

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Ghardaia



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER académique

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par : LAHRECHE Adel

Thème

**Etude *in silico* de l'interaction de quelques composés
phytochimiques du *Nigella sativa* avec des sérine- β -lactamases**

Soutenu publiquement, le 13/06/2023, devant le jury composé de :

Mlle. SEDDIKI Malika	Maitre-assistant A	Univ. Ghardaïa	Président
Mr. BENBEKHTI Zineddine	Maitre-assistant A	Univ. Ghardaïa	Directeur de mémoire
Mr. DJELLID Youssef	Maitre-assistant A	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire : 2022-2023

Dédicaces

*Pour un quatrième couronnement dans le domaine
des sciences biomédicales, je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents, qui m'ont bien élevé et appris
le droit chemin vers la réussite dans ma vie.*

*A mon oncle Belkheir, à qui je dois beaucoup de respect
et de reconnaissance pour tous ses encouragements depuis
le jour où j'ai appris à écrire.*

*A ma très chère femme, en signe d'amour et de gratitude pour
m'avoir supporté et soutenu durant de longues années
d'étude.*

*A mes très chères enfants, Zahira, Mahmoud, Abderrahim,
Taha et le petit Zizo qui m'ont porté bonheur.*

A toute ma famille et tous mes amis.

A tous mes confrères pharmaciens et médecins.

LAHRECHE Adel

Remerciements

*Tout d'abord, louange à Dieu le tout puissant qui m'a donné la force,
et la santé, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail.*

*Ce mémoire est aujourd'hui l'occasion de remercier toutes les personnes
qui m'ont aidé à accomplir ce travail.*

*Je tiens à remercier les membres de jury d'avoir accepté de présider
et examiner ce travail.*

*Mes remerciements les plus Distingués sont destinés à Mlle. SEDDIKI Malika
maitre-assistante au département de biologie à l'université de Ghardaïa d'avoir
accepté d'examiner ce manuscrit et de présider ce jury.*

*Mes vives remerciements sont aussi pour Mr. DJELLID Youssef, maitre-assistant
au département de biologie à l'université de Ghardaïa d'avoir accepté
de participer au membre de jury et d'évaluer ce mémoire.*

*Je tiens à remercier mon chère promoteur Mr. BENBEKHTI Zineddine,
maitre-assistant au département de biologie à l'université de Ghardaïa,
qui a accepté de m'encadrer afin de réaliser ce modeste travail. Je lui remercie
pour tous ses conseils, ses instructions et son énorme appui qui m'ont
énormément marqué.*

*Finalement, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé
de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.*

ملخص:

تشكل مقاومة المضادات الحيوية عن طريق تعطيل المضادات الحيوية لعائلة البيتا لاكتامينات بفعل أنزيم البيتا لاكتاماز تهديدا كبيرا للصحة العامة. أظهرت النتائج التجريبية أن اضافة الزيت العطري لحبة البركة الى بعض المضادات الحيوية من عائلة البيتا لاكتامينات قد يحسن من فعالية هذا الأخير ضد بعض سلالات *E. coli* متعدد مقاومة المضادات الحيوية. الهدف من هذا العمل هو إجراء دراسة نظرية لتفاعل بعض المواد الكيميائية النباتية من حبة البركة مع الأنزيمات من نوع سيرين بيتا لاكتاماز من أجل تحديد تلك التي قد يكون لها تقارب أفضل مقارنة بالمتبطات المرجعية بناء على نتائج التنبؤ عن طريق الالتحام الجزيئي.

تكشف نتائج دراستنا أن النيجليسين، المركب الكيميائي النباتي الموجود في بذور حبة البركة، يرتبط بالإنزيم من خلال احتلال موقع التثبيت ويتفاعل بروابط غير تساهمية أيونية، هيدروجينية، التراص pi-pi ، وكذلك التراص الهيدروجين-pi، مع درجات تقارب تتراوح من -8.9002 إلى -15.0538- مقابل تلك الموجودة في كل من *acide clavulanique*, *Sulbactam*, *Tazobactam*, *Avibactam*, *Vaborbactam* et *le Relebactam* مع أفضل درجات التقارب التي تتراوح من -8.8173 إلى -17.6615-. يمكن أن يكون النيجليسين، من خلال تقاربه التفاعلي العالي تجاه موقع التثبيت مع البيتا لاكتاماز، تأثير مثبت محتمل بمستويات مماثلة أو حتى أفضل من المثبطات المستخدمة التي تستهدف هذه الإنزيمات علاجيا.

الكلمات المفتاحية: البيتا لاكتاماز، مثبت، النيجليسين، الالتحام الجزيئي، *Relebactam*، حبة البركة.

Résumé :

L'antibiorésistance par inactivation des antibiotiques de la famille des β -lactamines via l'action des β -lactamases constitue une menace majeure pour la santé publique. Des essais expérimentales ont montré que l'huile essentielle de *Nigella sativa* associée à certains antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines a amélioré l'efficacité de ces derniers contre des souches d'*E. coli* multirésistantes.

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude *in silico* de l'interaction de quelques composés phytochimiques du *Nigella sativa* avec des sérine- β -lactamases afin d'identifier ceux pouvant présenter une meilleure affinité comparé à des inhibiteurs de référence sur la base des résultats de prédiction par docking moléculaire.

Les résultats de notre étude révèlent que la Nigellicine, composé phytochimique contenu dans les graines de *Nigella sativa*, se fixe sur l'enzyme en occupant le site actif et en interagissant par des liaisons non covalentes ioniques, hydrogène, interaction par empilement pi-pi et pi-hydrogène, avec des scores d'affinité variant entre -8,9002 et -15,0538 contre ceux de l'acide clavulanique, Sulbactam, Tazobactam, Avibactam, Vaborbactam et le Relebactam présentant les meilleurs scores d'affinité variant entre -8,8173 et -17,6615.

La Nigellicine, par sa forte affinité d'interaction envers le site actif des β -lactamases, peut exercer un effet inhibiteur potentiel avec des niveaux comparables voire meilleurs que les inhibiteurs utilisés en thérapeutique ciblant ces enzymes.

Mots-clés : β -lactamase, inhibiteur, Nigellicine, docking moléculaire, Relebactam, *Nigella sativa*

Abstract:

Antibiotic resistance through inactivation of β -lactam antibiotics under the action of β -lactamases is a major threat to public health. Experimental trials have shown that *Nigella sativa* essential oil combined with certain β -lactam antibiotics improved their efficacy against multi-resistant *E. coli* strains.

The aim of this work is to carry out an *in silico* study of the interaction of some phytochemical compounds of *Nigella sativa* with serine- β -lactamases in order to identify those that may present a better affinity compared to reference inhibitors on the basis of molecular docking prediction results.

The results of our study reveal that Nigellicine, a phytochemical compound contained in *Nigella sativa* seeds, binds to the enzyme by occupying the active site and interacting through non-covalent ionic, hydrogen bonds, pi-pi and pi-hydrogen stacking interaction, with affinity scores ranging from -8.9002 to -15.0538, versus those of clavulanic acid, Sulbactam, Tazobactam, Avibactam, Vaborbactam and Relebactam, with the best affinity scores ranging from -8.8173 to -17.6615.

Nigellicine's high affinity for interaction with the active site of β -lactamases means it can exert a potential inhibitory effect at levels comparable or even better than the inhibitors used in therapeutics targeting these enzymes.

Key words: β -lactamase, inhibitor, Nigellicine, molecular docking, Relebactam, *Nigella sativa*.

Liste des tables

Table 1 : Principales bactéries pathogènes pour l'homme et leurs affections.....	3
Table 2 : Agents pathogènes prioritaires pour la recherche-développement de nouveaux antibiotiques.	4
Table 3 : Classification de la famille des β -Lactamines.....	6
Table 4 : Principaux associations inhibiteurs de la β -lactamase utilisés en médecine clinique	21
Table 5 : Liste des principaux composés phytochimiques isolés de <i>Nigella sativa</i>	25
Table 6 : Principales activités pharmacologiques scientifiquement prouvées du <i>Nigella sativa</i>	26
Table 7 : Rapport de similarité des 33entrés PDB retenues.	36
Table 8 : Liste des structures cristallographiques des β -lactamases choisies.....	37
Table 9 : Résultats du docking entre les β -lactamases choisies et les inhibiteurs connus	41
Table10 : Résultats du docking entre les β -lactamases choisies et les composés phytochimiques de <i>Nigella sativa</i>	43

Liste des figures

Figure 1 : Principaux antibiotiques et leurs mécanismes d'action	5
Figure 2 : Mécanismes moléculaires de l'antibiorésistance.....	9
Figure 3 : Structure de la paroi bactérienne des bactéries Gram positif et Gram négatif	10
Figure 4 : Différentes classifications des β -lactamases et leurs caractéristiques	14
Figure 5 : Structures cristallographiques des différentes classes de β -lactamases.....	16
Figure 6 : Mécanisme d'action des sérines β -lactamases.....	17
Figure 7 : Schéma réactionnel de l'hydrolyse du noyau β -lactame au niveau du site actif des Sérines β -lactamases de classe A (Chen et al., 2007).	18
Figure 8 : Schéma réactionnel de l'hydrolyse du noyau β -lactame au niveau du site actif des métallos β -lactamases de classe B (Fabiane et al.,1998).	19
Figure 9 : Image de la partie aérienne (fleurs et graines) du <i>Nigella sativa</i>	24
Figure 10 : Schéma récapitulatif du plan de travail	32
Figure 11 : Alignement multiple et repérage des sites actifs des β -lactamases choisies.	40
Figure 12 : Répartition des meilleurs scores d'affinité obtenus avec les β -lactamases choisies sur les inhibiteurs de β -lactamase connus.	42
Figure 13 : Répartition du nombre des β -lactamases ayant le meilleurs score d'affinité avec les composés phytochimiques de <i>Nigella sativa</i>	45
Figure 14 : Scores d'affinité de Relebactam (2019) et de la Nigellicine pour les β -lactamases choisies.....	47
Figure 15 : Représentation en 3D du β -lactamase (8DE1) en complexe avec la Nigellicine.48	
Figure 16 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (3ISG).....	49
Figure 17 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (4MLL).....	50
Figure 18 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6ZRG).	51
Figure 19 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6ZRH).	52
Figure 20 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1BT5).....	53
Figure 21 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (8DE0).....	54
Figure 22 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (8DE1).....	55
Figure 23 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1IYO).	56
Figure 24 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5KMW).	57
Figure 25 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (2ZQA).	58
Figure 26 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5G18).	59

Figure 27 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5A92).	60
Figure 28 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6J2K).....	61
Figure 29 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6J2B).....	62
Figure 30 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (4HBU).....	63
Figure 31 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (7U48).	64
Figure 32 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6V7H).	65
Figure 33 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5VLE).	66
Figure 34 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5U53).	67
Figure 35 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5TW6).....	68
Figure 36 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (7K2Y).	69
Figure 37 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6V83).	70
Figure 38 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6V7T).....	71
Figure 39 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6CYU).....	72
Figure 40 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6CYQ).....	73
Figure 41 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5TWE).	74
Figure 42 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (3Q1F).....	75
Figure 43 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1YMX).....	76
Figure 44 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1LL5).	77
Figure 45 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1I5Q).....	78
Figure 46 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1KVL).....	79
Figure 47 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5ZA2).....	80
Figure 48 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5CGX).....	81
Figure 49 : Représentation en 3D des interactions entre les résidus du site actif du β -lactamase (8DE1) avec la Nigellicine	83

Liste des symboles et abréviations

2D : deux dimensions	EDTA : acide éthylène diamine tétra- acétique
3D : trois dimensions	EMA : European Medicines Agency
Å : Angstrom	FOX : résistance à la céfoxitine
ACE : Carbamoyl	Gln : Glutamine
ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité	Glu : Glutamate
ADN : Acide Désoxyribonucléique	Gly : Glycine
Ala : Alanine	His : Histidine
AMM : Autorisation de mise sur le marché	Ile : Isoleucine
AmpC : gène <i>ampC</i> (Céphalosporinases)	IMP : Imipenèmase
Arg : Arginine	Kcal/mol : kilo calorie par mole
ARN : Acide ribonucléique	Kcx : Lysine carboxylated
ARNm : ARN messenger	KPC : <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénèmase
Asn : Asparagine	Leu : Leucine
Asp : Aspartate	LPS : Lipopolysaccharides
ATP : Adénosine triphosphate	Lys : Lysine
BLSE : β -lactamases à spectre élargi	MBL : Métallo β -lactamases
CTX-M : Céfotaxime – Munich (céfotaximase)	MDR : Multi-résistante aux drogues
Cys : Cystéine	Met : Méthionine
DHPS : Dihydroptéroate synthétase	MOE : Molecular Operating Environment
Dist. : Distance	NCBI : National Center for Biotechnology Information
E : énergie	NDM : New Delhi MBL
<i>E. coli</i> : <i>Escherichia coli</i>	NIH : National Institute of Health
EC : Enzyme code	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ECDC : European Center for Disease Prevention and Control	OXA : Oxacillinases
	PDB : Protein data base

Phe : Phénylalanine

PLP : protéines liant la pénicilline

Pro : Proline

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

S : Unité Svedberg

SBL : Sérines β -lactamases

Ser : Sérine

SHV : Sulfi-Hydroxile Variable

TEM : Nom du malade (TEMoniera)

Thr : Threonine

Toho : Tojo University School of Medicine
(Japan)

Trp : Tryptophane

Tyr : Tyrosine

Val : Valine

VIM : Verona integron-borne métallo- β -
lactamase

Xaa : acide aminé indéterminé

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale	1
-----------------------------	---

