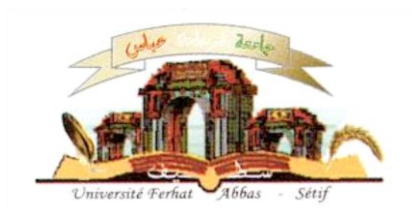


Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

N°...../SNV/2025

MÉMOIRE

Présenté par
LAOUAMEN Chekrane
MANALLAH Rahma

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Biologie
Spécialité : Microbiologie Appliquée

THÈME

Inhibition enzymatique *in silico* des β - lactamases par *Sedum sediforme*

Soutenue publiquement le : 12/06/2025

DEVANT LE JURY

KRACHE Imane

MCA UFA Sétif 1

Président

BOUSSOUALIM Naouel

Pr. UFA Sétif 1

Promoteur

ELKOLLI Meriem

Pr. UFA Sétif 1

Examineur

REMERCIEMENTS

*Avant toute chose, nous remercions **Dieu Tout-Puissant** de nous avoir donné la capacité et la patience nécessaires à l'accomplissement de ce travail.*

*Nos vifs remerciements s'adressent également aux membres du jury, **Pr. Elkolli Meriem** et **Dr. Krache Imane**, pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.*

*Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante, **Pr. Boussoualim Naouel**, pour avoir dirigé ce projet et nous avoir guidés avec expertise afin de réaliser une contribution significative à la microbiologie.*

*Nous n'oublions pas **Mademoiselle Boudechicha Amel**, qui n'a pas hésité à partager ses précieuses connaissances et à nous faire bénéficier de son expérience acquise lors de son projet de doctorat.*

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

J'offre ce travail à la mémoire de mon cher père LAOUAMEN Kamel, qui a toujours voulu me voir récolter les fruits de mon labeur.

A l'âme de AMOU, qui m'a toujours aimé, a été fier de moi et a rêvé que j'atteigne mon objectif.

Et aussi à ma chère mère, la femme de fer, qui m'a toujours soutenue et qui me donnait de la force dans mes moments de faiblesse et d'impuissance.

A mes frères Abderrahmen, Khayreddine et Nafaa, mon pilier indéfectible, et qui m'ont toujours traitée comme une princesse, et qui ont remonté mon moral et cru en mes capacité à accomplir un travail réussi.

A ma partenaire de recherche MANALLAH Rahma, qui a travaillé avec un dévouement total.

A mes amies et copines Ikram et Hadil qui m'ont soutenue dans les moments les plus difficiles et qui ont partagé mon enthousiasme à réussir dans le domaine que j'ai toujours aimé.

LAOUAMEN Chekrane

DEDICACE

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A mon cher père MANALLAH Bachir,

A ma chère mère FELLAHI Ghania,

Mais aucune dédicace ne serait témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect, car je ne pourrais jamais oublier la tendresse et l'amour dévoué par lesquels ils m'ont

A mes frères, Abdallah et Ibrahim.

A mes sœurs, Aicha et Baya Sara.

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mes grands-pères et ma grand-mère.

A ma chère binôme LAOUAMEN Chekrane.pour sa entente et sa sympathie,

A tous mes familles MANALLAH et FELLAHI. A tous mes amis : Hadil, Meriem, Houda, Rayane, Roufaïda, aya, et a tous ceux que j'aime et a toutes personnes qui m'ont prodigué des encouragements et se sont données la peine de me soutenir durant cette année de formation.

A mes chers formateurs et formatrice, sans aucune exception.

