

République Algérienne Démocratique et publique
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Salah Bounider Constantine3
Faculté de médecine



Département de pharmacie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de
Docteur en Pharmacie

THEME

Etude *in silico* et *in vitro* de l'activité antibactérienne des composants
chimiques de l'huile essentielle d' *Origanum Vulgare*.

Soutenu publiquement le : 07/07/2025

Présenté par :

- BOURBIA Randa
- BOURBIA Aya Rania

Encadré par :

Dr. GUEROUI Mehdi
Maitre de conférences classe B hospitalo-
universitaire

Membres du jury

Dr.F.Dalia
Dr.S.Zitouni

Maitre de conférence classe A en pharmacognosie
Maitre assistante en microbiologie .

Année universitaire : 2024/2025

Table des matières

Liste des Figures.....	ix
Liste des Tableaux.....	xii
Liste des abréviations.....	xiii
Introduction	1

PARTIE 1: RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :

LES INFÉCTIONS BACTÉRIENNES ET LA RÉSISTANCE DES BACTÉRIES

I. Définition des bactéries	5
II. Structure générale des bactéries.....	5
III. Classification des bactéries.....	6
III.1 La coloration de Gram	7
III.2 La forme des bactéries	7
III.3 Le besoin en oxygène.....	7
IV - Définition de l'infection bactérienne	8
IV.1 Toutes les bactéries rendent-elles malade ?	9
IV.2 Les voies de transmission des infections bactériennes	9
IV.3 Types d'infections bactériennes	10
IV.3.1 Infections respiratoires	10
IV.3.2 Infections urinaires.....	12
IV.3.3 Infections intestinales	13
V. Défense de l'organisme contre les infections bactériennes.....	13
VI. Traitement des infections bactériennes	13
VII. L'Antibiorésistance	14
VII.1 Définition.....	14
VII.2 Types de résistance	14
VII.3 Causes et Problématiques	15

VII.4 Conséquences	15
VII.5 Propagation des bactéries résistantes.....	15
VII.6 Solutions possibles	16

CHAPITRE II :

L'ORIGAN¹⁷

I. Étymologie du mot origan.....	18
II. Généralités sur l'Origan.....	18
III. Morphologie de l'Origan.....	19
IV. Classification de l'Origan.....	20
V. Habitat et culture de l'Origan.....	21
VI. Composition chimique.....	21
VII. Les différentes formes d'origan disponibles.....	22
VIII. Domaine d'utilisation et vertus thérapeutiques.....	22
IX. L'Origan en médecine traditionnelle : modes d'utilisation et applications	23
X. Effets indésirables et précautions	23
XI. Interactions avec l'origan.....	24
XII. Huile essentielle de l'Origan	24
XII.1 Généralités sur les huiles essentielles	24
XII.2 Définition de l'huile essentielle d'origan.....	24
XII.3 Techniques d'extraction des huiles essentielles	25
XII.4 Composition générale des Huiles Essentielles :	26
XII.5 Composants spécifique de l'Huile Essentielle d'Origan :	26
XII.5.1 Les principaux groupes de composés chimiques dans l'huile essentielle d'origan :	26
XII.5.2 Les principaux composés biochimiques de l'huile essentielle d'Origan : ...	27
XII.6 Rôles Biologiques et Pharmacologiques :	28
XII.7 Propriétés Thérapeutiques de l'Huile Essentielle d'Origan:.....	29

CHAPITRE III : LES MÉTHODES *IN SILICO*

I. Qu'est-ce que la modélisation <i>in silico</i> ?	31
II. Les avantages de l'<i>in silico</i>	31
II.1 Économie de ressources	31
II.2 Anticipation et prévention des risques	31
II.3 Accélération du développement de médicaments et de solutions thérapeutiques	32
III. Le criblage virtuel	32
III.1 Généralités	32
III.2 Approches du criblage virtuel	35
III.2.1 Criblage virtuel « ligand-based »	35
III.2.2 Criblage virtuel « structure-based »	36
III.3 Docking moléculaire	37
III.3.1 Principe général	37
III.3.2 Différents types de docking moléculaire	38
III.3.2.1 Docking rigide	38
III.3.2.2 Docking semi-flexible	39
III.3.2.3 Docking flexible	40
III.3.3 Étapes du docking moléculaire	41
III.3.3.1 Algorithmes de recherche	41
III.3.3.1.1 Méthodes systématiques	42
III.3.3.1.2 Méthodes stochastiques	42
III.3.3.1.3 Méthodes déterministes	43
III.3.3.2 Fonctions de scoring	43
III.3.4 Types d'interactions	46
III.3.4.1 Liaisons hydrogène	46
III.3.4.2 Interactions électrostatiques	47
III.3.4.3 Interactions hydrophobes	47