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Antibiotiques et infections bactériennes	3
I.1. Pathologies infectieuses d'origine bactériennes	3
I.2. Principaux antibiotiques et leurs mécanismes d'action	5
I.2.1 Antibiotiques inhibiteurs de synthèse des peptidoglycanes	5
I.2.1.1 β -Lactamines	5
I.2.1.2 Glycopeptides	6
I.2.1.3 Fosfomycine	7
I.2.2 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique	7
I.2.3 Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques	7
I.2.4 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates	8
I.3. Phénomène de l'antibiorésistance	8
I.3.1 Définition	8
I.3.2 Mécanismes de l'antibiorésistance	9
I.3.2.1 Réduction de la concentration intracellulaire en antibiotique	10
I.3.2.2 Inactivation de l'antibiotique par modification enzymatique	11
I.3.2.3 Modification de la cible cellulaire de l'antibiotique	12
Chapitre II. β-Lactamases	13
II.1 Définition	13
II.2 Classification	13
II.2.1 Classification moléculaire d'Ambler	13
II.2.2 Classification fonctionnelle de Bush	14
II.3 Structure moléculaire	15
II.4 Mécanisme d'action biologique	16
II.4.1 Mécanisme d'action général des sérines β -lactamases (SBL)	16
II.4.2 Mécanisme d'action général des métallos β -lactamases (MBL)	19
II.5 Inhibiteurs de β-Lactamase	20
II.5.1 Définition	20
II.5.2 Classification	20
II.5.3 Mécanisme d'action	22
Chapitre III. Phytothérapie et plantes médicinales	23
III.1 Définition	23
III.2 Présentation du <i>Nigella sativa</i>	23
III.2.1 Présentation et description botanique	23
III.2.2 Composition chimique	24
III.2.3 Activité biologique et usage traditionnel	26

Chapitre IV : Docking moléculaire	28
IV.1 Principe du docking moléculaire.....	28
IV.2 Différents types de docking moléculaire.....	29

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Objectif	30
2. Matériel.....	30
2.1 Micro-ordinateur	30
2.2 Banques de données	31
2.3 Programmes.....	31
3. Méthodes.....	31
3.1 Critères de choix de l'enzyme	32
3.2 Repérage du site actif.....	33
3.3 Préparation de l'enzyme.....	33
3.4 Préparation des Ligands.....	34
3.5 Le docking moléculaire.....	34

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats	35
1.1 Application des critères de choix	35
1.2 Repérage du site actif.....	39
1.3 Résultats du docking moléculaire.....	41
1.3.1 Première opération de docking (β -lactamase + Inhibiteurs connus)	41
1.3.2 Deuxième opération de docking (β -lactamase + composés phytochimiques de <i>Nigella sativa</i>)	42
2. Discussion	84

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

La découverte de la pénicilline en 1928 par le scientifique écossais Alexander Fleming et son utilisation pendant la seconde guerre mondiale pour traiter les infections bactériennes chez les soldats blessés, a permis de sauver des milliers de vies. Cette découverte, considérée comme l'un des progrès thérapeutiques les plus importants du XX^{ème} siècle, a permis l'introduction d'antibiotiques pour traiter certaines maladies infectieuses autrefois connues comme maladies incurables, ce qui a fait progresser l'espérance de vie de plus de 10 ans, soit plus qu'aucun autre traitement médical (**McDermott et Rogers, 1982**).

Cependant, l'usage généralisé et abusif des antibiotiques a conduit à l'apparition du phénomène de résistance aux antibiotiques qui a été à l'origine de l'émergence de souches microbiennes multi-résistantes responsables de la propagation d'infections nosocomiales et de la baisse de l'efficacité thérapeutique face aux infections bactériennes communes.

La résistance aux antibiotiques de la famille des β -lactamines repose sur la destruction de ces derniers par l'action des β -lactamases (**Etminani et al., 2023**), enzymes catalysant la réaction de clivage de la liaison amide du cycle β -lactame impliquant un résidu sérine appartenant au site actif (**Lamotte-Brasseur et al., 1994**).

La β -lactamase a été isolée pour la première fois en 1940 avant même que la pénicilline ne soit utilisée d'une façon étendue dans le domaine médicale, mais au cours des années 1960, le rythme d'évolution de la β -lactamase a dépassé les progrès scientifiques dans l'innovation de nouveaux antibiotiques (**Papp-Wallace et al., 2023**), et le développement de nouvelles générations de β -lactamines a été systématiquement suivi de l'apparition rapide d'enzymes résistantes contre tout nouveau composé mis sur le marché, dans un processus représentant un excellent exemple d'évolution bactérienne adaptative induite par les antibiotiques eux même (**Elhani, 2012**). Afin de pallier à ce problème, la solution a été d'associer aux antibiotiques de la famille des β -lactamines des molécules capables d'inhiber l'action de ces enzymes connues sous le nom des « inhibiteurs de β -lactamase », malheureusement, même ces inhibiteurs reconnaissent actuellement des cas de résistance (**Papp-Wallace et al., 2010 ; Shields et al., 2016**). La raison pour laquelle une liste d'agents pathogènes prioritaires résistants aux antibiotiques a été établie et publiée en 2017 par l'OMS, énumérant les 12 familles de bactéries les plus menaçantes pour la santé humaine, dont la famille des Enterobacteriaceae productrice de BLSE résistante aux carbapénèmes, qui figure dans la priorité 1 « critique » de cette liste (**Campbell, 2017**).

L'expérience réalisée par Nizami et ses collaborateurs en 2018, en vue d'étudier l'efficacité antimicrobienne de *Nigella sativa* contre des isolats d'*E. coli* multirésistants, a montré que l'huile essentielle de *Nigella sativa* semble être très efficace contre les souches d'*E. coli* multirésistantes, et qu'elle réduisait de manière significative le taux de résistance des souches d'*E. coli* productrices de BLSE si elle est associée à l'ampicilline, céfuroxime ou lévofloxacine (Nizami et al., 2018). Ces résultats ne donnent aucune précision sur le(s) composé(s) phytochimique(s) responsable(s) de cette activité antimicrobienne, ni du mécanisme d'action moléculaire impliqué dans la réduction du taux de résistance d'*E. coli* productrices de BLSE, cela permet de poser l'hypothèse que l'huile essentielle de *Nigella sativa* renferme probablement des composés phytochimiques exerçant un effet inhibiteur potentiel sur la β -lactamase qui représente le principal mécanisme de résistance de cette souche.

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude *in silico* de l'effet inhibiteur de quelques composés phytochimiques de *Nigella sativa* afin d'identifier, ceux qui peuvent présenter une meilleure affinité vis-à-vis la β -lactamase, enzyme clé directement impliquée dans le mécanisme de résistance aux β -lactamines, par rapport à un inhibiteur de référence en s'appuyant sur les résultats de prédiction du docking moléculaire.

Le manuscrit est subdivisé en trois grandes parties :

- Une partie théorique (synthèse bibliographique) qui rassemblera des données théoriques sur le phénomène de l'antibiorésistance, la β -lactamase, et les données phytochimiques sur la plante médicinale en question qui est la *Nigella sativa* avec ses propriétés médicinales et pharmacologiques, ainsi qu'une brève présentation du concept de docking moléculaire.
- Une partie pratique qui présentera, les résultats de l'étude *in silico* de l'effet inhibiteur des différents composés phytochimiques du *Nigella sativa* sur la β -lactamase afin d'identifier ceux qui peuvent présenter un meilleur effet inhibiteur par rapport aux inhibiteurs connus de β -lactamase en se basant sur le docking moléculaire.
- Une troisième partie qui présentera l'interprétation et discussion des résultats obtenus lors de ce travail qui se terminera par une conclusion et des perspectives.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Antibiotiques et infections bactériennes

I.1. Pathologies infectieuses d'origine bactériennes

Ce sont des maladies dues au développement de bactéries pathogènes. Elles peuvent se manifester sous forme d'infections localisées sans retentissement sur le pronostic vital et fonctionnel, ou bien sous forme d'infections systémiques affectant des organes vitaux voire tout un système biologique (Bouhabila et al., 2011). Les bactéries les plus fréquentes et les plus importantes en médecine sont listé dans la Table 1.

Table 1 : Principales bactéries pathogènes pour l'homme et leurs affections (Kayser et al., 2008)

Groupe	Bactérie	Affection
Cocci Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	Abcès, Furoncle, Toxicose
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	infection urinaire
	<i>Streptococcus pyogens</i>	Scarlatine, Angine
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonie, Méningite, Otite
Bacille Gram+	<i>Clostridium perfringens</i>	Cellulite, Gangrène gazeuse
	<i>Listeria monocytogens</i>	Méningite, Entérite
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Diphthérie
Cocci Gram-	<i>Neisseria meningitidis</i>	Méningite
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Sinusite, Otite, Bronchite
Bacille Gram-	<i>Escherichia coli</i>	Indicateur de contamination fécale, Infections nosocomiales
	<i>Shigella dysenteriae</i>	Dysenterie bactérienne
	<i>Salmonella enterica</i>	Fièvre typhoïde
	<i>Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Proteus, Serratia</i>	Infections nosocomiales
	<i>Vibrio cholerae</i>	Choléra
	<i>Haemophilus influenzae</i>	Méningite, Infections des voies respiratoires
	<i>Bordetella pertussis</i>	Coqueluche
Autres	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculose
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Pneumonie atypique

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS), considère la résistance aux antibiotiques comme une menace majeure pour la santé de l'homme vu les complications qu'ils peuvent engendrer chez certains patients à profil clinique particulier (immunodéprimés, pied diabétique) (ChapElAin, 2023).

Selon un rapport conjoint de l'ECDC (European Center for Disease Prevention and Control) et de l'EMA (European Medicines Agency), 25000 patients seraient morts en 2007 à cause d'infections liées à des bactéries multi-résistantes, et qui n'ont pas pu être traitées faute d'antibiothérapie efficace en France (ANSM, 2012). C'est la raison pour laquelle l'OMS a publié sa première liste «d'agents pathogènes prioritaires» résistants aux antibiotiques énumérant par priorité les 12 genres et espèces de bactéries les plus menaçantes pour la santé humaine afin d'orienter et promouvoir la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques dans le cadre des efforts de lutter contre la résistance croissante aux antimicrobiens dans le monde (Campbell, 2017).

Table 2 : Agents pathogènes prioritaires pour la recherche-développement de nouveaux antibiotiques (Campbell, 2017).

Priorité	Bactéries
Priorité 1 : Critique	- <i>Acinetobacter baumannii</i> , résistance aux carbapénèmes ; - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , résistance aux carbapénèmes ; - Enterobacteriaceae, résistance aux carbapénèmes, production de BLSE.
Priorité 2 : Elevée	- <i>Enterococcus faecium</i> , résistance à la vancomycine ; - <i>Staphylococcus aureus</i> , résistance à la méticilline, résistance intermédiaire ou complète à la vancomycine ; - <i>Helicobacter pylori</i> , résistance à la clarithromycine ; - <i>Campylobacter spp.</i> , résistance aux fluoroquinolones ; - <i>Salmonelle</i> , résistance aux fluoroquinolones ; - <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , résistance aux céphalosporines, résistance aux fluoroquinolones.
Priorité 3 : Moyenne	- <i>Streptococcus pneumoniae</i> , insensible à la pénicilline ; - <i>Haemophilus influenzae</i> , résistance à l'ampicilline ; - <i>Shigella spp.</i> , résistance aux fluoroquinolones.

I.2. Principaux antibiotiques et leurs mécanismes d'action

Les antibiotiques sont définis comme des médicaments utilisés pour traiter les maladies infectieuses d'origine bactériennes. Ce sont des substances chimiques naturelles ou synthétiques, groupés en familles ou classes selon leurs propriétés structurales, et sont capables de tuer des bactéries (antibiotiques bactéricides) ou d'inhiber leur croissance (antibiotiques bactériostatiques). Ils peuvent agir soit directement sur les structures bactériennes, soit indirectement par action sur les mécanismes essentiels à la croissance ou la survie des bactéries (Guinoiseau, 2010).

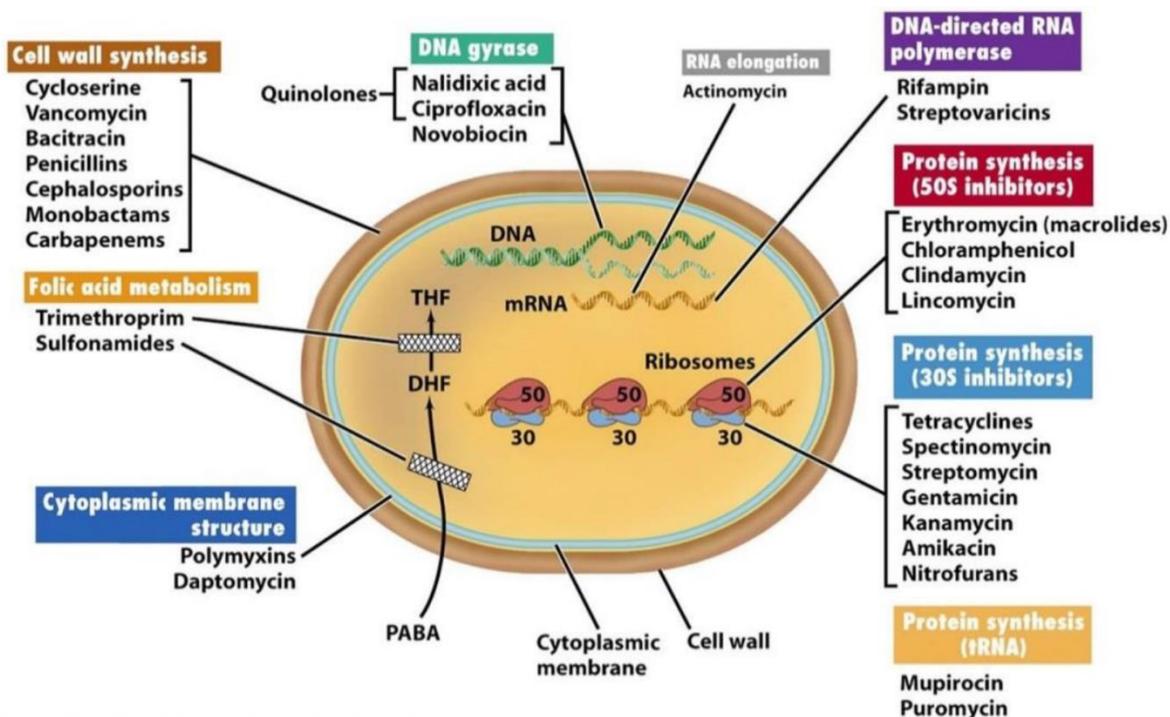


Figure 1 : Principaux antibiotiques et leurs mécanismes d'action (Dauvergne, 2018).

I.2.1 Antibiotiques inhibiteurs de synthèse des peptidoglycanes

I.2.1.1 β -Lactamines

C'est la famille d'antibiotiques à laquelle appartient le premier antibiotique découvert « la pénicilline » et la plus utilisée en clinique, occupant 65% du marché mondial total des antibiotiques, ceci est due à l'étendue de leur spectre d'action, leur pouvoir bactéricide, leur faible toxicité et leur faible coût (Elander, 2003), elle est classée en cinq groupes majeurs listés dans la Table 3.

