

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
Université Frères Mentouri Constantine 1



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
Frères Mentouri Constantin I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Bioinformatique

Thème :

Évaluation *in silico* de l'effet biologique de molécules bio actives majoritairement présentes dans l'extrait acétate d'éthyle des feuilles du sapin d'Algérie

Présenté et soutenu :

Le : 23/09/2021

Par :

MECHAOUER Roumeissa

&

SEGHIR Anfal

Jury d'évaluation:

Mr. BELKHIRI Lotfi
Mr. MOKRANI E, H.
Mme. BELLIL Inès
Mr. MENACER Rafik

Pr. UFM Constantine 1
MCB. UFM Constantine 1
MCA. UFM Constantine 1
Dr. CRSP

Président
Examineur
Encadrante
Co-encadreur

Année universitaire 2020 - 2021



Remerciements

En préambule à ce mémoire, nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH qui nous aide et nous a donné le courage, la force et la patience qui nous a permis d'accomplir ce modeste travail.

Nos sincères remerciements s'adressent à Mme « BELLIL Ines » maître de conférences à la faculté SNV, Université Frères Mentouri – Constantine 1, d'avoir accepté de nous encadrer, et pour sa motivation professionnelle, ses conseils et critiques constructives, ses corrections, sa gentillesse et sa patience durant l'élaboration de ce mémoire.

Nous remercions également à la doctorante « BENOUCHENNE Djamila » pour son assistance, sa disponibilité et ses encouragements.

C'est une femme au grand cœur, toujours présente et à l'écoute.

Elle a su être une très bonne guide pour la réalisation et la finalisation de ce mémoire.

Nous vous en sommes très reconnaissantes.

Nous tenons également à adresser nos vifs remerciements à Monsieur, « HAMIDECHI M.A », Professeur à l'Université Constantine 1, Pour ses efforts avec nous et ses conseils, sa pédagogie et le soutien qu'il nous a prodigué sans discontinuer au cours des trois dernières années.

Nos remerciements les plus sincères à tous l'équipe de Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques en particulier Mr Abdelhamid DJEKOUN, Mr KRID Adel.

Enfin, nous tenons aussi à remercier le Président et les membres du jury, qui ont bien daigné siéger la soutenance de notre mémoire.



Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mon Père et ma Mère qui m'ont soutenue dans mes études pour les encouragements, amour, sacrifices et tendresse, puise Dieu vous protéger et de vous accorder la santé et le bonheur.

A mes chers deux frères: Amdjed, Sadjed

A ma petite sœur: Ritel

A mes chères amies: Assala, Ibtissem, Kenza, Roumeissa, Amina, Ferial, Yasmine.

A toute ma famille

A toute mes collègues de la promotion de Master II Bioinformatique

A tous ceux qui sont proches de mon cœur

Anfel



Dédicace

Je dédie ce mémoire,

A mes très chers parents pour leur amour, soutien et encouragements durant toutes mes années d'études, que Dieu les protège,

A de mon très cher père, l'impulsion de mon cœur, je vous remercie beaucoup pour ta tendresse et gentillesse. Mercie mes chères pour vos sacrifices, vos soutien moral et financier.

A l'être le plus cher au monde, ma Mère qui a été toujours présente pour moi et pour l'affection dont elle m'a fait preuve.

A ma binôme, mon amie Anfel pour avoir partagé ce modeste travail avec moi et pour sa compréhension et sa patience.

A vous mes sœurs rabeб, soulef et besma qui m'avez toujours soutenu et encouragée durant ces années d'études.

A mes cousins et plus proches à mon cœur Khawla, Racha, Wrida et Amel pour leur présence et leur soutien constant.

A mon compagnon de vie et âme sœur Nouha, merci pour ton affection, ton soutien constant et de m'avoir montré beaucoup de patience durant les moments les plus stressants ainsi que son encouragement.

A mes amis Ferial, Yasmine, Amina, Roumeissa et Kaouther, Nada, Rahma, Wafa qui m'ont toujours encouragé.

Enfin je tien à dédier aussi ce mémoire à tous mes collègues étudiantes issues de la promotion Master 2 Bioinformatique 2021 je leur souhaite beaucoup de réussite et puis à toutes les Personnes qui m'estiment Et à tous ceux que j'aime.

Roumeissa

Sommaire

Table des matières

REMERCIEMENTS ET DÉDICACE

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Introduction1

Chapitre 1: le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

1 Aire de répartition du genre *Abies*3

2 Présentation des sapins méditerranéens (*Abies*)..... 4

3 Les différentes espèces du genre *Abies*..... 6

3.1 Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE) 7

3.1.1 Découverte de l'espèce..... 7

3.1.2 Aire de répartition..... 8

3.1.3 Description botanique 8

3.1.4 Taxonomie du Sapin d'Algérie 10

3.2 La phytothérapie de l'*Abies numidica* 10

3.2.1 Usage traditionnel du sapin de Numidie..... 10

3.2.2 Les travaux scientifiques réalisés sur l'espèce *Abies numidica* 11

Chapitre 2: Les métabolites secondaires et les activités biologiques

1 Généralités et historique 13

2 Les métabolites secondaires et les principes actifs des plantes 14

2.1 Les composés phénoliques 14

2.1.1 Phénols simples..... 14

2.1.1.1	Les acides phénoliques.....	14
2.1.1.2	Les coumarines	15
2.1.2	Les flavonoïdes	16
2.1.3	Les tanins.....	17
2.1.4	Les quinones	18
2.2	Les saponines	19
2.3	Les terpénoïdes	19
3	Exemples d'activités biologiques des métabolites secondaires.....	20
3.1	Activité antivirale	20
3.1.1	Définition d'un antiviral.....	21
3.2	Activité antibactérienne	21
3.2.1	Définition d'un antibactérien.....	22
3.2.1.1	Modes d'action d'un antibactérien	22

Chapitre 3: Docking moléculaire

1	Introduction.....	24
2	Base de Données PDB.....	24
3	Docking	25
3.1	Récepteur (Hôte)	25
3.2	Ligand (Invité).....	26
3.3	Approche.....	26
3.4	Algorithmes	26
3.5	Fonction Score	27

Chapitre 4: Matériel et méthodes

1	Matériel biologique.....	28
1.1	Les molécules biologiques	28

1.2	Les bactéries utilisées dans les tests <i>in silico</i>	30
1.2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	30
1.2.2	<i>Escherichia coli</i>	30
1.3	Le virus et les composants utilisés dans les tests <i>in silico</i>	31
1.3.1	SARS-COV-2.....	31
1.3.2	La protéase principale du SARS-CoV-2.....	31
1.3.3	4PRV pour <i>Escherichia coli</i>	32
1.3.4	4URO pour <i>Staphylococcus aureus</i>	32
2	Programmes et méthodes	32
2.1	HyperChem	32
2.2	Avogadro.....	33
2.3	MOPAC	35
2.4	COVID-19 Docking Server	36
2.5	Dockthor server	36
2.6	Discovery Studio.....	37

Chapitre 5: Résultats et discussion

1	Détermination de la structure des molécules.....	38
2	Evaluation <i>in silico</i> de l'activité antivirale: anti-SARS-CoV-2.....	40
3	Evaluation <i>in silico</i> de l'activité antibactérienne.....	45
3.1	Etude <i>in silico</i> de l'effet antibactérien sur <i>Escherichia coli</i>	45
3.2	Etude <i>in silico</i> de l'effet antibactérien sur <i>Staphylococcus aureus</i>	49
	Conclusion	53
	Références Bibliographiques	58

Annexes

Résumé

Liste des Abréviations

LC-MS/MS : Chromatographie en phase liquide - Spectrométrie de masse en tandem.

OMS : L'organisation mondiale de la santé OMS.

Ph : Potentiel hydrogène.

ADN : Adénosine désoxy-ribo-nucléotide.

PDB : Protein Data Bank.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

PDBe: The Protein Data Bank in Europe.

PDBj: The Protein Data Bank in Japon.

RCSB: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics.

BMRB: Biological Magnetic Resonance Bank.

PDB : La banque mondiale de données sur les protéines.

ARN : Acide ribonucléique.

SARS : Syndrome respiratoire aigu sévère.

ADP : Adénosine diphosphate.

3D : Tridimensionnel.

QSAR : Quantitative structure–activity relationship.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales espèces du genre <i>Abies</i> (10).	7
Tableau 2 : Classification scientifique d' <i>Abies numidica</i> (17).	10
Tableau 3 : Carte d'identité de l'espèce <i>A.numidica</i> De Lannoy.	13
Tableau 4 : Identification et quantification des polyphénols présents dans l'extrait acétate d'éthyle.	29
Tableau 5 : Structures des molécules.	38
Tableau 6 : Interactions entre les ligands et le récepteur.....	42
Tableau 7 : Interactions entre les ligands et le récepteur (4PRV).....	46
Tableau 8 : Interactions entre les ligands et le récepteur (4URO).....	50

Liste des figures

Figure 1 : La distribution géographique moderne et l'analyse phylogénétique des différentes espèces du genre <i>Abies</i> dans le monde entier.	4
Figure 2 : Aire de répartition des sapins méditerranéenne.	5
Figure 3 : Le sapin de Numidie.	9
Figure 4 : Rameau de sapin de Numidie.	9
Figure 5 : Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide benzoïque.	15
Figure 6 : Structures chimiques de quelques dérivés de l'ester hydroxycinnamique.	15
Figure 7 : Structure chimique de quelques coumarines.	16
Figure 8 : Squelette de base des flavonoïdes.	16
Figure 9 : Structure chimique des tanins condensés.	17
Figure 10 : Classification des quinones.	18
Figure 11 : Structure de base des terpènes (l'isoprène).	20
Figure 12 : Le profil LC-MS/MS de l'extrait acétate d'éthyle analysé.	28
Figure 13 : Structure schématisée du virus SARS-CoV-2.	31
Figure 14 : Interface du HyperChem.	33
Figure 15 : Interface du Avogadro.	34
Figure 16 : Interface du MOPAC.	35
Figure 17 : Interface du COVID-19 Docking Server.	36
Figure 18 : Interface du DockThor server.	37
Figure 19 : Interface du logiciel Discovery Studio	38
Figure 20 : La superposition de la molécule Redmisivir et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec la protéase principale du virus COVID-19 (Mpro).	41
Figure 21 : La superposition de la molécule quercitrine et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec la protéase principale du virus COVID-19 (Mpro)	43
Figure 22 : La superposition de la molécule hypéroside et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec la protéase principale du virus COVID-19 (Mpro).	44
Figure 23 : La superposition de la molécule tigécycline et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec 4PRV.	45
Figure 24 : La superposition de la molécule lutéoline-7-glucoside et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec 4PRV.	48

Figure 25 : La superposition de la molécule pénicilline et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec 4URO. 49

Figure 26 : La superposition de la molécule hespéridine et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec 4uro.....50

INTRODUCTION GENERALE

Introduction Générale

Introduction

Aujourd'hui il y a un grand nombre de plantes médicinales qui possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Les plantes ont constitué donc la source majeure des médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires (1).

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques. Parmi ces plantes médicinales, *Abies numidica* De Lannoy ou sapin d'Algérie. Cette plante est l'une des espèces forestières endémiques des monts des Babors et Tababors en Algérie, où elle constitue l'unique peuplement du pourtour méditerranéen. Cette espèce est classée par l'Union International pour la Conservation de lanature dans la liste des plantes rares et menacées de disparition à moyen terme (2).

C'est une espèce exceptionnelle, offrant indéniablement un intérêt scientifique dans la biodiversité de la flore naturelle, un intérêt sylvicole et forestier par la qualité de son bois et phytosanitaire par l'huile essentielle de ses aiguilles, offrant à cette espèce un pouvoir antibactérien sur certaines souches bactériennes pathogènes. La forêt des Babors conserve quelques parties relativement vierges où les arbres multi-centenaires de sapin meurent sur pied. Se trouvant uniquement dans la forêt du mont des Babors, cet endémisme lui confère une toute autre valeur, c'est un bien naturel rare qu'il faut conserver et protéger pour lui éviter de compter parmi les espèces disparues (3). Ces dernières années, beaucoup d'attention a été accordée aux espèces du genre *Abies*, en raison de leurs diverses activités biologiques de leurs métabolites secondaires (2).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut quelque fois atteindre des valeurs élevées. La notion de « métabolite secondaire » résulte initialement de trois groupes d'observations : d'abord une difficulté à attribuer à ces métabolites une fonction précise dans la physiologie même de la plante, ensuite une répartition très inégale selon les végétaux, quelquefois entre des espèces ou variétés à l'intérieur d'une même espèce (4).

Introduction Générale

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de définir la biomolécule responsable de l'effet biologique testé *in vitro* parmi un panel de métabolites secondaires identifiés et quantifiés par la technique de LC-MS/MS dans une fraction d'acétate d'éthyle extraite à partir des aiguilles de la plante forestière *Abies numidica*. Ce travail fait appel à la bioinformatique où l'étude *in silico* en utilisant l'amarrage « docking » de l'effet antibactérien et antiviral des molécules extraites dans l'acétate d'éthyle à partir des feuilles du sapin d'Algérie vient prédire et démontrer l'implication de chaque molécule dans l'effet antibactérien de cet extrait déjà testé *in vitro*. Cette étude rentre dans le cadre d'un bio-consulting et permettra sans doute un gain d'argent et de temps pour déterminer d'une manière ciblée l'effet potentiel d'un principe actif avant même d'aller extraire chaque molécule indépendamment et tester son effet *in vitro* et *in vivo* par la suite.

Notre travail est divisé en trois parties, présentées comme suit : la première partie concerne les informations relatives à notre thème, sous le titre de recherche bibliographique. La deuxième partie de ce document intitulée matériel et méthodes présente les méthodes choisies pour l'étude *in silico* ainsi que le matériel utilisé au cours de cette étude, suivie de la troisième et dernière partie qui présente et traite les résultats qui ont été obtenus au cours de cette recherche intitulée résultats et discussion, une conclusion générale et des perspectives sont données.

APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 :

Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

1 Aire de répartition du genre *Abies*

Toutes les espèces des sapins sont originaires des régions tempérées de l'hémisphère nord (**Figure 1**) et géographiquement elles sont réparties dans 04 régions:

- Région méditerranéenne
- Sibérie et Est de l'Asie
- Amérique du Nord
- Mexique et Guatemala

Le genre *Abies* se compose de près de 80 espèces, et selon la répartition géographique qu'il occupe, ce genre est divisé en deux catégories (**5**) :

- **Catégorie 1:**

Ce groupe contient des espèces qui occupent une grande aire de répartition:

- *Abies balsamea* qui occupe une partie importante de l'Amérique du nord.
- *Abies alba* (*A. pectinata*) qui couvre la plus grande partie des montagnes de l'Europe.
- *Abies siberica* qui marque la limite septentrionale du genre dans l'hémisphère oriental.

- **Catégorie 2:**

Cette catégorie contient des espèces qui occupent une petite aire de répartition, elles forment 03 groupes géographiques :

- Un groupe américain qui est composé d'environ 20 espèces. Ce groupe occupe l'Ouest de l'Amérique du Nord et de la Colombie britannique jusqu'à la côte californienne.
- Un groupe asiatique qui est composé d'environ 40 espèces qui se trouvent dans la chaîne himalayenne, au Japon et dans les montagnes chinoises et les îles japonaises méridionales.
- Un groupe méditerranéen : qui est divisé en 02 sous-groupes, le premier se compose de 06 espèces occupant les rivages Nord de la méditerranée et un autre groupe qui se compose de 4 espèces.

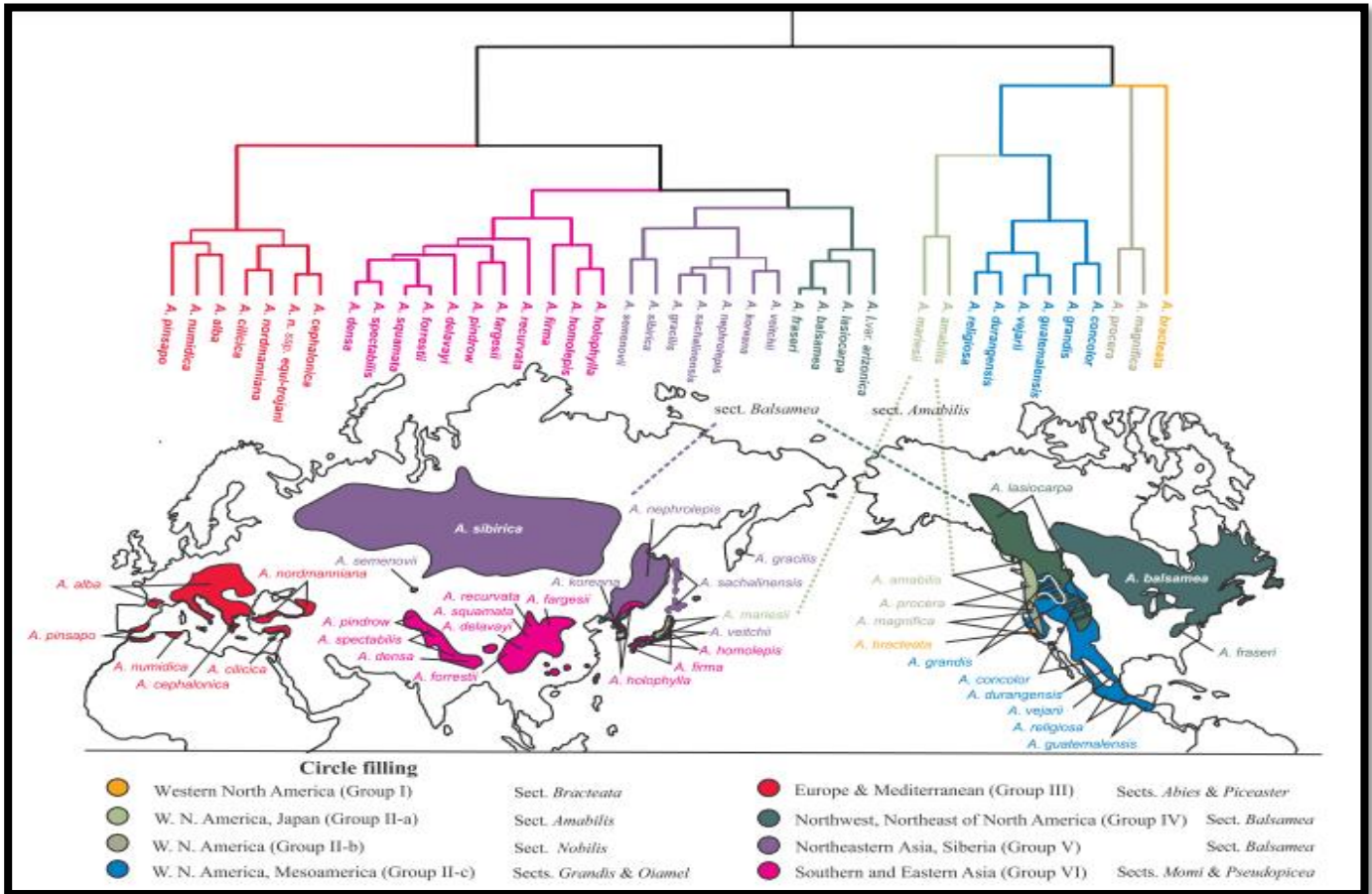


Figure 1 : La distribution géographique moderne et l'analyse phylogénétique des différentes espèces du genre *Abies* dans le monde entier (6).

2 Présentation des sapins méditerranéens (*Abies*)

Les grands travaux de reforestation ont commencé à la fin du siècle dernier avec un grand intérêt pour les forêts de la région méditerranéenne (7). Les diverses espèces de sapins végétant sur le pourtour méditerranéen sont connues depuis le siècle dernier malgré les grandes difficultés à les classer sur le plan taxinomique.

Les Sapins méditerranéens sont rencontrés en Afrique du Nord (*A. numidica*, *A. marocana*), en Espagne (*A. pinsapo*), dans les Balkans (*A. cephalonica*), et en Asie mineur (*A. nordmaniana*, *A. bornmulleriana*, *A. cilicica*) (Figure 2) (8).

Chapitre 1 : Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

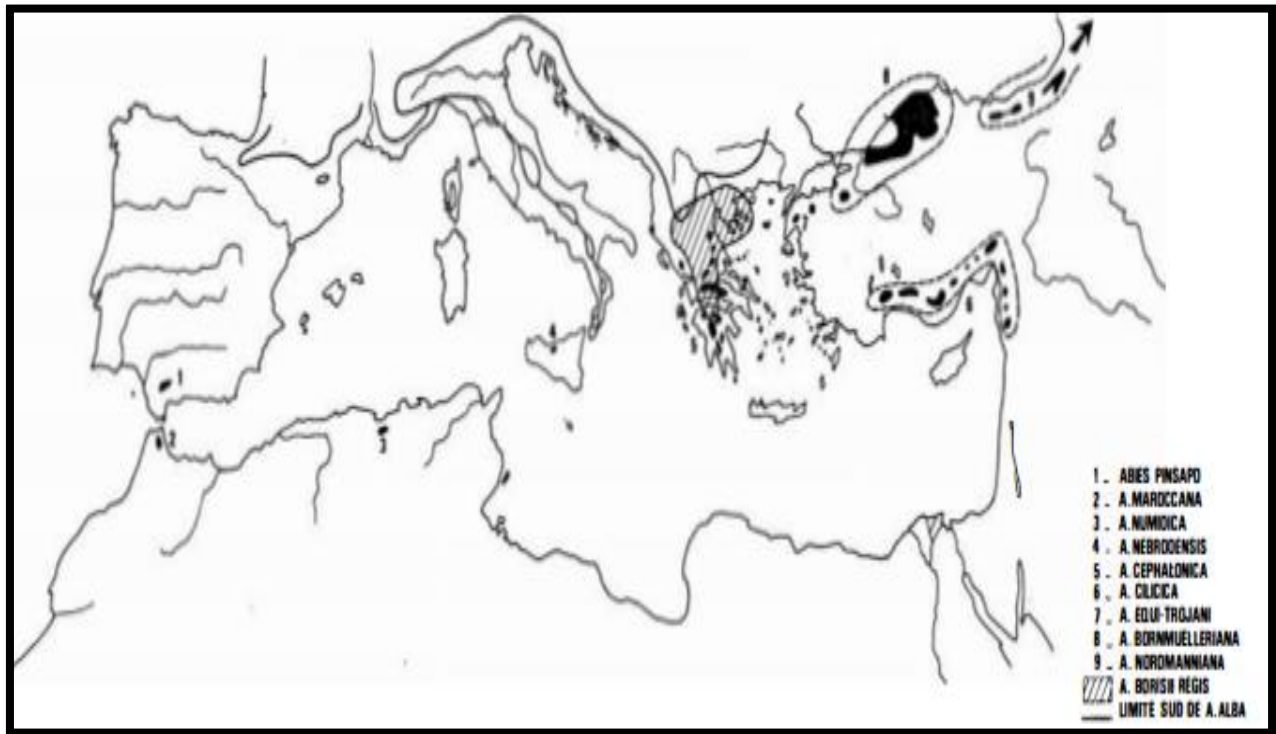


Figure 2 : Aire de répartition des sapins méditerranéenne.

Les sapins méditerranéens sont divisés en deux groupes différents :

- **Les sapins à aiguilles aiguës**

Ce groupe regroupe les espèces suivantes:

- *A. pinsapo* qui occupe quelques milliers d'hectares et se rencontre dans Sierra et Ronda, Bermeja et Grazallema.
- *A. maroccana* qui occupe environ 10.000 ha et localisé sur les montagnes des environs de Chaouen dans le Rif Nord-Occidental marocain.
- *A. cephalonica* ou sapin de Grèce, cette espèce pousse entre 400 et 1800 m d'altitude et on la trouve dans les régions de Macédoine-Centrale, d'Épire, du Sterea Ellas, Péloponnèse, et sur les îles Ioniennes (Céphalonie) (**wb1**).

- **Les sapins à aiguilles marginées ou obtuses**

L'aire de répartition de ce groupe est fort exigüe et il se compose de:

Chapitre 1 : Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

- *A. numidica*: qui apparait sur les sommets des monts des Babors et Tababors en Algérie, et il occupe juste 300 ha (9).
- *A. nebrodensis*: il n'existe qu'une vingtaine d'individus vivant sur des crêtes des monts de la Madone en Sicile et pour cela, il est considéré comme très rare (7).
- *A. cilicaca*: Répartis sur l'est du sillon d'Antalya sur les sommets de l'Amanus en Turquie, en Syrie et dans le Nord du Mont du Liban.
- *A. tazaotana* et *A. pardei* sont localisés au sommet de Tazaot dans le Rif marocain et en Péloponèse.
- Les Sapins Nord anatoliens qui comprennent trois espèces: *A. equitrojani*, *A. nordmanniana* et *A. bornmuellerian*. Ils sont situés sur les marges de la région méditerranéenne.
- *A. alba*: Il existe en France dans les cordillères du Ventoux, les Préalpes de Grasse, ainsi que les montagnes de Cagne en Corse méridionale (8).
- *A. borisii regis*: Sapin du roi Boris, ce sapin est présent dans les montagnes des Balkans.

3 Les différentes espèces du genre *Abies*

Les différentes espèces du genre *Abies* sont résumées dans le tableau suivant :

Chapitre 1 : Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

Tableau 1 : Principales espèces du genre *Abies* (wb2).

<i>Abies alba</i>	<i>Abies densa</i>	<i>Abies holophylla</i>	<i>Abies procera</i>
<i>Abies amabilis</i>	<i>Abies durangensis</i>	<i>Abies lasiocarpa</i>	<i>Abies recurvata</i>
<i>Abies balsamea</i>	<i>Abies ernestii</i>	<i>Abies lowiana</i>	<i>Abies religiosa</i>
<i>Abies beshanzuensis</i>	<i>Abies fabri</i>	<i>Abies magnifica</i>	<i>Abies sachalinensis</i>
<i>Abies bifolia</i>	<i>Abies fanjingshanensis</i>	<i>Abies mariesii</i>	<i>Abies sibirica</i>
<i>Abies borisii-ragis</i>	<i>Abies farfesi</i>	<i>Abies marocana</i>	<i>Abies spectabilis</i>
<i>Abies bracteata</i>	<i>Abies firma</i>	<i>Abies nebrodensis</i>	<i>Abies squamata</i>
<i>Abies cephalonica</i>	<i>Abies forrestii</i>	<i>Abies nephrolepsi</i>	<i>Abies umbellata</i>
<i>Abies chayuenensis</i>	<i>Abies fraseri</i>	<i>Abies nordmanniana</i>	<i>Abies veitchii</i>
<i>Abies chensiensis</i>	<i>Abies georgei</i>	<i>Abies nukiangensis</i>	<i>Abies vejari</i>
<i>Abies cilicica</i>	<i>Abies grandis</i>	<i>Abies numidica</i>	<i>Abies yuabaoshanensis</i>
<i>Abies concolor</i>	<i>Abies guatemalensis</i>	<i>Abies pindrow</i>	<i>Abies ziyuanensis</i>
<i>Abies delavayi</i>	<i>Abies hickeli</i>	<i>Abies pinsapo</i>	

3.1 Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

3.1.1 Découverte de l'espèce

Cette espèce a été découverte en 1861 sur les montagnes des Babors par le capitaine Deguilbert. Les botanistes Letourneux et Cosson considèrent ce sapin comme une variété des sapins espagnols, il a de ce fait été appelé *Abies pinsapo baborensis*. En 1861, De Lannoy décrit pour la première fois ce sapin d'où l'appellation *A. numidica* De Lannoy, mais la publication valide était par Élie Abel Carrière en 1866 (10).