III.3.4.4 Interactions de Van der Waals.....	48
III.4 Limites du docking moléculaire.....	48
PARTIE 2 : PARTIE EXPERIMENTALE	
OBJECTIFS DU TRAVAIL PRATIQUE	51
MATÉRIELS ET METHODES	52
I.L'ÉTUDE BOTANIQUE	53
I.1 Essai botanique	54
I.1.1 Analyse macroscopique	55
I.1.1.1 Test organoleptique	55
I.1.1.2 Test morphologique	55
I.1.2 Analyse microscopique.....	55
I.1.2.1 Coupes histologiques (technique de double coloration) :	55
I.2 Essai physico-chimique	57
I.2.1 Extraction de l'HE.....	57
I.2.2 Calcul de rendement :.....	60
II.3 Analyse des huiles essentielles par CPG/SM :	61
II. L'ETUDE <i>IN SILICO</i>.....	63
II.1 Matériels	63
II.1.1 Micro-ordinateur.....	63
II.1.2 Logiciels	63
II.1.3 Bases de données	67
II.2 Méthodes	69
II.2.1 Etude de docking moléculaire.....	69
II.2.1.1.2 Préparation de la cible.....	69
II.2.2 Docking moléculaire	93
III.TEST <i>IN VITRO</i> : Evaluation de l'activité antimicrobienne (L'AROMATOGRAMME).....	98
III.1 ORIGINE DES SOUCHES MICROBIENNES.....	98

III.2 MILIEUX DE CULTURES	99
III.3 REPIQUAGE	100
III.4 PREPARATION DES DILUTIONS DES HEs	100
III.5 PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	100
III.5.1 Préparation de l'inoculum	100
III.5.2 Ensemencement	100
III.5.3 Préparation et application des disques.....	100
VI.5 Traitement statistique :.....	101
RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	102
I. ETUDE BOTANIQUE.....	103
I.1 ESSAIS BOTANIQUE.....	103
I.1.1 Analyse macroscopique :	103
I.1.1.1 Test organoleptique :.....	103
I.1.1.2 Test morphologique :	103
I.1.2 Analyse microscopique :	103
I.2 Essai physico-chimique	109
I.2.1 Détermination des rendements d'extraction.....	109
I.2.2 Analyse des huiles essentielles par CPG/SM :.....	109
II. ÉTUDE <i>IN SILICO</i>	113
II.1 Validation du protocole	113
II.1.1 Analyse visuelle	113
II.1.2 Calcul du RMSD	113
II.2 Étude du docking Moléculaire.....	115
II.2.1 Etude d'interaction des ligands avec la protéine 3FYV	115
II.3 Analyse des résultats et discussion.....	119
II.3.1 Analyse des interactions moléculaires avec les résidus clés de la DHFR de <i>Staphylococcus aureus</i> (3FYV).....	119

II.3.2 Comparaison avec d'autres études.....	120
II.4 Etude d'interaction des ligands avec la protéine 5L3J gyrase b de l'ADN d'Escherichia Coli complexe avec un inhibiteur a base de thiazole	120
II.5 Analyse des résultats et discussion.....	125
III. ÉTUDE IN VITRO.....	126
III.1 Etudes de l'effet de HE d'Origan sur Escherichia Coli	126
III.1.1 Analyse des résultats et discussion.....	127
III.2 Étude de l'effet de HE d'Origan sur <i>Staphylococcus Aureus</i>	129
III.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	130
III.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> SC (résistante).....	130
III.2.3 Analyse comparative	131
Conclusion.....	132
BIBLIOGRAPHIE	I
ANNEXE	b
RESUME.....	A

RESUME

Contexte : L'émergence croissante des résistances bactériennes aux antibiotiques représente une menace majeure pour la santé publique mondiale. Face à cette problématique, les huiles essentielles issues de plantes médicinales, comme **Origanum vulgare**, suscitent un intérêt croissant en tant qu'alternatives naturelles potentielles.

Objectif : Ce travail a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne des composants physico-chimiques de l'huile essentielle d'origan à travers une double approche : **in silico** (modélisation moléculaire) et **in vitro** (tests microbiologiques).

Méthodologie :

- L'étude botanique a permis l'identification de la plante et l'extraction de son huile essentielle par hydrodistillation.
- L'analyse par **chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)** a identifié plusieurs composés bioactifs, dont le carvacrol, le thymol, et des monoterpènes.
- L'approche **in silico** a été réalisée par **docking moléculaire** entre ces composés et deux cibles bactériennes clés : la **DHFR de Staphylococcus aureus (3FYV)** et la **gyrase B de l'ADN d'Escherichia coli (5L3J)**.
- Enfin, des tests **in vitro** (aromatogramme) ont été menés sur des souches bactériennes sensibles et résistantes (productrices de BLSE et SARM).

Résultats

Les résultats **in silico** ont mis en évidence une forte affinité de liaison de certains composés (Caryophyllene oxide, (E)-Caryophyllene ...) aux cibles enzymatiques bactériennes, avec des énergies de liaison comparables voire supérieures aux antibiotiques de référence. Les tests **in vitro** ont montré une activité antibactérienne significative, notamment contre les souches sensibles, avec une inhibition dépendante de la concentration.