Table 3 : Classification de la famille des β -Lactamines (Bouchet, 2022).

Groupes	Sous-groupe	Exemples
Pénames	Pénicilline G	Pénicilline
	Pénicillines M	Oxacilline - Mécicilline
	Amino-pénicillines	Ampicilline - Amoxicilline
	Carboxy-pénicillines	Ticarcilline
	Acyl-amino-pénicillines	Pipéracilline
	Amidino-pénicillines	Mécillinam
	Pénicillines sulfones	Ampicilline + Sulbactam
Céphèmes	Céphalosporines de 1ère génération	Céfazoline - Céfalexine
	Céphalosporines de 2ème génération	Céfoxitine - Céfuroxime
	Céphalosporines de 3ème génération	Céfotaxime - Céftriaxone
Carbapénèmes		Imipénème
Oxapénames (Clavams)		Acide clavulanique
Monobactames		Aztréonam

Leurs mécanisme d'action se résume en la destruction de la paroi bactérienne par toxicité sélective en agissant sur la synthèse du peptidoglycane par inhibition des protéines liant la pénicilline (PLP) qui ont une activité trans-peptidasique, carboxy-peptidasique et trans-glycolasique. L'inhibition des PLP provoque l'inhibition de la formation des ponts penta-cycliques responsables de la structure réticulée de la paroi conduisant à des formes bizarroïdes aboutissant à la lyse bactérienne (Etebu et Arikekpar, 2016).

I.2.1.2 Glycopeptides

Constituent une famille d'antibiotiques dont le représentant est la Vancomycine. Ils agissent en se liant au dipeptide terminal D-alanyl-D-alanine de la chaîne peptidique qui compose la paroi cellulaire bactérienne empêchant la transpeptidation, processus clé nécessaire pour la formation de la paroi cellulaire, c'est ainsi que les bactéries ne peuvent pas survivre (Ouedraogo, 2020).

I.2.1.3 Fosfomycine

Antibiotique bactéricide à large spectre qui interfère avec la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant de manière covalente à une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétylmuramique, l'un des constituants essentiels du peptidoglycane (Assimakopoulos et al., 2023).

I.2.2 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique

Il existe une différence fondamentale entre le ribosome bactérien de 70S et celui des cellules eucaryotes de 80S, cette différence est à l'origine de l'inhibition sélective de ce groupe d'antibiotiques, ils sont généralement doués d'activité bactériostatique (Macé, 2016). Les principales familles d'antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique sont représentées par :

- Les Aminosides agissant sur la sous unité 30S du ribosome, provoquant des erreurs de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines ;
- Les MLS (Macrolides, Lincosamides, Streptogramines) qui agissent sur la sous unité 50S du ribosome, induisant un blocage de la croissance de la chaîne polypeptidique en formation ;
- Les Tétracyclines qui agissent sur la sous unité 30S du ribosome, ils empêchent la fixation de l'aminoacyl-ARN, induisant l'inhibition de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique ;
- Phénicolés qui agissent sur la sous unité 50S du ribosome par inhibition de la polymérase.

I.2.3 Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques

Sont un groupe d'antibiotiques qui agissent en bloquant la synthèse de l'ADN et de l'ARN chez les bactéries, ils peuvent être divisés en fonction de la cible spécifique du métabolisme nucléique, c'est-à-dire soit par inhibition de la transcription de l'ARN ou inhibition de la réplication de l'ADN (Floss et Yu, 2005). Les principales familles d'antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques sont représentées par :

- Les Quinolones qui agissent par inhibition sélective de la synthèse d'ADN bactérien en agissant sur l'ADN gyrase et l'ADN topoisomérase IV ;
- Les Rifamycines qui agissent par inhibition de la transcription de l'ADN en ARNm par inhibition de l'ARN polymérase.

I.2.4 Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates

Certaines bactéries doivent synthétiser l'acide folique indispensable à la réplication et la réparation de leurs ADN, les enzymes impliquées constituent une cible potentiel pour ce groupe d'antibiotiques (**Camara, 2012**). Ils sont représentés par :

- Les Sulfamides qui inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS);
- La 2-4 diaminoptéridine qui inhibe la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydrofolate réductase.

I.3. Phénomène de l'antibiorésistance

L'antibiorésistance est un problème majeur au niveau mondial, elle peut avoir des conséquences graves pour la santé publique, et être responsable de l'augmentation des taux de mortalité et des coûts de traitement en entraînant des infections récurrentes, plus graves et plus difficiles à traiter. En 2014, environ 700 000 décès ont été enregistré à cause de ce phénomène, ce chiffre risque de passer à 10 millions si aucune action ne sera prise (**O'Neill, 2016**). En 2019, environ 4,95 millions de décès ont été associés à l'antibiorésistance dont 1,27 million de décès sont directement causés par des bactéries résistantes (**Murray et al., 2022**). L'OMS a déclaré que la résistance aux antimicrobiens était l'une des 10 plus grandes menaces pour la santé publique auxquelles se trouvait confrontée l'humanité (**Narendrakumar et al., 2023**).

I.3.1 Définition

L'antibiorésistance est définie comme l'ensemble des mécanismes par lesquels les bactéries deviennent résistantes aux antibiotiques soit par modification de leurs structure génétique, soit par développement de mécanismes de défense afin d'éliminer l'antibiotiques de leurs milieu et d'échapper à son action (**Mangin, 2016**).

L'utilisation excessive ou inappropriée d'antibiotiques est l'une des principales causes de l'antibiorésistance, à savoir la résistance naturelle, ou le génome bactérien comporte le gène de résistance est transmis d'une façon verticale, ou bien la résistance acquise qui peut être engendrée par un transfert horizontal et/ou par une mutation au niveau de l'ADN bactérien (**Perry et al., 2014**).

I.3.2 Mécanismes de l'antibiorésistance

Les mécanismes de l'antibiorésistance sont complexes et variés, ils résultent de la combinaison de plusieurs facteurs (**Harpert, 2022**), ces facteurs peuvent être des :

- Facteurs environnementaux (le milieu hospitalier, les voyages internationaux) ;
- Facteurs comportementaux (usage excessive et inappropriée d'antibiotiques et leurs utilisation en agriculture pour les animaux d'élevage) ;
- Facteurs biologiques (les mutations génétiques et le transfert horizontal des gènes).

Ces mécanismes permettent à la bactérie de survivre et de se multiplier même en présence de l'antibiotique selon trois principales voies (**Carle, 2009**) :

- La réduction de la concentration intracellulaire en antibiotique ;
- L'inactivation de l'antibiotique par modification enzymatique ;
- La modification de la cible cellulaire de l'antibiotique.

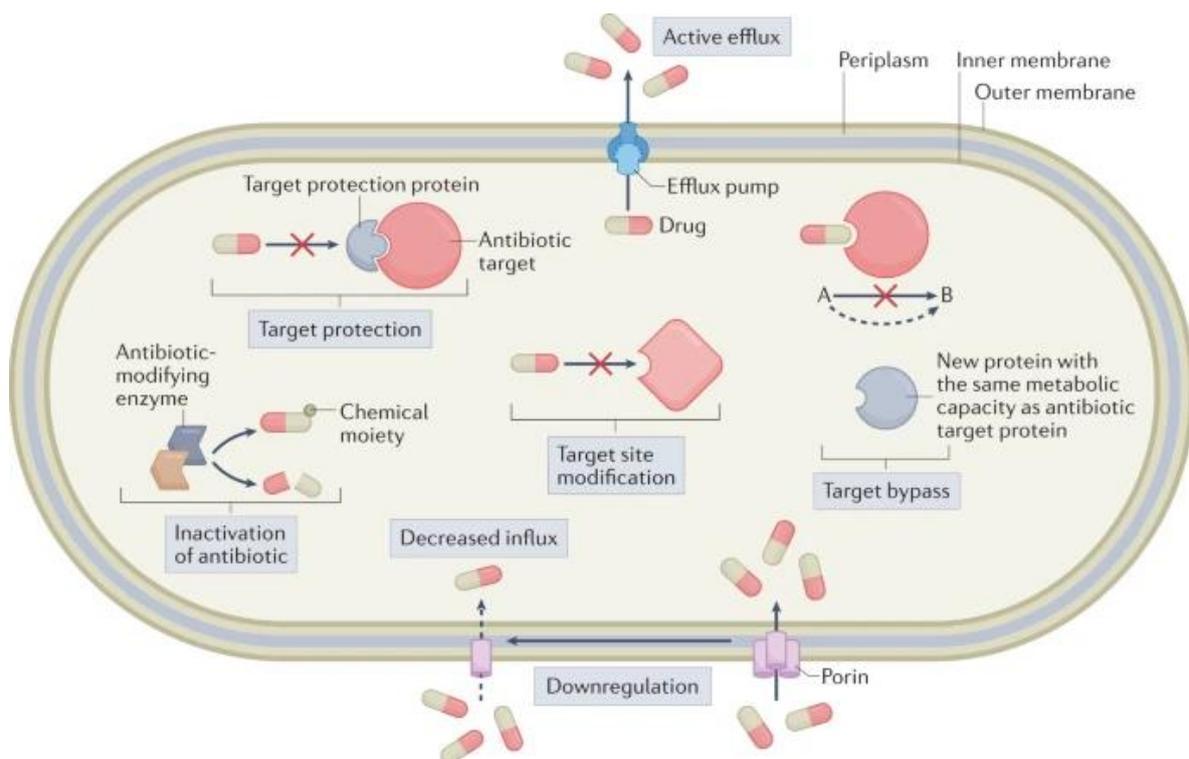


Figure 2 : Mécanismes moléculaires de l'antibiorésistance (Darby et *al.*, 2022)

I.3.2.1 Réduction de la concentration intracellulaire en antibiotique

Pour se protéger de l'action d'un antibiotique la bactérie peut agir en réduisant sa concentration intracellulaire, soit par modification de la perméabilité membranaire afin de limiter son absorption, soit par élimination de celui-ci hors la cellule via des pompes d'efflux membranaires (Davin-Regli *et al.*, 2020).

- **Diminution de la perméabilité membranaire**

Si la paroi des bactéries Gram positif est presque exclusivement constituée de peptidoglycane, elle est plus complexe et difficilement franchissable chez les bactéries Gram négatif grâce à la superposition d'une membranes externe asymétrique composée d'une face interne phospholipidique et une face externe très riche en lipopolysaccharides (LPS). Cette structure particulière rend la membrane externe très hydrophile et forme une barrière qui empêche la pénétration d'antibiotiques hydrophobes, conférant une résistance naturelle aux bactéries Gram négatif vis-à-vis certains antibiotiques hydrophobes (Gadou, 2019).

Les antibiotiques hydrophiles, comme les β -lactamines, ne peuvent traverser cette membrane externe qu'à travers des porines. La résistance à ce type d'antibiotique peut être acquise par mutations ou diminution de l'expression des gènes codant pour ces porines.

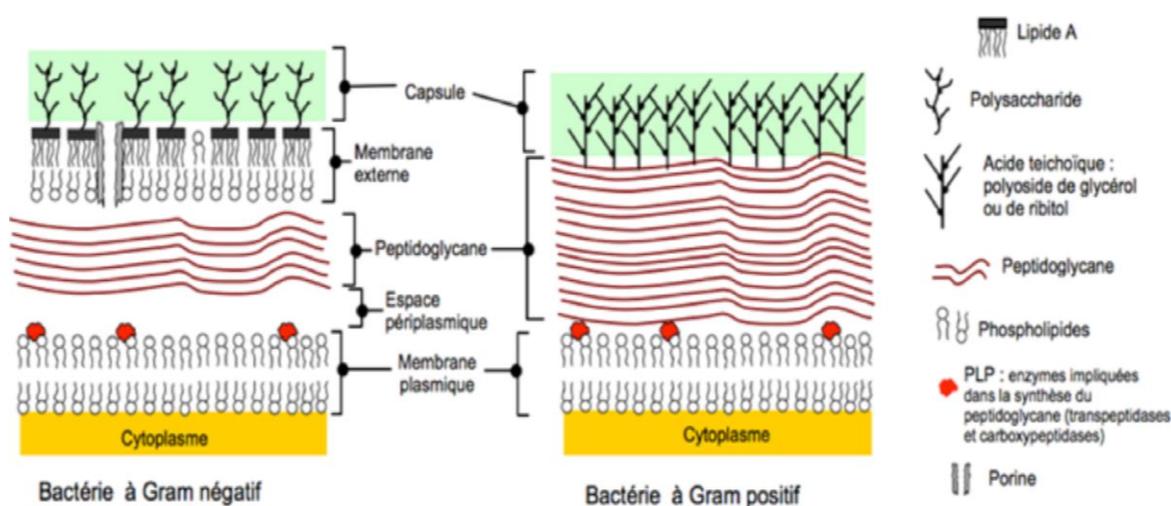


Figure 3 : Structure de la paroi bactérienne des bactéries Gram positif et Gram négatif (SOMIPEV, 2017).

- **Excrétion de l'antibiotique par les systèmes d'efflux bactériens**

Le système d'efflux est représenté par les pompes à efflux qui sont des transporteurs membranaires chargés de l'expulsion active d'antibiotiques utilisant la force du gradient de protons ou bien l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP pour réduire sa concentration dans le cytoplasme de la bactérie et limiter son accès à sa cible.

Selon la spécificité de la pompe on distingue :

- les pompes à efflux « drogue-spécifiques », dont les gènes codants sont souvent situés sur le plasmide, conférant à la bactérie une résistance à toute une classe d'antibiotiques (exemple : les « pompes Tet » spécifiques des tétracyclines).
- les pompes à efflux MDR (multi-résistante aux drogues), dont les gènes codants sont généralement chromosomiques, conférant à la bactérie une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques, et contribuant ainsi à la multirésistance d'une façon très significative (**Butaye et al., 2003**).

I.3.2.2 Inactivation de l'antibiotique par modification enzymatique

L'antibiorésistance des bactéries peut être assurée par des enzymes qui sont capables de détruire ou inactiver les antibiotiques grâce à des réactions enzymatiques (**Wright, 2005**).