Abies numidica est communément appelé : sapin de Kabylie, sapin d'Algérie, sapin de Numidie et sapin des Babors. Les dendrologues et les botanistes ont désigné ce sapin sous diverses appellations dont : *A. numidica* De Lann, *A. pinsapo baborensis* Cosson, *A. numidica glauca* Hort, *Abies baborensis* Letourneux, *A. numidiensis* Alphand, *A. numidica aurea*

Chapitre 1 : Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

Blaringhen, *Picea numidica* Gordon, *Pinus baborensis* Mac Nab, *Pinus pinsapo* Parlatores et *Pinus baborensis* Vos (10).

3.1.2 Aire de répartition

L'aire de répartition appelée aussi aire de distribution ou simplement distribution c'est la zone délimitant la répartition géographique où cette espèce est présente, elle peut être continue ou disjointe (wb3).

Le sapin de Numidie "*Abies numidica*" est une espèce de conifère endémique uniquement en Algérie, où il couvre seulement une superficie de 300 ha (11). Il a une aire de répartition restreinte dans le massif des Babors, en Kabylie orientale entre 1300 et 2000 m d'altitude dans l'étage montagnard humide et en mélange avec le chêne zéen (12).

Cet arbre se trouve dans les forêts mixtes des montagnes humides. Le climat est particulièrement humide et froid, avec des précipitations annuelles de 2500 mm, dont la grande partie tombe sous forme de neige pendant l'hiver. Les étés sont secs et le climat est typiquement méditerranéen avec une température moyenne de 18 °C et pendant en hiver la température minimale est de -1 °C, avec des gelées extrêmes entre -8 à -10 °C (13) (wb4).

3.1.3 Description botanique

Le sapin de Numidie est un arbre de forme pyramidale, très branchu (12) (Figure 3), c'est un conifère de la famille des pinacées, la sous famille des abiétées et du genre *Abies*, arbre atteignant 23 mètres d'hauteur avec un tronc lisse de 1 mètre à cime conique à la fin aplatie, son écorce est grise, les rameaux sont nombreux de couleur verte ou brune (Figure 4), les feuilles sont en brosse de forme des aiguilles verts olives persistants et touffus. Il a des cônes grands, oblongs, cylindriques et gris brunâtre à maturité, de 8-18,5 cm de longueur, 4-6 cm de diamètre. Ces cônes sont divisés en écailles irrégulières renferment des graines qui parviennent sa maturité en octobre.

Sa floraison aura lieu en avril-mai pour les inflorescences males qui ont une couleur rouge brune et en janvier pour les inflorescences femelles qui ont une couleur verte qui deviennent des cônes plus tard (14).

Chapitre 1 : Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

Abies numidica supporte les régions montagneuses mais aussi elle supporte mieux les conditions des villes que la plupart des autres sapins et s'adapte à tous les types de sol.



Figure 3 : Le sapin de Numidie.



Figure 4 : Rameau de sapin de Numidie.

3.1.4 Taxonomie du Sapin d'Algérie

Tableau 2: Classification scientifique d'*Abies numidica* (wb5).

Classification	
Région	<i>plantea</i>
Sous-région	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Coniferophyta</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Pinaceae</i>
Sous-famille	<i>Abietodeae</i>
Genre	<i>Abies</i>

3.2 La phytothérapie de l'*Abies numidica*

3.2.1 Usage traditionnel du sapin de Numidie

Cette espèce est très importante dans le secteur médical en plus de leur importance environnementale, en raison de leurs propriétés antibactérienne (15), antifongique (16), antitussive (17), anti-inflammatoire, anti-ulcérogène, anti-hypertension (18), et les activités de système nerveux central (19).

En médecine traditionnelle, la gomme de sapin a été utilisée dans le traitement de nombreuses maladies et est considérée comme l'un des traitements de base de la médecine populaire (wb5).

Cette plante a été utilisée dans le traitement des maladies respiratoires et des compresses de brûlure, et a également été utilisée comme antiseptique dans les blessures et antiscorbutique (14).

3.2.2 Les travaux scientifiques réalisés sur l'espèce *Abies numidica*

Plusieurs études ont prouvé qu'*Abies numidica* est utilisé dans le traitement des maladies pulmonaires, des ulcères, des indigestions, des vaisseaux sanguins et des maladies vénériennes (20). De plus, l'huile essentielle des aiguilles du sapin de Numidie a un effet antibactérien sur plusieurs souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter sp.* Et *Staphylococcus aureus*) (21).

Une autre étude a confirmé que l'extrait méthanolique et les huiles essentielles d'*Abies numidica* contiennent plusieurs molécules bioactives responsables de l'activité antioxydante et antimicrobienne (22).

D'autres études ont montré que les feuilles de sapin pourraient être utilisées comme source de nouveaux agents antimicrobiens contre des bactéries devenues nettement plus résistantes aux antibiotiques traditionnels (23).

Récemment Benouche et al. 2020 ont étudié les propriétés antioxydantes et antibactériennes de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles d'*Abies numidica* et ont déterminé la composition chimique des flavonoïdes par analyse LC-MS/MS. Le criblage phytochimique a montré que cet extrait est riche en flavonoïdes et en tanins alors que la détermination quantitative a montré qu'il est riche en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux. Cet extrait a révélé une capacité antioxydante importante à faible concentration; il présentait également une forte activité d'inhibition antibactérienne. L'analyse LC-MS/MS a révélé que cette fraction d'acétate d'éthyle est riche en Astragaline, Hyperoside et de Quercitrine qui agissent comme des agents réducteurs (24).

L'extrait n-butanol des feuilles d'*Abies numidica* a été également étudié par Benouche et al.2021. Les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes totaux ont été trouvés en grande quantité ($381,15 \pm 22,70 \mu\text{g GAE/ml}$; $49,79 \pm 2,81 \mu\text{g QE/ml}$, respectivement). Un effet antibactérien avec une zone inhibitrice potentielle a été observé, en particulier contre *Proteus vulgaris* ($17,5 \pm 0,70 \text{ mm}$). L'activité antioxydante a révélé que cette fraction a un pouvoir d'élimination des radicaux et une capacité de chélation des métaux. La LC-MS/MS a montré que

Chapitre 1 : Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

les principaux composés présents dans cet extrait sont l'hyperoside (399,91 µg/g), l'astragaline (147,22 µg/g) et la rutine (102,62 µg/g).

Ainsi, les feuilles d'*A. numidica* peuvent être très utiles pour prévenir l'effet négatif des radicaux libres et pour éliminer les infections bactériennes (25).

Chapitre 1 : Le sapin d'Algérie (*Abies numidica* De Lannoy ex CARRIERE)

Tableau 3: Carte d'identité de l'espèce *A. numidica* De Lannoy.

<i>Abies numidica</i> de Lannoy Ex Carrière	
Auteur	De Lannoy ex Carr. 1862
Synonymes	<i>baborensis</i> (Cosson) <i>Abies pinsapo</i> var. <i>baborensis</i> <i>Pinus pinsapo</i> var. <i>numidica</i> <i>Pinsapo</i> ssp <i>numidica</i> (de Lannoy ex Carr.)
Noms locaux	Sapin de Numidie ; sapin d'Algérie ; sapin de Kabylie ; sapin des Babors.
Distribution	Monts Babors, Tababor, en Kabylie orientale (nord Algérie) ; de 1300 à 2000 m.
Taille et pore	Peut atteindre 25 m ; port conique large, cime arrondie au sommet ; très branchu.
Feuilles	1 à 2,5 cm ; sur les rameaux stériles, elles sont en demi-écouvillon, laissant un sillon en V sur le rameau ; apex arrondi ou un peu arrondi, non piquant ; 3-8 lignes discontinues de stomates sur la face supérieure vers l'apex ; sur les rameaux fertiles, elles sont en brosse épaisse et relevée ; apex corné et aigu ; stomates très nets sur la face supérieure.
Cônes males	Teintés de rouge, jaunes en s'ouvrant.
Cônes femelles	Cônes de 12 à 18 cm sur 3 à 5, cylindriques, gris brun à maturité, résineux, à bractées incluses ; l'écaille du cône, cunéiforme et à bord entier, de 3 cm de large, est pubescent sur la face dorsale ; graine de 1, 2 à 1, 4 centimètres, à aile aussi longue ; 4-8 cotylédons.
Ecorce, Rameaux Bourgeons	Écorce grise et lisse, un peu rose, puis brunâtre et écailleuse avec l'âge ; rameau de 1 an glabre, vert brun ; rameau de 2 ans glabres, gris brun ; bourgeons brun rouge, non résineux, ovoïdes, pointus, à écailles non serrées et à bord finement cilié, à demi dégagés des aiguilles terminales.
Habitat et culture	Rustique mais craint les grands froids (gélivures) ; toutes terres même calcaires et sèches ; supporte l'air des villes ; croissance rapide.
Divers	Numidie = ancien nom de l'Algérie ; espèce en danger

Chapitre 2 :
Les métabolites secondaires et les
activités biologiques

1 Généralités et historique

Kossel a été le premier à utiliser le terme "métabolites secondaires" en 1891 et il a dit que les métabolites secondaires sont présents de façon 'accidentelle' et ne sont pas nécessaires à la vie des plantes, contrairement aux métabolites primaires, qui se caractérisent par leur présence dans toutes les cellules végétales qui peuvent se diviser (26).

Kossel distingua alors les deux types de métabolites d'une manière qui existe encore aujourd'hui, et il a identifié les métabolites secondaires par exclusion, car il disait que ce sont des composés qui n'appartiennent pas aux métabolites primaires, et cette identification a suscité beaucoup de critiques.

Les métabolites secondaires ont une nature chimique diverse et ont également plusieurs fonctions physiologiques précises qui sont bien discutées, par exemple, les propriétés d'attraction de pollinisateur, de défense contre des agents pathogènes, des prédateurs ou contre des facteurs de contrainte liées à leur environnement direct (27).

Les métabolites secondaires sont également des composants chimiques, mais ils ne sont pas nécessaires, et peuvent être dispensés parce que la majorité de ces métabolites n'ont aucun rôle dans la croissance, le développement et la reproduction, et pour cette raison, ils sont appelés « métabolites secondaires ».

Il faut aussi savoir que la production de métabolites primaires est conservée entre les phylums et à travers les règnes tandis que les métabolites secondaires se distinguent par leur production qui est rarement conservée sur une large gamme taxonomique, et limitée à seulement à un groupe d'espèces ou de genres (28).

La British Nutrition Foundation a divisé les métabolites secondaires en quatre catégories principales (29) :

- 1- les terpénoïdes (tels que les caroténoïdes, stérols, glycosides cardiaques et substances volatiles végétales).
- 2- les phénoliques (tels que lignanes, acide phénolique, tanins, coumarines, lignines, stilbènes et flavonoïdes).

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires et les activités biologiques

- 3- les composés contenant de l'azote (tels que les acides aminés non protéiques, les glucosides cyanogènes et les alcaloïdes).
- 4- les composés contenant du soufre (tels que le GSH, GSL, phytoalexines, thionines, défensines et lectines) **(30)**.

2 Les métabolites secondaires et les principes actifs des plantes

2.1 Les composés phénoliques

2.1.1 Phénols simples

2.1.1.1 Les acides phénoliques

Tous les composés organiques qui ont au moins une fonction carboxyle et un hydroxyle phénolique peuvent être appelés acides phénoliques qui ont plusieurs propriétés biologiques intéressantes : immunostimulants, antiinflammatoires, anti radicalaires, antiseptiques urinaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques **(31)** et on les trouve aussi dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales **(32)**.

Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone et peuvent être divisés en deux classes :

- les dérivés de l'acide benzoïque qui sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, salicyliques et gentisiques **(Figure 5) (33)**. Les acides protocatéchiques sont très largement répandus, par contre les galliques sont plus rares, ils ont des fonctions différentes dans la plante.

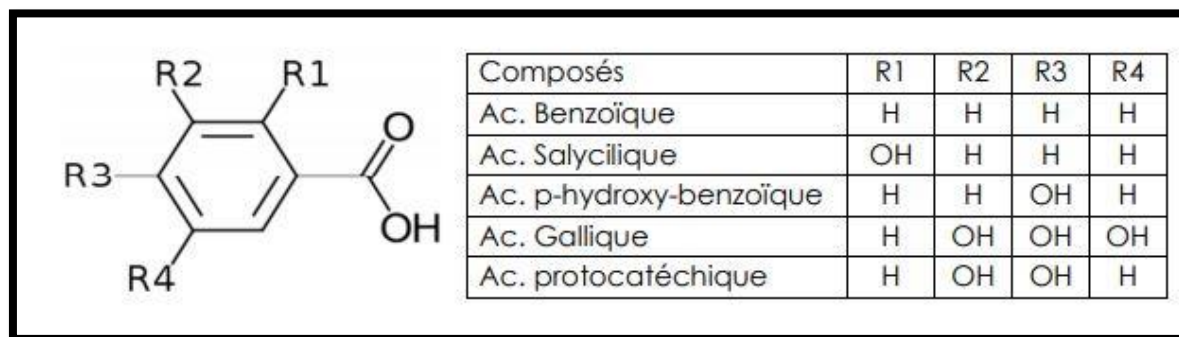


Figure 5 : Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide benzoïque.

- les dérivés de l'acide cinnamique (34) qui comprennent l'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (35).

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3 (Figure 6) (35 ; 36).

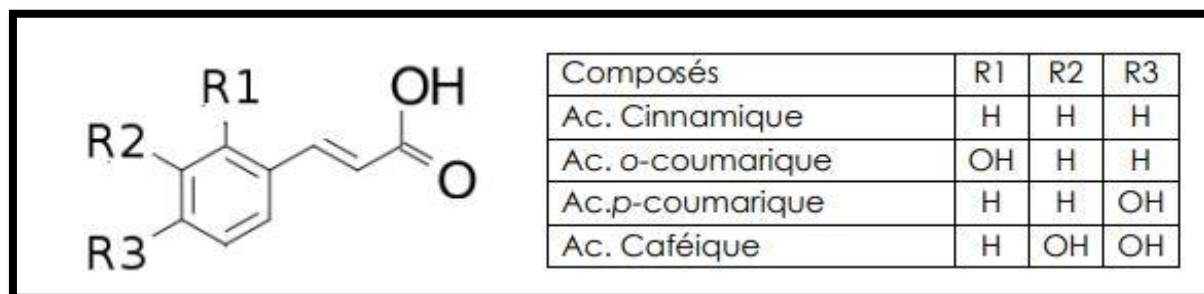


Figure 6 : Structures chimiques de quelques dérivés de l'ester hydroxycinnamique.

2.1.1.2 Les coumarines

« Coumarou » est à l'origine du nom coumarine, et c'est le nom vernaculaire du fruit d'un arbre de la Guyane « fève Tonka ».

En 1820 fût isolée pour la première fois de ce fruit une substance cristalline odorante appelée coumarine (37). Les coumarines les plus fréquentes sont l'umbelliférone ou ombelliférone, l'aesculétine, la scopolétine (Figure 7).

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires et les activités biologiques

La coumarine dérive de l'acide o-coumarique et il peut être considéré que les différentes coumarines dérivent des acides cinnamiques ortho-hydroxylés (38).

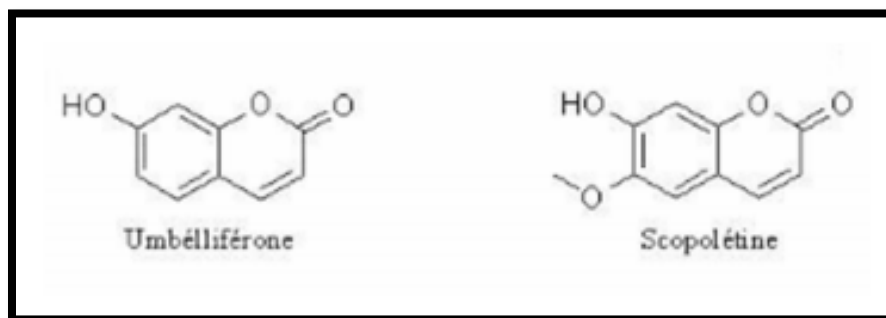


Figure 7 : Structure chimique de quelques coumarines.

2.1.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont le plus grand groupe de composés phénoliques qui sont répandus chez les végétaux et ils sont présents dans les parties supérieures: tiges, feuilles, fleurs, fruits, grain.

Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), la structure se compose de deux unités aromatiques, de cycle en C₆ (A et B) reliés par un pont de trois carbones (Figure 8) (39) (40).

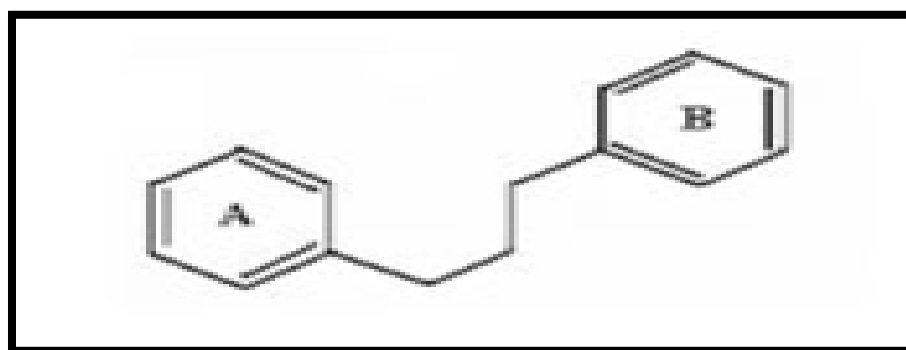


Figure 8 : Squelette de base des flavonoïdes.

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires et les activités biologiques

Ces dernières années dans le domaine médical, les propriétés des flavonoïdes ont été étudiées en détail pour leurs activités antivirales, antitumorales, antiinflammatoires, antiallergiques et anti-cancéreuses (41).

Selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central et les structures chimiques de la famille des flavonoïdes, elles peuvent être divisées en six classes : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (42).

2.1.3 Les tanins

Les tanins sont des polyphénols qu'on trouve dans de nombreux végétaux comme les écorces d'arbre et les fruits. Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques et cela varie selon leur degré d'oxydation et leurs centres asymétriques (43).

Les tanins sont divisés en deux groupes selon la structure des molécules:

- **Les tanins non hydrolysables (condensés ou pro-anthocyanidines) :**

Nous pouvons les appeler polyphénols ou proanthocyanidine, ils sont utilisés dans l'alimentation humaine (fruits, légumes, thé, dattes,..). La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient selon leur degré d'oxydation et leur centre asymétrique. Ces tanins sont des oligomères ou polymères flavaniques constitués d'unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Figure 9). Ils se différencient des tanins hydrolysables car leur molécule ne contient pas de sucre et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes.

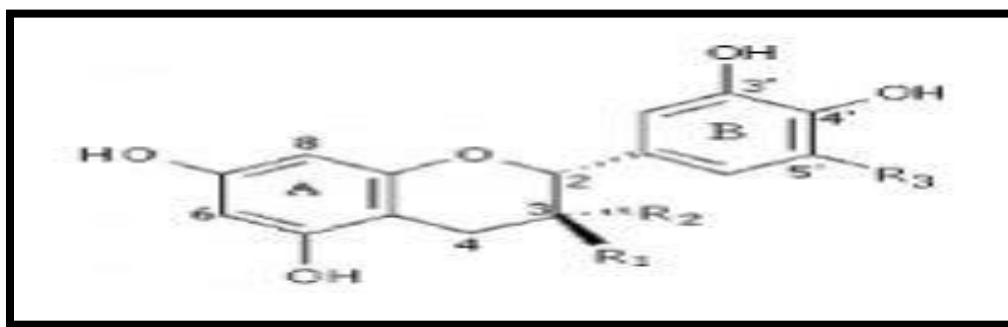


Figure 9 : Structure chimique des tanins condensés.

- **Les tanins hydrolysables :**

Ces tanins sont des esters de glucides ou d'acides-phénols, ou de dérivés d'acides-phénols. On retrouve ce groupe chez les rosidae dans tous les organes avant la maturité: racines, tiges, feuilles ou fruits. Ils sont des oligo ou des polyesters d'un sucre qui est généralement le D-glucose et d'un nombre variable d'acide phénol, soit l'acide gallique soit l'acide ellagique.

2.1.4 Les quinones

Les quinones sont des métabolites secondaires isolés des plantes, ils sont dérivé de l'oxydation des hydroquinones et ayant un système aromatique (44). La structure de la quinone a un rôle important dans la relation entre la constitution chimique et la couleur (wb6). On les trouve dans certains champignons, bactéries et diverses plantes. Elles sont également présentent chez certains animaux qui obtiennent des composés de quinone à partir des plantes qu'ils mangent, telles que les oursins, les insectes des lacs, les pucerons et certains cochenilles (wb6). Les quinones se présentent sous forme des biochromes (des pigments biologiques) et ils comprennent la benzoquinone, la naphthoquinone, l'antraquinone et les polyquinones (Figure 10) (44).

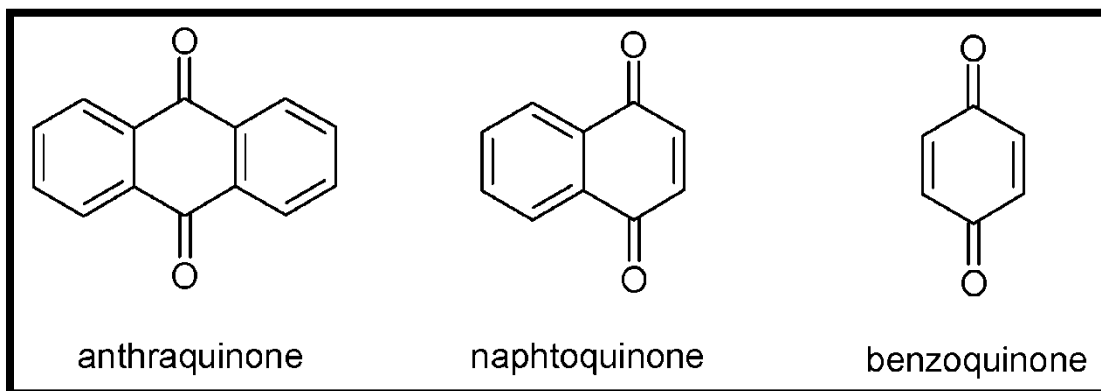


Figure 10 : Classification des quinones.

2.2 Les saponines

Les saponines ou saponosides sont une classe spécifique de métabolites secondaires, leur nom provient du latin *sapo* ce qui veut dire "savon", c'est grâce à ces propriétés qui leur permettent de former une mousse en présence d'eau, ils sont abondamment retrouvés dans le règne végétal (45).

Les saponines produites par une variété de plantes comme la saponaire, les arbres à savon, le lierre, le quinoa et le soja en quantité variable et on les trouve dans les feuilles, le tronc, les fruits, les graines, les coques des noix et les racines etc..., et elles sont produites aussi par quelques animaux (wb7). Les saponines sont hautement toxiques pour les animaux à sang froid, en particulier les poissons et les insectes, bien qu'elles ne présentent aucun danger pour les êtres humains (wb7).

Grâce à leur diverses origines biosynthétiques, les saponines ont une grande diversité structurale, leur structure repose sur les glycosides triterpéniques c'est ce qui leur fait jouer un rôle important dans la défense chimique et les caractérise par de nombreuses propriétés pharmacologiques (46).

2.3 Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, appelés aussi terpènes, avec plus de 22 000 composés ils représentent une grande catégorie de métabolites secondaires. Il est possible qu'une même plante produise des terpénoïdes différents pour des besoins et des buts différents mais ils ne sont pas seulement spécifiques aux plantes car les sesquiterpènes et les diterpènes sont également présentes chez les animaux malgré que les terpénoïdes sont synthétisés à partir de l'acétyl CoA ou le malonyl CoA.

Les terpénoïdes sont des composés aromatiques, volatiles de faibles poids moléculaires (47) (48), ils sont divisés en plusieurs classes selon le nombre de leurs unités isoprène (Figure 11) (49).

C5: hémiterpènes (une unité isoprène), C10: monoterpènes (deux unités isoprène), C15: sesquiterpènes (trois unités isoprène), C20: diterpènes (quatre unités isoprène),

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires et les activités biologiques

C30: triterpènes, C40: tetraterpènes (caroténoïdes), C45 et C50 : queues terpéniques des molécules de plastoquinones et d'ubiquinone.

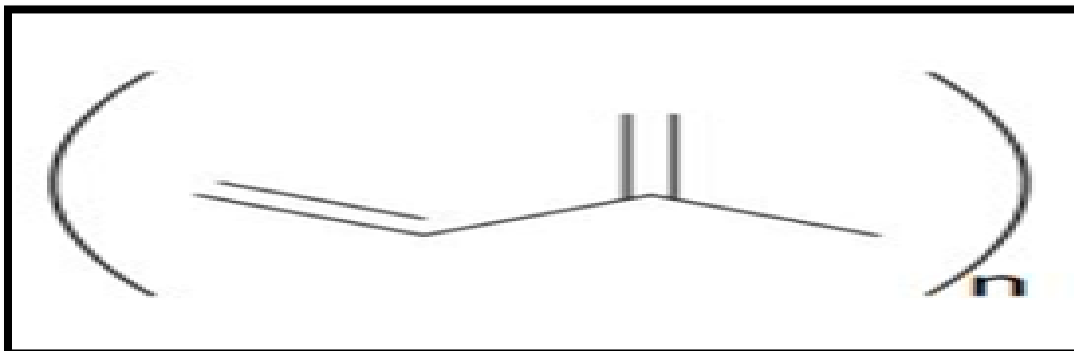


Figure 11 : Structure de base des terpènes (l'isoprène).