Merci

MANALLAH Rahma

الملخص

لقد أصبحت مقاومة المضادات الحيوية الآن تحديًا كبيرًا للصحة العامة. تؤثر المركبات الكيميائية النباتية، وخصوصًا تلك المستخلصة من النباتات الطبية، على آليات المقاومة التي تطورها البكتيريا. في هذا السياق، توفر المناهج الحاسوبية (*in silico*) بديلاً فعالاً للتنبؤ بألفة المركبات الطبيعية مع إنزيمات β -lactamase. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد الجزئيات النشطة حيويًا المستخلصة من نبات *Sedum sediforme* باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC). وقد كشفت هذه التحاليل عن وجود 17 مركبًا فينوليًا، وكان من أبرزها الكيرسيتين (36.52%) وحمض الغاليك (24.11%). كما تضمنت المكونات المهمة الأخرى حمض الكافيك (6.65%)، الهيسبيريتين (6.17%)، حمض السيرينجيك (5.47%)، الكيمفيرول (4.05%) والروتين (3.83%). تم تحميل البنى الجزيئية (SDF) لهذه المركبات من قاعدة بيانات PubChem، وتم تحسينها باستخدام برنامج Avogadro، ثم خضعت للمحاكاة الجزيئية (molecular docking) مستهدفةً أربعة بروتينات تمثل إنزيمات β -lactamase: TEM-1 (PDB: 1NYM)، NDM-1 (PDB: 4EXS)، AmpC (PDB: 1C3B) و OXA-48 (PDB: 7KHQ). باستخدام برنامج AMDock، كشفت النتائج عن طاقات ارتباط ملحوظة لبعض الروابط: الكيرسيتين مع OXA-48: -8.9 kcal/mol، الروتين مع NDM-1: -6.79 kcal/mol، الروتين مع AmpC: -9.3 kcal/mol، وحمض الغاليك مع OXA-48: -7.45 kcal/mol. تم تحليل التفاعلات باستخدام BIOVIA Discovery Studio الضوء على الروابط الهيدروجينية، والتفاعلات الكارهة للماء، والتأثيرات الفراغية التي تساهم في استقرار معقدات البروتين-الليجند. وتمت ملاحظة ارتباط كبير بين تركيز الليجند وطاقات الارتباط مع TEM-1 ($p = 0.023$) و AmpC ($p = 0.010$). تم توليد ملفات ADME (الامتصاص، التوزيع، الأيض، الإطراح) لأفضل الليجنندات أداءً (تلك ذات أفضل درجات docking) باستخدام SwissADME. وقد امتثل كل من حمض الغاليك والكيرسيتين لقاعدة ليبينسكي (Lipinski's rule of five)، مما يشير إلى إمكانية تناولهما عن طريق الفم. في المقابل، خالف الروتين قاعدة ليبينسكي. وبتطبيق نموذج BOILED-Egg، وُجد أن الكيرسيتين وحمض الغاليك يقعان ضمن منطقة الألبومين، مما يشير إلى قدرتهما على عبور الحاجز الدموي الدماغي (BBB). كشف تقييم المخاطر السمية باستخدام ProTox-3.0 أن الكيرسيتين، الروتين، وحمض الغاليك يظهرون بعض التأثيرات السمية النوعية على الأعضاء. ومع ذلك، أظهر الروتين أعلى قيمة LD_{50} بين المركبات المختبرة، مما يشير إلى انخفاض مخاطره السمية مقارنةً بالآخرين.

الكلمات المفتاحية: الإرساء الجزيئي، β -lactamase، مقاومة المضادات الحيوية، *Sedum sediforme*، Swiss ADME.