Et selon le type de réaction, ces enzymes sont divisées en :

- Enzymes agissant par une réaction d'hydrolyse dont les gènes codants sont situés sur des éléments mobiles du génome, impliquant une grande diffusion de ce mode de résistance (**Biskri et Mazel, 2003**), et on peut citer les β -lactamases qui clivent le noyau β -lactame des pénicillines et des céphalosporines ainsi que les macrolides estérases qui clivent la liaison fonctionnelle des macrolides cyclisés ;
- Enzymes catalysant une réaction de transfert de groupements chimiques sur l'antibiotique afin de diminuer son affinité pour sa cible (exemple : les réactions d'acétylation, de phosphorylation, de glycosylation, de nucléotidylation et de ribosylation) ;
- Enzymes agissant par une activité oxydo-réductrice comparable au processus de détoxification catalysé par les cytochromes P-450 chez les mammifères (**Guengerich, 2001**).

I.3.2.3 Modification de la cible cellulaire de l'antibiotique

Un mécanisme de résistance très commun résultant d'une mutation spontanée ou de l'acquisition d'un gène de résistance afin d'inhiber l'action de l'antibiotique tout en préservant la fonction cellulaire de la cible, c'est l'exemple de :

- La modification de la protéine liant la pénicilline (PLP) qui est directement impliquée dans la biosynthèse des peptidoglycanes grâce à son activité transpeptidasique. Cette modification confère à la bactérie une résistance aux β -lactamines (**Robin et al., 2012**).
- La mutation au niveau des gènes codant pour les enzymes de la réplication (ADN gyrase), et les enzymes de la transcription (ARN polymérase), confère à la bactérie une résistance aux fluoroquinolones et la rifampicine (**Heep et al., 2000**).

Chapitre II. β -Lactamases

II.1 Définition

Les β -lactamases sont des enzymes produites à la fois par les bactéries Gram positifs et les bactéries Gram négatives, elles appartiennent à la classe **EC 3.5.2.6** qui regroupe les hydrolases spécifiques des amides cycliques (liaison C-N cyclique). Elles sont capables d'inactiver certains antibiotiques de la famille des β -lactamines en hydrolysant la liaison amide du noyau β -lactame, cette réaction rend l'antibiotique inactif (**Judge et al., 2023**). C'est le mécanisme de résistance le plus courant chez les bactéries Gram négatives (**Poole, 2004**). Les gènes codant sont d'origine chromosomique ou plasmidique, généralement appelés « *bla* » suivis du nom de l'enzyme spécifique (par exemple *blaKPC*), ces gènes peuvent également se trouver faisant partie d'intégrons, une situation qui facilite leur dissémination. La transcription de ces gènes peut être constitutive ou nécessitant un signal externe pour induire leur production (**Munita et Arias, 2016**). Chez les bactéries Gram négatives, les β -lactamases sont intracellulaires avec une localisation périplasmique, alors que chez les bactéries Gram positives, elles sont principalement excrétées dans le milieu extérieur et sont donc extracellulaires (**Russell, 1998**).

II.2 Classification

Avec l'explosion des informations en matière de biologie moléculaire, le nombre de β -lactamases identifiées ont subi une augmentation quasi exponentielle. En 2018, le total des β -lactamases uniques a été estimé à 2771, et de nombreuses autres β -lactamases continueront probablement d'être signalées dans le cadre d'un processus d'évolution bactérienne normal (**Bush, 2018**).

II.2.1 Classification moléculaire d'Ambller

C'est une classification qui est basée sur l'homologie de séquence en acides aminés ainsi que les différences fondamentales dans les mécanismes d'hydrolyse (**Bush et Jacoby, 2010**). Elle individualise quatre classes, qui sont la classe A, C, D et B.

- **Sérines β -lactamases (SBL)**, regroupant les classes (A, C, et D), qui utilisent la sérine, faisant partie de leurs site actif, pour hydrolyser les β -lactames ;
- **Métallo β -lactamases (MBL)**, représenté par la classe B qui nécessitent des ions zinc divalents au niveau de leur site actif.

II.2.2 Classification fonctionnelle de Bush

C'est une classification qui est basée sur les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse. Cette classification individualise 03 groupes avec plusieurs sous-groupes (**Bush et Jacoby, 2010**) :

- **Groupe 1** : incluant les céphalosporinases chromosomiques de la classe C de nombreuses entérobactéries et de quelques autres organismes. Elles sont résistantes à l'inhibition par l'acide clavulanique et actif sur les céphamycines comme la céfoxitine (**Jacoby, 2009**) ;
- **Groupe 2** : représente le plus grand groupe des β -lactamases, en raison de l'augmentation des identifications des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) au cours des 20 dernières années. Il contient les β -lactamases de la classe A et D, et elles sont généralement inhibées par l'acide clavulanique (**Bush et Jacoby, 2010**) ;
- **Groupe 3** : regroupe les métallo- β -lactamases (MBL) représenté par les métalloenzymes de la classe B, qui sont responsables de la résistance à la quasi-totalité des β -lactamines sauf les monobactames. Elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique mais inhibées par les chélateurs d'ions tels que l'EDTA (**Jacoby, 2009**).

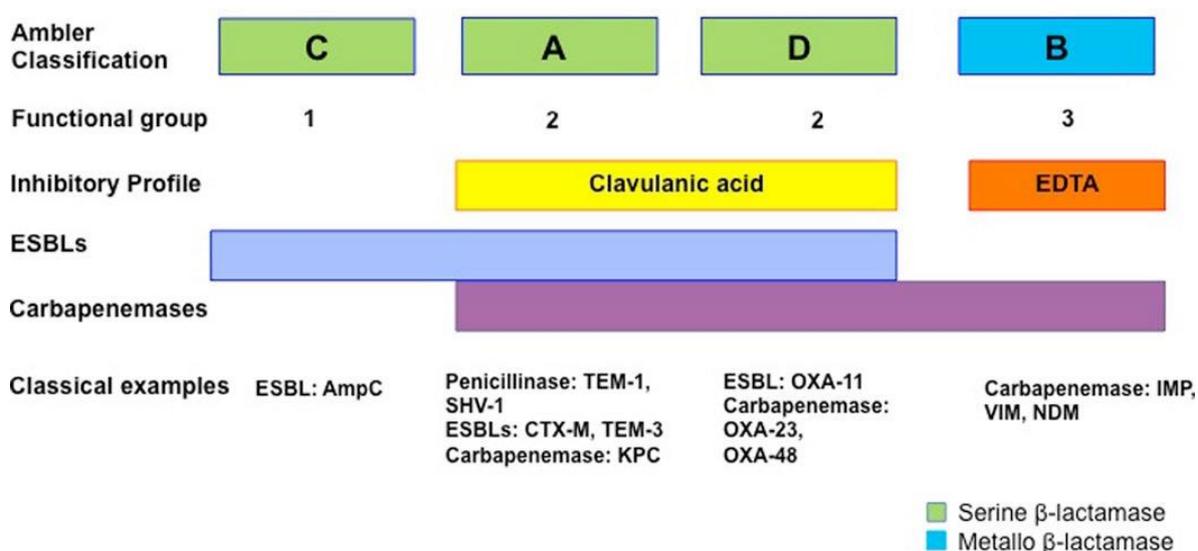


Figure 4 : Différentes classifications des β -lactamases et leurs caractéristiques (Munita et Arias, 2016).

II.3 Structure moléculaire

Les β -lactamases sont des protéines globulaires monomériques ayant une structure tridimensionnelle globalement composé de 11 hélices α et 5 feuillets β (Bonomo et Rice, 1999). Elles possèdent un poids moléculaire moyen variant entre 23 à 40kDa (Kallaba, 2017).

Les sérine- β -lactamases (SBL) sont essentiellement constituées de deux domaines structuraux (un domaine tout α et un domaine α/β), leurs site actif est situé au niveau du sillon entre les deux domaines. La structure tridimensionnelle des métallo- β -lactamases (MBL) présente un motif commun à quatre couches " $\alpha\beta/\beta\alpha$ ", avec un sandwich central " $\beta\beta$ " par des ions Zn^{2+} et deux hélices α sont situées de chaque côté, leurs site actif contient 1 ou 2 ions Zn^{2+} (Salahuddin et al., 2018).

Au voisinage du résidu sérine du site actif des sérine- β -lactamases, plusieurs éléments conservés sont identifiés, ces éléments semblent être directement ou indirectement impliqué dans la reconnaissance du substrat et le processus catalytique.

Le premier élément, est un motif invariant (**tétrade Ser-Xaa-Xaa-Lys**), dont les résidus catalytiques importants sont la sérine 70 (parfois sérine 64) et lysine 73 (parfois lysine 67) (Tooke et al., 2019). La proximité des chaînes latérales sérine et lysine, suggère l'implication probable de la chaîne latérale de la lysine dans le processus catalytique;

Le deuxième élément est situé sur une boucle courte dans le tout- α domaine, où il forme un côté de la cavité catalytique, il s'agit du **triade Tyr-Xaa-Asn** pour les β -lactamases de classes C et D, et du **triade Ser-Xaa-Asn** pour les β -lactamases de classe A;

Le troisième élément est généralement une séquence **Lys-Thr-Gly (KTG triade)**, mais la lysine est remplacée par 'histidine ou l'arginine dans quelques cas exceptionnels, et la thréonine par la sérine dans plusieurs β -lactamases de classe A;

Le quatrième élément contenant un résidu chargé négativement, semble jouer un rôle de catalyseur dans les β -lactamases de classe A, il se situe sur une boucle appelée boucle Ω qui contient souvent la séquence **Glu166-Xaa-Glu-Leu-Asn170** où les deux résidus Glu166 et Asn170 semblent être indispensables pour positionner les molécule d'eau très proche de la sérine active (Matagne et al., 1998)

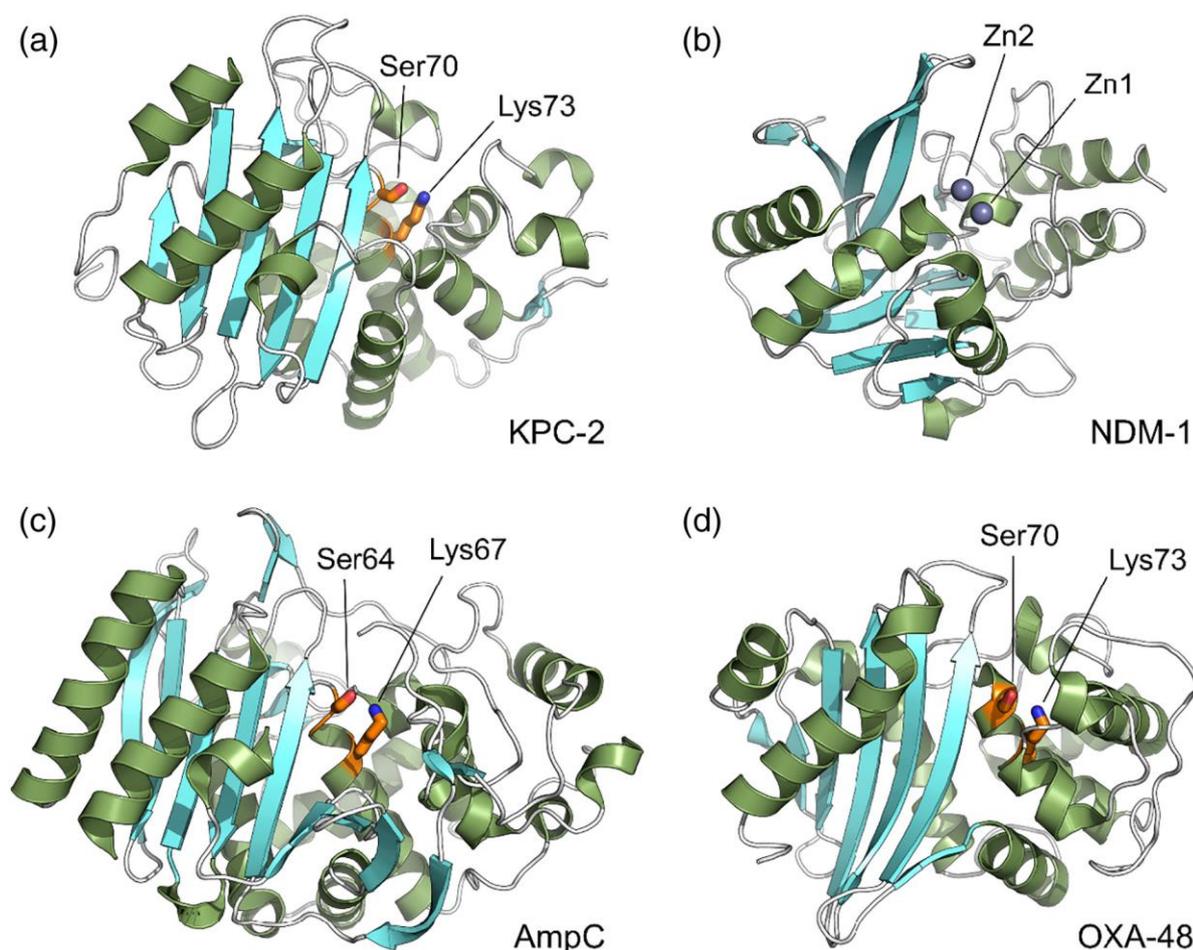


Figure 5 : Structures cristallographiques des différentes classes de β -lactamases (Tooke et al., 2019).

(a) Classe A (KPC), (b) Classe B (NDM), (c) classe C (AmpC), (d) Classe D (OXA-48)

II.4 Mécanisme d'action biologique

II.4.1 Mécanisme d'action général des sérines β -lactamases (SBL)

Ils agissent par un mécanisme d'acylation-désacylation pour hydrolyser son substrat (Figure 6). Au cours de cette réaction la sérine nucléophile activée par une base B1, attaque le carbone amide carbonyle en C7, générant une acylenzyme covalente, puis une base B2 active une molécule d'eau, nommée « eau de désacylation » qui va agir par une attaque nucléophile sur l'acylenzyme carbonyle afin de l'hydrolyser en libérant une pénicilloate. L'identité des bases B1 et B2 sont variables selon la classe de β -lactamase en question (Tooke et al., 2019).