3 Exemples d'activités biologiques des métabolites secondaires

3.1 Activité antivirale

Les virus sont à l'origine de toutes les épidémies mortelles de l'histoire de l'humanité, et ces virus provoquent encore des catastrophes dans de nombreux pays jusqu'à présent, tels que : SIDA, SARS...

L'Organisation mondiale de la santé surveille et travaille sur les initiatives médicales, cette veille ne se limite pas aux humains, mais les animaux jouent également un rôle important dans la propagation des maladies virales humaines récentes (50), Cela s'était déjà produit avec l'épidémie de grippe espagnole.

Le développement des médicaments antiviraux a commencé pour limiter la propagation des maladies virales, et en travaillant sur le développement de molécules pour déterminer leur activité antivirale au lieu d'utiliser des molécules primaires qui perturbaient le travail des cellules lorsqu'elles empêchaient la réplication de virus, ce qui rendait difficile de les utiliser comme traitement médical. Mais après avoir travaillé sur le développement de molécules, elles deviennent plus efficaces.

3.1.1 Définition d'un antiviral

Les antiviraux sont des molécules qui ont pour but de lutter contre des virus. Ils sont actifs sur les virus au stade de leur multiplication et se divisent en quatre types selon leur mode d'action :

- Les antiviraux qui empêchent le virus d'entrer dans la cellule.
- Les antiviraux qui empêchent la réplication du virus.
- les antiviraux qui empêchent le virus d'utiliser la cellule.
- Les antiviraux qui inhibent la sortie du virus de la cellule (**wb8**).

Plusieurs études ont démontré que les flavonoïdes ont une activité antivirale et ont un effet direct sur le virus ou un effet indirect lorsque les molécules améliorant le mécanisme de défense contre le virus, les flavonoïdes sont des options de traitement prometteuses contre l'infection au COVID-19 (**51**), et dans notre travail, nous avons essayé de prouver la possibilité que certains d'entre eux inhibent le virus du SARS par rapport à la molécule de redmesivir.

Le redmisivir est un inhibiteur viral de l'ARN polymérase qui a montré une activité *in vitro* contre le SARS-CoV-2 (**52**), car il a été testé pour la première fois sur le macaque rhésus, et les animaux traités par le remdesivir ont montré moins de lésions pulmonaires et des taux de virus plus faibles dans les poumons que les animaux témoins (**53**).

3.2 Activité antibactérienne

L'organisation mondiale de la santé « OMS » certifie que les plantes médicinales sont constituées d'une panoplie de molécules caractérisées par des structures riches, complexes et variées pour cela elles devraient être étudiées intensivement afin de mieux comprendre leurs propriétés et leurs efficacités (**54**).

Parallèlement l'intérêt est de plus en plus affirmé pour l'utilisation des plantes dans des domaines non alimentaires, et le fait que les antibiotiques traditionnels sont devenus inopérants

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires et les activités biologiques

(55) a ouvert une porte à de nouveaux débouchés et axes de recherches sur des antimicrobiens et d'autres remèdes dérivants des plantes (56).

Plusieurs études épidémiologiques et cliniques attestent le rôle incontestable des composés phénoliques dans l'inhibition d'innombrables bactéries pathogènes voir même toxiques, fongicides et antibiotiques (57). Ces métabolites secondaires peuvent conduire à la diminution de l'activité enzymatique ainsi qu'à la croissance microbienne (58).

Les composés phénoliques sont même capables de neutraliser des toxines bactériennes grâce à plusieurs travaux entrepris ces dernières années (59).

3.2.1 Définition d'un antibactérien

Un antibactérien est une substance chimique, naturelle, synthétique qui tue les bactéries ou inhibe leurs croissance. Les antibactérien peuvent être subdivisés en fonction de leurs mode d'activité en bactéricides, qui tuent les bactéries et en bactériostatiques, qui inhibent leurs croissance (60).

Son activité dépend des paramètres tels que la température, le pH, l'humidité, la présence d'oxygène (58).

3.2.1.1 Modes d'action d'un antibactérien

Le mécanisme d'action des composés phénoliques est sans doute très complexe et plusieurs hypothèses ont été avancées afin d'élucider leur activité contre de nombreux microorganismes parmi elles ; l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes (protéases, et des carbohydrases), la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou chélation de métaux (tels que le fer), et l'inhibition du métabolisme microbien (60 ; 61).

- **Action sur les membranes cellulaires**

Les polyphénols s'adhèrent à la surface de la membrane plasmique et pénètrent à l'intérieur de la cellule bactérienne, inactivent certaines enzymes tels les perméases qui sont impliquées dans le transport de substrats (aminoacides et des polysaccharides) ce qui peut par voie de

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires et les activités biologiques

conséquence entraîner une modification de la perméabilité cellulaire, induisant à la lyse de la cellule bactérienne (62).

○ Action sur les enzymes

Les composés phénoliques sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de nombreuses enzymes (60). Ils sont capables de se complexer avec les protéines et par conséquent bloquer les sites actifs des enzymes inhibant ainsi leur activité (63).

Tout comme les tanins condensés les tanins hydrolysables ont la capacité de se complexer avec les protéines. Ce processus peut inhiber et/ou immobiliser les enzymes microbiennes extracellulaires (64).

○ Chélation des métaux

Les composés phénoliques peuvent limiter la croissance des bactéries grâce à leur capacité à chélater le fer, ce dernier est un nutriment indispensable à la survie des microorganismes. Il joue un rôle important dans plusieurs fonctions y compris sa nécessité pour la respiration et pour la synthèse de l'ADN (65).

Chapitre 3 :

Docking moléculaire

1 Introduction

Depuis la Seconde Guerre mondiale, le monde n'a pas connu de crise comme la crise du coronavirus, qui est une crise sanitaire mondiale qui est apparue pour la première fois en Asie à la fin de l'année dernière, puis le virus s'est propagé sur tous les continents, à l'exception de l'Antarctique.

Le 25 juin 2021, l'Organisation mondiale de la santé a annoncé que le nombre de victimes du coronavirus dans le monde avait atteint 3,8 millions de décès, avec plus de 179 millions de cas confirmés (**wb9**).

Avec le début de la catastrophe qui a frappé le monde, les laboratoires scientifiques ont commencé à chercher ce qui inhibe le virus.

Et ici le docking est utilisé pour étudier les structures moléculaires et les interactions, ce qui nécessite beaucoup de patience pour terminer une structure pouvant contenir des milliers d'atomes, et permettant la création et l'affichage d'infographie en quelques secondes, et la modélisation macromoléculaire que fournit la vue la plus possible de l'interaction médicament-récepteur par les calculs de docking pour créer une nouvelle approche rationnelle de la structure du médicament selon les structures tridimensionnelles du site récepteur.

2 Base de Données PDB

PDB (Protein Data Bank) est l'unique archive mondiale et la principale source de données de biologie structurale c'est aussi une collection de données sur les structures des macromolécules biologiques et surtout les structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique.

La PDB contient des données obtenues par cristallographie aux rayons X et par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN), et des biologistes et des biochimistes du monde entier déposent des données expérimentales sur la PDB, et tout le monde peut y accéder gratuitement via les sites Internet de ses organisations membres:

- PDBe (Europe) (**wb10**).
- PDBj (Japon) (**wb11**).
- RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) (États-Unis) (**wb12**).

Chapitre 3 : Docking moléculaire

- BMRB (Biological Magnetic Resonance Data Bank) (États-Unis) (**wb13**).
- La banque mondiale de données sur les protéines (wwPDB) est actuellement responsable de la PDB qui contient 179210 structures macromoléculaires biologiques (**wb12**).

3 Docking

L'amarrage moléculaire, ou docking, est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable. Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments et réduire les essais expérimentaux (**wb14**).

Le docking est globalement utilisé pour générer des modèles permettant de prédire le mode d'interaction entre deux molécules à partir de leurs coordonnées atomiques (**66**).

Le principe du docking repose sur 3 étapes :

- Représentation des systèmes moléculaires.
- Établissement d'un algorithme de recherche des interactions.
- Établissement d'une fonction permettant d'évaluer l'interaction entre les partenaires (**wb15**).

3.1 Récepteur (Hôte)

Un récepteur est une protéine de la membrane cellulaire ou du cytoplasme ou du noyau cellulaire qui se lie spécifiquement à un facteur spécifique (un ligand, tels un neurotransmetteur, une hormone, une molécule médicamenteuse, une toxine, un ion calcium, ou une protéine spécifique de la membrane d'un virus, ...), induisant une réponse cellulaire à ce ligand (**wb16**).

Les modifications du comportement du récepteur protéique induites par le ligand conduisent à des modifications physiologiques qui constituent les « effets biologiques » du ligand (**wb16**).

Les coordonnées atomiques des structures se trouvent dans un format de référence appelé pdb, lu par différents logiciels de visualisation, de modélisation, de criblage virtuel...ect.

Chapitre 3 : Docking moléculaire

Le fichier pdb contient diverses informations sur la macromolécule tel que le nom du récepteur, on y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéro-atomes (ligand, métaux, résidus modifié...), la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée (67).

3.2 Ligand (Invité)

Un ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, le ligand très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions (wb17).

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 (68).

3.3 Approche

L'approche d'amarrage moléculaire peut être utilisée pour modéliser l'interaction entre une petite molécule et une protéine au niveau atomique, qui permet de caractériser le comportement de petites molécules dans le site de liaison des protéines cibles ainsi pour élucider les processus biochimiques fondamentaux (wb14).

On utilise l'approche comme une solution potentielle aux problèmes d'amarrage des récepteurs flexibles, cette approche est utile si une interaction importante est déjà connue avant l'amarrage (wb14).

3.4 Algorithmes

Il existe différentes méthodes qui permettent de prendre en compte la flexibilité du ligand notamment des méthodes systématiques et des méthodes aléatoires ou stochastiques (69).

Les algorithmes de méthode systématique explorent l'ensemble des degrés de liberté d'un ligand. Certaines approches systématiques sont dites exhaustives dans la mesure où elles visent à

Chapitre 3 : Docking moléculaire

explorer l'ensemble des conformations possibles d'un ligand. Pour cela, chaque angle dièdre du ligand est incrémenté de façon discrète, et toutes les combinaisons d'angles autorisées sont échantillonnées. Si cette approche a le mérite d'évaluer l'ensemble des conformées possibles, leur quantité croît rapidement lorsque le nombre de degrés de liberté d'un ligand augmente **(69)**.

Les algorithmes de recherche stochastique visent à réduire la complexité combinatoire en explorant l'espace conformationnel de manière aléatoire. Cela implique que, contrairement aux algorithmes de recherche systématiques, deux simulations indépendantes peuvent générer des résultats différents. De plus, la recherche n'étant pas exhaustive, le risque de ne pas générer de solutions optimales est d'autant plus important que la complexité du système d'intérêt augmente **(69)**.

3.5 Fonction Score

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur et pour une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique, la fonction de score utilisée correspond aux différentes classes de scoring utilisées dans les méthodes de docking. Ces fonctions de score sont construites à partir de règles fondées sur une analyse statistique des complexes protéine-ligand résolus expérimentalement **(70)**.

Cette fonction de score prend en compte l'énergie des liaisons hydrogène, l'énergie électrostatique et de Vander Waals, les interactions éventuelles avec des métaux et une pénalité en fonction de la torsion du ligand **(71)**.

La fonction de score joue un rôle essentiel dans tout logiciel de docking, car c'est cette fonction qui est minimisée par l'algorithme de recherche **(72)**.

Les fonctions de score utilisées pour le docking donnent une estimation de l'affinité de liaison entre un ligand (L) et son récepteur (R) **(66)**.

Enfin, plusieurs fonctions de score de nature différente peuvent être combinées pour former des fonctions de score dites de consensus.

Chapitre 4 :

Matériel et méthodes

1 Matériel biologique

1.1 Les molécules biologiques

Le matériel biologique qui est l'objet de notre étude est un ensemble de biomolécules en l'occurrence des polyphénols. Ces composés phénoliques ont été extraits dans le solvant Acétate d'éthyle à partir des feuilles du sapin d'Algérie (*Abies numidica*) au laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales de l'Université Frères Mentouri Constantine 1. Plusieurs activités biologiques de cet extrait ont été évaluées (24), et l'extrait a montré des résultats très satisfaisants. L'identification et la quantification des polyphénols présents dans cet extrait ont été réalisées par la méthode LC-MS/MS. Un ensemble de 12 molécules a été identifié (Figure 12 et tableau 4).

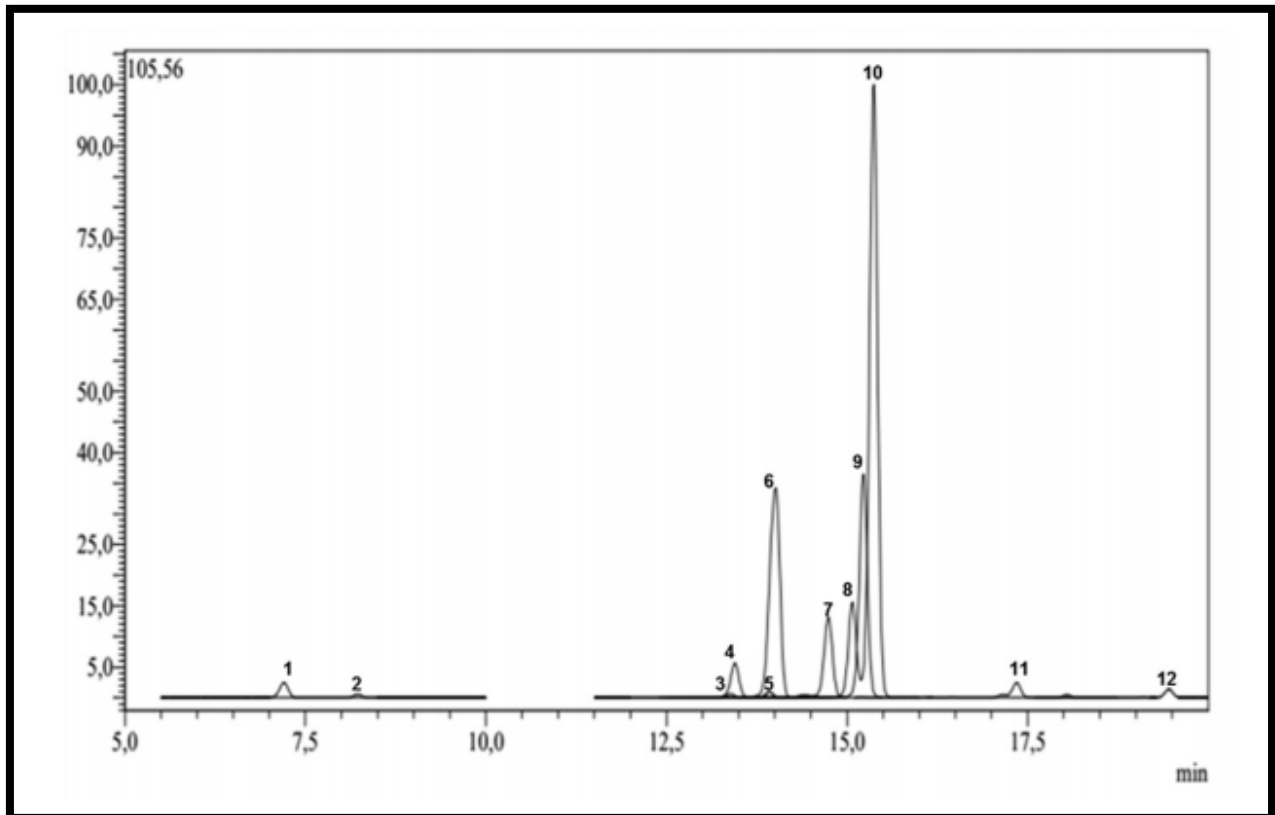


Figure 12 : Le profil LC-MS/MS de l'extrait acétate d'éthyle analysé.

Chapitre 4: Matériel et méthodes

Tableau 4 : Identification et quantification des polyphénols présents dans l'extrait acétate d'éthyle.

No	Analytes	Retention Time	EAF (µg/g)
1	Protocatechuic acid	7.00	71.62
2	Chlorogenic acid	8.03	15.59
3	Luteolin-7-glucide	13.20	43.17
4	Rutin	13.67	27.58
5	Hesperidin	13.68	7.83
6	Hyperoside	13.69	3370.96
7	Apigetrin	14.54	192.56
8	Quercitrin	14.98	2300.33
9	Astragalin	15.13	3391.36
10	Quercetin	17.10	24.75
11	Luteolin	17.78	2.41
12	Apigenin	19.20	6.64
13	Pseudohypericin	26.34	N.D.
14	Hyperforin	28.97	N.D.
15	Hypericin	30.18	N.D.

L'activité antibactérienne de ces molécules biologiques évaluées contre les différentes bactéries pathogènes Gram positif et négatif a révélé que cet extrait acétate d'éthyle des feuilles du sapin d'Algérie a un pouvoir antibactérien potentiel en inhibant la croissance de toutes les bactérie et à faible concentration (24).

Ce dernier constat très intéressant se rapportant à l'utilisation potentielle de cet extrait comme un antibiotique puissant contre les bactéries pathogènes, il convient donc de déterminer la ou les molécules responsables de cet effet et qui seront les futurs principes actifs naturels. C'est dans ce contexte que la bioinformatique et les analyses *in silico* sont importantes pour nous guider dans le choix des molécules antibiotiques d'intérêt parmi les 12 molécules identifiées par LC-MS/MS. Ces même molécules seront également testées *in silico* contre le virus de la COVID

Chapitre 4: Matériel et méthodes

19 dans le but de vérifier si cet extrait des feuilles d'*Abies numidica* est capable d'inhiber le virus responsable de cette pandémie.

1.2 Les bactéries utilisées dans les tests *in silico*

1.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 μm . L'espèce appartient à la famille des *Staphylococcaceae*. L'espèce *S.aureus* est l'une des espèces redoutées du genre *Staphylococcus*. Ces cellules sont des coques regroupées en amas (grappes de raisin). Ce sont des Gram positif, immobiles, anaérobies facultatives, non exigeantes. C'est une bactérie productrice de l'enzyme coagulase, et d'un ensemble de toxines responsables des symptômes cliniques observés lors des infections invasives, des toxicoses et des formes mixtes causées par cette espèce (73). Ces types de bactéries sont asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré. *S. aureus* est la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (74).

1.2.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à gram négatif, cette espèce appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est une bactérie de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm (74).

L'habitat naturel d'*E.Coli* est le tractus intestinal des humains et des animaux. Il est donc considéré comme un organisme indicateur de la contamination fécale de l'eau et des aliments. *E.coli* est l'agent pathogène le plus fréquent responsable des infections bactériennes humaines (73).

1.3 Le virus et les composants utilisés dans les tests *in silico*

1.3.1 SARS-COV-2

Le SARS-CoV-2 est un virus responsable de la maladie Covid-19, il est le septième coronavirus pathogène pour l'Homme et il est aussi une épidémie dont le monde souffre encore jusqu'à présent.

Comme tous les coronavirus le SARS-CoV-2 est un virus entouré d'une enveloppe, et il a un ARN code pour la synthèse de 4 protéines responsables de la structure du virus: une protéine de surface (protéine Spike ou S), une protéine de membrane (M), une protéine d'enveloppe (E) et une protéine de nucléocapside (N) (**Figure 1**), et pour 16 protéines non structurales qui participent à la réplication du virus (**75**).

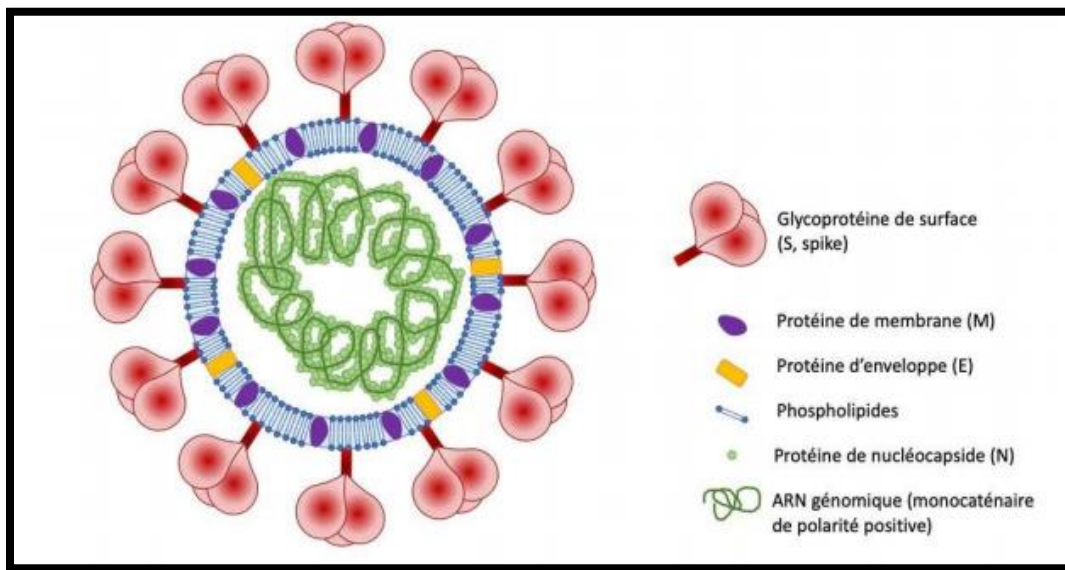


Figure 13: Structure schématisée du virus SARS-CoV-2.

1.3.2 La protéase principale du SARS-CoV-2

La protéase principale du SARS-CoV-2 est l'une des cibles les plus importantes pour les actions pharmacologiques antivirales et il est très important pour le virus à cause de son traitement protéolytique des polyprotéines.

Chapitre 4: Matériel et méthodes

Topologiquement la protéase principale du SARS-CoV-2 est similaire à celle du SARS-CoV-1 et les deux protéases ne diffèrent que par 12 acides aminés (76).

Mpro est nécessaire pour le processus de traduction de l'ARN du SARS-CoV-2 et pour cette raison, des recherches sont en cours pour inhiber son activité et lutter contre le virus (77).

1.3.3 4PRV pour *Escherichia coli*

C'est un complexe de: Fragment N-terminal 43-kDa de *E. coli* GyrB avec ADP, la structure 3D a été téléchargée à partir de RCSB PDB comme un fichier pdb.

Citation principale des structures connexes: 4PRV, 4PRX, 4PU9, 4R1F (wp18).

1.3.4 4URO pour *Staphylococcus aureus*

C'est un complexe de: novobiocine avec les domaines N-terminaux de la gyrase B de *Staphylococcus aureus* (24 kDa).

Nous avons téléchargé la structure 3D comme un fichier pdb à partir de RCSB PDB, et nous n'avons travaillé que sur une seule chaîne (chaîne A).

Citation principale des structures connexes : 4URL, 4URM, 4URN et 4URO (wp19).

2 Programmes et méthodes

2.1 HyperChem

HyperChem est un environnement de modélisation moléculaire sophistiqué développé par Auto desk, distribué par hyper cube et se caractérise par une interface de haute qualité qui est flexible et facile à utiliser. Il rassemble un ensemble d'outils dédiés à la modélisation moléculaire

Chapitre 4: Matériel et méthodes

tels que la visualisation, l'animation 3D, calculs de chimie quantique, la mécanique et la dynamique moléculaires.

Il possède des méthodes de calculs (mécanique moléculaire, semi-empirique, ab initio, QSAR et recherche conformationnelle) (**Figure 14**).

Nous avons utilisé HyperChem dans notre travail pour dessiner et optimiser les molécules c'est-à-dire faire une stabilisation des structures des molécules par la minimisation de l'énergie potentielle, chaque molécule est enregistrée comme un fichier nommé "Hin".

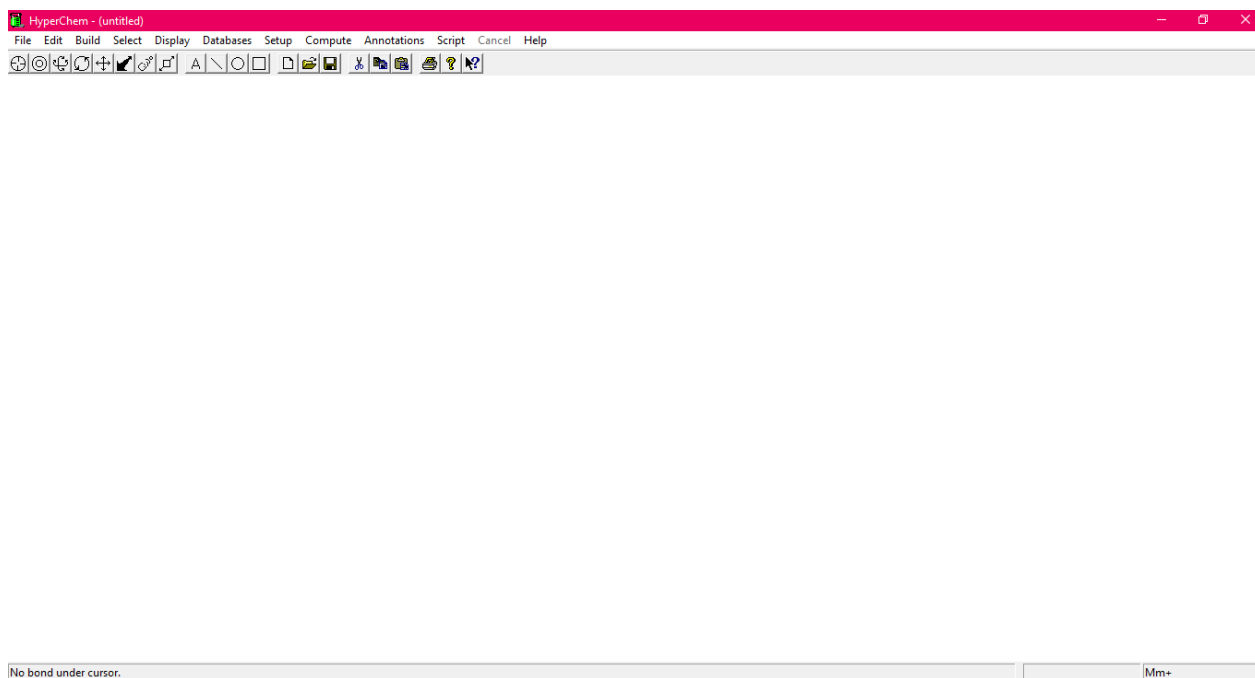


Figure 14 : Interface du HyperChem.

