.L. (1998).** Antioxidant synergism of tea polyphenols and alpha-tocopherol against free radical induced peroxidationn of linoleic acid in solution. Journal of Chemical Society, Perkin Transaction. 2:911-915.
35. **Khalil W Mohamed ,Shabaan M Amany,(2018)**. Antimicrobial, cytotoxic and genotoxic assessment of p-Cresol on different organism systems , Biochemistry Letters, 13(21), p (259-269).
36. **Korus J., Gumul D., Gibinski M., (2006).** Influence of extrusion on polyphenol content and antioxidant activity of common bean (Phaseolus vulgaris L.) seeds. Zywnosc. 13:102–111.
37. **Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh H., Grignon C., Abdelly C., (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte Cakile maritima. Plant Physiology and Biochemistry. 45:244–249.
38. **Liu, Y. et Zheng, H. (2021)**. Analyses physiologiques et protéomiques de deux espèces d'acanthe au stress des inondations de marée. Journal international des sciences moléculaires, 22(3), p.1055.

39. **Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C., (2005).** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. American Journal of Clinical Nutrition. 81: 230-242.

40. **Marques.M.R (2016).** Acanthus mollis comme source des composés biologiquement actifs. Thèse mastère en chimie médicale. Université de Beira Inerior.

41. **Matos, P., Figueirinha, A., Paranhos, A., Nunes, F., Cruz, P., Geraldes, C., Cruz, M. et Batista, M. (2018).** Bioactivité d'Acanthus mollis - Apport des benzoxazinoïdes et des phénylpropanoïdes. Journal of Ethnopharmacology , 227, pp.198-205.

42. **Meda NTR (2013)**. Activité antioxydante des fractions phénoliques et flavonoïdes de Cleome gynandra et Maerua angolensis du Burkina Faso. Journal des sciences pharmaceutiques appliquées.

43. **Mehdioui.R et Kahouadji.A (2007)** .Étude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittene : cas de la commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouirad'Essaouira) .Bulletin de l'institut scientifique,Rabat section sciences de la vie 2,11--20.

44. **Merzoug, A., Chikhi, A., Bensegueni, A., Boucherit, H. et Okay, S.(2017)**. L'approche de dépistage virtuel des inhibiteurs de la déformylase des peptides bactériens donne de nouveaux antibiotiques. Informatique moléculaire, 37(3), p.1700087.

45. Paduche R.,Kandefer S M., Trytek M et Fiedurek J(2007). Terpenes substances useful humain healthcare. Arch Immunol.Ther.Exp ,55.315-327.

46. **Paganini, J., Plantinga, N., Arredondo-Alonso, S., Willems, R. et Schürch, A.(2021).** Récupération des plasmides Escherichia coli en l'absence de données de séquençage à lecture longue. Micro- organismes, 9(8), p.1613.

47. **Papaionnou.F, Koutsavit, Aikaterini et Tzakou.O(2010).** Constituents volatile de différentes parties de Smyrniumolusatrum en Grèce. Natural production communication.

48. **Rahimi.f et Refice.Z (2021).** Substances d'origine végétales et les activités biologiques d'un Apiaceae.Thèse mastère. Université Mohammed Boudiaf .M'sila.

49. **RHATTAS, M., DOUIRA, A. et ZIDANE, L. (2016).**Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc). Journal of Applied Biosciences, 97(0), p.9187.

50. **Rivas-Arancibia, S., Hernández-Zimbrón, L., Rodríguez-Martínez, E., Borgonio-Pérez, G., Velumani, V. et Durán-Bedolla, J. (2013).** Exposition chronique à de faibles doses d'ozone produit un état de stress oxydatif et des dommages à la barrière hémato-encéphalique dans l'hippocampe du rat. Advances in Bioscience and Biotechnology , 04(11), pp.24-29.

51. **Sánchez-Rodríguez E., Moreno D.A., Ferreres F., Rubio-Wilhelmi M.M., Ruiz J.M., (2011).** Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. Phytochemistry. 72(8):723-729.