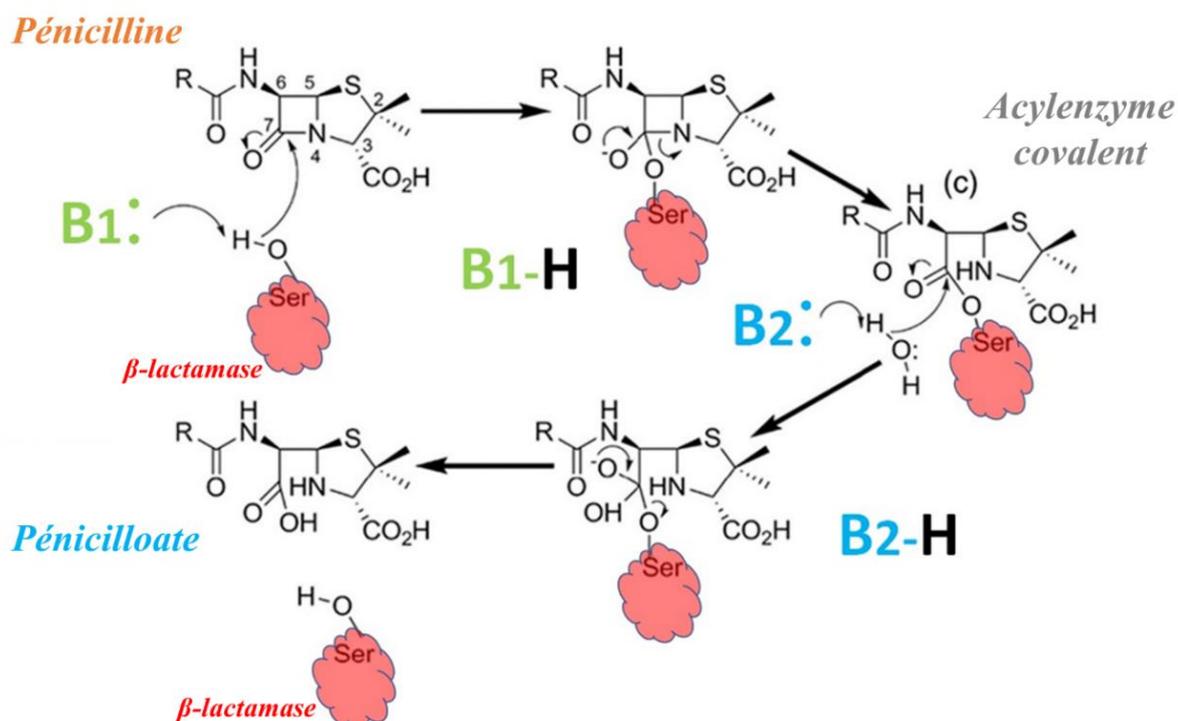


Figure 6 : Mécanisme d'action des sérines β -lactamases (adapté de Tooke et *al.*, 2019).

La β -lactamase de classe A agit par hydrolyse de la liaison amide endocyclique des substrats β -lactame, d'abord par une réaction d'acylation, avec liaison covalente transitoire entre le noyau β -lactame et la Ser70 du site actif, suivie d'une réaction de désacylation. Les bases B1 et B2 de ce type de mécanisme sont représenté par les résidus Glu166 et Ser130 du site actif (Chen et *al.*, 2007). Ce mécanisme se déroule en 5 étapes (Figure 7) :

Étape 1 : le résidu Glu166, jouant le rôle de la base B1, déprotone une molécule d'eau qui à son tour déprotone la Ser70 initiant son addition nucléophile sur le carbone carbonyle du bêta-lactame, pour former un intermédiaire tétraédrique. Dans un mécanisme alternatif, c'est le résidu Lys73 qui va activer directement la Ser70 (Maveyraud et *al.*, 2000).

Étape 2 : l'intermédiaire tétraédrique est une molécule instable qui va subir une réaction de clivage au niveau de la liaison C-N ou l'azote va déprotone le résidu Ser130.

Étape 3 : la Ser130 déprotone l'eau, qui à son tour va déprotone le résidu Glu166.

Étape 4 : la Glu166, jouant le rôle de la base B2, déprotone l'eau initiant son addition nucléophile au niveau du carbone carbonyle pour former un nouvel intermédiaire tétraédrique.

Étape 5 : L'intermédiaire tétraédrique étant une molécule instable va subir un clivage au niveau de la liaison acyle-enzyme en libérant la Ser70 et le Glu166 initiaux.

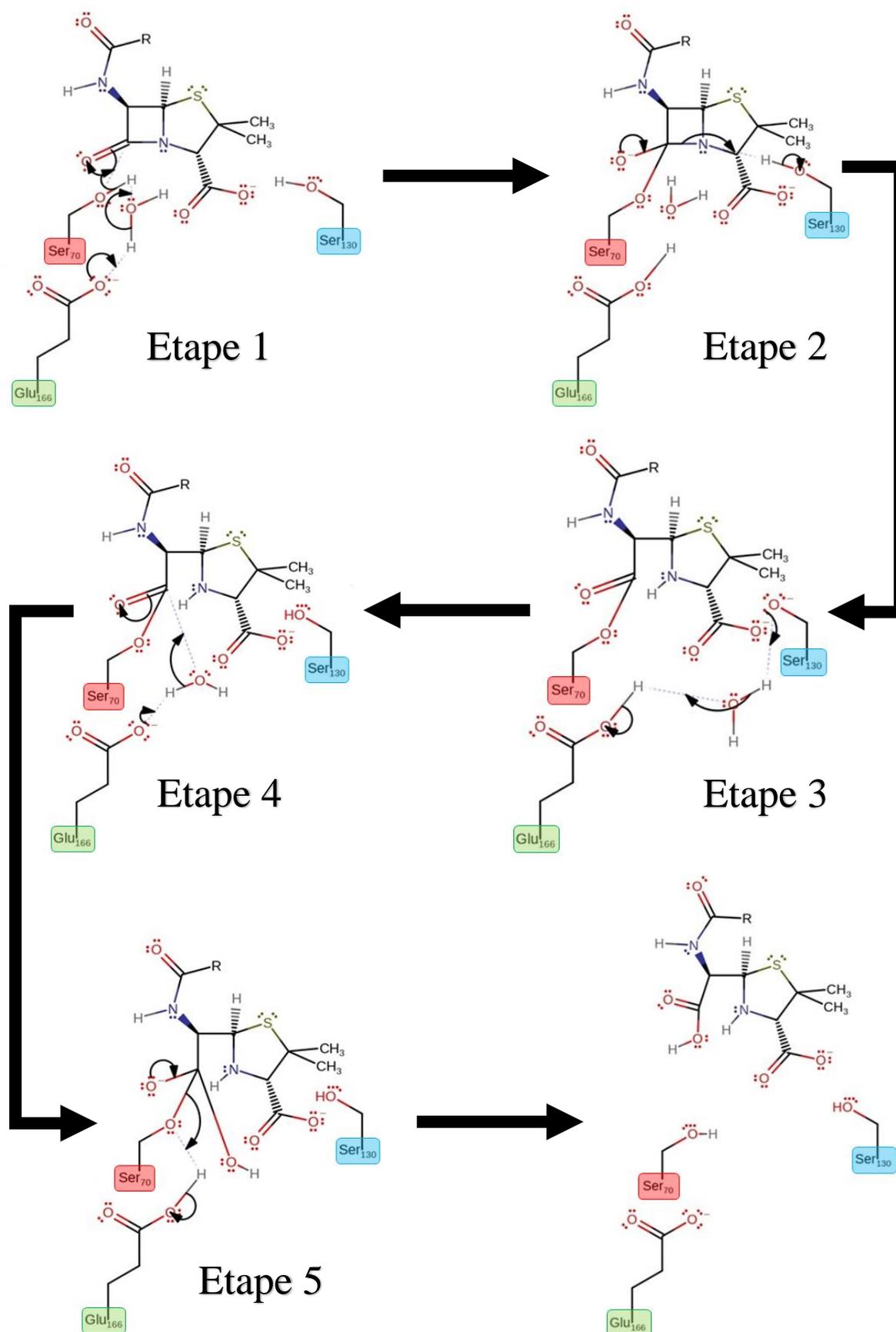


Figure 7 : Schéma réactionnel de l'hydrolyse du noyau β -lactame au niveau du site actif des Sérines β -lactamases de classe A (Chen *et al.*, 2007).

II.4.2 Mécanisme d'action général des métallo β -lactamases (MBL)

Dans une première étape, l'eau activée au zinc, initie une attaque nucléophile sur le carbonyle du cycle bêta-lactame, rompant la liaison C-N, puis dans une deuxième étape, l'azote chargé négativement de l'intermédiaire tétraédrique, déprotone une autre molécule d'eau pour donner un produit plus stable (Figure 8). Dans ce mécanisme les résidus Asn193 et Lys184 participent aussi à la stabilisation de l'intermédiaire tétraédrique et à positionner correctement le substrat (**Fabiane et al.,1998**).

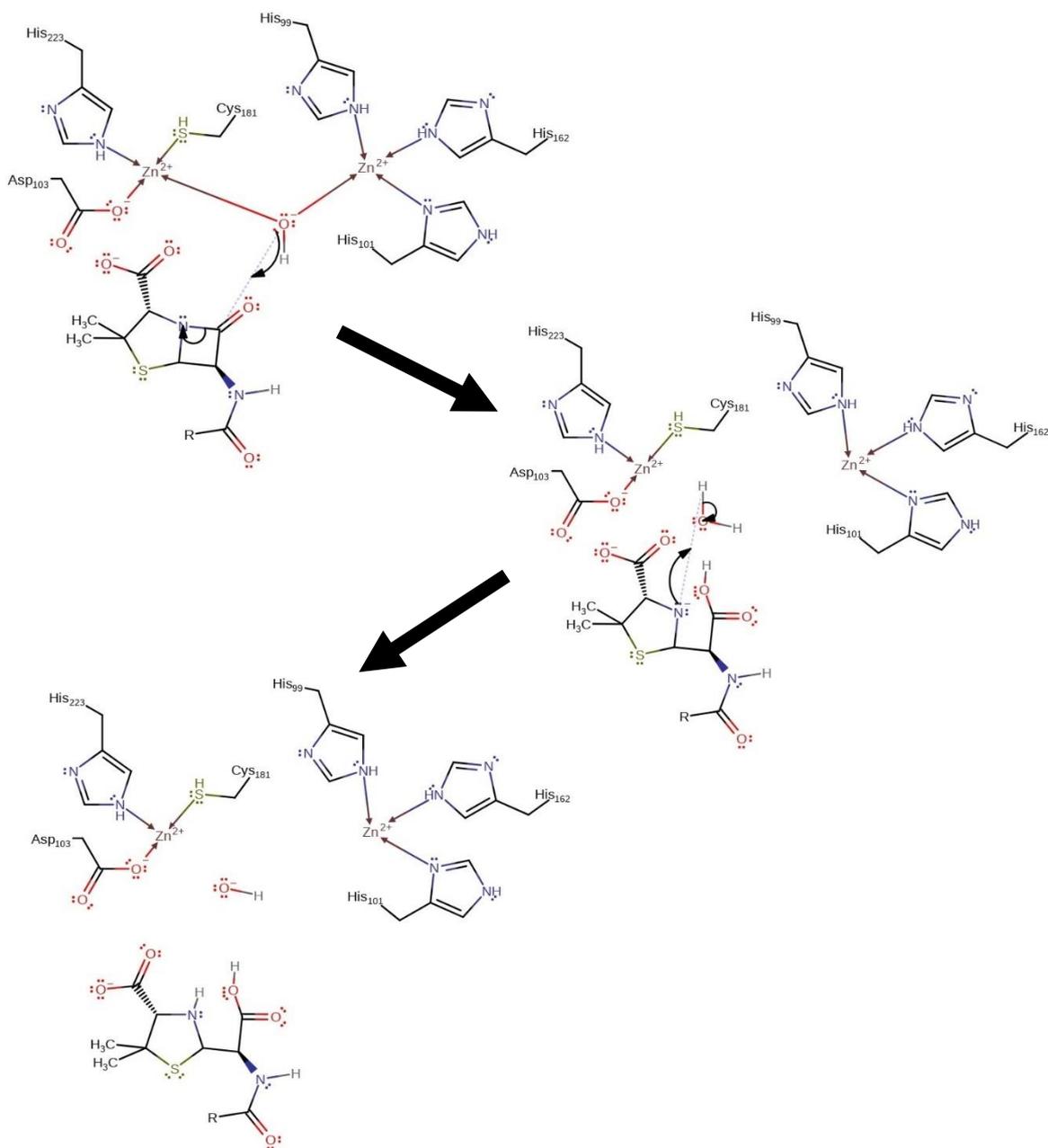


Figure 8 : Schéma réactionnel de l'hydrolyse du noyau β -lactame au niveau du site actif des métallo β -lactamases de classe B (Fabiane et al.,1998).

II.5 Inhibiteurs de β -Lactamase

II.5.1 Définition

Les inhibiteurs de β -lactamase sont des médicaments coadministrés avec des β -lactamines pour prévenir la résistance bactérienne par inhibition des sérine β -lactamases (SBL), enzymes impliquées dans l'inactivation du cycle β -lactame. Ils ne présentent qu'une faible activité antibactérienne intrinsèque, c'est pourquoi ils ne sont pas administrés seuls et sont utilisés en combinaison avec un antibiotique β -lactame. Ils sont principalement indiqués pour les infections causées par des bactéries Gram négatives, productrices de cette enzyme (**Pandey et Cascella, 2022**).

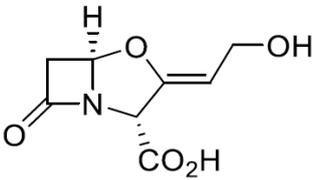
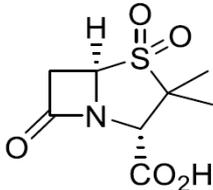
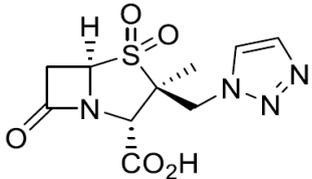
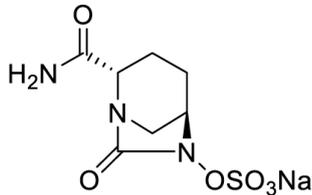
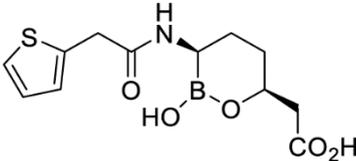
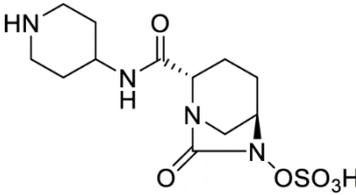
Les bactéries les plus couramment traitées par les inhibiteurs de la β -lactamase sont les Entérobactéries (*Citrobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella*, *Shigella*), *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant, les inhibiteurs de la β -lactamase sont moins couramment utilisés pour le traitement des bactérie Gram positive, comme le *Staphylococcus aureus*, en raison de la présence d'un autre mécanisme de résistance (**Curello et MacDougall, 2014**).