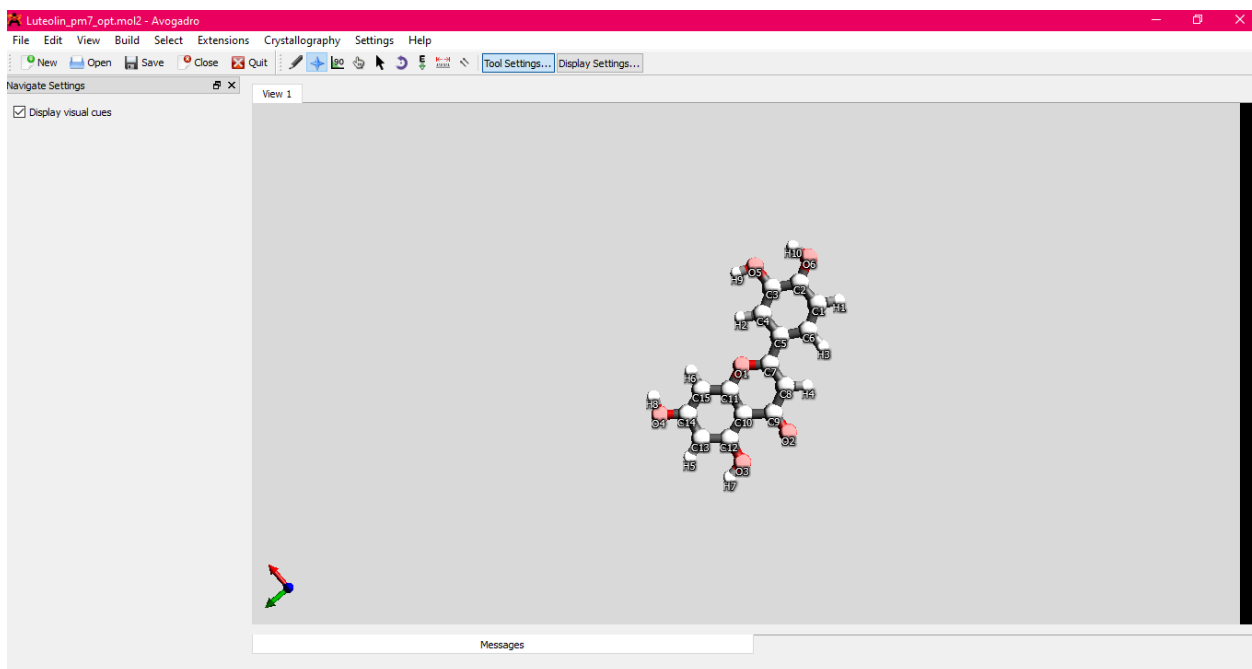
2.2 Avogadro

Avogadro est un logiciel libre qui permet la visualisation et l'édition des structures moléculaires et il contient une palette d'outils destinés à la modélisation moléculaire.

Chapitre 4: Matériel et méthodes

Il contient également un ensemble d'outils qui permettent d'ajouter facilement différentes sortes de molécules, d'acides aminés et de peptides, et il permet la visualisation de la molécule en enregistrant un petit film de la molécule en rotation dans l'espace.

Avogadro se caractérise également par la présence d'outils spécialisés en cristallographie, en rubans de protéines ou encore en conception de nanotubes, l'une de ses caractéristiques est également la compatibilité avec les formats de fichier CML, OUT, CIF, G98, G03, MOL, PDB ou encore HIN.



Dans ce travail nous avons utilisé le logiciel Avogadro pour faire un recherche de conformation et puis en obtenir la liste des coordonnées cartésiennes des différents atomes pour créer un fichier au format MOP (**Figure 15**).

Figure 15 : Interface du Avogadro.

2.3 MOPAC

MOPAC est un logiciel d'orbitales moléculaires semi-empiriques à usage général pour l'étude des réactions moléculaires, des structures et l'état solide. MOPAC calcule les quantités thermodynamiques, les spectres vibrationnels, les effets de substitution isotopique et les constantes de force pour les molécules, les radicaux, les ions et les polymères.

Bien que ce programme soit basé sur des mathématiques avancées et plusieurs concepts tels que la théorie quantique et la thermodynamique, son utilisation est très facile pour l'utilisateur car les données d'entrée sont très simples et ne nécessitent pas que l'utilisateur connaisse les détails des concepts du programme.

Dans notre travail, nous avons utilisé la version actuelle d'un programme qui effectue des calculs sur de petites molécules et des enzymes en utilisant PM7, PM6 (**wp20**) (**Figure 16**).

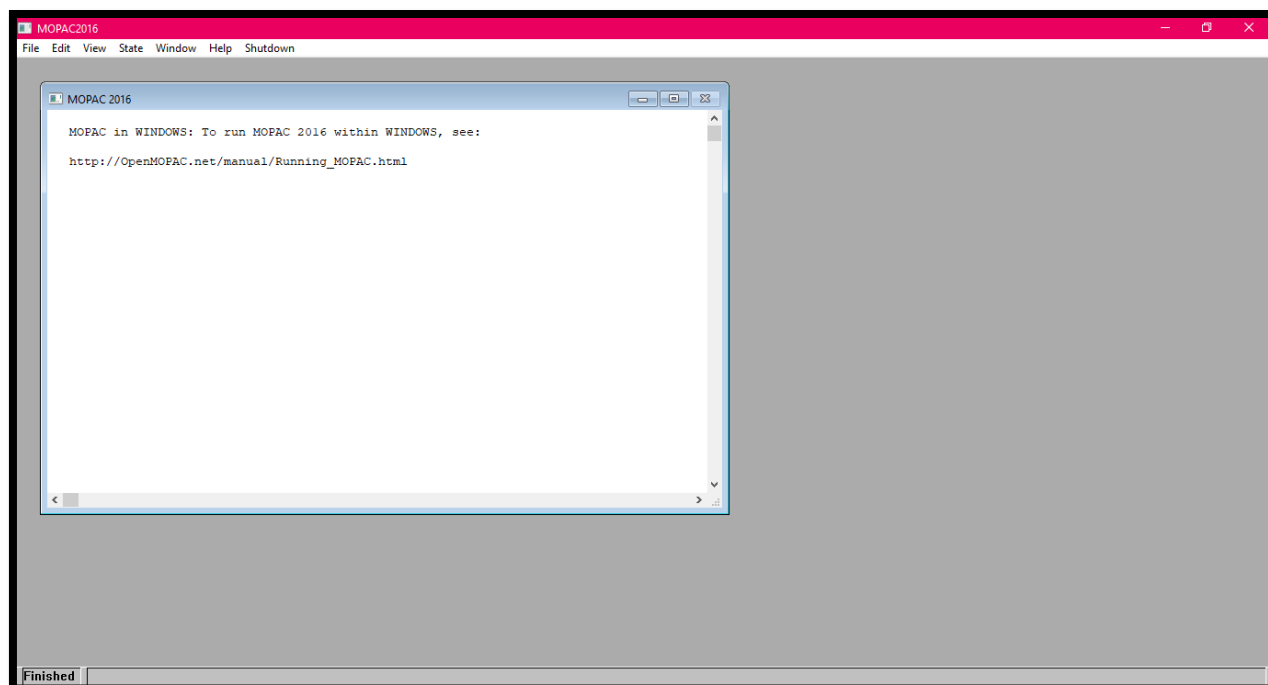


Figure 16 : Interface du MOPAC.

2.4 COVID-19 Docking Server

COVID-19 Docking Server est une interface accessible à tous gratuitement pour la prédiction des interactions cible-ligand de COVID-19 et la découverte ultérieure de médicaments pour COVID-19.

Elle est utilisée pour la visualisation moléculaire sur les pages de résultats et pour prédire les modes de liaison entre les cibles de COVID-19 et les ligands telles que les petites molécules, les peptides ou les anticorps. COVID-19 Docking Server est écrit en PHP, HTML et JSMol (78) (Figure 17).

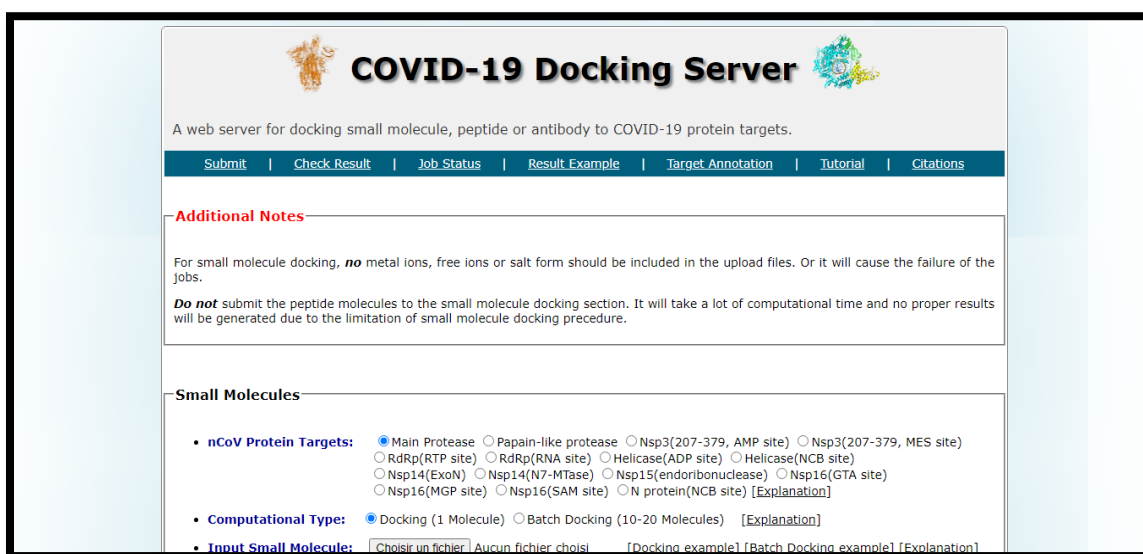


Figure 17 : Interface du COVID-19 Docking Server.

2.5 Dockthor server

Le site web DockThor, développé par le groupe GMMSB/LNCC, a obtenu des résultats prometteurs dans des études comparatives avec d'autres programmes d'amarrage bien établis pour prédire les modes de liaison expérimentaux, en considérant plusieurs cibles moléculaires et

Chapitre 4: Matériel et méthodes

classes chimiques de ligands. Le programme DockThor a mis en œuvre une méthode basée sur une grille qui utilise un algorithme génétique en régime permanent pour plusieurs solutions en tant que moteur de recherche et le champ de force MMFF94S en tant que fonction de notation pour l'évaluation de la pose. Le serveur web fournit les principales étapes de préparation du ligand et de la protéine, étant possible de changer les états de protonation des résidus et de définir le degré de flexibilité du ligand (**wp21**).

Il existe deux types d'entrées d'amarrage dans DockThor: l'entrée définie par l'utilisateur et l'amarrage aveugle. Ici, nous avons utilisé la deuxième entrée Amarrage aveugle; cela fait référence à l'amarrage d'un ligand à toute la surface de la protéine sans aucune connaissance préalable de la poche cible. L'amarrage aveugle implique plusieurs essais/séries et plusieurs calculs d'énergie avant qu'une pose de complexe protéine-ligand favorable ne soit trouvée (**wp21**) (**Figure 18**).

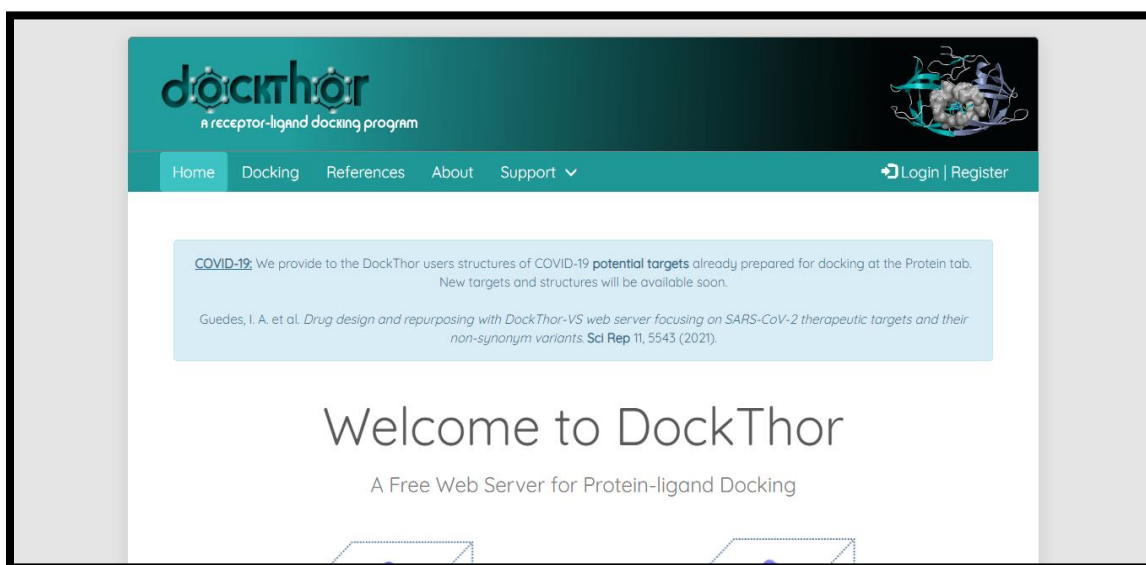


Figure 18 : Interface du Dockthor server.

2.6 Discovery Studio

Discovery Studio Visualiser (DS) est l'un des meilleurs logiciels de modélisation et de simulation. Ses outils permettent la visualisation des structures et des séquences biomoléculaires,

Chapitre 4: Matériel et méthodes

de construction, ainsi que d'alignement multiple de séquences et superposition de structures spatiales. Il est facile à utiliser même s'il contient différentes applications logicielles sophistiquées.

Dans notre cas, nous l'utiliserons pour prédire la conformation la plus favorable d'un ligand au site actif du récepteur dans le but de l'inhiber, et déterminer les interactions entre le ligand et le récepteur (**Figure 19**).

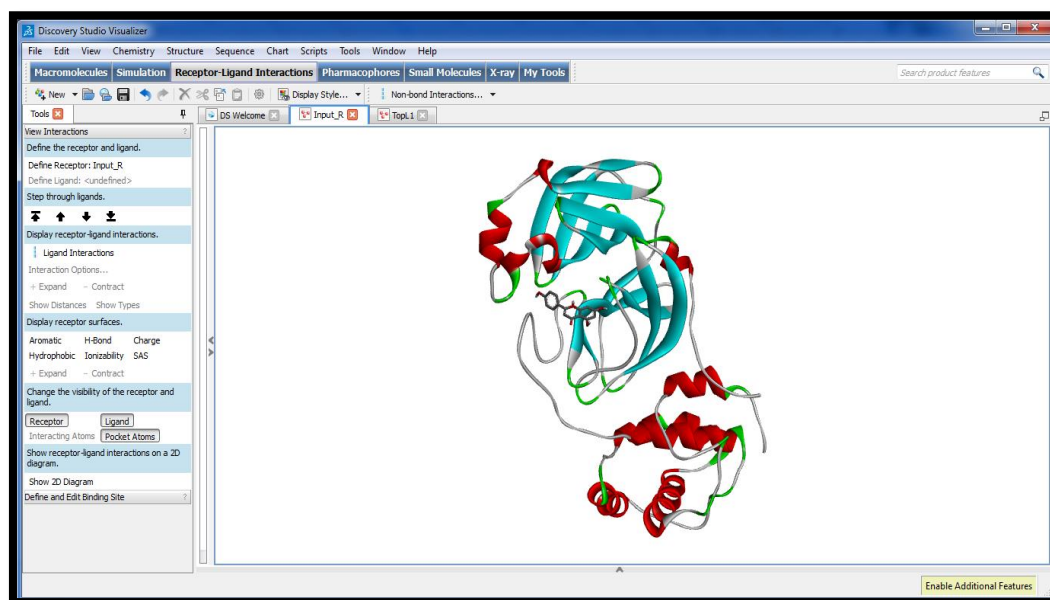


Figure 19 : Interface du logiciel Discovery Studio


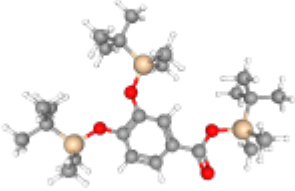
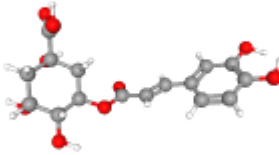
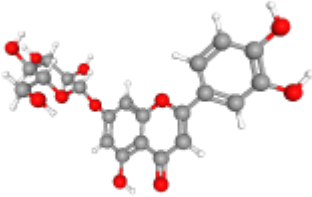
Chapitre 5 :

Résultats et discussion

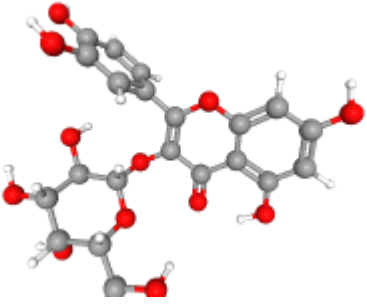
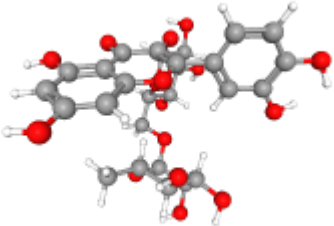
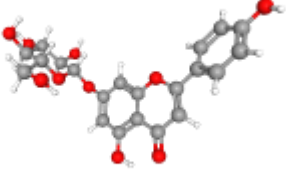
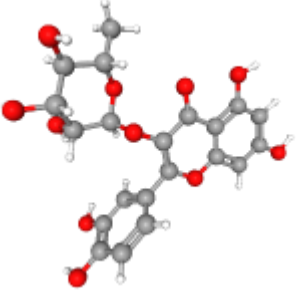
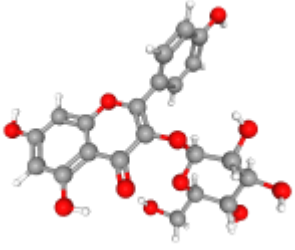
1 Détermination de la structure des molécules

La structure moléculaire des biomolécules préalablement identifiées et quantifiées par la technique LC-MS /MS dans l'extrait Acétate d'éthyle des aiguilles du sapin de Numidie (*Abies numidica*) (Benouchene et al. 2020) (24). Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

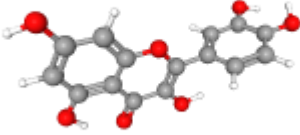
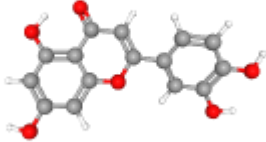
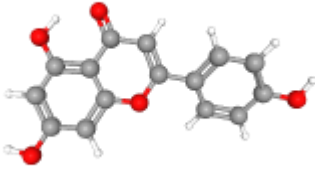
Tableau 5 : Structures des molécules.

Molécules	Structures
Hespéridine	
Acideprotocatéchique	
Acidechlorogénique	
Lutéoline-7-glucoside	

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Hypéroside	 A ball-and-stick model of the molecule Hypéroside, showing a complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups and a glycosidic linkage.
Rutine	 A ball-and-stick model of the molecule Rutine, featuring a flavanone core with two rhamnosyl sugar units attached.
Apigétrine	 A ball-and-stick model of the molecule Apigétrine, showing a flavanone core with a single rhamnosyl sugar unit.
Quercitrine	 A ball-and-stick model of the molecule Quercitrine, consisting of a flavanone core with two galactosyl sugar units.
Astragaline	 A ball-and-stick model of the molecule Astragaline, showing a flavanone core with two galactosyl sugar units.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Quercétine	
Lutéoline	
Apigénine	

2 Evaluation *in silico* de l'activité antivirale: anti-SARS-CoV-2

Après la pandémie de Corona qui s'est propagée dans le monde au cours des deux dernières années, la recherche de ce qui inhibe le virus est devenue l'un des enjeux pharmacologiques majeurs, c'est pourquoi nous avons choisi l'activité antivirale dans le cadre de notre travail pour montrer l'effet des polyphénols particulièrement les flavonoïdes sur la protéase principale (MPro) du virus SARS-CoV-2 et en utilisant la molécule de redmisivir comme référence. Cette interaction est mise en évidence *in silico* en appliquant le programme COVID-19 docking Server.

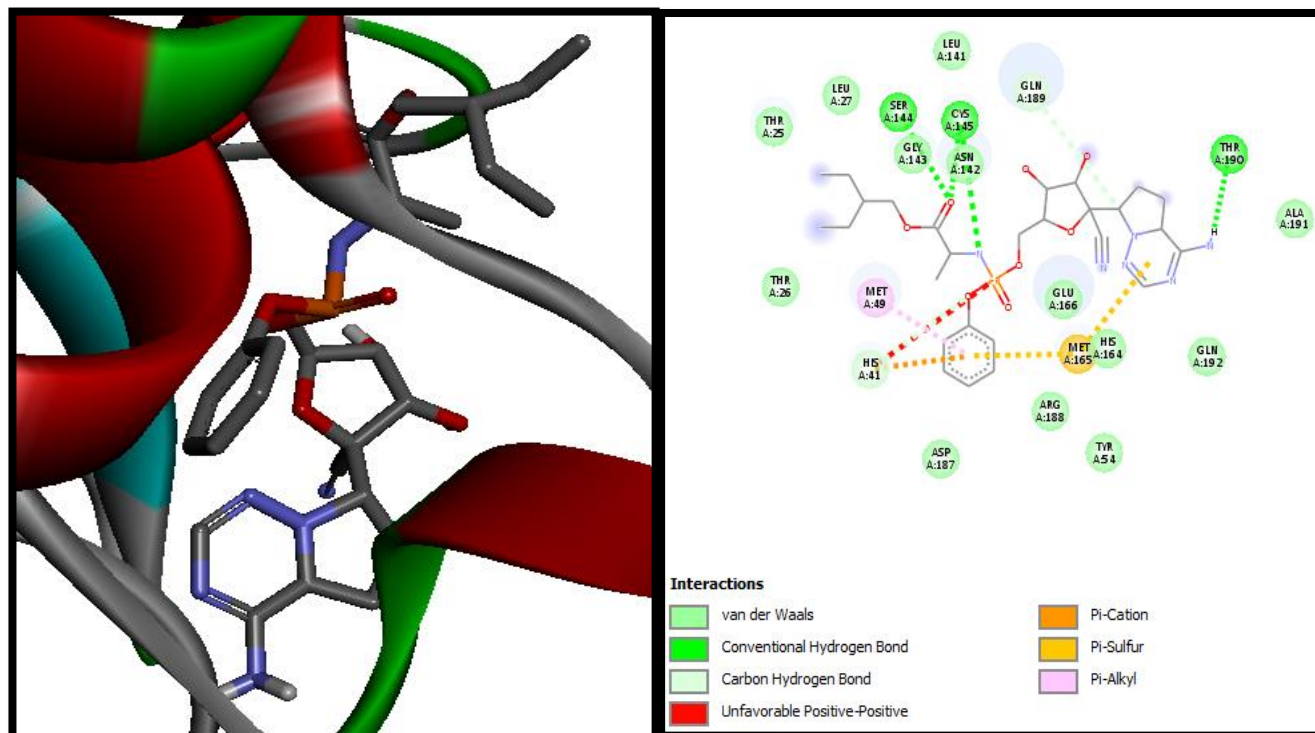


Figure 20 : La superposition de la molécule Redmisivir et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec la protéase principale du virus COVID-19 (Mpro).

Les résultats montrent que les résidus du site actif de la protéine Mpro qui ont interagi avec le ligand du redmisivir sont: Ser144, Thr190, Met165, Met49, His41, Cys145, Gln189 (**Figure 20**). Les différentes caractéristiques énergétiques et les propriétés physicochimiques des interactions entre la protéine et le ligand sont résumés dans le tableau suivant :

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Tableau 6 : Interactions entre les ligands et le récepteur.

Polyphénols présents dans l'extrait acétate d'éthyle	Score (kcal/mol)	Met A :165	His A :41	Met A :49	Leu A :141	His A :164	Gln A :189	His A :163	Gln A :192	Leu A :167	His A :172	Leu A :27
Hypéroside	-8.8	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Quercitrine	-8.8	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
Astragaline	-8.6	-	++	++	-	-	-	+	-	-	-	-
Rutine	-8.4	+	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Hespéridine	-8.2	+	-	-	-	+	-	++	+	-	-	-
Apigétrine	-8	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Quercétine	-8	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Apigénine	-7.9	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
Lutéoline	-7.9	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Lutéoline-7-glucoside	-7.9	++	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-
Molécule de référence : Redmisivir	-7.70	+++	+++	+	-	-	+	-	-	-	-	-
Acide chlorogénique	-7.4	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Acide protocatéchique	-5.3	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

+	Van der Waals	+	Pi-Cation	+	Unfavorable Acceptor -Acceptor
+	Pi-Donor Hydrogen Bond	+	Pi-Sulfur	+	Pi-Sigma
+	Conventional Hydrogen Bond	+	Sulfur -X	+	Pi-Alkyl

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Dans cette partie du travail, nous avons réalisé le docking de 12 molécules de polyphénols avec le récepteur du SARS-CoV-2 pour trouver de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de COVID-19 Mpro.

Le COVID-19 docking Server a été utilisé où le ligand est mis en format mol2 et la principale protéase du virus est choisie. Par la suite, les résultats sont complétés et téléchargés dans un fichier ZIP, l'énergie de liaison est également calculée, plus cette énergie est basse, plus l'affinité du ligand et sa cible est élevée.

Le tableau ci-dessus montre l'énergie des liaisons pour chaque molécule dans l'ordre croissant, il contient également les résidus les plus présents dans le site actif lors de l'amarrage entre la protéine Mpro et chaque ligand sur lequel nous avons travaillé.

Nous avons remarqué que l'hypéroside et la quercitrine sont les meilleurs inhibiteurs avec une énergie d'interaction = -8.8 kcal/mol par rapport à la molécule de référence sur laquelle nous avons travaillé, qui est le redmisivir avec une énergie d'interaction = -7.70 kcal/mol. Nous pouvons donc prédire que ce sont les deux molécules qui peuvent être responsables de l'activité antivirale de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles du sapin d'Algérie parmi toutes les molécules présentes.