52. **Saoud.M.Z, Rhatous.M, ElMire.S, Lyagoubi.M Lyagoubi.M et Aoufi.S (2020).** Saccharomyces cerevisiaecerevisiae,une levure de plus en plus impliquée dans les infections urinaires.The pan Africanmedical journal.

53. **Sayeh M I. et Benmaghsoula Y.(2020).** Modélisation moléculaire et doking moléculaire de l'inhibition doubles COX /LOX. Mémoire de master de science biologiques. Université Frère Mentouri Costantine 1.

54. **Shuguang Y., Chan.S etZhenquan H. (2017).**Utilisation de pymol comme plte frome pour la conception informatique de medicaments. WIRES computational molecular science.

55. **Siegel, J., Zanghellini, A., Lovick, H., Kiss, G., Lambert, A., St.Clair, J., Gallaher, J., Hilvert, D., Gelb, M., Stoddard, B., Houk, K., Michael, F. et Baker, D. (2010).** Conception informatique d'un catalyseur enzymatique pour une réaction bimoléculaire stéréosélective de Diels-Alder. Science, 329(5989), pp.309-313.

56. **Tauchen, J., Doskocil, I., Caffi, C., Lulekal, E., Marsik, P., Havlik, J., Damme, P. et Kokoska, L. (2015).** Antioxydant in vitro et anti -activité prolifération des extraits de plantes médicinales éthiopiennes. Cultures et produits industriels, 74, pp.671-679.

57. **Thibaut, L., Emilie, F., Béatrice, C., Romain, G., François, R., Sophie, H., Eva, B.,**

Jeanne, N. et Catherine, L. (2019). Le bar européen est-il aussi euryhalin que prévu ? Variation intraspécifique de la tolérance à l'eau douce. Biologie marine, 166(8).

58. **Tifourak.D (2019).**Etude par doking moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse. Thèse master. Chimie physique. Université 8 Mai 1945.Guelma.

59. **Trad M. (2020).** Etude de l'activité biologique d'huille essentielle de Juniperus Thurifera. Mémoire master de science biologique. Université Mohammed Khider de Biskra.

60. **Van Acker S., Van Den Berg D., Tromp M., Griffioen D., Van Bennekom W., Van Der Vijgh W., Bast A., (1996).** Structural Aspect of Antioxidant Activity of Flavonoids. Free Radical Biology and Medicine. 20: 331-342.

61. **Zhou B., Wu L.M., Yang L., Liu Z.L., (2005).** Evidence for alpha tocopherol regeneration reaction of green tea polyphenols in SDS micelles. Free Radical Biology and Medicine. 38:78-84.

62. **Yousefi-Manesh, H., Dehpour, A., Shirooie, S., Bagheri, F., Farrokhi, V., Mousavi, S., Ricciutelli, M., Cappellacci, L., López, V., Maggi, F. et Petrelli, R. (2021).** L'isofuranodiène, un sesquiterpène naturel isolé du céleri sauvage (Smyrnium olusatrum L.), protège les rats contre les AVC ischémiques aigus. Produits pharmaceutiques, 14(4), p.344.