RESUME

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique. Les composés phytochimiques, notamment ceux issus de plantes médicinales, influencent les mécanismes de résistance développés par les bactéries. Dans ce contexte, des approches *in silico* offrent une alternative efficace pour prédire l'affinité des composés naturels avec les β -lactamases. Cette étude vise à identifier des molécules bioactives extraites de la plante *Sedum sediforme* en utilisant la chromatographie liquide haute performance (HPLC). Cette analyse a révélé la présence de 17 composés phénoliques, dont les principaux sont la quercétine (36,52 %) et l'acide gallique (24,11 %). Parmi les autres constituants significatifs figurent l'acide caféique (6,65 %), l'hespérétine (6,17 %), l'acide syringique (5,47 %), le kaempférol (4,05 %) et la rutine (3,83 %). Les structures SDF de ces molécules ont été téléchargées depuis PubChem, optimisées avec le logiciel Avogadro, puis soumises à un docking moléculaire ciblant quatre protéines représentatives des β -lactamases TEM-1 (PDB : 1NYM), NDM-1 (PDB : 4EXS), AmpC (PDB : 1C3B) et OXA-48 (PDB : 7KHQ), à l'aide du logiciel AMDock. Les résultats ont montré des affinités remarquables pour certains ligands : la quercétine avec TEM-1 : -8,9 kcal/mol, la rutine avec NDM-1 : -6,79 kcal/mol, la rutine avec AmpC : -9,3 kcal/mol, l'acide gallique avec OXA-48 : -7,45 kcal/mol. L'analyse des interactions par BIOVIA Discovery Studio a mis en évidence des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes et des effets stériques, stabilisant les complexes protéine-ligand. Une corrélation significative entre la concentration des ligands et leur énergie de liaison avec TEM-1 ($p = 0.023$) et AMPc ($p = 0.010$). Le profil ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion) des ligands les plus performants (qui ont les meilleurs scores) a été généré avec les outils en ligne SwissADME. L'acide gallique et la quercétine respectent la règle de Lipinski. Ainsi, ces molécules pourraient être d'excellents candidats pour une administration orale. En revanche, la rutine viole la règle de Lipinski. En appliquant le modèle BOILED-Egg, la quercétine et l'acide gallique se situent dans la zone albumen ce qui indique que ces molécules peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB). L'évaluation des risques toxicologiques par Pro-tox 3.0 a révélé que la quercétine, la rutine et l'acide gallique présentent certains effets toxiques sur des organes spécifiques. Cependant, la rutine affiche la DL_{50} la plus élevée parmi les composés testés, suggérant un risque toxique plus faible que les autres.

Mots clés : Docking moléculaire, β -lactamase, Résistance aux antibiotiques, *Sedum sediforme*, Swiss ADME.

Abstract

Antibiotic resistance has now become a major public health challenge. Phytochemical compounds, particularly those derived from medicinal plants, influence the resistance mechanisms developed by bacteria. In this context, *in silico* approaches provide an effective alternative for predicting the affinity of natural compounds with β -lactamases. This study aims to identify bioactive molecules extracted from the plant *Sedum sediforme* using high-performance liquid chromatography (HPLC). This analysis revealed the presence of 17 phenolic compounds, with the most abundant being quercetin (36,52%) and gallic acid (24,11%). Other significant constituents included caffeic acid (6,65%), hesperetin (6,17%), syringic acid (5,47%), kaempferol (4,05%), and rutin (3,83%). The SDF structures of these molecules were downloaded from PubChem, optimized using Avogadro software, and then subjected to molecular docking targeting four representative β -lactamase proteins: TEM-1 (PDB: 1NYM), NDM-1 (PDB: 4EXS), AmpC (PDB: 1C3B), and OXA-48 (PDB: 7KHQ), using AMDock software. The results revealed notable binding affinities for certain ligand: quercetin with TEM-1: -8.9 kcal/mol, rutin with NDM-1: -6.79 kcal/mol, rutin with AmpC: -9.3 kcal/mol, gallic acid with OXA-48: -7.45 kcal/mol. Interaction analysis using BIOVIA Discovery Studio highlighted hydrogen bonds, hydrophobic interactions, and steric effects, stabilizing the protein-ligand complexes. A significant correlation was observed between ligand concentration and binding energy with TEM-1 ($p = 0.023$) and AmpC ($p = 0.010$). The ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion) profiles of the top-performing ligands (those with the best docking scores) were generated using SwissADME. Gallic acid and quercetin comply with Lipinski's rule of five, suggesting strong potential for oral administration. In contrast, rutin violates Lipinski's rule. Applying the BOILED-Egg model, quercetin and gallic acid were located within the albumen zone, indicating their ability to cross the blood-brain barrier (BBB). Toxicological risk assessment using ProTox-3.0 revealed that quercetin, rutin, and gallic acid exhibit some organ-specific toxic effects. However, rutin displayed the highest LD₅₀ among the tested compounds, suggesting a lower toxic risk compared to the others.

Keywords: Molecular docking, β -lactamase, Antibiotic resistance, *Sedum sediforme*, Swiss ADME.