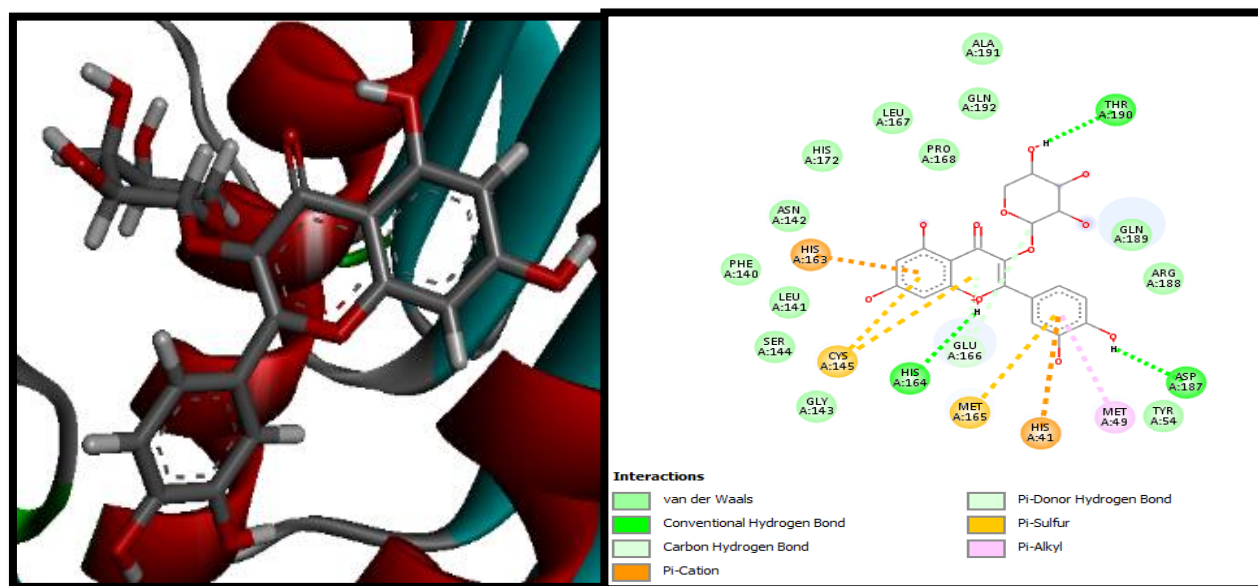


Figure 21 : La superposition de la molécule quercitrine et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec la protéase principale du virus COVID-19 (Mpro).

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Le complexe Mpro-Quercitrine est plus stable par 9 liaisons des résidus dont les résidus de la Mpro impliqués sont : Thr190, Asp187, Met165, Met49, His41, His164, Cys145, Cys145, His163 (Figure 21).

Nous pouvons remarquer qu'il existe des interactions communes entre le complexe Mpro-Quercitrine et Mpro-Redmisivir en l'occurrence: Thr190, His41, Met49, Met165.

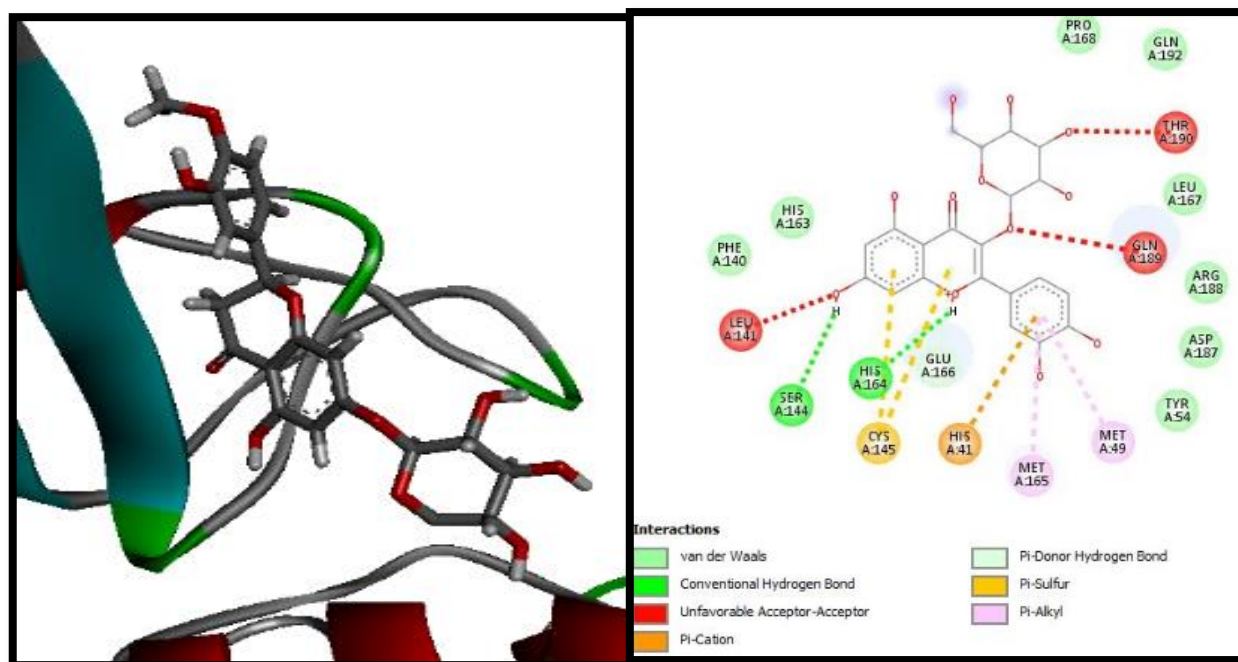


Figure 22 : La superposition de la molécule hypéroside et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec la protéase principale du virus COVID-19 (Mpro).

Le complexe Mpro-Hypéroside est plus stable par 10 liaisons dont les résidus de la Mpro impliqués sont : Thr190, Gln189, Met165, Met49, His41, His164, Cys145, Leu141, Ser144 (Figure 22).

Nous avons remarqué également l'existence des interactions communes entre le complexe Mpro-Hypéroside et Mpro-Redmisivir où les résidus Ser144, His41, Met49 sont concernés.

3 Evaluation *in silico* de l'activité antibactérienne

Après l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle provenant des feuilles du sapin d'Algérie : *Abies numidica* (Benouchene et al. 2020) (24), l'étude a conclu que l'extrait a une forte activité antibactérienne, et sur la base de cette étude, notre travail est venu dans le cadre d'un bio-consulting aider dans l'identification de la ou les molécules responsable(s) de cet effet antibactérien qui sera le principe actif d'un antibiotique naturel développé à partir de cette plante en faisant intervenir les outils de la bioinformatique, cette dernière permettra un gain de temps et d'argent. L'évaluation *in silico* pour étudier l'activité antibactérienne de chacune des 12 molécules présente dans cet extrait et la détermination de la molécule responsable de cette activité a été réalisée dans le cas d'une bactérie gram négatif (*Escherichia coli*) en utilisant comme référence l'antibiotique Tigécycline, et dans le cas d'une bactérie gram positif (*Staphylococcus aureus*) en utilisant l'antibiotique Pénicilline comme référence.

3.1 Etude *in silico* de l'effet antibactérien sur *Escherichia coli*

L'interaction moléculaire entre la molécule de référence en l'occurrence l'antibiotique tigécycline et le récepteur en l'occurrence la protéine 4PRV de *E.coli* est représentée dans la figure suivante :

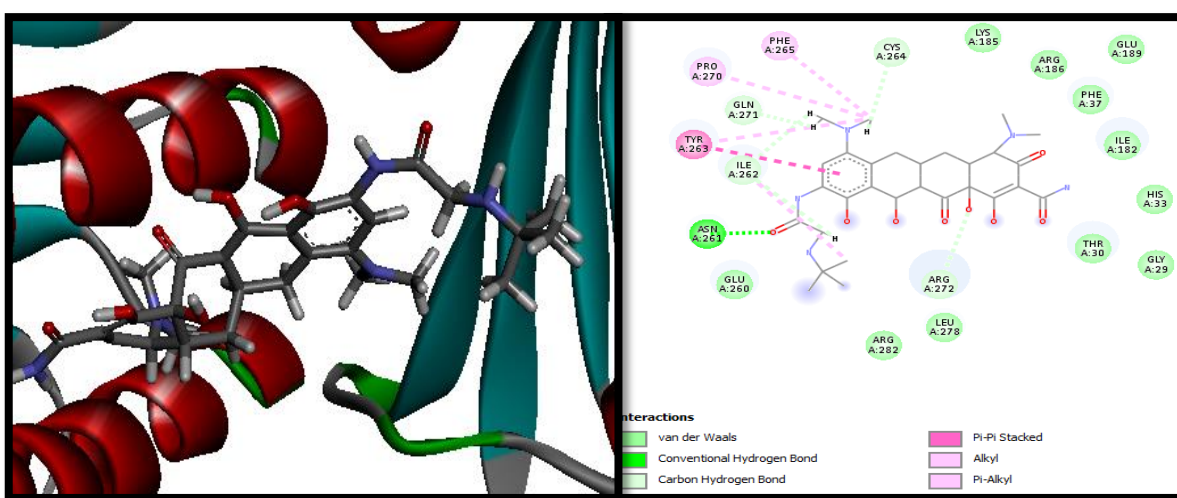


Figure 23 : La superposition de la molécule tigécycline et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec 4PRV.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Les résidus du site actif de la protéine 4PRV d'E.coli qui ont interagi avec le ligand du tigécycline sont: Arg272, Phe265, Pro270, Tyr263, Cys264, Ile262, Asn261, Gln271 (**Figure 23**). Les différentes caractéristiques énergétiques et les propriétés physicochimiques des interactions entre la protéine et le ligand sont résumés dans le tableau suivant :

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Table 7 : Interactions entre les ligands et le récepteur (4PRV).

Polyphénols présents dans l'extrait acétate d'éthyle	Score (kcal/mol)	Glu	Arg	Lys	Arg	Ile	His	Phe	Thr	Thr	Phe	Phe
		A :189	A :272	A :185	A :186	A :182	A :34	A :37	A :319	A :30	A :265	A :221
Lutéoline-7-glucoside	-9.109	++	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
L'antibiotique de reference: Tigecycline	-9.027	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Rutine	-8.547	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigétrine	-8.483	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hypéroside	-8.451	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hespéridine	-8.443	+++	-	+++	+	-	-	-	-	-	-	-
Astragaline	-7.890	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Quercitrine	-7.765	+	++	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Lutéoline	-7.656	+	++	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Quercétine	-7.632	++	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Apigénine	-7.614	++	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Acide chlorogénique	-7.544	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Acide protocatéchique	-7.030	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-

+	Van der Waals	+	Pi-Cation	+	Unfavorable Acceptor -Acceptor
+	Pi-Donor Hydrogen Bond	+	Pi-Sulfur	+	Pi-Sigma
+	Conventional Hydrogen Bond	+	Sulfur -X	+	Pi-Alkyl

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Nous avons réalisé le docking de 13 ligands (les 12 molécules de composés phénoliques et l'antibiotique de référence) avec le récepteur de la bactérie *Escherichia coli* qui est la protéine 4PRV pour déterminer la molécule responsable de l'activité antibactérienne de cet extrait dans le cas des bactéries à Gram-négatif. Nous avons utilisé le DockThor Server où le récepteur et le ligand sont mis en format mol2, le serveur donne par la suite la meilleure position pour le ligand et le récepteur et calcule l'énergie des molécules. Le même processus a été réalisé pour toutes les molécules ligands. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessus.

Nous avons remarqué que le lutéoline-7-glucoside est le meilleur inhibiteur avec l'énergie d'interaction la plus faible = -9.109 kcal /mol par rapport à la référence sur laquelle nous avons travaillé, qui est le antibiotique tigécycline qui a une énergie d'interaction égale à -9.027 kcal /mol. Nous pouvons dans ce cas prédire que le lutéoline-7-glucoside pourra s'agir de la molécule responsable de l'activité antibactérienne de l'extrait acétate d'éthyle sur les bactéries à Gram négatif.

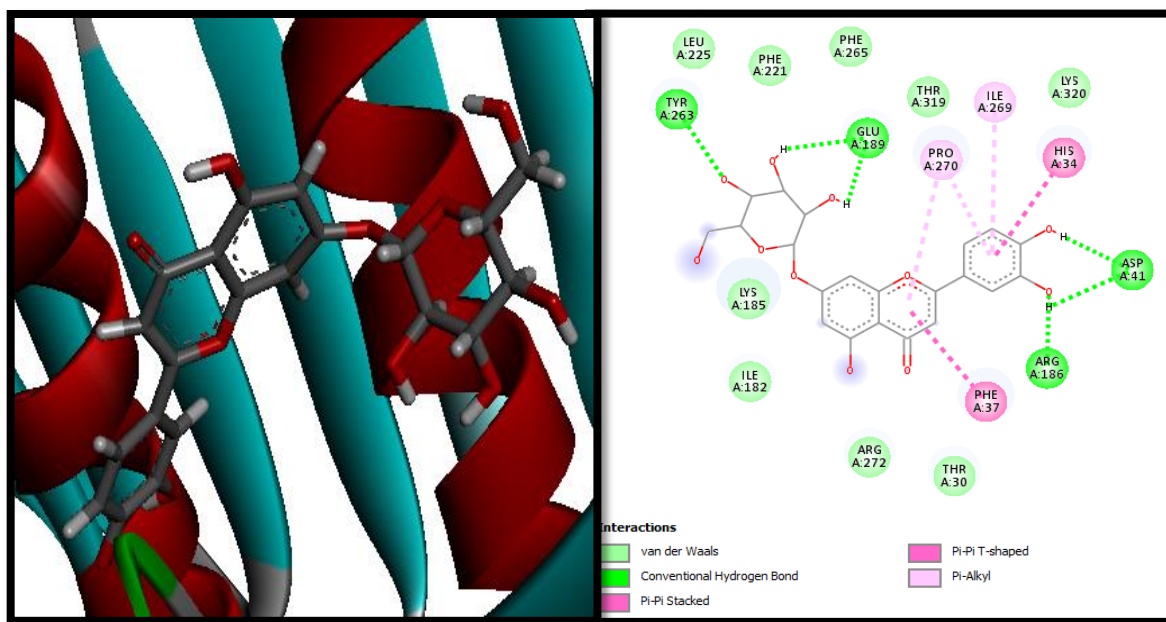


Figure 24 : La superposition de la molécule lutéoline-7-glucoside et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec 4PRV.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Comme nous pouvons le voir sur la (**figure 24**), le complexe 4PRV-lutéoline-7-glucoside est le plus stable par 11 liaisons impliquant les résidus : Tyr263, Glu189, Pro270, Ile269, His34, Asp41, Arg186, Phe37.

Nous remarquons aussi que le résidu Pro270 de la protéine 4PRV d'*E.coli* est impliqué dans une interaction commune entre le complexe 4PRV-lutéoline-7-glucoside et 4PRV-tigecycline.

3.2 Etude *in silico* de l'effet antibactérien sur *Staphylococcus aureus*

L'interaction moléculaire entre la molécule de référence en l'occurrence l'antibiotique Pénicilline et le récepteur en l'occurrence la protéine 4URO de *S.aureus* est représentée dans la figure suivante :

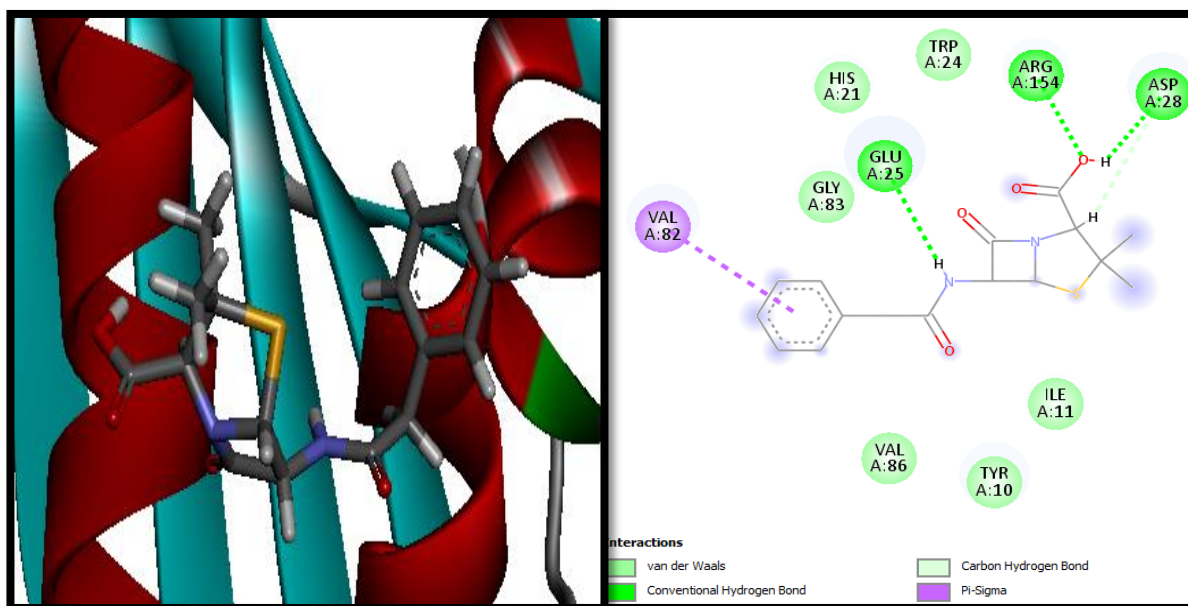


Figure 25 : La superposition de la molécule pénicilline et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec 4URO.

Les résidus du site actif du récepteur 4URO de la bactérie à gram positif *S. aureus* qui ont interagi avec le ligand de la pénicilline sont: Val82, Glu25, Arg154, Asp28 (**Figure 25**). Les







Chapitre 5 : Résultats et discussion

différentes caractéristiques énergétiques et les propriétés physicochimiques des interactions entre la protéine et le ligand sont résumés dans le tableau suivant :

Table 8 : Interactions entre les ligands et le récepteur (4URO).

Polyphénols présents dans l'extrait acétate d'éthyle	Score (kcal/mol)	Arg A :154	Glu A :25	Asp A :32	Ile A :61	Arg A :59	Gly A :81	Glu A :33	Gly A :83	Ile A :11	Gly A :58	Ile A :77
Hespéridine	-7.941	-	-	-	++	+++	-	+	-	-	-	-
Lutéoline-7-glucoside	-7.681	++	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Quercétine	-7.678	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigétrine	-7.645	-	++	++	+	-	++	-	+	-	-	-
Quercitrine	-7.598	-	-	+	++	+	-	+	-	-	-	-
Hypéroside	-7.473	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigénine	-7.471	-	-	+	++	-	-	+	-	-	-	-
Acidechlorogénique	-6.798	+	+	++	-	-	+	-	+	-	-	-
L'antibiotique de référence: Pénicilline	-6.704	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lutéoline	-6.660	++	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Astragaline	-6.587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rutine	-6.340	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Acideprotocatéchique	-5.926	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Chapitre 5 : Résultats et discussion

	Van der Waals		Pi-Cation
	Pi-Donor Hydrogen Bond		Pi-Sigma
	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Alkyl

Avec la bactérie à gram positif *Staphylococcus aureus*, nous avons également utilisé DockThor Server pour faire le docking de 13 ligands (la pénicilline et 12 composés phénoliques) avec le récepteur 4URO de la bactérie *Staphylococcus aureus* pour déterminer la molécule responsable de l'activité antibactérienne dans le cas des bactéries à Gram-positif, le tableau ci-dessus résume les résultats que nous avons obtenus.

Nous avons remarqué que la hespéridine est le meilleur ligand qui interagit avec le récepteur bactérien avec l'énergie d'interaction la plus basse = -7.941kcal /mol par rapport à la pénicilline avec une énergie d'interaction= -6.704 kcal /mol.

Nous pouvons donc prédire que la hespéridine pourrait être de la molécule responsable de l'activité antibactérienne de l'extrait acétate d'éthyle sur les bactéries à Gram positif.

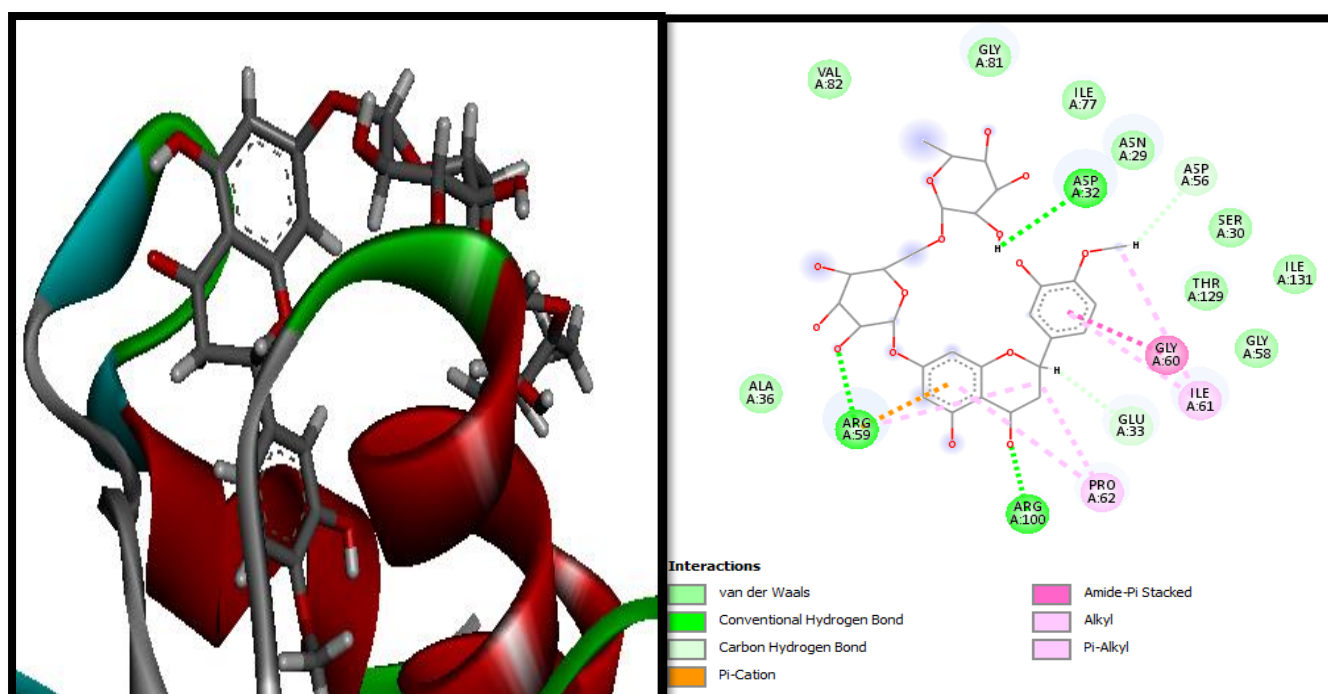


Figure 2 : La superposition de la molécule hespéridine et les interactions intermoléculaires dans le complexe avec 4URO.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

Le complexe 4URO-hespéridine est le plus stable par 12 liaisons impliquant les résidus : Arg59, Arg100, Pro62, Glu33, Ile61, Gly60, Asp56, Asp32 (**Figure 26**).

Dans ce cas de figure, nous remarquons que les interactions moléculaires des deux molécules : l'Hespéridine et l'antibiotiques de référence la Pénicilline avec le recepneur protéique 4URO de *S. aureus* sont différentes et n'ont aucun résidu en commun impliqué dans les complexe 4URO-hespéridine et 4URO-pénicilline.

Conclusion

Conclusion

Les feuilles d'*Abies numidica* sont utilisées comme remède traditionnel depuis longtemps, et les études ont montré que son extrait d'acétate d'éthyle contient des flavonoïdes, l'un des métabolites secondaires les plus importants qui possède d'importantes activités biologiques, notamment l'activité antibactérienne.

Il a également été constaté que cet extrait contient 12 molécules de flavonoïdes, et le but de notre étude est d'identifier la molécule responsable de l'activité antibactérienne par docking, et en raison de la situation sanitaire récente et catastrophique dans le monde entier, nous avons également testé l'activité antivirale de ces molécules contre le coronavirus : le SARS -CoV-2.

Pour tester l'activité antivirale des molécules flavonoïdes, nous avons utilisé la protéase principale du virus SARS-CoV-2 pour montrer l'inhibition des molécules flavonoïdes du virus par rapport à la molécule de référence le redmisivir dont l'effet sur le virus a été prouvé dans plusieurs études précédentes.

Et pour l'activité antibactérienne, nous avons choisi deux types de bactéries : *Staphylococcus aureus* gram + et *Escherichia coli* gram -, en utilisant les antibiotiques Pénicilline et Tigecycline comme des antibiotiques de références pour les deux bactéries, respectivement, pour la comparaison.

Les résultats que nous avons obtenus ont montré que les molécules de flavonoïdes ont une activité antivirale importante, en particulier l'hypéroside et la quercitrine, qui présentent de fortes interactions et une bonne affinité de liaison avec la protéase principale du virus et ont une énergie de -8,8 kcal/mol par rapport à la molécule de Redmisivir, qui a une énergie de -7,70 kcal /mol. Il est important de mentionner qu'elles sont les molécules les plus abondantes d'un point de vue quantitatif dans l'extrait.

Pour l'activité antibactérienne, d'après les résultats que nous avons obtenus, la molécule Lutéoline-7-glucoside est responsable de l'activité antibactérienne contre *Escherichia coli* à gram négatif, elle a de fortes interactions avec la protéine 4PRV de ce type de bactéries et a la plus faible énergie à -9.109 kcal/mol par rapport à l'antibiotique Tigecycline, qui a une énergie de -9,027 kcal/mol.

Pour la *Staphylococcus aureus* à gram positif, la plupart des molécules ont montré une meilleure activité antibactérienne que la Pénicilline et de fortes interactions avec la protéine

Conclusion

4URO, en particulier la molécule d'Hespéridine, qui a montré la plus faible énergie parmi les molécules qui est égale à -7.941 kcal/mol, et c'est donc probablement la molécule responsable de cette activité en comparaison avec la molécule de référence qui a une énergie d'interaction= -6.704 kcal /mol.

En perspectives, il conviendrait donc d'extraire spécifiquement ces biomolécules à partir des feuilles du sapin de Numidie et de les tester de nouveau sur le plan *in vivo* pour confirmer leur effet sur le coronavirus et les bactéries également. Et pourquoi pas développer des médicaments antiviraux et antibiotiques naturels sans effets néfastes sur la santé humaine par rapport à leurs analogues synthétiques.

Références Bibliographiques

(1) Melle HAMDAOUI Narimane & Melle HEDOUD Hadjer. Evaluation de quelques activités biologiques d'extrait préparé à partir de la plante *Plantago albicans* L d'El Oued. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Master. Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED.

(2) NAILI Oumaima. Effet des extraits de *Abies numidica* de Lannoy sur la croissance et sur la microflore caecale et fécale des poussins de chair. . Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

(3) Mme HACHI-ILLOUL Malika. Variabilité morpho-anatomique, diversité génétique, potentiel de régénération et efficacité de la production grainière du sapin de Numidie (*Abies numidica* De Lannoy) en plantation (cas de Serraidi (Annaba)). . Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Doctorat .Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou.

(4) Negreche Soumia et Benattia Ahlem. Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits du *Juniperus oxycedrus*. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Master. Université Mouhamed Boudiaf.