ANNEXES

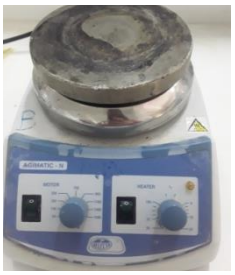
Annexe1 : Matèriels utilises



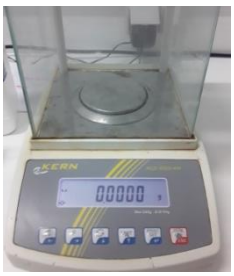
Réfrigérateur



Etuve



Agitateur



Balance à précision



Balance



Etuve

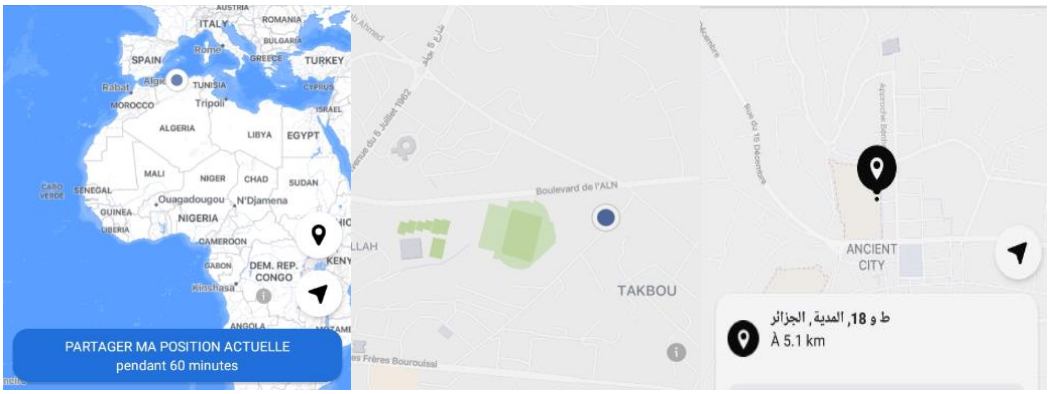


Densitomètre



Spectrophotométrie

Annexe 2 : Présentation de la matière végétale : (récolte)

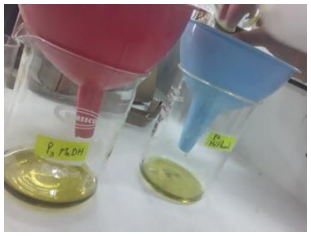


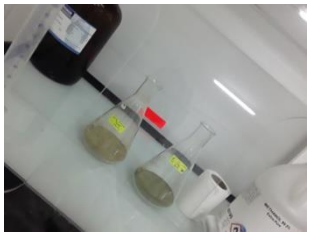
Annexe 3 : Protocole d'extraction

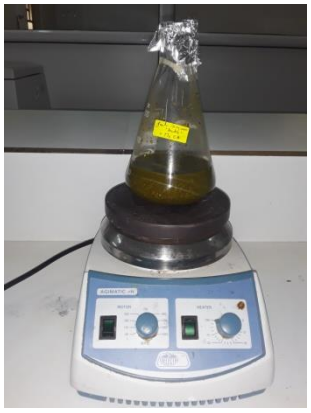










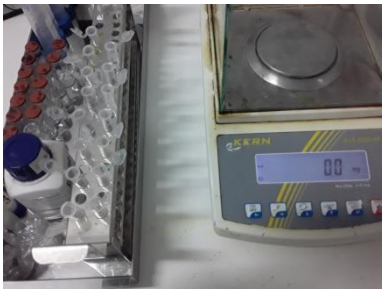


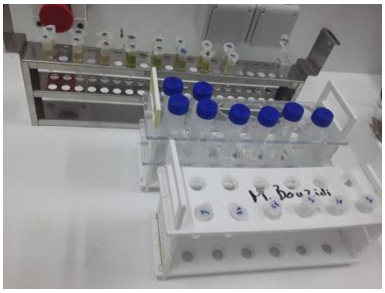






Annexe 4 : Protocole de dosage des composés phénoliques

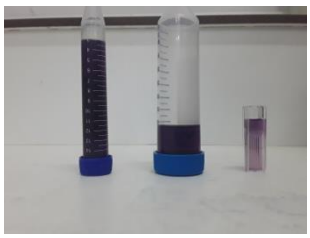


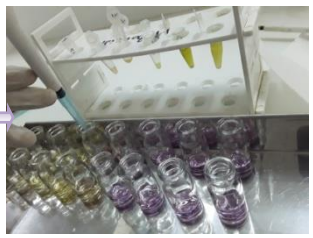


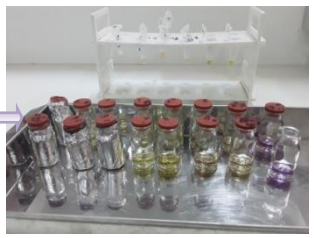




Annexe 4 : Teste de l'activité antioxydant







Annexe 5 : Résultats de dosage des composés phénoliques

Valeurs de l'absorbation pour la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Gamme d'étalonnage (lecture à 760 nm)			
Gamme acide gallique	**Abs 1**	**Abs 2**	**Moyen**
A1 (0.0312mg/ml)	0.148	0.154	0.151
A2 (0.0625mg/ml)	0.299	0.308	0.303
A3 (0.125mg/ml)	0.525	0.509	0.517
A4 (0.25mg /ml)	0.535	0.530	0.532
A5 (0.5mg/ml)	0.537	0.539	0.538
A6 (1mg/ml)	0.564	0.559	