Plusieurs bactéries ont développé des enzymes β -lactamases à spectre étendu (BLSE), comme les Enterobacteriaceae et le *Pseudomonas aeruginosa*, cette production confère une résistance supplémentaire aux céphalosporines. La recherche a démontré que les inhibiteurs de la β -lactamase peuvent traiter efficacement les organismes producteurs de BLSE, améliorant ainsi notre capacité à combattre ces bactéries virulentes (**Tamma et Villegas, 2017**).

II.5.2 Classification

Les inhibiteurs de la β -lactamase sont essentiels pour prévenir la résistance et améliorer l'efficacité du traitement des infections bactériennes par les β -lactamines. De nombreux inhibiteurs de bêta-lactamases ont été synthétisés et utilisés en association avec des antibiotiques sensibles à l'antibiorésistance (**Lemaoui et al., 2017**). La table 4 présente les principaux inhibiteurs de la β -lactamase utilisés actuellement en médecine clinique, et de nouvelles recherches sont continuellement en cours pour augmenter leurs nombre et leurs efficacité.

Table 4 : Principaux associations inhibiteurs de la β -lactamase utilisés en médecine clinique (Bouchet, 2022).

Génération	DCI	Formule chimique	Association pharmacologique
Inhibiteur de β -lactamase de 1 ^{ère} génération	Acide clavulanique (1984)		Amoxicilline
	Sulbactam (1987)		Ampicilline
	Tazobactam (1993)		Pipéracilline
Inhibiteur de β -lactamase de 2 ^{ième} génération	Avibactam (2015)		Ceftazidime
	Vaborbactam (2017)		Méropénem
	Relebactam (2019)		Imipenème + Cilastatine

II.5.3 Mécanisme d'action

Les inhibiteurs de 1^{ère} génération agissent comme inhibiteurs « suicides » en formant une liaison covalente stable avec le résidu sérine des β -lactamases après attaque nucléophile du résidu sérine sur la fonction carbonyle conduisant à la formation d'un complexe acyle-enzyme via un intermédiaire tétraédrique. Cependant, ce complexe va subir un réarrangement pour donner un imine qui peut s'hydrolyser ou se dégrader en subissant différents réarrangements et fragmentations. Les inhibiteurs de 2^{ème} génération agissent par formation d'un complexe covalent réversible avec l'enzyme, en revanche l'attaque nucléophile du résidu sérine de la β -lactamase n'est plus le carbone d'une fonction carbonyle mais l'atome de bore de l'acide boronique (**Bouchet, 2022**).

Chapitre III. Phytothérapie et plantes médicinales

Selon le rapport de l'OMS, 80% de la population mondiale ont recours aux traitements traditionnels utilisant des plantes médicinales pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires et pour se traiter de diverses maladies (**Eddouks et al., 2007**). Ce taux remarquablement élevé, peut être expliqué par leur disponibilité sur le marché et leur faible coût, ainsi que par l'efficacité thérapeutique de ces remèdes naturels prouvée au cours de leurs usage habituel en médecine traditionnelle. Cette pratique médicale très ancienne, fondée sur l'utilisation d'extraits de plantes et de principes actifs naturelles, est connue sous le nom de « phytothérapie ».

III.1 Définition

La phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes, des parties de plantes ou des préparations à base de plantes, ayant des propriétés thérapeutiques pour traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques, ces plantes sont appelées « plantes médicinales », ils peuvent être des espèces sauvages ou cultivées (**Schlienger, 2014**).

Une plante médicinale est une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager diverses maladies, elle est définie par la pharmacopée française comme une « drogue végétale dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». L'expression « drogue végétale » désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments. Environ 35000 espèces des plantes sont employées à des fins médicinales constituant le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (**Aliaki, 2017**).

III.2 Présentation du *Nigella sativa*

III.2.1 Présentation et description botanique

- **Nom scientifique :** *Nigella sativa* (Nigelle cultivée)
- **Synonyme :** *Herbe aux épices, Cheveux de Vénus, Barbe des Capucins, Patte d'Araignée, Barbiche, Cheveux d'Ange, Cumin noir, Poivrette.*

C'est une plante annuelle de la famille des Renonculacées originaire du sud-ouest de l'Asie (**Bechegaoui et al., 2019**). Elle est cultivée pour ses graines aromatiques dans les régions méditerranéennes (particulièrement en Turquie et Syrie), en Asie occidentale jusqu'au Pakistan et en Inde, en passant par l'Arabie saoudite, le Soudan et l'Éthiopie.

Les graines de nigelle sont consommées comme épice ou comme remède en médecine traditionnelle (Karrandou, 2016).



Figure 9 : Image de la partie aérienne (fleurs et graines) du *Nigella sativa* (Benazzouz et al., 2023).

III.2.2 Composition chimique

La famille des Renonculacées et notamment l'espèce *Nigella sativa* a bénéficiée de nombreuses études phytochimiques. Des échantillons de graines de *Nigella sativa* ont été analysés et caractérisés en termes de propriétés physico-chimiques d'huile essentielle, composés phytochimiques et de minéraux, ces études ont montré la présence d'une diversité de substances naturelles regroupant des lipides, des terpénoïdes, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponines, ainsi qu'une importante source de minéraux (phosphore, calcium, potassium, magnésium et sodium). Les valeurs et proportions fournies par la littérature diffèrent d'un auteur à l'autre, la variété et l'origine des échantillons peuvent en être partiellement responsables (Benhaddou, 2010).

Table 5 : Liste des principaux composés phytochimiques isolés de *Nigella sativa* (Benhaddou, 2010).

Composé	Nature chimique
Carvone	Monoterpène
Thymohydroquinone	
Thymol	
Thymoquinone	
beta-Amyrin	Triterpène
Butyrospermol	
Citrostadienol	
Cycloartanol	
Cycloartenol	
Cycloeucalenol	
Gramistérol	
Hederagénine	
Obtusifoliol	
Taraxérol	
Tirucallol	
5-Dehydroavenasterol	Stéroïde
7-Dehydroavenasterol	
Campestanol	
Campesterol	
Carvacrol	
Nigellicine	Alcaloïde
Nigellidine	
Nigellimine	
Nigellimine N-oxide	
Nigelline	
Nigellone (Dithymoquinone)	Quinoïde

III.2.3 Activité biologique et usage traditionnel

Nigella sativa a été traditionnellement utilisé pour traiter une grande variété de troubles, de maladies et d'affections liés au système respiratoire, cardio-vasculaire, gastro-intestinal et immunitaire. Avicenne décrit que les graines stimulent l'énergie du corps et aident à la récupération de la fatigue et de l'esprit. Les graines sont utilisées pour le traitement de l'asthme, les bronchites, les rhumatismes et certaines maladies infectieuses, alors que l'huile est utilisée comme antiseptique et anesthésiant local (Haseena et al., 2015).

Des études approfondies menées par divers chercheurs sur la *Nigella sativa* ont dévoilé un large éventail de ses actions et ses propriétés pharmacologiques scientifiquement prouvées incluant un effet antidiabétique, anticancéreux, immunomodulateur, antalgique, antimicrobien, anti-inflammatoire, spasmolytique, bronchodilatateur, hépato-protecteur et antioxydant (Ahmed et al., 2013).

Table 6 : Principales activités pharmacologiques scientifiquement prouvées du *Nigella sativa*

Activité	Conclusions des études	Références
<i>Antibactérienne</i>	inhibition de la croissance du <i>Staphylococcus aureus</i>	Bakathir et Abbas, 2011
	effet prometteur contre certain isolats de bactérie multirésistante Gram négatifs	Morsi, 2000
	activité cliniquement utile contre l' <i>Helicobacter pylori</i> comparable à la trithérapie	Salem et al., 2010
	effet bactéricide significatif contre diverses bactéries humaines pathogènes (Cocci Gram positif)	Chaieb et al., 2011
<i>Antifongique</i>	effet inhibiteur contre les candidoses chez la souris	Khan et Sultana, 2005
	effet anti-dermatophytes potentiel	Aljabre et al., 2005
<i>Antioxydante</i>	réduction des médiateurs pro-inflammatoire	Umar et al., 2012
	inhibition du stress oxydative	Al-Othman et al., 2006
<i>Antidiabétique</i>	protection et amélioration ultra-structurale des cellule β -pancréatiques chez les rats diabétiques	Kanter et al., 2009
	amélioration des paramètres biochimiques en cas de syndrome de résistance à l'insuline	Najmi et al., 2008
	réduction significative de la glycémie à jeun, post-prandiale et l'HbA1c en traitement adjuvant chez les diabétiques de type 2	Bamosa et al., 2010

Table 6 : Principales activités pharmacologiques scientifiquement prouvées du *Nigella sativa* (suite).

Activité	Conclusions des études	Références
<i>Anticancéreuse</i>	effet bénéfique de la Thymoquinone sur la réponse adaptative des cellule T contre le cancer et les infections in vitro	Salem et <i>al.</i> , 2011
	activité antitumoral et anti-angiogénique de la Thymoquinone dans l'ostéosarcome	Peng et <i>al.</i> , 2013
	activité préventive potentielle contre le cancer du sein	Woo et <i>al.</i> , 2011
<i>Anti-inflammatoire</i>	activité anti-inflammatoire sur modèle animal	Alemi et <i>al.</i> , 2013
	activité anti-ostéoporotique potentielle	Shuid et <i>al.</i> , 2012
	inhibition de l'expression du COX1 et la production du PGE2 chez les souris	El Mezayen et <i>al.</i> , 2006
<i>Immuno-modulatrice</i>	propriétés immuno-modulatrices et cytotoxiques potentiel	Torres et <i>al.</i> , 2010
	amélioration significativement des symptômes et paramètres immunitaires dans les allergies alimentaires	Duncker et <i>al.</i> , 2012
<i>Cardiovasculaire</i>	diminution de la pression artérielle systolique et prévention des événements pro-thrombotiques	Nemmar et <i>al.</i> , 2011
<i>Gastro-protectrice</i>	effet anti-ulcère potentiel sur les ulcères gastriques induits expérimentalement chez le rat	Al Mofleh et <i>al.</i> , 2008
	amélioration des maladies inflammatoires de l'intestin et du côlon dans un modèle de souris	Lei et <i>al.</i> , 2012
<i>Hépatoprotectrice</i>	protection du tissu hépatique des effets nocifs des métaux toxiques et atténuation de la peroxydation des lipides hépatiques	Kapoor, 2009
<i>Néphroprotectrice</i>	effet néphroprotecteur dans la néphrotoxicité induite par méthotrexate	Said et <i>al.</i> , 2000
<i>Antiasthmatique</i>	effet antispasmodique de la nigellone (inhibition des contractions bronchiolaires induites par la leucotriène)	Wienkötter, 2008
	effet prophylactique sur l'asthme maladie	Boskabady et <i>al.</i> , 2007
<i>Neuro-pharmacologique</i>	effet anxiolytique avec amélioration de l'apprentissage et la mémoire chez les rats	Perveen et <i>al.</i> , 2008
	effet neuroprotecteur dans l'ischémie cérébrale	Akhtar et <i>al.</i> , 2012
	réduction de l'excitabilité et de l'induction de convulsions chez l'animal épileptique	Aboul Ezz et <i>al.</i> , 2011

Chapitre IV : Docking moléculaire

La recherche de nouveaux composés ayant une activité biologique donnée nécessite un effort énorme en termes de main-d'œuvre et de coût à cause du grand nombre de composés qui doivent être synthétisés et évalués biologiquement, pour cette raison, l'industrie pharmaceutique montre un grand intérêt pour les méthodes et les techniques permettant la conception théorique de nouvelles molécules pouvant avoir un effet pharmacologique potentiel. Au cours des dernières années, la bio-informatique a connu une grande évolution en raison du développement de logiciels spécialisés et de la puissance croissante des ordinateurs, les progrès en matière de cristallographie et l'introduction de structures obtenues par RMN ont conduit à la création d'une base de données qui facilite l'usage et l'analyse de données structurales des molécules biochimiques. Dans le domaine de la biologie, la base PDB « Protein Data Bank » est la base de données par excellence (**Zerdaoui et Bounasla, 2020**).

Le docking moléculaire est une méthode permettant de comprendre et de prédire une interaction moléculaire, à la fois structurellement, trouvant des modes de liaison probables, et énergétiquement, prédisant l'affinité de ces liaisons (**Morris et Lim-Wilby, 2008**). Il donne une prédiction sur l'affinité et l'orientation préférée d'une molécule par rapport à une autre lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable, cela est particulièrement important lors des interactions entre les molécules d'importance biologique, telles que les protéines, les acides nucléiques, les glucides et matières grasses qui peuvent jouer un rôle essentiel dans la signalisation biologique.

IV.1 Principe du docking moléculaire

Le concept original du docking moléculaire vient du concept de "la clé et la serrure" qui s'intéresse à trouver la bonne combinaison de la clé (le ligand) permettant de l'insérer dans la serrure (la protéine) afin de l'ouvrir, en utilisant des algorithmes d'amarrage moléculaire. C'est un processus qui se déroule dans un espace tridimensionnel au cours duquel une molécule (ligand) va se fixer, selon son affinité, sur le site actif d'une protéine cible (récepteur) pour former un complexe stable. Ce processus donne une prédiction sur l'affinité, la position et l'orientation correcte du ligand pour le site actif de la protéine (**Chen, 2015**).

Il existe deux principales applications des programmes de docking moléculaire, la première consiste à prédire sur l'interaction entre le ligand et son récepteur, la seconde consiste à optimiser une molécule ayant déjà une activité avec son récepteur en agissant sur sa structure

afin d'améliorer son affinité, sa spécificité, sa synthèse ou encore ses propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité) (Laouar, 2015).