(5) Ozenda, 1964 : Biogéographie végétale. Ed. Dion.P, 33-35.

(6) Semerikova, S. A., Khrunyk, Y. Y., Lascoux, M., & Semerikov, V. L. 2018. From America to Eurasia: a multigenomes history of the genus *Abies*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 125, 14–28. doi:10.1016/j.ympev.2018.03.009.

(7) Quezel P, 1998 : Diversité et répartition des sapins sur le pourtour méditerranéen. *Forêt Méditerranéenne*, 97.

(8) Quezel P. 1985 : Les Sapins des pourtours méditerranéens. *For. Médit*, 27-34.

(9) Kolai L, 1986 : La sapinière d'*Abies numidica* dans le mont Bobor. *Ann.Rech.For, INRF Bainem (Algérie)*, 86.

(10) Barbey, A, 1934. Une relique de la sapinière méditerranéenne: Les monts Babors. *Librairie Agricole de la maison rustique, Paris*.

(11) Quezel P. 1956. Contribution à l'étude des forêts à feuilles caduques d'Algérie. *Mémoires de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*, 1, 1-49.

(12) Tlili-Ait Kaki Y., Bennadja S., Abdelghani D. 2012. The Therapeutic Importance of Products Extracted from the Fir Tree of Numidia (*Abies numidica*) and Research on its Antibacterial Activity. Kastamonu University, Journal of Forestry Faculty.

(13) Ramdani M., Lograda T., Chalard P., Figueredo G. 2014 .Chemical and antimicrobial properties of essential oils of *Abies numidica*, endemic species of Algeria. International Journal of Phytopharmacology.

(14) Tlili-Ait Kaki, Y., Bennadja, S., & Chefrou, A. 2013. Revalorisation d'une essence endémique: le sapin de Numidie (*Abies numidica*). Flora Mediterranea, 23, 123-129

(15) Vishnoi, S.P., Ghosh, A.K., Debnath, B., Samanta, S., Gayen, S., and Jha, T., 2007. Antibacterial activity of *Abies webbianna*. Fitoterapia. 78:153–155.

(16) Aoyama, M., and Doi, S., 1992. Antifungal activities of wood extractives of todomatsu, *Abies sachalinensis* Masters against pathogenic fungi causing turfgrass diseases. Mokuzai Gakkaishi. 38:101–105.

(17) Nayak, S.S., Ghosh, A.K., Srikanth, K., Debnath, B., and Jha, T., 2003. Antitussive activity of *Abies webbiana* Lindl. leaf extract against sulphur dioxide-induced cough reflex in mice, Phytother Res. 17:930–932.

(18) Kim, H.J., Choi, E.H.,and Lee, I.S., 2004. Two lanostane triterpenoids from *Abies koreana*. Phytochemistry. 65: 2545– 2549.

(19) Nayak, S.S., Ghosh, A.K., Debnath, B., Vishnoi, S.P., and Jha, T., 2004. Synergistic effect of methanol extract of *Abies webbiana* leaves on sleeping time induced by standard sedatives in mice and anti-inflammatory activity of extracts in rats. J, Ethnopharmacol. 93:397–402.

(20) Fujita, T., Sezik, E., Tabata, M., Yesilada, E., Honda, G., Takeda, Y., Tanaka, T., and Takaishi, Y, 1995. Traditional medicine in Turkey. VII. Folk medicine in middle and west Black Sea regions, Econ Bot. 49:406–422

(21) Tlili Ait Kaki, Y., Bennadja, S.,and Abdelghani, D., 2013. The Therapeutic Importance of Products Extracted from the Fir Tree of Numidia (*Abies numidica*) and Research on its Antibacterial Activity. Kastamonu Univ., J. Forest. Fac. Special Issue: 279-282.

- (22) Ghedbane, M., Bounar, R., Khellaf, R., Medjekal, Samir. Belhadj, H., Benderradji, L., Smaili, T., and Harzallah, D., 2016. Antioxidant and antimicrobial activities of endemic tree *Abies numidica* growing in Babor Mountains from Algéria. *Global Journal of Research on Medicinal Plants and Indigenous Medicine*. 2277-4289.
- (23) Belhaj Mostafa, M., Abedini, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Gangloff, S.C., Kabouche, A., and Kabouche, Z., 2016. Abietane diterpenes from the cones of *Abies numidica* de lannoy ex carrier (Pinaceae) and *in vitro* evaluation of their antimicrobial properties. *Natural Product Research*, 1478-6419.
- (24) Djamila Benouchenne, Ines Bellil, Salah Akkal, Chawki Bensouici, Douadi Khelifi. 2020. LC-MS/MS analysis, antioxidant and antibacterial activities of Algerian fir (*Abies numidica* de LANNON ex CARRIÈRE) ethylacetate fraction extracted from needles. *Journal of King Saud University – Science* 32 (2020) 3321–3327. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.09.017>
- (25) Benouchenne, D., Bellil, I., Akkal, S. and Khelifi, D. 2021. Investigation of phytochemical and evaluation of antioxidant and antibacterial activities from *Abies* extract. *The Scientific Journal of King Faisal University: Basic and Applied Sciences*, 22(2), 26–32. DOI: 10.37575/b/sci/210009
- (26) Ahmed, E., Arshad, M., Khan, M.Z., Amjad, M.S., Sadaf, H.M., Riaz, I., et al. 2017. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*
- (27) Bell E. A. 1980: The physiological role(s) of secondary (natural) products.
- (28) Karlovsky, P. 2008. Secondary metabolites in soil ecology. In: Karlovsky, P. (ed). *Soil biology secondary metabolites in soil ecology*. Springer-Verlag-Heidelberg. P2
- (29) Goldberg G. 2003. *Plants: diet and health*. The report of a British nutrition foundation task force. Oxford, U.K.: Blackwell Publishing Ltd.
- (30) Mazid M, Khan TA, Mohammad F. 2011 Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*; 3(2):232-249.
- (31) Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris.

- (32) Psotova, J., Lasovsky, J., Vicar, J., 2003. Metal chelating properties. electrochemical behavior. scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolic. Biomed. 174-153 p.
- (33) Guignard, J.L., 1996. Abrégé de biochimie végétale. Ed. Masson. Paris.
- (34) Malagas, D., 1992. Arbres et arbustes guérisseurs des savanes Maliennes. ACCT - Karthala.
- (35) Pandey, K.B., and Rizvi, S.I., 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. P 270-278.
- (36) Ribereau-Gayon, J., 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Traité d'œnologie. Edition Dunod. Paris. 254 p.
- (37) Cronquist, A. 1988, An integrated System of Classification of Flowering Plants, 2nd ed. New York, Botanical Garden.
- (38) Dean, F.M., 1963. Naturally occurring Oxygen Ring Compounds. Butterworths. Londres.
- (39) Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. Lavoisier, Paris. 1120 p.
- (40) Dean, F.M., 1963. Naturally occurring Oxygen Ring Compounds. Butterworths. Londres.
- (41) Middleton, E., Kandasami, J.C., 1993. The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London.
- (42) Medic-Sanic, M., Jasprica, I., Smolic-Bubalo, A., Mornar, A., 2004. Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. Croatica chemica acta.
- (43) Hemingway, R.W., 1992. Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In : Plant polyphenols: synthesis, properties, significance. Hemingway R W, Laks P. E. New York.
- (44) Eyong, K. O., Kuete, V., & Efferth, T. 2013. *Quinones and Benzophenones from the Medicinal Plants of Africa. Medicinal Plant Research in Africa, 351–391.* doi:10.1016/b978-0-12-405927-6.00010-2.
- (45) Sparg, S. G.; Light, M. E. van Staden, J. 2004, Biological activities and distribution of plant saponins. J. Ethnopharmacol , 94, 219-243.

- (46) G Caulier, E Parmentier, G Lepoint, I Eeckhaut. 2011. Étude sur la diversité des saponines parmi les holothuries de la famille des holothuroïdes (Holothuriidae).
- (47) Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris. 1120p.
- (48) Harborne, J.B., 1998. Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Springer. Netherlands. 302p.
- (49) KRIEF., S. 2003. Surveillance Sanitaire et Observations de L'alimentation de Chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) En Ouganda Activités Biologiques et Etude Chimique de Plantes Consommées, thèse de Doctorat, Université .348P.
- (50) A. BOURGEADE , B. DAVOUST, H. GALLAIS,1992. DES MALADIES ANIMALES AUX INFECTIONS HUMAINES. Médecine d'Afrique Noire(3).
- (51) Khazeei Tabari, M., Iranpanah, A., Bahramsoltani, R. and Rahimi, R., 2021. Flavonoids as Promising Antiviral Agents against SARS-CoV-2 Infection: A Mechanistic Review. Molecules, 26(13), p.3900.
- (52) Wang M, Cao R, Zhang L, et al. 2020. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*. Cell Res. 30(3):269-271.
- (53) Williamson BN, Feldmann F, Schwarz B, et al. 2020. Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. Nature.
- (54) Nascimento, G.G.; Locatelli, J.; Freitas, P.C.; Silva, G.L. . 2000, Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Braz. J. Microbiol31, 247–256
- (55) Zampini, M.; Spence, C. 2005, Modifying the multisensory perception of a carbonated beverage using auditory cues. Food Qual. Pref., 16, 632–641.
- (56) OUELLETTE, M., DRUMMELSMITH, J., & PAPADOPOULOU, B. 2004. Leishmaniasis: drugs in the clinic, resistance and new developments. Drug Resistance Updates, 7(4-5), 257–266. doi:10.1016/j.drug.2004.07.002
- (57) Drewnowski, A. and Gomez-Carneros, C. 2000. Bitter Taste, Phytonutrients, and the Consumer: A Review. American Journal of Clinical Nutrition, 72, 1424-1435.

(58) Karou F.D., Dicko M.H., Simporé J., Traore A.S. 2004. Comparative Studies of the Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Cashew Leaf, Bark and Fruits Extracts Kastamonu University, Journal of Forestry Faculty, 283-28

(59) Choi, Y., Lee, S. M., Chun, J., Lee, H. B., & Lee, J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. Food Chemistry, 99(2), 381–387. doi:10.1016/j.foodchem.2005.08.004

(60) Cowan M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology.

(61) Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30, 3875-3883. doi:10.1016/0031-9422(91)83426-L

(62) Lojkowska E. et Holubovska M. 1992. The role of polyphenol oxidase and peroxidase in potato tuber resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora*. Journal of Phytopathology, 136: 319-328

(63) Dong C, Huang F, Deng H, Schaffrath C, Spencer JB, O'Hagan D, Naismith JH. Crystal structure and mechanism of a bacterial fluorinating enzyme. Nature. 2004 Feb 5;427(6974):561-5. doi: 10.1038/nature02280. PMID: 14765200.

(64) Maie, N. 2003. Changes in the structure and protein binding ability of condensed tannins during decomposition of fresh needles and leaves. Soil Biology and Biochemistry, 35(4), 577–589. doi:10.1016/s0038-0717(03)00051-8

(65) Akiyama, H. 2001. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 48(4), 487–491. doi:10.1093/jac/48.4.487

(66) Nicolas Chevrollier. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay Préparée à l'Université Paris-Sud.

(67) Martin. 2006. Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK. Thèse de doctorat d'université : bioinformatique. Montpellier. Université Montpellier2 .France.

- (68) Monge A .2006. Création et utilisation de chimiothèque optimisée pour la recherche *in silico* de nouveaux composé bioactif. Thèse de doctorat d'université : chimie informatique et Théorique. Orléans : université Orléans .France.
- (69) Nicolas Chevrollier. 2019. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Biologie structurale [q-bio.BM]. Université Paris-Saclay, Français. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02436914>.
- (70) Attaf Dalila.Résolution du Docking Moléculaire: Le prototype API-Dock.
- (71) François Martz. 2014. Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques. Thèse de doctorat d'Université PARIS SUD.
- (72) Mathieu Volland. Le 3 avril 2017.Algorithmes pour la prédiction *in silico* d'interactions par similarité entre macromolécules biologiques. Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay préparée à l'Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines. École doctorale n°580 Sciences et Technologies de l'Information et de la communication (STIC) Spécialité de doctorat: Informatique.
- (73) El mouloud BOUCHOUKA. 2016.Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydants et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse présentée en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat en science. BADJI MOKHTAR- ANNABA UNIVERSITY UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –ANNABA.
- (74) Boudjouref Mourad. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister. Université Ferhat Abbes, Sétif.
- (75) Dominique, Henri, 2021, Covid-19: de l'insouciance au questionnement sur l'origine de SARS-CoV-2.
- (76) Estrada E. Topological analysis of SARS CoV-2 main protease. Chaos. 2020 Jun;30(6):061102. doi: 10.1063/5.0013029. PMID: 32611087; PMCID: PMC7286701.
- (77) Zhang L, Lin D, Sun X, Curth U, Drosten C, Sauerhering L, Becker S, Rox K et Hilgenfeld R, Crystal Structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved alpha-ketoamide inhibitors, Science (24) 409-412.

(78) Kong, R., Yang, G., Xue, R., Liu, M., Wang, F., Hu, J., ... Chang, S. (2020). COVID-19 Docking Server: A meta server for docking small molecules, peptides and antibodies against potential targets of COVID-19. *Bioinformatics*. doi:10.1093/bioinformatics/btaa645

Web graphie :

(Wp1) : https://fr.wikipedia.org/wiki/Sapin_de_C%C3%A9phalonie.

(Wp2) : https://www.plantes-botanique.org/genre_abies.

(Wp3) : <https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/botanique-aire-repartition-6103>.

(Wp4) : https://fr.wikipedia.org/wiki/Aire_de_r%C3%A9partition_Cayenne,_25-29_Janvier_2010.

(Wp5) : http://fr.wikipedia.org/wiki/Abies_numidica.

(Wp6) : <https://www.britannica.com/science/quinone>.

(Wp7) : <https://www.analytice.com/dosage-des-saponines-en-laboratoire/>.

(Wp8) : <https://www.ameli.fr/assure/sante/medicaments/antibiotiques-antiviraux/antibiotiques-antiviraux>.

(Wp9) : <https://covid19.who.int/>.

(Wp10) : <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/>.

(Wp11) : <https://pd bj.org/>.

(Wp12) : <https://www.rcsb.org/>.

(Wp13) : <https://bmr b.io/>.

(Wp14) : <https://wiki.ubuntu.com/kmez houd/Bioinformatics?action=AttachFile&do=get&target=docking.pdf>.

(Wp15) : https://ressources.unisciel.fr/_reste_a_valider/drug_design/co/docking.html.

(Wp16) : [https://fr.wikipedia.org/wiki/R%C3%A9cepteur_\(biochimie\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/R%C3%A9cepteur_(biochimie)).

(Wp17) : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Ligand_ \(biologie\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Ligand_(biologie)).

(Wp18) : <https://www.rcsb.org/structure/4PRV>.

(Wp19) : <https://www.rcsb.org/structure/4URO>.

(Wp20) : <http://openmopac.net/>.

(Wp21) : <https://www.semanticscholar.org/paper/DockThor-2-.0-%3A-a-Free-Web-Server-for-Virtual-Guedes-Krempser/4b9eb90fdcc7193358c6b214def17eb490896b10>.

Annexes

Annexes

Annexe 1. Heat of formation, total energy, HOMO and LUMO énergies des molécules en utilisant la méthode pm6

Molécules	PM6 HEAT_OF_FORMATION	PM6 TOTAL_ENERGY	HOMO	LUMO	DIPOLE MOMENT
Hespéridine	-555.050	-8262.07	-8.824	-0.968	5.55501
Acide protocatéchique	-138.434	-2104.17	-9.519	-1.02	6.51218
Acide chlorogénique	-338.941	-4826.99	-9.153	-1.049	4.72742
Lutéoline-7-glucoside	-373.984	-6048.01	-9.226	-1.233	3.70783
Hypéroside	-413.841	-6339.45	-9.458	-1.396	8.09836
Rutine	-571.958	-8375.88	-9.441	-1.329	6.04858
Apigétrine	-342.234	-5756.92	-9.578	-1.064	4.66682
Quercitrine	-379.857	-6048.26	-9.219	-1.31	5.67333
Astragaline	-372.124	-6047.93	-9.402	-1.331	1.91677
Quercétine	-207.946	-4011.23	-8.888	-1.594	3.92795
Lutéoline	-184.543	-3720.51	-9.279	-1.37	3.59613
Apigénine	-149.236	-3429.27	-9.576	-1.155	4.77434

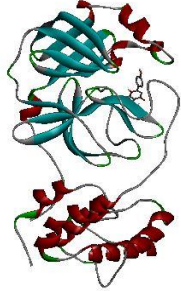
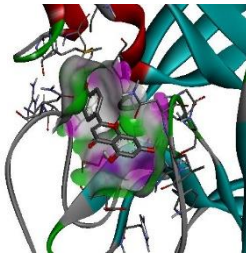
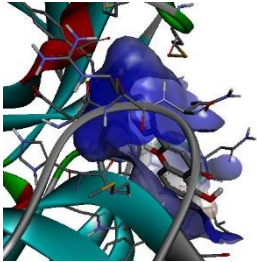
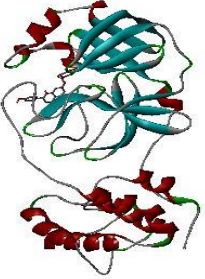
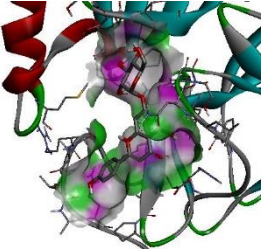
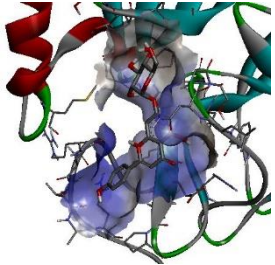
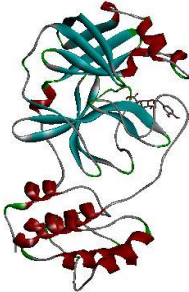
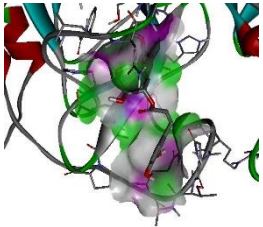
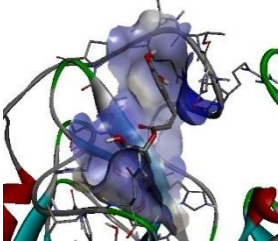
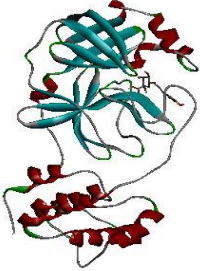
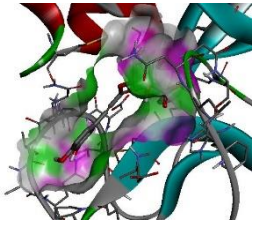
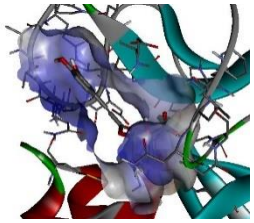
Annexes

Annexe 2. Heat of formation, total energy, HOMO and LUMO énergies des molécules en utilisant la méthode pm7

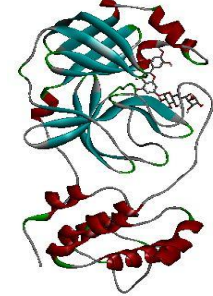
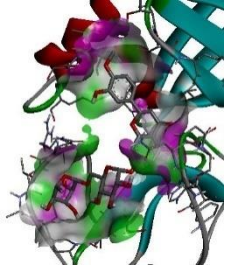
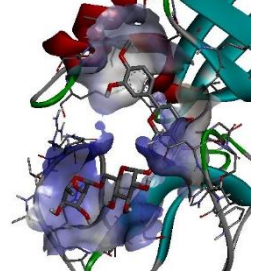
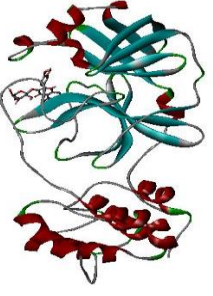
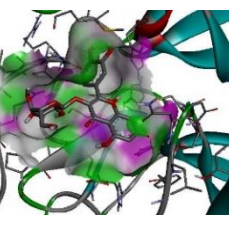
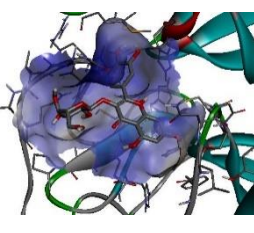
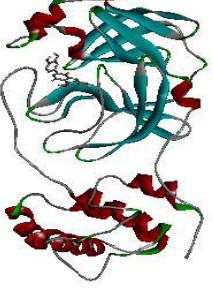
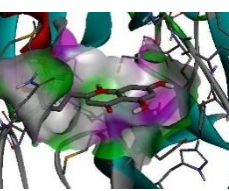
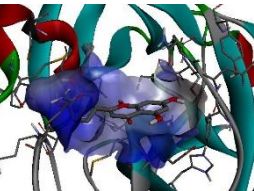
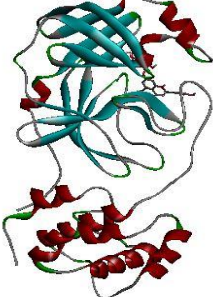
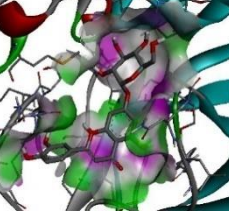
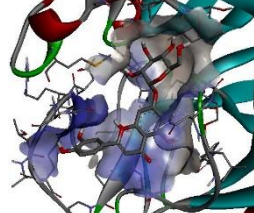
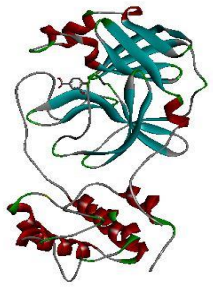
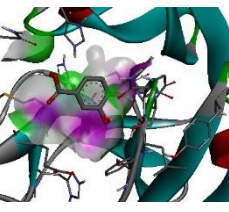
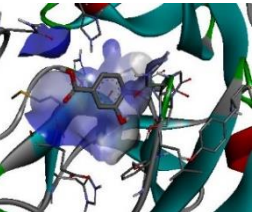
Molécules	PM7 HEAT_OF_FORMATION	PM7 TOTAL_ENERGY	HOMO	LUMO	DIPOLE MOMENT
Hespéridine	-130.009	-16460.5	-8.881	-1.107	8.69873
Acide protocatéchique	-147.941	-2581.81	-10.069	-0.859	3.67320
Acide chlorogénique	-361.488	-7769.33	-9.814	-0.703	4.26485
Lutéoline-7-glucoside	-359.832	-9602.03	-9.346	-1.635	10.8850
Hypéroside	-273.658	-13056.1	-7.141	-2.868	37.1552
Rutine	-96.4360	-18275.3	-9.010	-1.775	72.1735
Apigétrine	-366.722	-9270.48	-9.496	-1.156	10.3030
Quercitrine	-403.604	-9894.13	-9.114	-1.186	4.69881
Astragaline	+54.9924	-11645.3	-8.535	-1.403	6.59586
Quercétine	-239.679	-5675.54	-9.435	-1.031	6.84029
Lutéoline	-200.565	-5217.48	-9.361	-1.289	8.75305
Apigénine	-164.395	-4874.60	-9.784	-0.970	4.92576

Annexes

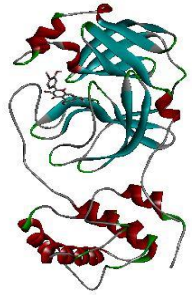
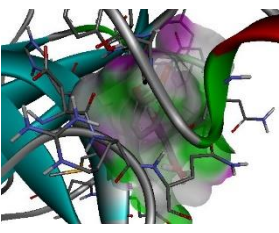
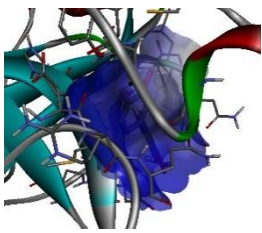
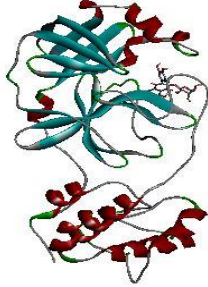
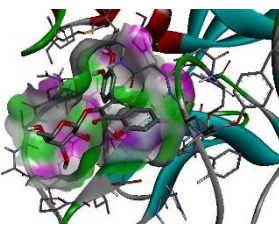
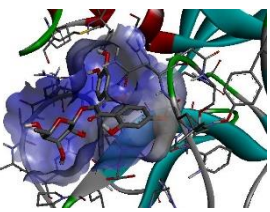
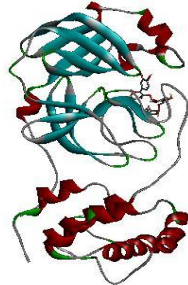
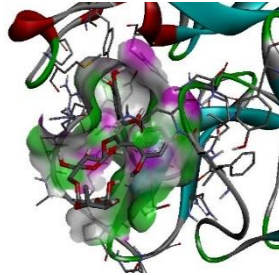
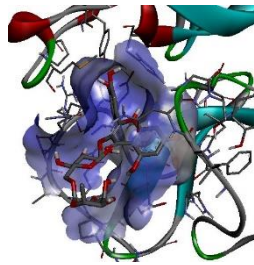
Annexe 3. Résultats du docking en utilisant la méthode PM6(Covid19)

Molécule	Molécule Docking	H-Bond	Hydrophobic
Apigénine			
Apigétrine			
Astragaline			
Acide chlorogénique			

Annexes

Hespéridine			
Hypéroside			
Lutéoline			
Lutéoline-7-glucoside			
Acide protocatéchique			

Annexes

Quercétine			
Quercitrine			
Rutine			

H-Bonds

Donor



Acceptor

Hydrophobicity

3.00

2.00

1.00

0.00

-1.00

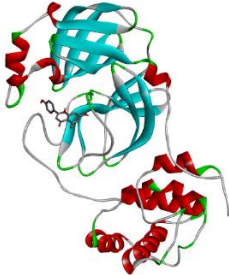
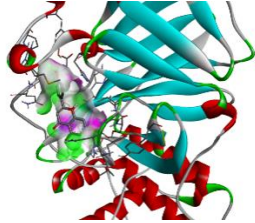
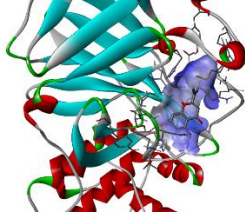
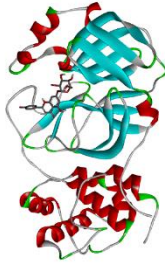
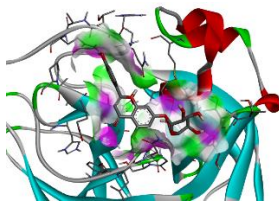
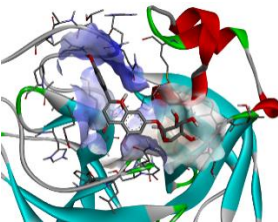