Valeurs de l'absorbation des polyphénols totaux

Polyphénols totaux (1mg /ml)					
		Abs 1	**Abs 2**	**Moyen**	**Quantité**
Absorbance à 760 nm	**P1 H_2O**	0.247	0.249	0.248	
	P2 H_2O	0.276	0.271	0.273	
	P3 H_2O	0.344	0.350	0.347	
	P4 H_2O	0.239	0.236	0.237	
	P1 MeOH	0.238	0.240	0.239	
	P2 MeOH	0.238	0.242	0.240	
	P3 MeOH	0.175	0.183	0.179	
	P4 MeOH	0.261	0.263	0.262	

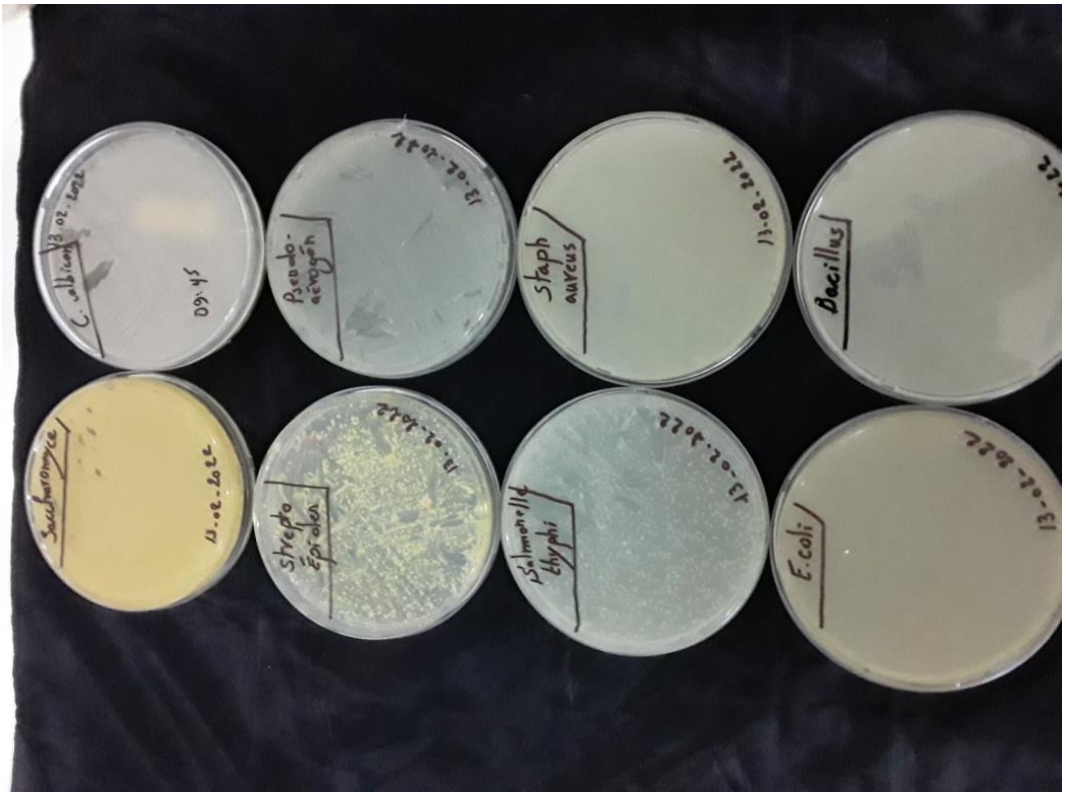
Valeurs de l'absorbation pour la courbe d'étalonnage de quercétine