Conclusion

L'huile essentielle d'*Origanum vulgare* présente un **potentiel antibactérien prometteur**, tant sur le plan théorique qu'expérimental. Elle pourrait représenter une alternative naturelle ou un adjuvant aux traitements antibiotiques actuels. Des études complémentaires **in vivo**, toxicologiques et pharmacologiques sont nécessaires pour valider son application clinique.

Mots-clés : *Origanum vulgare*, huile essentielle, antibiorésistance, activité antibactérienne, docking moléculaire, aromatoigramme, phytothérapie.

ABSTRACT

Background: The increasing emergence of bacterial resistance to antibiotics poses a major threat to global public health. In response to this challenge, essential oils derived from medicinal plants, such as *Origanum vulgare*, are gaining interest as potential natural alternatives.

Objective: This study aims to evaluate the antibacterial activity of the physicochemical components of oregano essential oil through a dual approach: **in silico** (molecular modeling) and **in vitro** (microbiological tests).

Methodology:

- A botanical study allowed for the identification of the plant and the extraction of its essential oil by **hydrodistillation**.
- Analysis by **gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)** identified several bioactive compounds, including **carvacrol**, **thymol**, and various **monoterpenes**.
- The **in silico** approach was conducted using **molecular docking** between these compounds and two key bacterial targets: **DHFR** from *Staphylococcus aureus* (3FYV) and **DNA gyrase B** from *Escherichia coli* (5L3J).
- Finally, **in vitro** tests (**aromatogram**) were performed on both sensitive and resistant bacterial strains (including **ESBL** and **MRSA** producers).

Results:

The **in silico** results showed strong binding affinities of certain compounds (e.g., **Caryophyllene oxide**, **(E)-Caryophyllene**) to bacterial enzyme targets, with binding energies comparable to or even exceeding those of reference antibiotics. **In vitro** tests demonstrated significant antibacterial activity, particularly against sensitive strains, with a concentration-dependent inhibition.

Conclusion:

Origanum vulgare essential oil exhibits promising antibacterial potential, both theoretically and experimentally. It could serve as a natural alternative or adjuvant to current antibiotic treatments. Further **in vivo**, **toxicological**, and **pharmacological** studies are required to validate its clinical application.

Keywords: *Origanum vulgare*, essential oil, antibiotic resistance, antibacterial activity, molecular docking, aromatogram, phytotherapy.

الملخص

السياق: يُعدّ تزايد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية تهديدًا كبيرًا للصحة العامة على مستوى العالم. وفي ظل هذه الإشكالية، تزداد أهمية الزيوت الأساسية المستخلصة من النباتات الطبية، مثل *Origanum vulgare* (الأوريغانو)، كبدائل طبيعية محتملة.

الهدف:

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمكونات الفيزيائية والكيميائية لزيت الأوريغانو الأساسي، من خلال منهجية مزدوجة تشمل التحليل الحاسوبي (*In silico*) والنشاط المخبري (*In vitro*)

المنهجية:

- تم تحديد النبات ودراسته نباتيًا، واستخلاص زيتة الأساسي بواسطة التقطير بالبخار.
- تم تحديد المركبات النشطة بيولوجيًا، مثل الكارفاكروول، الثيمول وبعض المونوتربينات، باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة بمطياف الكتلة (GC-MS)
- تم إجراء تحليل الالتحام الجزيئي (molecular docking) بين هذه المركبات وهدفين إنزيمين بكتيريين رئيسيين (DHFR) من *Staphylococcus aureus* الرمز (3FYV) و *Gyrase B* من *Escherichia coli* الرمز (5L3J)
- كما أُجريت اختبارات مخبرية (aromatogram) على سلالات بكتيرية حساسة وأخرى مقاومة منتجة للـ (BLSE) و (MRSA)

النتائج:

أظهرت نتائج التحليل الحاسوبي أن بعض المركبات مثل (Caryophyllene oxide) و (E)-Caryophyllene تمتلك قدرة ارتباط قوية مع الأهداف الإنزيمية البكتيرية، بطاقة ارتباط مماثلة أو أعلى من بعض المضادات الحيوية المرجعية. كما أظهرت الاختبارات المخبرية نشاطًا مضادًا للبكتيريا، خاصةً ضد السلالات الحساسة، مع تأثير يعتمد على التركيز.

الاستنتاج:

يُظهر زيت الأوريغانو الأساسي (*Origanum vulgare*) قدرة واحدة كمضاد بكتيري، نظريًا وتطبيقيًا. وقد يشكّل بديلًا طبيعيًا أو مساعدًا للعلاجات بالمضادات الحيوية الحالية. ومع ذلك، فإن الأمر يتطلب دراسات إضافية داخل الجسم الحي (*In vivo*) ، بالإضافة إلى تقييمات سمية ودوائية لتأكيد إمكانية استخدامه سريريًا.

الكلمات المفتاحية *Origanum vulgare* ، زيت أساسي، مقاومة المضادات الحيوية، نشاط مضاد للبكتيريا، التحليل الجزيئي، اختبار الأروماتوغرام، الطب النباتي.