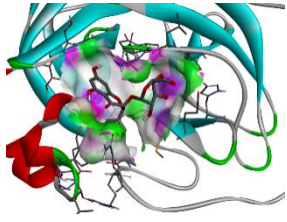
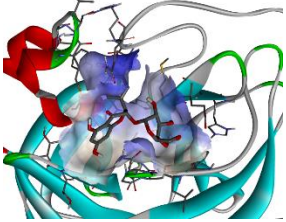
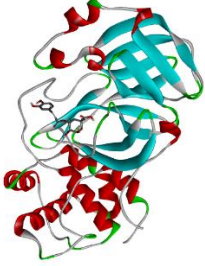
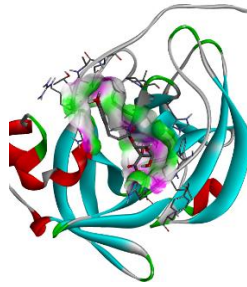
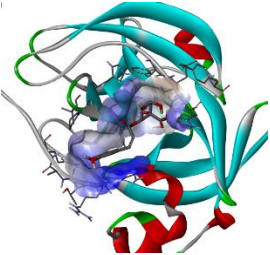
-2.00

-3.00

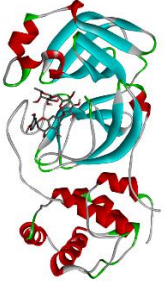
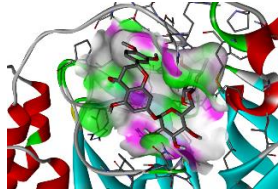
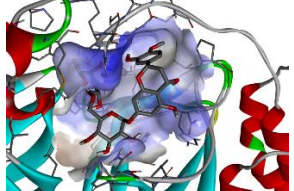
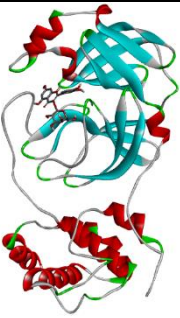
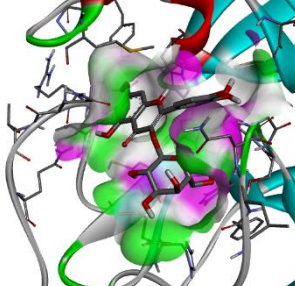
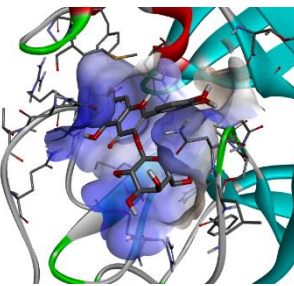
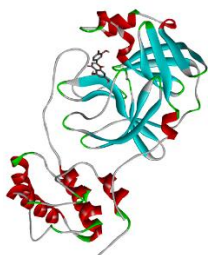
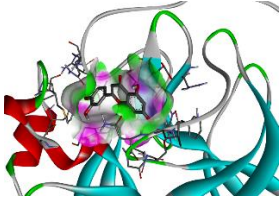
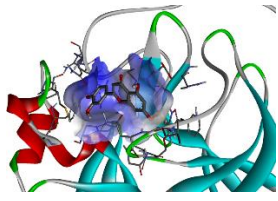
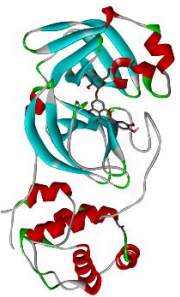
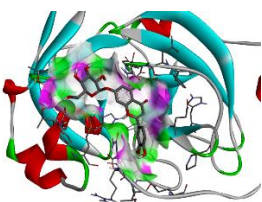
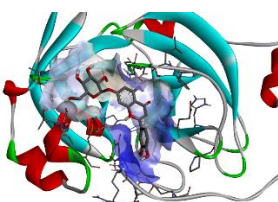
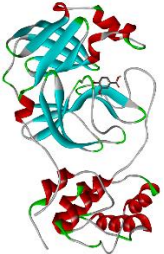
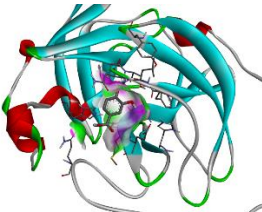
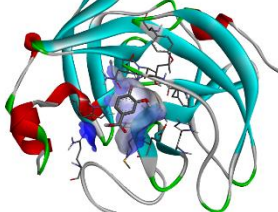


Annexes

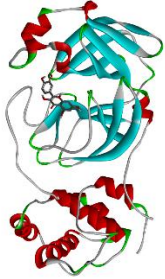
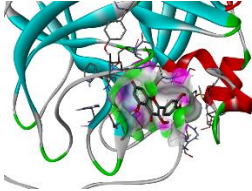
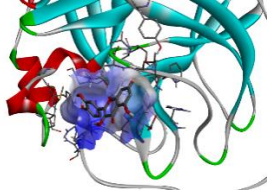
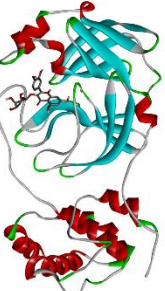
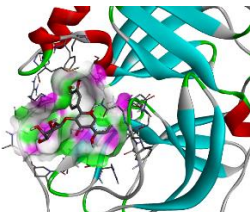
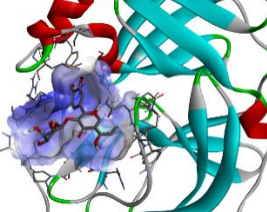
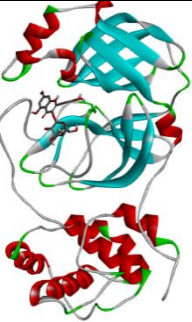
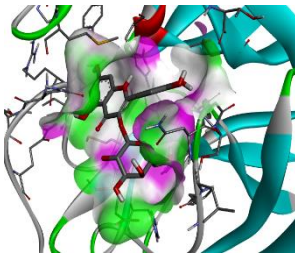
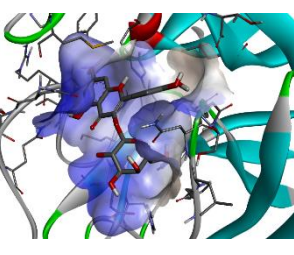
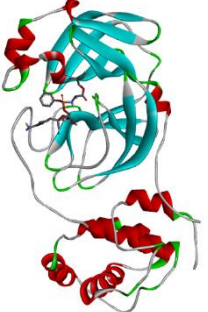
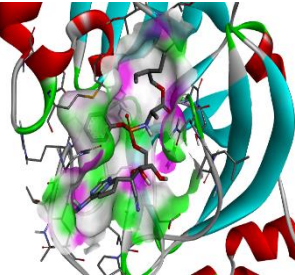
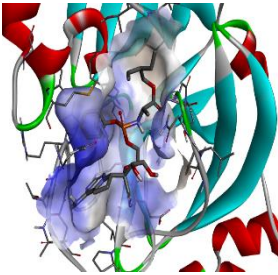
Annexe 4. Résultats du docking en utilisant la méthode PM7 (Covid19)

Molécule	Molécule Docking	H-Bond	Hydrophobic
Apigénine			
Apigétrine			
Astragaline			
Acide chlorogénique			

Annexes

Hespéridine			
Hypéroside			
Lutéoline			
Lutéoline-7-glucoside			
Acide protocatéchique			

Annexes

Quercétine			
Quercitrine			
Rutine			
Redmisivir			

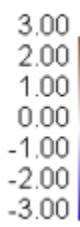
H-Bonds

Donor

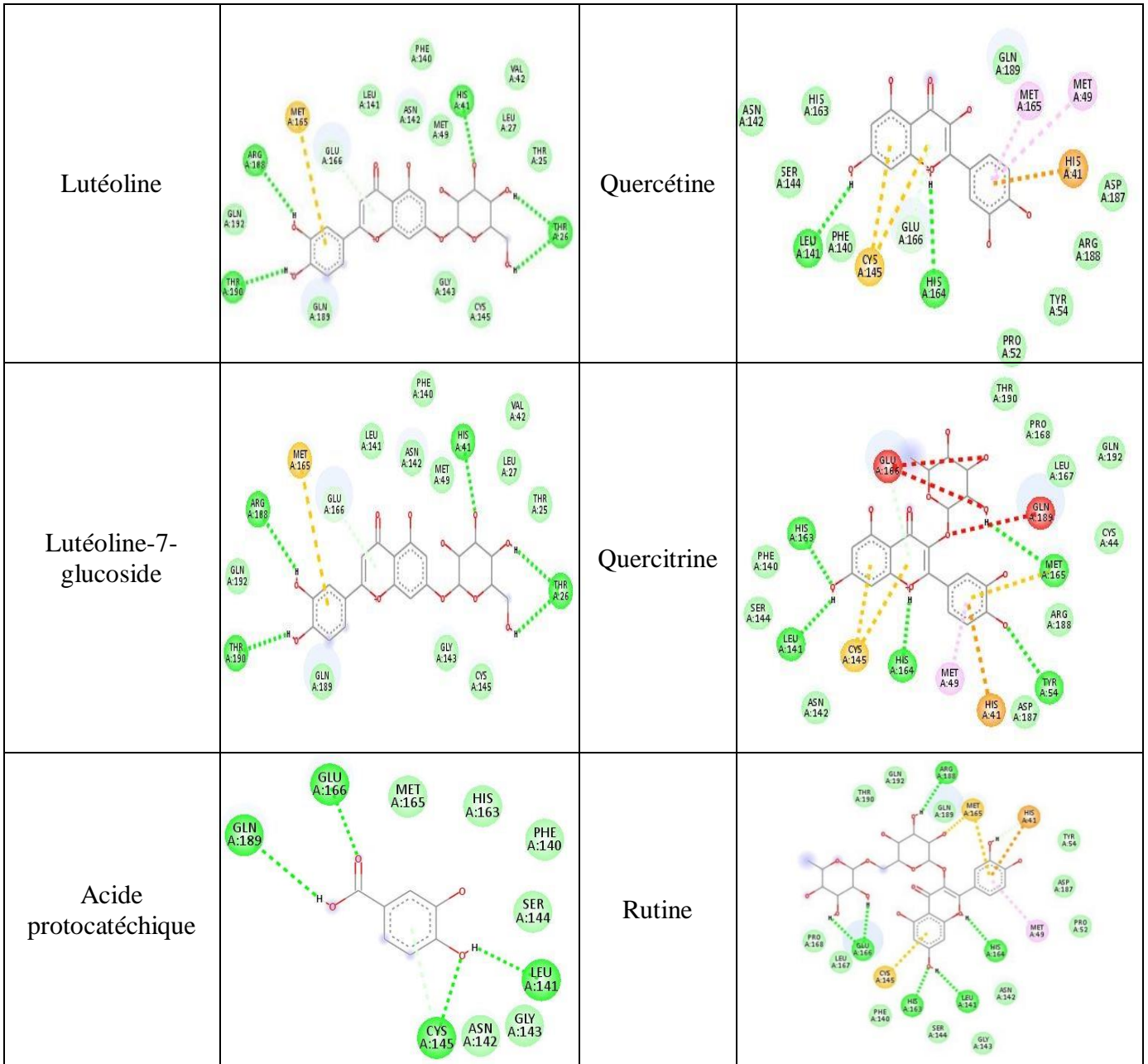
Acceptor







Hydrophobicity



Annexes



Interactions

 van der Waals	 Pi-Cation	 Pi-Sigma
 Conventional Hydrogen Bond	 Pi-Sulfur	 Pi-Pi T-shaped
 Carbon Hydrogen Bond	 Pi-Anion	 Pi-Alkyl
 Pi-Donor Hydrogen Bond	 Unfavorable Donor-Donor	 Alkyl

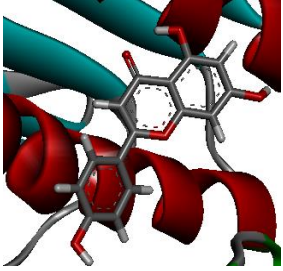
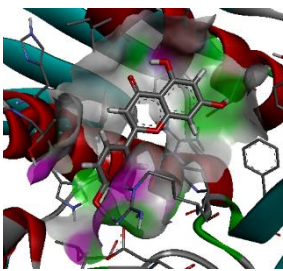
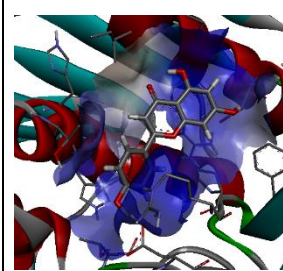
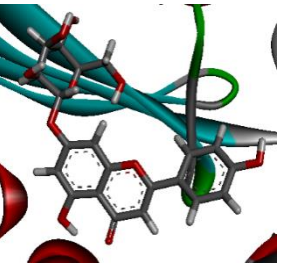
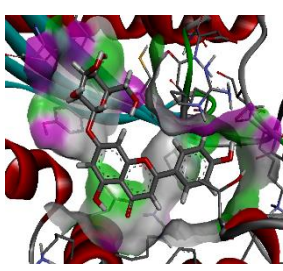
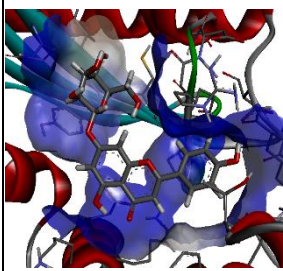
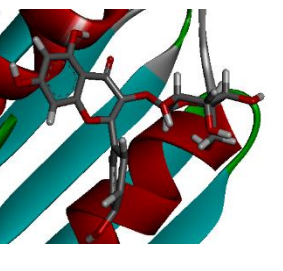
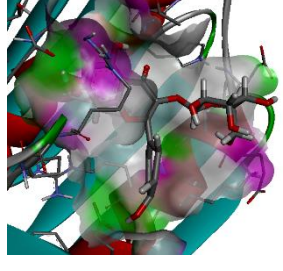
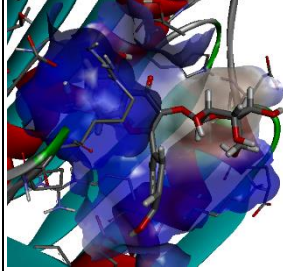
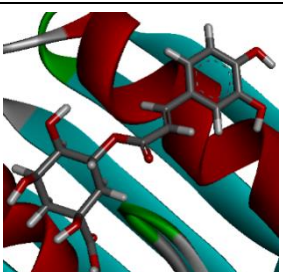
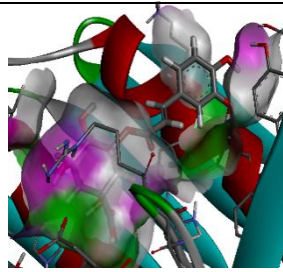
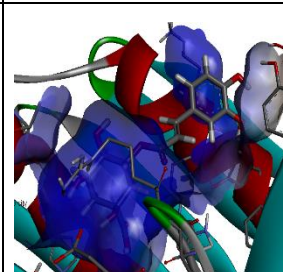
Annexes

Annexe 6. Représentation bidimensionnelle des interactions moléculaires des molécules avec la protéase principale (PM7)

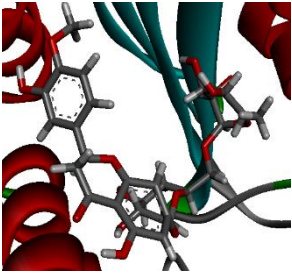
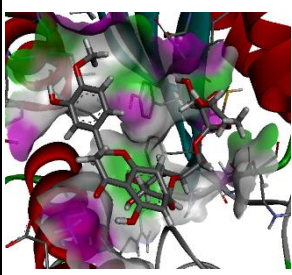
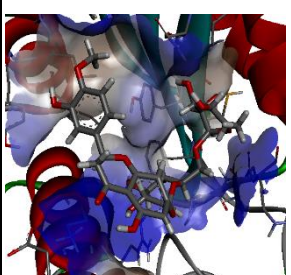
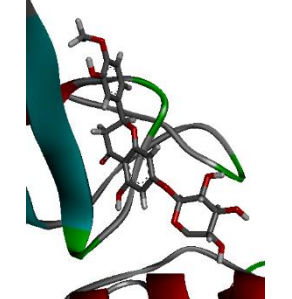
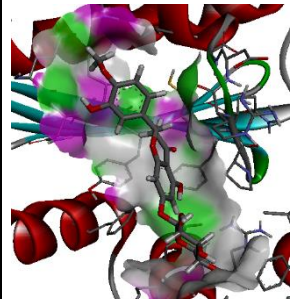
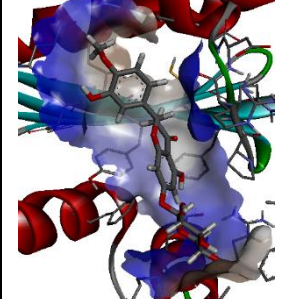
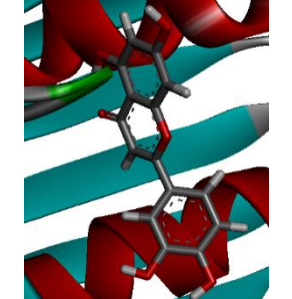
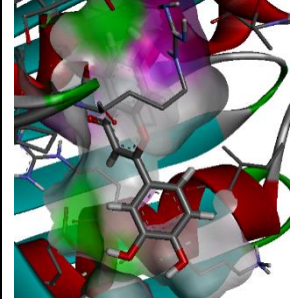
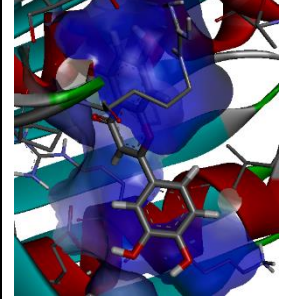
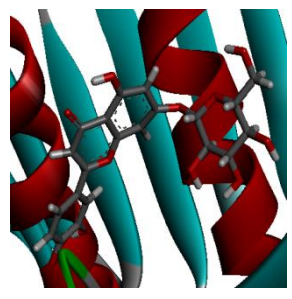
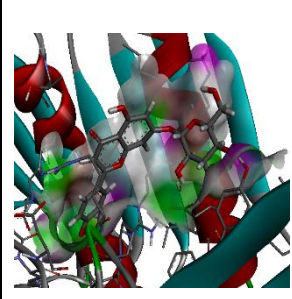
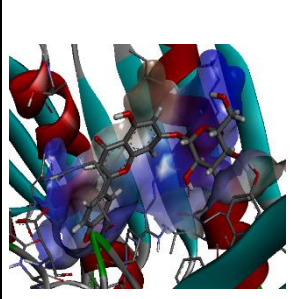
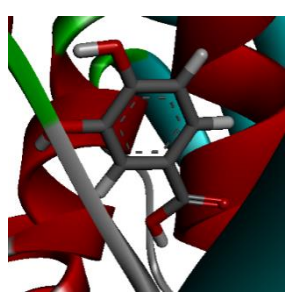
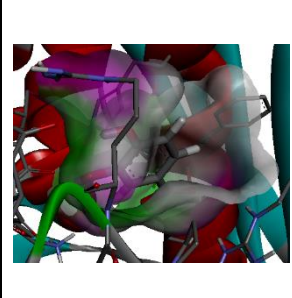
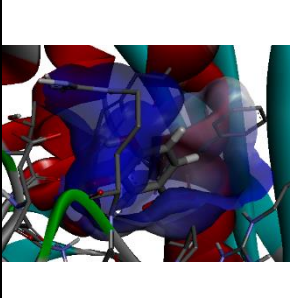
Molécule	Interactions	Molécule	Interactions
Apigénine		Acide chlorogénique	
Apigétrine		Hespéridine	
Astragaline		Hypéroside	

Annexes

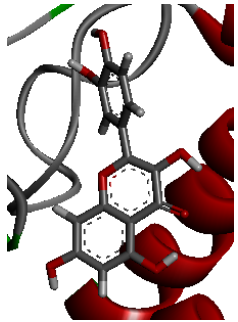
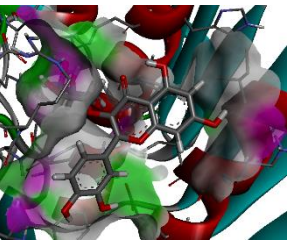
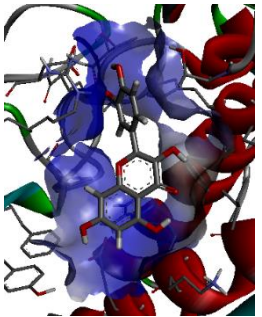
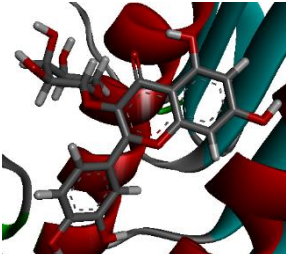
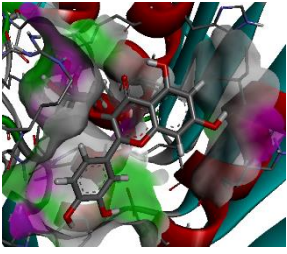
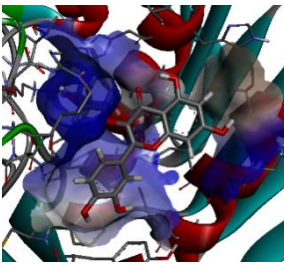
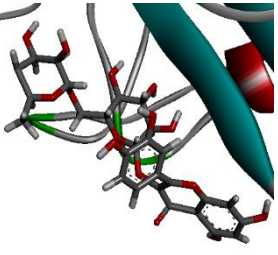
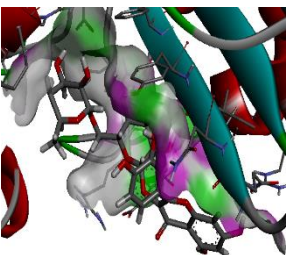
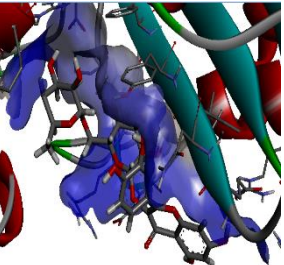
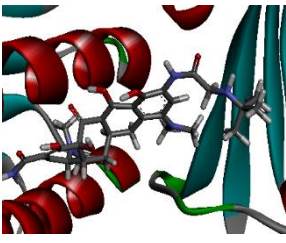
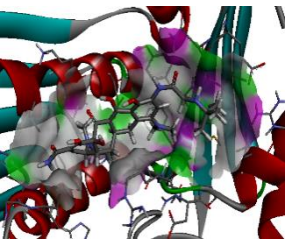
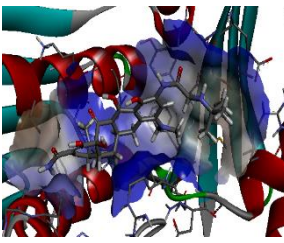
Annexe 7. Résultats du docking en utilisant la méthode PM7 (*E. coli*)

Molécule	Molécule Docking	H-Bond	Hydrophobic
Apigénine			
Apigétrine			
Astragaline			
Acide chlorogénique			

Annexes

Hespéridine			
Hypéroside			
Lutéoline			
Lutéoline-7-glucoside			
Acide protocatéchique			

Annexes

Quercétine			
Quercitrine			
Rutine			
Tigecycline			

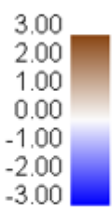
H-Bonds

Donor



Acceptor

Hydrophobicity

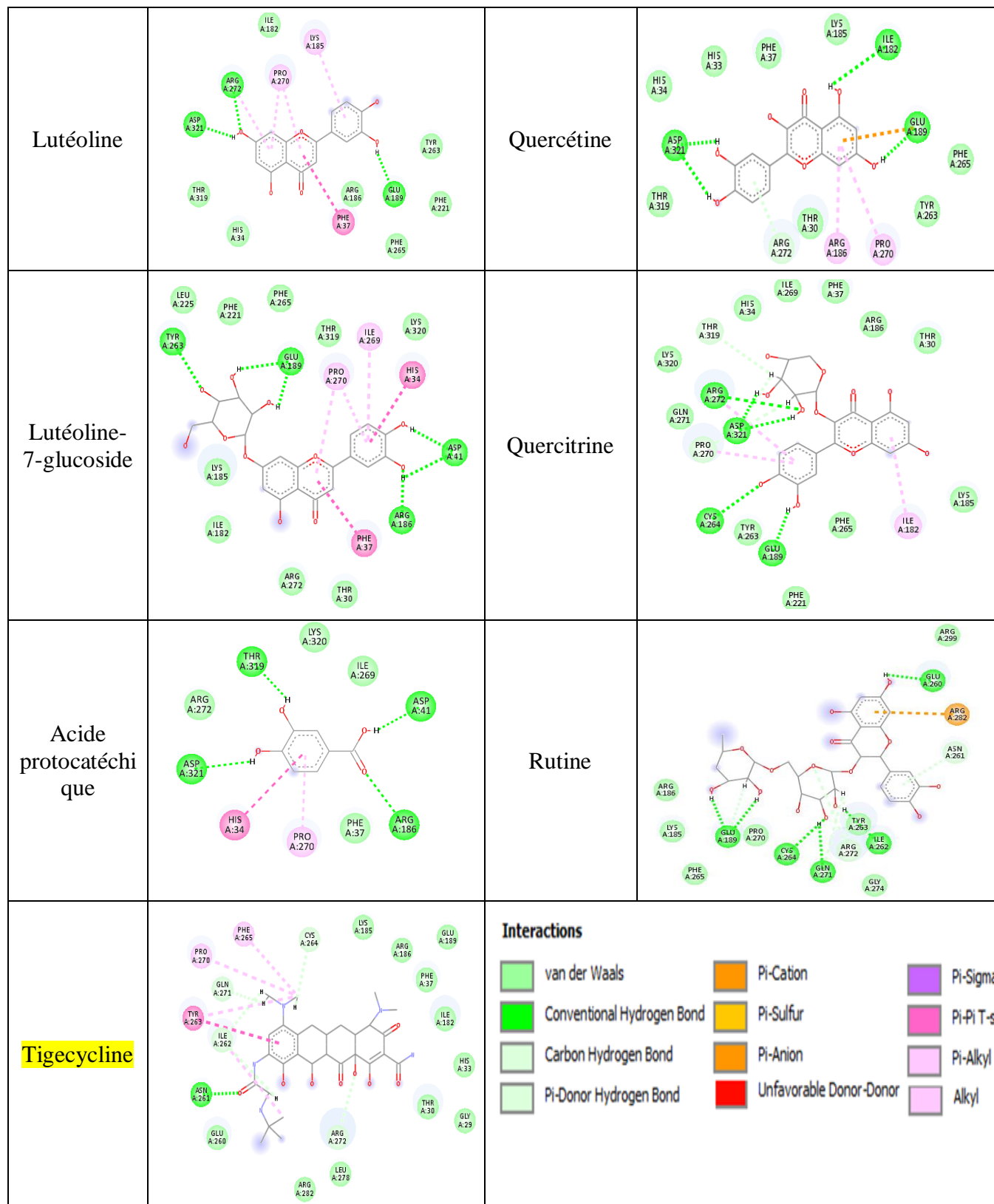


Annexes

Annexe 8. Représentation bidimensionnelle des interactions moléculaires des molécules avec la protéine 4PRV