Gamme d'étalonnage (lecture à 430 nm)			
Gamme quercétine	**Abs 1**	**Abs 2**	**Moyen**
A1 (1mg/ml)	0.047	0.043	0.045
A2 (2.5mg/ml)	0.1119	0.1131	0.1125
A3 (5mg/ml)	0.22	0.23	0.225
A4 (10mg /ml)	0.444	0.456	0.45
A5 (20mg/ml)	0.893	0.907	0.9
A6 (40mg/ml)	1.806	1.794	1.8

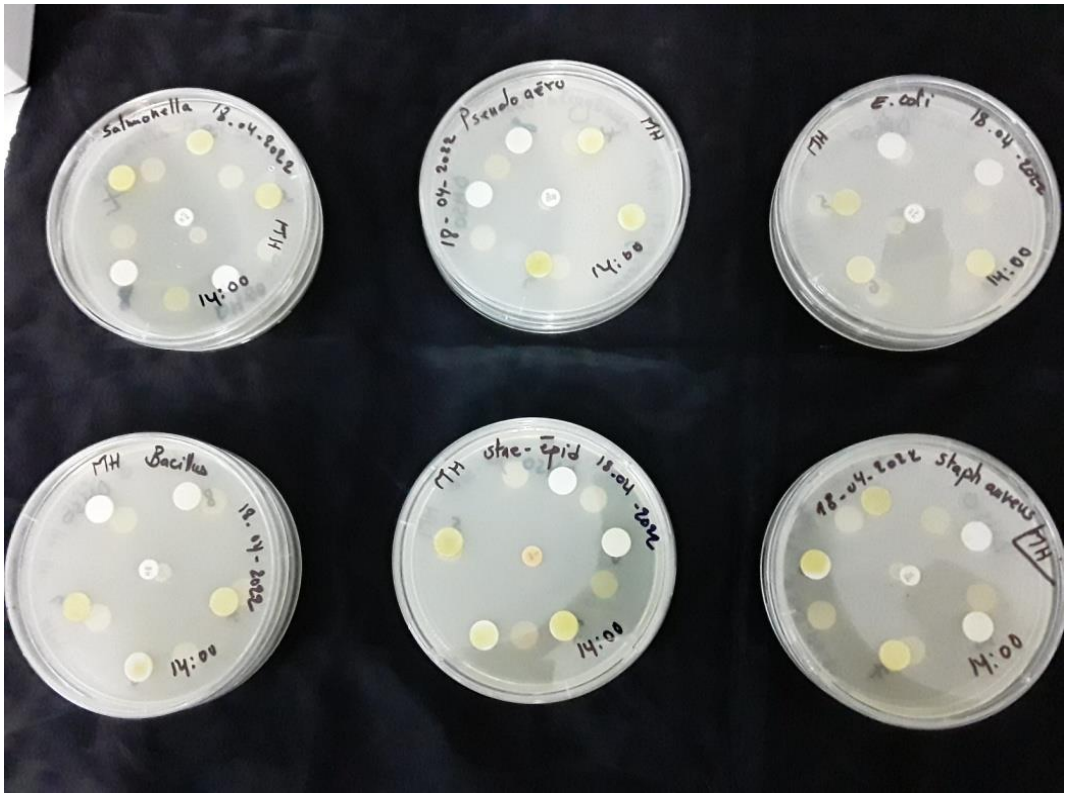
Valeurs de l'absorbation des flavonoïdes

Flavonoïdes (1mg/ml)					
		Abs 1	**Abs 2**	**Moyen**	**Quantité**
Absorbance à 430 nm	**P1 H_2O**	0.236	0.235	0.235	
	P2 H_2O	0.378	0.380	0.379	
	P3 H_2O	0.366	0.370	0.368	
	P4 H_2O	0.732	0.798	0.765	
	P1 MeOH	0.464	0.501	0.482	
	P2 MeOH	0.608	0.604	0.606	
	P3 MeOH	0.409	0.411	0.410	
	P4 MeOH	0.241	0.252	0.246	

Annexe 6 : Résultats de l'activité antimicrobienne



Résultats de repiquage des souches testées



Résultats de l'antibiogramme

Evaluation, in vitro et in silico de l'activité biologique de quelques extraits organiques préparés à partir des Plantes