IV.2 Différents types de docking moléculaire

Il existe trois types de docking moléculaire (Chevrollier, 2019) :

- **Le docking rigide**, au cours duquel la protéine et le ligand sont considérés comme entités rigides avec des degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand relativement au récepteur. C'est une simplification qui permet de considérer un modèle de liaison de type « serrure-clé » où ni le ligand ni le récepteur ne subissent de réarrangements conformationnels à la suite de leur interaction. Ce type de docking est généralement employé entre deux macromolécules (docking protéine-protéine ou protéine/acide nucléique) pour lesquelles les degrés de liberté sont trop importants pour réaliser un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calculs raisonnables.
- **Le docking semi-flexible**, où seule la flexibilité du ligand est traitée avec un récepteur restant rigide. Ce type de docking repose sur l'hypothèse sommaire que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand.
- **Le docking flexible**, qui considère en même temps la flexibilité du ligand et du récepteur avec des degrés de liberté conformationnels du récepteur qui peuvent être limités à certaines chaînes latérales. Ce type de docking est le plus proche de la réalité puisqu'il considère les liaisons du ligand au récepteur comme un « ajustement induit ». Cependant, cela implique des difficultés importantes liées au temps de calculs nécessaires.

Actuellement, environ 76 programmes de docking moléculaire commerciaux et non commerciaux sont disponibles. Le programme Molecular Operating Environment (MOE) est une plateforme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation et la simulation, ainsi que le développement de méthodologies en un seul pack. Il permet la conception de drogue, l'analyse structurale des protéines et l'étude des interactions entre les protéines et les petites molécules (Wikipédia contributors, 2022).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Objectif

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude *in silico* de l'effet inhibiteur de quelques composés phytochimiques de *Nigella sativa* afin d'identifier, ceux qui peuvent présenter une meilleure affinité vis-à-vis la β -lactamase, enzyme clé directement impliquée dans le mécanisme de résistance aux β -lactamines, par rapport à un inhibiteur de référence en s'appuyant sur les résultats de prédiction du docking moléculaire.

2. Matériel

2.1 Micro-ordinateur

Cinq micro-ordinateurs ont été utilisés d'une façon simultanée pour l'exécution de ce travail et l'analyse des résultats dont les caractéristiques techniques sont les suivantes :

- Laptop 01 :
 - Type de système : Système d'exploitation 64 bits, processeur x64
 - Processeur : Intel(R) Core(TM) M-5Y71 CPU @ 1.20GHz, 1.40 GHz
 - Mémoire RAM : 8,00 Go (7,85 Go utilisable)
 - Système d'exploitation : Windows 10 Professionnel

- Laptop 02 :
 - Type de système : Système d'exploitation 64 bits, processeur x64
 - Processeur : Intel(R) Core(TM) i5-4200U CPU @ 1.60GHz, 2.30 GHz
 - Mémoire RAM : 4,00 Go (2,29 Go utilisable)
 - Système d'exploitation : Windows 8.1 Professionnel

- PC de bureau 03 :
 - Type de système : Système d'exploitation 32 bits
 - Processeur : Intel(R) Core(TM) i3-3220 CPU @ 3.30GHz, 3.30 GHz
 - Mémoire RAM : 4,00 Go (3,48 Go utilisable)
 - Système d'exploitation : Windows 7 Professionnel

- PC de bureau 04 :
 - Type de système : Système d'exploitation 64 bits
 - Processeur : Intel(R) Core(TM)2 Duo CPU E7500 @ 2.93GHz, 2.94 GHz
 - Mémoire RAM : 2,00 Go
 - Système d'exploitation : Windows 7 Edition Intégrale

- PC de bureau 05 :
 - Type de système : Système d'exploitation 32 bits
 - Processeur : Intel(R) Core(TM)2 Duo CPU E7300 @ 2.66GHz, 2.67 GHz
 - Mémoire RAM : 3,00 Go
 - Système d'exploitation : Windows 7 Professionnel

2.2 Banques de données

- PDB (Protein Data Bank)

La banque de données des protéines PDB (Protein Data Bank) est la principale source de données de biologie structurale, elle permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique, ces structures sont principalement déterminées par la cristallographie au rayons X et la RMN (RCSB PDB, 2023).

- PubChem

C'est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le NCBI (National Center for Biotechnology Information), branche de la bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la NIH (National Institute of Health). Elle répertorie plusieurs millions de composés, principalement des petites molécules, mais également des molécules plus grandes telles que les nucléotides, les glucides, des lipides, des peptides et des macromolécules en mettant en ligne gratuitement leurs structures et leurs propriétés physico-chimiques (PubChem, 2023).

2.3 Programmes

- MOE 2015.10 de Chemical Computing Group Inc, utilisé pour la préparation, la visualisation de la structure 3D de l'enzyme et des composés phytochimiques et la réalisation du docking moléculaire.
- Excel 365, utilisé pour l'enregistrement des résultats numériques obtenus.

3. Méthodes

Notre travail va se dérouler selon le plan représenté par le schéma de la Figure 10.

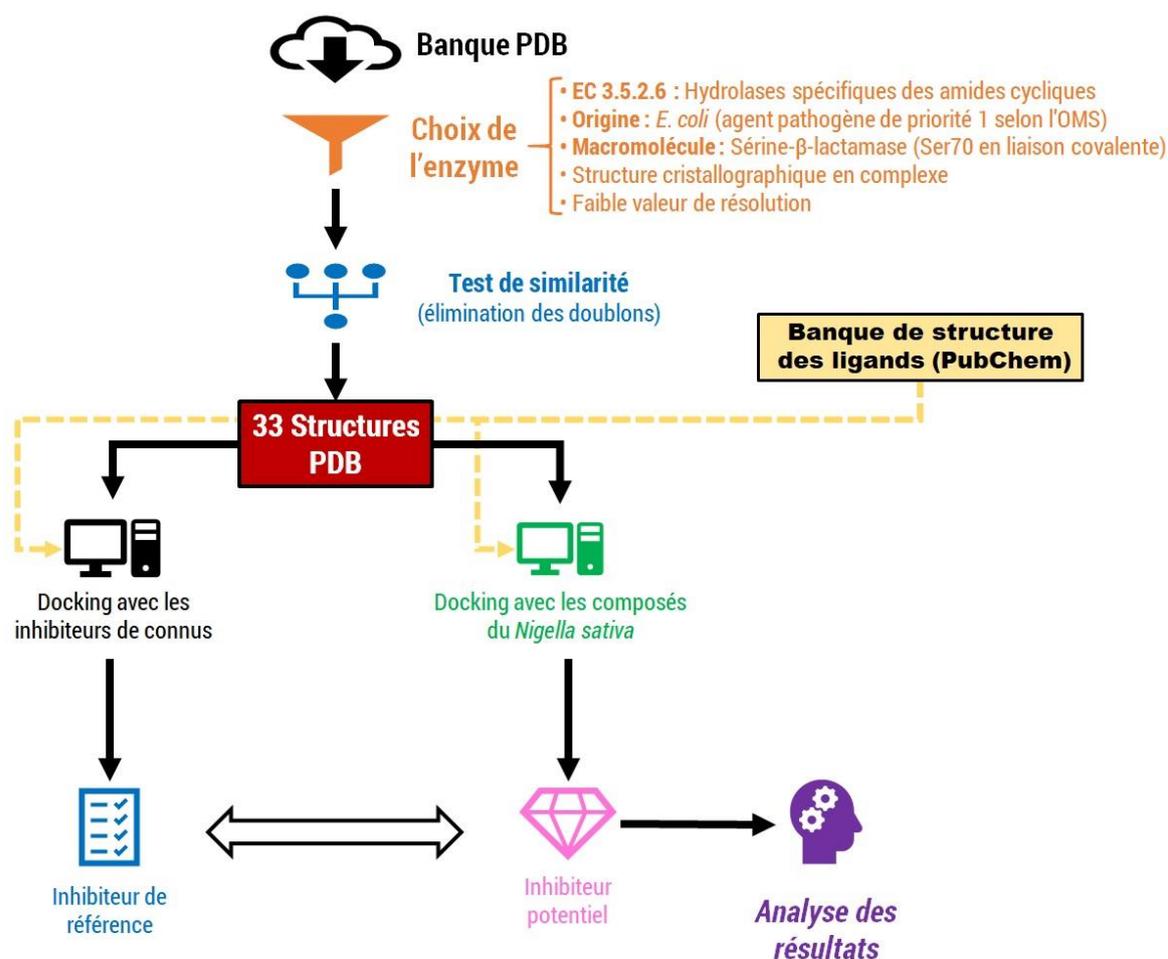


Figure 10 : Schéma récapitulatif du plan de travail

3.1 Critères de choix de l'enzyme

Afin de réaliser ce travail nous avons fixé les critères de choix de l'enzyme arbitrairement dans les limites des objectifs fixés, l'étendue de la recherche et les connaissances disponibles en matière de mécanisme de réaction enzymatique ainsi que le site actif impliqué dans cette réaction. Ces critères peuvent se résumer en six critères distincts :

- 1- l'enzyme doit appartenir à la classe des hydrolases spécifiques des amides cycliques (EC 3.5.2.6) d'origine bactérienne.
- 2- l'enzyme doit avoir comme organisme d'origine une des bactéries de « Priorité 1 dite Critique » figurant dans la liste publiée par l'OMS en 2017 intitulée « Agents pathogènes prioritaires pour la recherche-développement de nouveaux antibiotiques » (Campbell, 2017).
- 3- l'entrée PDB de l'enzyme doit avoir comme nom de macromolécule « bêta-lactamase » appartenant au groupe des sérine β-lactamases (SBL)

de la classification moléculaire d'Ambler (classes A, C, et D), car le mécanisme réactionnel d'hydrolyse est très bien connu par l'implication d'une liaison covalente entre le ligand et le résidu Ser70 du site actif.

4- l'enzyme doit avoir une structure cristallographique formant un complexe covalent soit avec un antibiotique de la famille des β -lactamines soit avec un inhibiteur de β -lactamase ayant prouvé scientifiquement son activité inhibitrice, afin de repérer le site actif et identifier les acides aminés impliqués.

5- la structure cristallographique du complexe doit avoir la plus faible valeur de résolution de la technique cristallographique (inférieur à 2.00 Å), car cela aura beaucoup d'influence sur la précision des résultats.

6- l'enzyme choisie doit avoir une séquence unique afin d'éviter les doublons.

3.2 Repérage du site actif

Dans le docking moléculaire, il est très important de savoir sur quel site actif de l'enzyme doit-on réaliser notre docking, c'est la raison pour laquelle une structure en complexe a été fixé comme critère de choix de l'enzyme. Un repérage préliminaire « repérage théorique » du site actif est possible grâce à l'alignement et la superposition des séquences primaires en acides aminés des 33 entrées PDB avec recherche d'un motif très caractéristique du site actif des sérine- β -lactamases qui est la tétrade Ser-Xaa-Xaa-Lys (Nicholas *et al.*, 2003). Un second repérage dit « repérage visuel » sera effectué lors de l'étape de docking qui a pour but de confirmer les données théoriques. Cette étape va permettre le repérage du site actif et l'identification des acides aminés impliqués dans l'interaction avec le ligand, afin de réaliser le docking sur le même site actif et comparer les résultats obtenus.

3.3 Préparation de l'enzyme

La structures PDB, téléchargée à partir de la banque de données sous l'extension (.pdb), va subir une étape d'élimination des molécules d'eau, d'oligosaccharides et les petites molécules tout en gardant le ligand fixé sur son site actif, cette étape va être suivie d'une protonation de la structure en fixant les paramètres par défaut du logiciel, puis une opération de correction afin de réparer les cassures induites par la diffraction aux rayon X, et en fin une minimisation de l'énergie de la structure. L'enzyme ainsi préparée sera enregistré sous format (.mol).

3.4 Préparation des Ligands

Les formules chimiques des composés phytochimiques du *Nigella sativa* sont téléchargés à partir de la banque de donnée PubChem (**PubChem, 2023**), puis subissent une minimisation de l'énergie en fixant les paramètres par défaut du logiciel. Les Ligands ainsi préparés seront enregistrés sous format (.mol).

3.5 Le docking moléculaire

Le programme MOE permet de chercher et identifier tous les sites actifs possibles qui peuvent se former sur l'enzyme préparée. Le site actif sur lequel doit se faire le docking est celui qui renferme le motif en **tétrade Ser-Xaa-Xaa-Lys**, ou la sérine occupe la position 70 de la structure primaire de l'enzyme formant une liaison covalente avec le ligand.

L'enzyme va subir deux opérations de docking :

- Première opération de docking entre les β -lactamases choisies et les inhibiteurs de β -lactamase connus, qui va nous permettre de définir l'inhibiteur de référence.
- Deuxième opération de docking entre les β -lactamases choisies et les composés phytochimiques du *Nigella sativa*, qui va nous permettre de rechercher celui qui possédera une meilleure affinité vis-à-vis la β -lactamase par rapport à l'inhibiteur de référence.

Cette opération de docking sera réalisée en fixant les paramètres suivants :

- Score 1 : GBVI/WSA dG
- Score 2 : London dG
- Nombre de pose : 10 meilleurs poses parmi 100 poses

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

1.1 Application des critères de choix

D'après la base de données PDB, il existe environ 5638 entrées PDB appartenant à la classe des hydrolases spécifiques des amides cycliques (EC 3.5.2.6) d'origine bactérienne, parmi lesquelles sont retenues 735 entrées PDB ayant comme organisme d'origine l'*E. coli* (famille des Enterobacteriaceae) dont 290 entrées PDB portent comme nom de macromolécule « bêta-lactamase » parmi lesquelles seulement 54 entrées PDB se présentent sous forme de structure cristallographique en complexe covalent avec une valeur de résolution inférieure à 2.00 Å.

Grace au programme MOE, un Test de similarité est appliqué sur ces 54 entrées PDB retenues, ce test a pour but d'écarter les entrées PDB en double, il permet de comparer les séquences en acides aminés de chaque entrée PDB par rapport aux autres. Les valeurs de comparaison sont exprimées en pourcentage de similarité entre deux entrées PDB :

- si ce pourcentage = 100% alors les deux entrées PDB sont strictement identiques
- si ce pourcentage < 100% alors les deux entrées PDB ne sont pas identiques mais peuvent être similaires à cette valeur de pourcentage.

En appliquant ce test de similarité, et selon le rapport de similarité de la Table 7, seulement 33 entrées PDB uniques sont retenues, qui sont listées dans la Table 8.

Table 8 : Liste des structures cristallographiques des β -lactamases choisies (RCSB PDB, 2023).