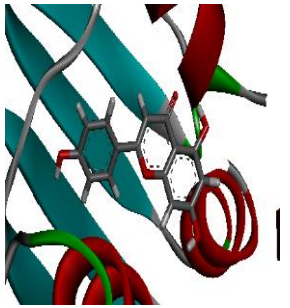
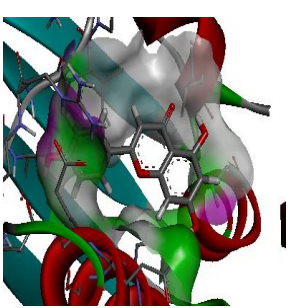
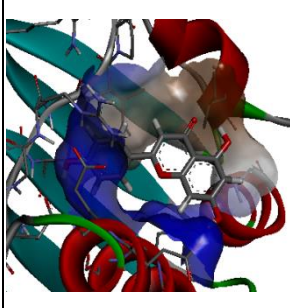
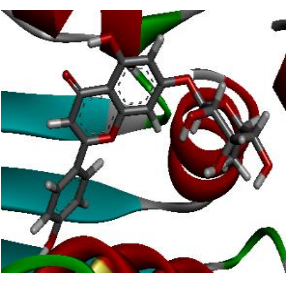
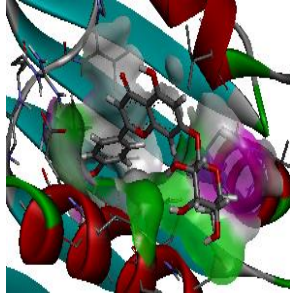
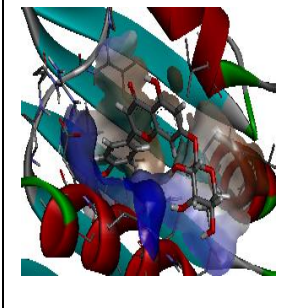
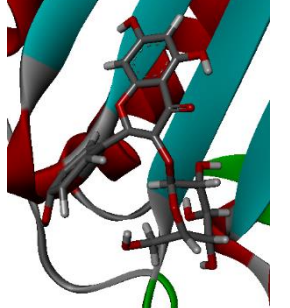
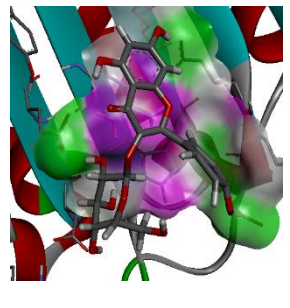
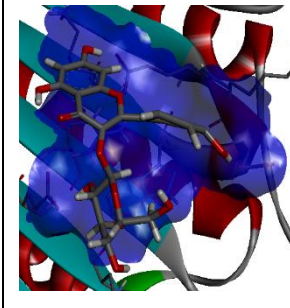
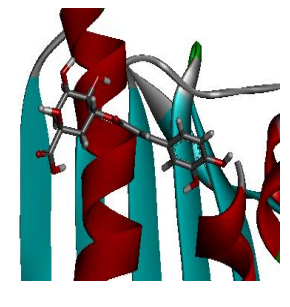
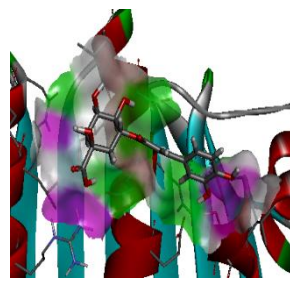
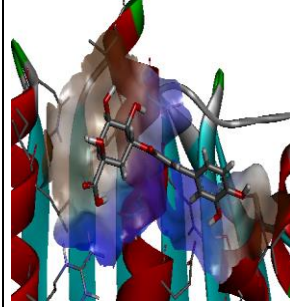
Molécule	Interactions	Molécule	Interactions
Apigénine		Acide chlorogénique	
Apigétrine		Hespéridine	
Astragaline		Hypéroside	

Annexes

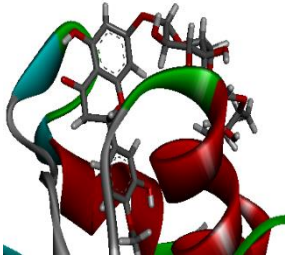
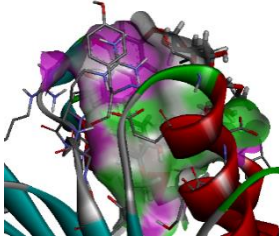
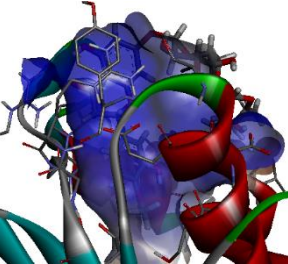
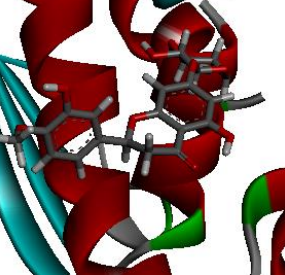
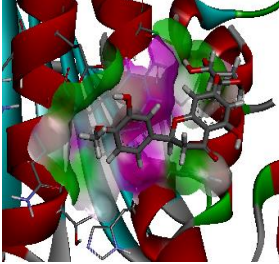
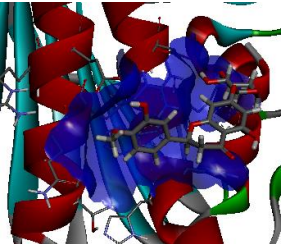
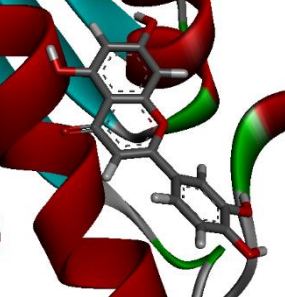
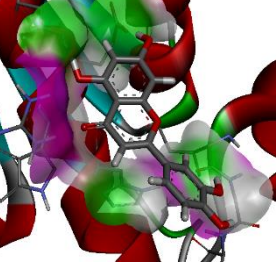
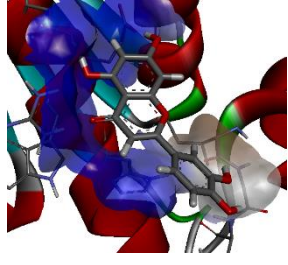
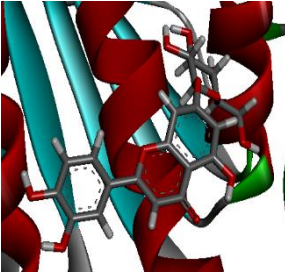
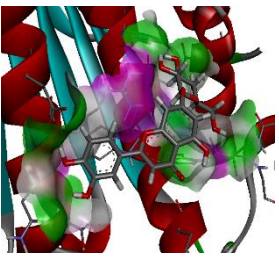
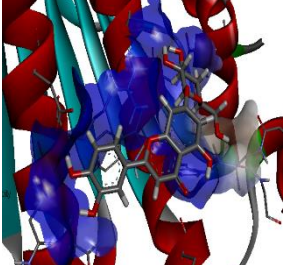
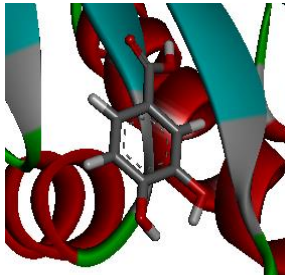
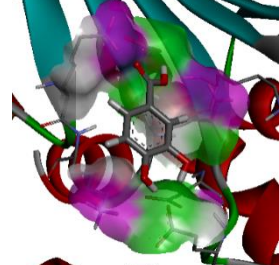
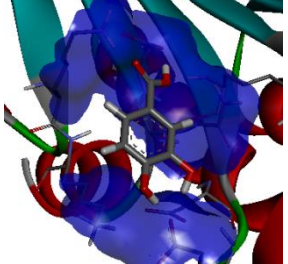


Annexes

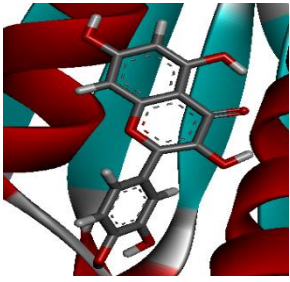
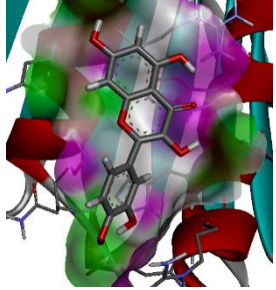
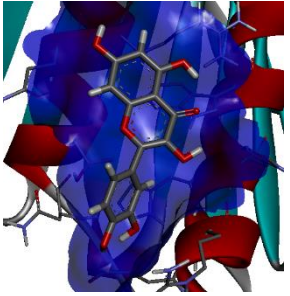
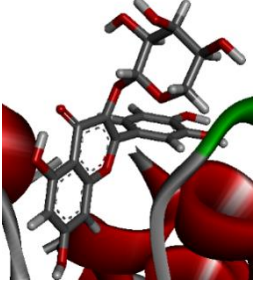
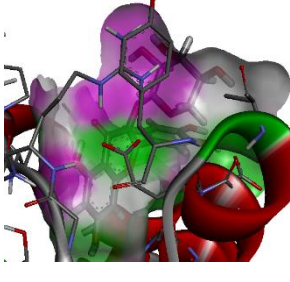
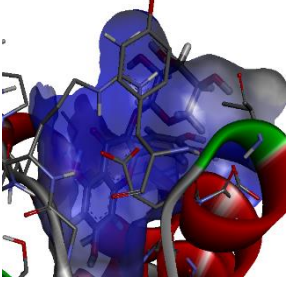
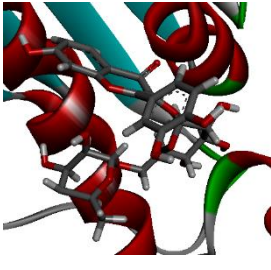
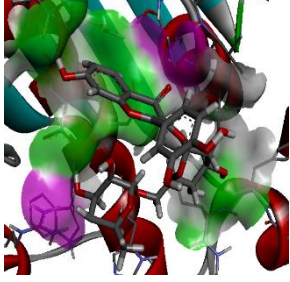
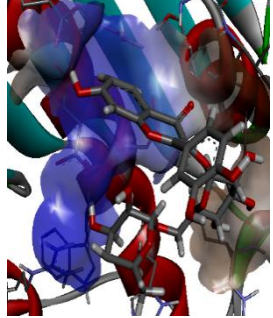
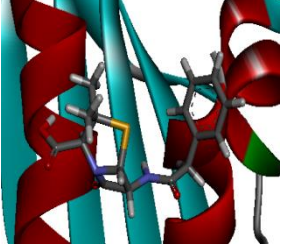
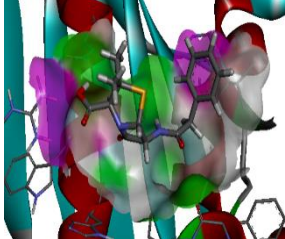
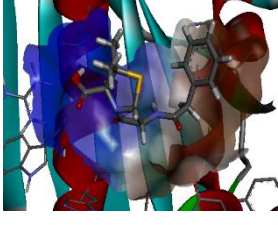
Annexe 9. Résultats du docking en utilisant la méthode PM7 (*S. aureus*)

Molécule	Molécule Docking	H-Bond	Hydrophobic
Apigénine			
Apigétrine			
Astragaline			
Acide chlorogénique			

Annexes

Hespéridine			
Hypéroside			
Lutéoline			
Lutéoline-7-glucoside			
Acide protocatéchique			

Annexes

Quercétine			
Quercitrine			
Rutine			
Pénicilline			

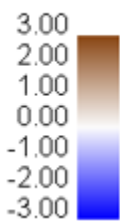
H-Bonds

Donor



Acceptor

Hydrophobicity

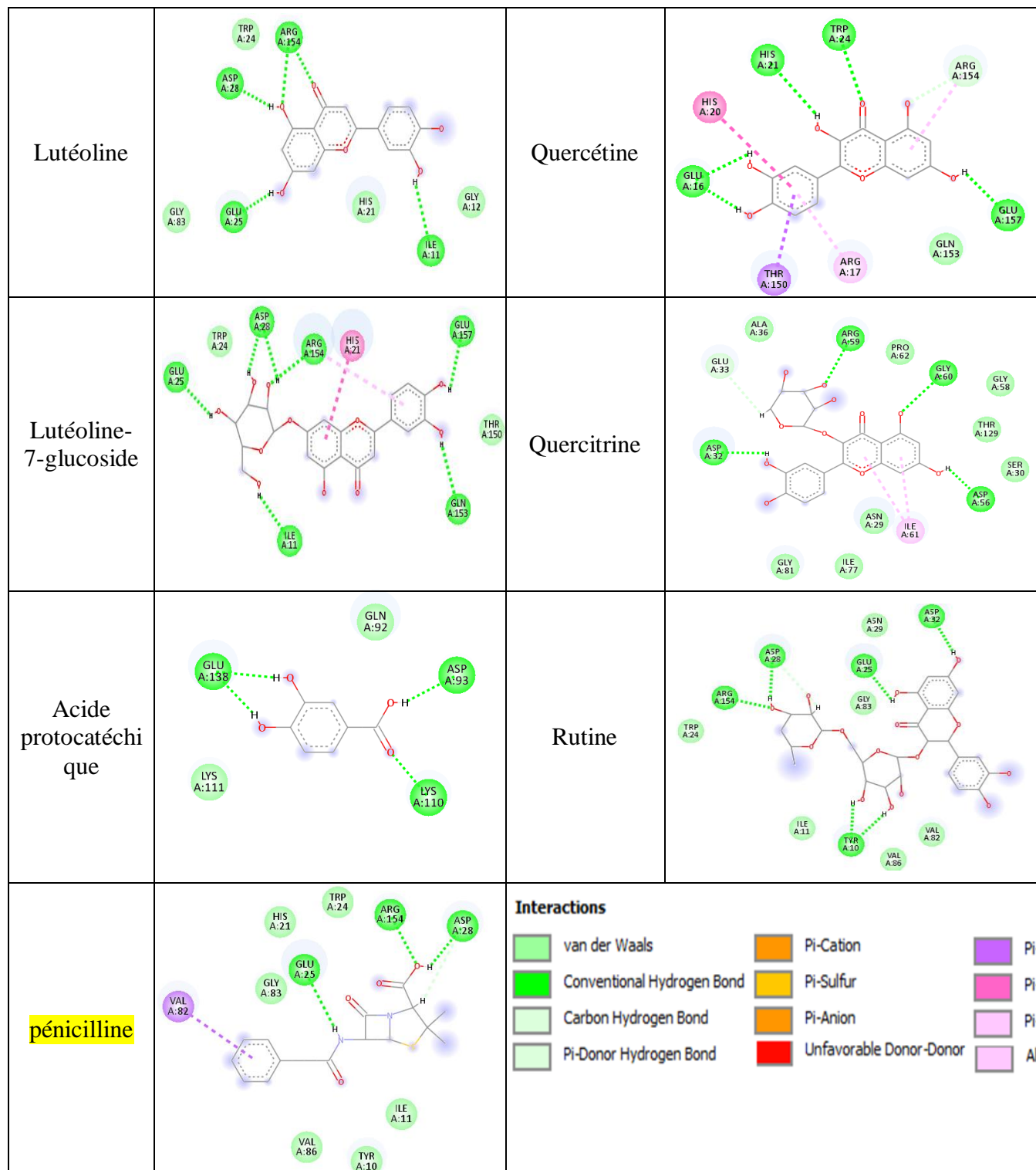


Annexes

Annexe 10. Représentation bidimensionnelle des interactions moléculaires des molécules avec la protéine 4URO

Molécule	Interactions	Molécule	Interactions
Apigénine		Acide chlorogénique	
Apigétrine		Hespéridine	
Astragaline		Hypéroside	

Annexes



Résumé

Résumé

En raison de la large application des molécules flavonoïdes en chimie médicinale et pharmaceutique, qui sont l'un des types les plus célèbres de métabolites secondaires des plantes, et après qu'il a été prouvé que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*Abies numidica* riche en flavonoïdes est caractérisé par son activité antibactérienne dans une étude précédente de Benouchenne et al (2020), notre travail est venu dans le cadre d'un bio-consulting aider dans l'identification de la ou les molécules responsable (es) de cet effet antibactérien qui sera le principe actif d'un antibiotique naturel développé à partir de cette plante en faisant intervenir les outils de la bioinformatique, cette dernière permettra un gain de temps et d'argent.

En outre, après la pandémie de Corona qui s'est propagée dans le monde au cours des deux dernières années, la recherche de ce qui inhibe le virus est devenue l'un des enjeux pharmacologiques majeurs, c'est pourquoi nous avons choisi aussi l'activité antivirale dans le cadre de notre travail pour montrer l'effet des polyphénols particulièrement les flavonoïdes sur la protéase principale (MPro) du coronavirus.

Nous avons utilisé la méthode du docking pour tester l'activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* à gram positif et *Escherichia coli* à gram négatif et l'activité antivirale sur le virus SARS-CoV-2 de 12 molécules flavonoïdes présentes dans l'extrait acétate d'éthyle des feuilles du sapin de Numidie et identifier les molécules responsables de ces activités biologiques spécifiques.

Notre étude a conclu qu'il est possible que les deux molécules hypéroside et quercitrine aient une grande capacité d'inhibition du virus SARS-CoV-2 et il est important de mentionner qu'elles sont les molécules les plus abondantes d'un point de vue quantitatif dans l'extrait, et la molécule lutéoline-7 -glucoside est probablement responsable de l'activité antibactérienne dans l'extrait contre des bactéries Gram négatif telles que *Escherichia coli*, et la molécule hespéridine est responsable de l'activité antibactérienne dans l'extrait contre des bactéries Gram positif telles que *Staphylococcus aureus*.

En perspectives, il conviendrait donc d'extraire spécifiquement ces biomolécules à partir des feuilles du sapin de Numidie et de les tester de nouveau sur le plan *in vivo* pour confirmer leur effet sur le coronavirus et les bactéries également. Et pourquoi pas développer des médicaments antiviraux et antibiotiques naturels sans effets néfastes sur la santé humaine par rapport à leurs analogues synthétiques.

Abstract

Due to the wide application of flavonoid molecules in medicinal and pharmaceutical chemistry, which are one of the most famous types of secondary plant metabolites, and after it was proved that the flavonoid-rich ethyl acetate extract of *Abies numidica* leaves is characterized by its antibacterial activity in a previous study by Benouchene et al (2020), Our work has come within the framework of bio-consulting to help in the identification of the molecule(s) responsible for this antibacterial effect which will be the active principle of a natural antibiotic developed from this plant by using bioinformatics tools, which will save time and money.

Furthermore, after the Corona pandemic that has spread around the world in the last two years, the search for what inhibits the virus has become one of the major pharmacological issues, which is why we have also chosen antiviral activity as part of our work to show the effect of polyphenols, particularly flavonoids, on the main protease (MPro) of the coronavirus.

We used the docking method to test the antibacterial activity on gram-positive *Staphylococcus aureus* and gram-negative *Escherichia coli* and the antiviral activity on SARS-CoV-2 virus of 12 flavonoid molecules present in the ethyl acetate extract of Numidian fir leaves and identify the molecules responsible for these specific biological activities.

Our study concluded that it is possible that the two molecules hyperoside and quercitrin have a high capacity to inhibit SARS-CoV-2 and it is important to mention that they are the most quantitatively abundant molecules in the extract, and the molecule luteolin-7-glucoside is probably responsible for the antibacterial activity in the extract against Gram-negative bacteria such as *Escherichia coli*, and the molecule hesperidin is responsible for the antibacterial activity in the extract against Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus*.

In the future, these biomolecules should therefore be specifically extracted from the leaves of the Numidian fir and tested again *in vivo* to confirm their effect on the coronavirus and bacteria as well. And why not develop natural antiviral and antibiotic drugs without adverse effects on human health compared to their synthetic analogues.

ملخص

نظراً للتطبيق الواسع لجزيئات الفلافونويد في الكيمياء الطبية والصيدلانية ، والتي تعد من أشهر أنواع المستقلبات النباتية الثانوية ، وبعد أن ثبت أن مستخلص أسيتات الإيثيل من أوراق *Abies numidica* الغنية بالفلافونويد يتميز بفعالته المضادة للبكتيريا في دراسة سابقة أجراها (Benouchene et al (2020) ، جاء عملنا في إطار الاستشارات الحيوية للمساعدة في تحديد الجزيء (الجزيئات) المسؤولة عن هذا التأثير المضاد للبكتيريا والذي سيكون المبدأ النشط لـ مضاد حيوي طبيعي تم تطويره من هذا النبات من خلال تشغيل أدوات المعلوماتية الحيوية ، وهذا الأخير سيوفر الوقت والمال.

بالإضافة إلى ذلك ، بعد وباء كورونا الذي انتشر حول العالم خلال العامين الماضيين ، أصبح البحث عن ما يثبط الفيروس من القضايا الدوائية الكبرى ، ولهذا السبب اخترنا أيضاً النشاط المضاد للفيروسات كجزء من عملنا لإظهار تأثير البوليفينول وخاصة الفلافونويد على البروتياز الرئيسي (MPro) لفيروس كورونا.

استخدمنا طريقة الإرساء لاختبار النشاط المضاد للبكتيريا على *Staphylococcus aureus* إيجابية الجرام و *Escherichia coli* سالبة الجرام والنشاط المضاد للفيروسات على فيروس SARS-CoV-2 لـ 12 جزيئاً من الفلافونويد الموجودة في خلاصة الأسيتات لأوراق إيثيل التنوب النوميدي. تحديد الجزيئات المسؤولة عن هذه الأنشطة البيولوجية المحددة.

خلصت دراستنا إلى أنه من الممكن أن يكون لجزيئات فرطوسيد وكيرسينيرين قدرة كبيرة على تثبيط فيروس SARS-CoV-2 ومن المهم الإشارة إلى أنها أكثر الجزيئات وفرة من وجهة النظر. وجهة النظر الكمية في المستخلص ، وجزيء-7 luteolin glucoside ربما يكون مسؤولاً عن النشاط المضاد للبكتيريا في المستخلص ضد البكتيريا سالبة الجرام مثل *Escherichia coli* ، وجزيء الهسبريدين مسؤول عن النشاط المضاد للبكتيريا في المستخلص *Staphylococcus aureus* .

لذلك سيكون من المناسب في المستقبل استخراج هذه الجزيئات الحيوية من أوراق التنوب النوميدي واختبارها مرة أخرى في الجسم الحي لتأكيد تأثيرها على فيروس كورونا والبكتيريا أيضاً. ولم لا تطور عقاقير مضادة للفيروسات ومضادات حيوية طبيعية بدون آثار ضارة على صحة الإنسان مقارنة بمثيلاتها الاصطناعية.

Année universitaire : 2020 - 2021

Présenté par : MECHAOUER Roumeissa
SEGHIR Anfal

Titre : Évaluation *in silico* de l'effet biologique de molécules bio actives majoritairement présentes dans l'extrait acétate d'éthyle des feuilles du sapin d'Algérie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Bioinformatique

Résumé

En raison de la large application des molécules flavonoïdes en chimie médicinale et pharmaceutique, qui sont l'un des types les plus célèbres de métabolites secondaires des plantes, et après qu'il a été prouvé que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*Abies numidica* riche en flavonoïdes est caractérisé par son activité antibactérienne dans une étude précédente de Benouchene et al (2020), notre travail est venu dans le cadre d'un bio-consulting aider dans l'identification de la ou les molécules responsable (es) de cet effet antibactérien qui sera le principe actif d'un antibiotique naturel développé à partir de cette plante en faisant intervenir les outils de la bioinformatique, cette dernière permettra un gain de temps et d'argent.

En outre, après la pandémie de Corona qui s'est propagée dans le monde au cours des deux dernières années, la recherche de ce qui inhibe le virus est devenue l'un des enjeux pharmacologiques majeurs, c'est pourquoi nous avons choisi aussi l'activité antivirale dans le cadre de notre travail pour montrer l'effet des polyphénols particulièrement les flavonoïdes sur la protéase principale (MPro) du coronavirus.

Nous avons utilisé la méthode du docking pour tester l'activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* à gram positif et *Escherichia coli* à gram négatif et l'activité antivirale sur le virus SARS-CoV-2 de 12 molécules flavonoïdes présentes dans l'extrait acétate d'éthyle des feuilles du sapin de Numidie et identifier les molécules responsables de ces activités biologiques spécifiques.

Notre étude a conclu qu'il est possible que les deux molécules hypéroside et quercitrine aient une grande capacité d'inhibition du virus SARS-CoV-2 et il est important de mentionner qu'elles sont les molécules les plus abondantes d'un point de vue quantitatif dans l'extrait, et la molécule lutéoline-7 -glucoside est probablement responsable de l'activité antibactérienne dans l'extrait contre des bactéries Gram négatif telles que *Escherichia coli*, et la molécule hespéridine est responsable de l'activité antibactérienne dans l'extrait contre des bactéries Gram positif telles que *Staphylococcus aureus*.

En perspectives, il conviendrait donc d'extraire spécifiquement ces biomolécules à partir des feuilles du sapin de Numidie et de les tester de nouveau sur le plan *in vivo* pour confirmer leur effet sur le coronavirus et les bactéries également. Et pourquoi pas développer des médicaments antiviraux et antibiotiques naturels sans effets néfastes sur la santé humaine par rapport à leurs analogues synthétiques.

Mots clés : *Abies numidica*, métabolites secondaires, l'activité antivirale, l'activité antibactérienne, SARS-CoV-2, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Devant le jury :

Président du jury : Pr. BELKHIRI Lotfi (Département de Chimie UFM Constantine 1)

Encadreur : Dr. BELLIL Inès (Département de Biologie UFM Constantine 1)

Examinateur : Dr. MOKRANI E, H (Département de Biologie UFM Constantine 1)

Co-encadreur : Dr. MENACER Rafik (Dr. CRSP)

Date de soutenance : 23/09/2021