RESUME. La présente étude est concernée pour évaluer in vitro et in silico les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits méthanoliques et aqueuses à partir des parties aériennes des quatre plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Algérie, *Urginea maritima* L. *Smyrinuim olusatrum* L. *Arum maculatum* L. *et Acanthus mollis* L. In vitro, le potentielle antioxydant des échantillons était évalué en utilisant la technique d'inhibition du radical libre DPPH. Le test de l'antioxydant a montré que les plantes étudiées possèdent une bonne activité antioxydant. Le criblage in vitro de l'activité antimicrobienne a été réalisé en utilisant six souches bactériennes (GRAM+ et GRAM-) et deux souches fongiques, selon le test de diffusion des disques, les extraits de quatre plantes montré un effet inhibiteur modeste contre les microorganismes testés. De nos jours, les méthodes *in silico* sont de plus en plus employées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique. L'inhibition **in silico** se fait par logiciel appelé **AutoDock Tools** consiste à déterminer l'énergie de fixation entre un **ligand** d'une substance isolée et un **récepteur** d'une bactérie, la plus faible énergie d'interaction entre ces deux derniers présente le meilleur résultat pour chaque bactérie.

MOTS-CLES. L'activité biologique in vitro, in silico, les extraits organiques, criblage

Evaluation, in vitro and in silico of the biological activity of some organic extracts prepared from Plants

Abstract. The present study is concerned to evaluate in vitro and in silico the antioxidant and antimicrobial properties of methanolic and aqueous extracts from the aerial parts of the four plants traditionally used in medicine, *Urginea maritima* L. *Smyrinuim olusatrum* L. *Arum maculatum* L. and *Acanthus mollis* L. In vitro, the antioxidant potential of the samples was evaluated using the DPPH free radical inhibition technique. The antioxidant test showed that the antioxidant test showed that the plants studied have good antioxidant activity. The extracts of four plants On showed a modest inhibitory effect against the microorganisms tested.Recently, in silico methods are increasingly used in strategies for discovering new molecules for therapeutic purposes. In silico inhibition is done by software called AutoDock Tools consists in determining the binding energy between a ligand of an isolated substance and a receptor of a bacteria, the lowest energy of interaction between these last two presents the best results for each bacterium.

MOTS-CLES. biological activity, in vitro,in silico, organic extracts, screening

الملخص.التقييم المخبري و الحاسوبي للنشاط البيولوجي لبعض المستخلصات العضوية المحضرة من بعض النباتات

تهتم الدراسة الحالية بتقييم الخصائص المضادة للأكسدة والميكروبات للمستخلصات المائية والميثانولية من الأجزاء الهوائية للنباتات الأربعة المستخدمة في الطب التقليدي في الجزائر ، في المختبر وفي السيليكو .L *Urginea maritima* . في المختبر, تم تقييم إمكانات مضادات L. *Arum maculatum* و L *Smyrinuim olusatrum* و L. *acanthus mollis* الأكسدة للعينات باستخدام تقنية تثبيط الجذور الحرة .DPPH, أظهر اختبار مضادات الأكسدة أن النباتات المدروسة لها نشاط جيد كمضاد للأكسدة .تم إجراء الفحص المخبري لنشاط مضادات الميكروبات باستخدام ست سلالات بكتيرية + GRAM) و GRAM–)وسلالتين من الفطريات؛ وفقًا لاختبار انتشار القرص, تم إجراء مستخلصات أربعة نباتات ثبت أن لها تأثيرًا مثبطًا متواضعًا ضد الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها.اليوم،تستخدم طرق السيليكو بشكل متزايد في استراتيجيات اكتشاف جزيئات جديدة للأغراض العلاجية التثبيط الحاسوبي الذي قمنا به تم بواسطة برنامج حاسوبي يدعى اوتودوك تولز يقوم بحساب طاقة التثبيط بين المجند وكذلك المستقبل في البكتيريا وتعد طاقة التثبيط الادنى هي أفضل نتائج المتحصل عليها.

الكلمات المفتاحية. الأنشطة البيولوجية, المخبري, التحري الحاسوبي,المستخلصات العضوية.