Code PDB	Description de la structure	Famille d'enzyme	Classe	Résolution	Nombre de chaîne	Nombre d'acides aminés
3ISG	Structure of the class D β -lactamase OXA-1 in complex with Doripenem	OXA-1	D	1.40 Å	2	251
4MLL	Structure of the class D β -lactamase OXA-1 K70D complexed with Oxacillin	OXA-1	D	1.37 Å	4	251
6ZRG	Crystal structure of OXA-10loop48 in complex with hydrolyzed Doripenem	OXA-10	D	1.74 Å	2	244
6ZRH	Crystal structure of OXA-10loop24 in complex with Ertapenem	OXA-10	D	1.88 Å	4	243
1BT5	Crystal structure of the Imipenem inhibited TEM-1 β -lactamase from <i>Escherichia coli</i>	TEM-1	A	1.80 Å	1	263
8DE0	Structure of TEM-1 β -lactamase covalently bound to Avibactam	TEM-1	A	1.72 Å	4	264
8DE1	Structure of TEM-1 β -lactamase A237Y mutant covalently bound to Avibactam	TEM-1	A	1.56 Å	4	264
1IYO	Toho-1 β -lactamase in complex with Cefotaxime	Toho-1	A	1.80 Å	1	262
5KMW	Toho-1 β -lactamase mutant E166A/R274N/R276N Benzylpenicillin complex	Toho-1	A	1.10 Å	1	256
2ZQA	Cefotaxime acyl-intermediate structure of class a β -lactamase Toho-1 E166A/R274N/R276N triple mutant	Toho-1	A	0.95 Å	1	262
5G18	Structure of CTX-M-97 β -lactamase in complex with a monobactam substrate (Aztreonam)	CTX-M-97	A	1.10 Å	1	262
5A92	Structure of CTX-M-97 β -lactamase in complex with Cefotaxime	CTX-M-97	A	1.05 Å	1	262
6J2K	Structure of CTX-M-64 β -lactamase in complex with Clavulanic acid	CTX-M-64	A	1.44 Å	2	287
6J2B	Structure of CTX-M-64 β -lactamase in complex with Sulbactam	CTX-M-64	A	1.44 Å	2	287

**Table 8 : Liste des structures cristallographiques des β -lactamases choisies (suite)
(RCSB PDB, 2023).**

Code PDB	Description de la structure	Famille d'enzyme	Classe	Résolution	Nombre de chaîne	Nombre d'acides aminés
4HBU	Structure of CTX-M-15 β -lactamase in complex with Avibactam	CTX-M-15	A	1.10 Å	1	263
7U48	Clavulanic acid-CTX-M-15	CTX-M-15	A	1.67 Å	3	291
6V7H	Structure of CTX-M-14 β -lactamase in complex with Vaborbactam	CTX-M-14	A	1.00 Å	2	263
5VLE	Crystal structure of Ruthenocene conjugated Penicilloate and Penilloate products in complex with CTX-M-14 E166A β -lactamase	CTX-M-14	A	0.85 Å	2	263
5U53	CTX-M-14 E166A with acylated Ceftazidime molecule	CTX-M-14	A	1.40 Å	1	263
5TW6	CTX-M-14 P167S:E166A mutant with acylated Ceftazidime molecule	CTX-M-14	A	1.70 Å	1	263
7K2Y	Crystal structure of CTX-M-14 E166A/K234R β -lactamase in complex with hydrolyzed Ampicillin	CTX-M-14	A	1.62 Å	1	261
6V83	Crystal structure of CTX-M-14 E166A/P167S/D240G β -lactamase in complex with Ceftazidime	CTX-M-14	A	1.80 Å	1	263
6V7T	Crystal structure of CTX-M-14 E166A/D240G β -lactamase in complex with Ceftazidime	CTX-M-14	A	1.34 Å	2	264
6CYU	Crystal structure of CTX-M-14 S70G/N106S/D240G β -lactamase in complex with hydrolyzed Cefotaxime	CTX-M-14	A	1.82 Å	1	263
6CYQ	Crystal structure of CTX-M-14 S70G/N106S β -lactamase in complex with hydrolyzed Cefotaxime	CTX-M-14	A	1.70 Å	8	263
5TWE	CTX-M-14 P167S:S70G mutant enzyme crystallized with Ceftazidime	CTX-M-14	A	1.50 Å	1	263
3Q1F	CTX-M-9 S70G in complex with hydrolyzed Piperacillin	CTX-M-9	A	1.50 Å	2	263

**Table 8 : Liste des structures cristallographiques des β -lactamases choisies (suite)
(RCSB PDB, 2023).**

Code PDB	Description de la structure	Famille d'enzyme	Classe	Résolution	Nombre de chaîne	Nombre d'acides aminés
1YMX	X-ray crystallographic structure of CTX-M-9 β -lactamase covalently linked to Cefoxitin	CTX-M-9	A	1.70 Å	2	263
1LL5	X-ray crystal structure of AmpC WT β -lactamase in complex with covalently bound Imipenem	AmpC	C	1.80 Å	2	358
1I5Q	Crystal structure of the <i>E. coli</i> AmpC β -lactamase mutant N152A covalently acylated with the inhibitory β -lactam, Moxalactam	AmpC	C	1.83 Å	2	358
1KVL	Structure of AmpC S64G β -lactamase in complex with Cephalothin	AmpC S64G	C	1.10 Å	2	358
5ZA2	Structure of FOX-4 β -lactamase in complex with Avibactam	FOX-4	C	1.50 Å	1	354
5CGX	Crystal structure of FOX-4 Cephamecinase mutant Y150f complexed with Cefoxitin	FOX-4	C	1.21 Å	1	362

1.2 Repérage du site actif

Le repérage préliminaire du site actif après alignement et superposition des séquences primaires en acides aminés des 33 entrées PDB (Figure 11), montre que le motif en tétrade **Ser-Xaa-Xaa-Lys** caractéristique du site actif des sérine- β -lactamases est globalement conservé, sauf pour les entrées PDB : 1KVL, 3Q1F, 5TWE, 6CYQ, 6CYU où le résidu Ser70 est substitué par le résidu Gly70.

Le repérage visuel des sites actifs des 33 entrées PDB confirme ce qui a été avancé dans le repérage préliminaire et montre que tous les entrées PDB engage une liaison covalente via le résidu Ser70 (parfois Ser64 ou Ser67 ou Ser69) dans leurs structures en complexe avec leurs ligands, sauf pour les entrées PDB : 1KVL, 3Q1F, 5TWE, 6CYQ, 6CYU qui n'engage que des liaisons non covalentes avec leurs ligands.

Pour indication la couleur rouge désigne la Ser70 du motif en tétrade, la couleur orange désigne son substituant la Gly70 et la couleur bleu désigne la Lys73 du motif en tétrade.

	05	70	75	80
1: 3ISG.A	-THR-GLN-MET-ALA-PRO-ASP-SER-THR-PHE-KCX-ILE-ALA-LEU-SER-LEU-MET-ALA-PHE-ASP-ALA-GLU-ILE-ILE-			
2: 4MLL.A	-THR-GLN-MET-ALA-PRO-ASP-SER-THR-PHE-ASP-ILE-ALA-LEU-SER-LEU-MET-ALA-PHE-ASP-ALA-GLU-ILE-ILE-			
3: 6ZRG.A	-LYS-GLU-TYR-LEU-PRO-ALA-SER-THR-PHE-KCX-ILE-PRO-ASN-ALA-ILE-ILE-GLY-LEU-GLU-THR-GLY-VAL-ILE-LYS-			
4: 6ZRH.A	-LYS-GLU-TYR-LEU-PRO-ALA-SER-THR-PHE-KCX-ILE-PRO-ASN-ALA-ILE-ILE-GLY-LEU-GLU-THR-GLY-VAL-ILE-LYS-			
5: 1BT5.A	-ARG-PRO-GLU-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-MET-SER-THR-PHE-LYS-VAL-LEU-LEU-CYS-GLY-ALA-VAL-LEU-SER-ARG-ILE-			
6: 8DE0.A	-ARG-PRO-GLU-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-MET-SER-THR-PHE-LYS-VAL-LEU-LEU-CYS-GLY-ALA-VAL-LEU-SER-ARG-VAL-			
7: 8DE1.A	-ARG-PRO-GLU-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-MET-SER-THR-PHE-LYS-VAL-LEU-LEU-CYS-GLY-ALA-VAL-LEU-SER-ARG-VAL-			
8: 1IYO.A	-ARG-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-ALA-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
9: 5KMW.A	-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-ALA-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
10: 2ZQA.A	-ARG-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-ALA-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
11: 5G18.A	-ARG-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-ALA-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
12: 5A92.A	-ARG-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-ALA-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
13: 6J2K.A	-ARG-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
14: 6J2B.A	-ARG-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
15: 4HBU.A	-ARG-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-ALA-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-LYS-SER-			
16: 7U48.A	-ARG-ALA-ASP-GLU-ARG-PHE-ALA-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-LYS-SER-			
17: 6V7H.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
18: 5VLE.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
19: 5U53.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
20: 5TW6.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
21: 7K2Y.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
22: 6V83.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
23: 6V7T.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
24: 6CYU.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-GLY-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
25: 6CYQ.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-GLY-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
26: 5TWE.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-GLY-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
27: 3Q1F.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-GLY-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
28: 1YMX.A	-ARG-GLY-ASP-GLU-ARG-PHE-PRO-MET-CYS-SER-THR-SER-LYS-VAL-MET-ALA-ALA-ALA-VAL-LEU-LYS-GLN-SER-			
29: 1LL5.A	-GLU-LEU-GLY-SER-VAL-SER-LYS-THR-PHE-THR-GLY-VAL-LEU-GLY-GLY-ASP-ALA-ILE-ALA-ARG-GLY-GLU-ILE-LYS-			
30: 1I5Q.A	-GLU-LEU-GLY-SER-VAL-SER-LYS-THR-PHE-THR-GLY-VAL-LEU-GLY-GLY-ASP-ALA-ILE-ALA-ARG-GLY-GLU-ILE-LYS-			
31: 1KVL.A	-GLU-LEU-GLY-GLY-VAL-SER-LYS-THR-PHE-THR-GLY-VAL-LEU-GLY-GLY-ASP-ALA-ILE-ALA-ARG-GLY-GLU-ILE-LYS-			
32: 5ZA2.A	-GLU-ILE-GLY-SER-VAL-SER-LYS-THR-LEU-THR-ALA-THR-LEU-GLY-ALA-TYR-ALA-ALA-VAL-LYS-GLY-GLY-PHE-GLU-			
33: 5CGX.A	-GLU-ILE-GLY-SER-VAL-SER-LYS-THR-LEU-THR-ALA-THR-LEU-GLY-ALA-TYR-ALA-ALA-VAL-LYS-GLY-GLY-PHE-GLU-			

Figure 11 : Alignement multiple et repérage des sites actifs des β -lactamases choisies.

1.3 Résultats du docking moléculaire

1.3.1 Première opération de docking (β -lactamase + Inhibiteurs connus)

Cette opération de docking a pour but de définir l'inhibiteur de β -lactamase ayant le meilleur score d'affinité avec les β -lactamases choisies qui sera considéré comme inhibiteur de référence. Les valeurs du meilleur score d'affinité obtenue sont mentionnés en rouge dans la Table 9.

Table 9 : Résultats du docking entre les β -lactamases choisies et les inhibiteurs connus

β -lactamase	Acide clavulanique (1984)	Sulbactam (1987)	Tazobactam (1993)	Avibactam (2015)	Vaborbactam (2017)	Relebactam (2019)
3ISG	-8,8639	-9,8916	-8,0745	-9,3924	-10,0876	-10,3472
4MLL	-8,5610	-8,7509	-8,2323	-8,7016	-9,6723	-10,2467
6ZRG	-9,9969	-10,1532	-10,5392	-13,2026	-11,2271	-10,9684
6ZRH	-10,4111	-10,4827	-12,4215	-11,8281	-10,9217	-13,3613
1BT5	-10,1798	-9,8720	-10,3833	-10,5575	-12,6677	-12,2365
8DE0	-9,8968	-9,3685	-10,1032	-10,7939	-11,1777	-13,6916
8DE1	-12,2779	-12,1990	-11,0927	-13,8797	-12,1603	-13,6040
1IYO	-12,8634	-12,2254	-12,6943	-14,0975	-14,2699	-17,6615
5KMW	-9,3408	-9,2682	-9,5361	-10,0404	-8,9394	-10,6911
2ZQA	-11,3294	-11,9980	-9,0990	-13,8407	-13,0656	-14,3187
5G18	-8,5061	-9,0124	-10,4781	-10,0089	-10,1851	-12,3780
5A92	-10,3455	-10,6636	-9,9837	-13,6382	-12,3558	-14,1258
6J2K	-6,8253	-7,0817	-7,4922	-7,5241	-7,8942	-8,8173
6J2B	-9,8098	-12,1899	-11,1607	-11,8277	-10,3193	-11,7976
4HBU	-9,4842	-10,0782	-10,2774	-11,2191	-11,5012	-11,4003
7U48	-9,4802	-9,4702	-9,1532	-9,0025	-11,0244	-10,6093
6V7H	-13,0784	-12,4992	-13,0782	-16,1356	-15,6561	-17,0463
5VLE	-10,9016	-10,9263	-9,9815	-13,5034	-12,0373	-13,5148
5U53	-8,3715	-8,4171	-8,8905	-10,4700	-10,8155	-11,1202
5TW6	-9,3962	-9,5414	-8,1481	-15,2829	-12,6064	-12,1106
7K2Y	-9,3872	-11,0170	-11,5088	-11,3852	-11,3214	-12,4765
6V83	-11,0076	-11,8144	-9,4364	-11,6703	-12,9542	-12,1372
6V7T	-12,2660	-11,9179	-12,7958	-14,3335	-12,0602	-12,8791
6CYU	-11,9265	-10,3661	-10,4622	-10,6166	-10,3848	-10,7955
6CYQ	-10,6214	-10,9353	-10,3340	-12,4336	-13,4121	-11,9483
5TWE	-9,3408	-9,2682	-9,5361	-10,0404	-8,9394	-10,6911
3Q1F	-9,4957	-10,1767	-10,5203	-11,7733	-12,1071	-13,2207
1YMX	-11,3703	-10,3542	-10,0240	-11,7472	-11,6075	-13,5859
1LL5	-8,5055	-8,2697	-8,4997	-7,6052	-9,0224	-9,8150
1I5Q	-10,7165	-11,1151	-12,4658	-11,3284	-10,5465	-11,5139
1KVL	-10,0034	-10,5975	-11,1129	-13,1676	-12,7196	-13,5666
5ZA2	-9,8841	-10,1255	-10,6957	-10,2239	-10,2821	-11,6551
5CGX	-9,0729	-10,0199	-11,3910	-10,7248	-11,2821	-10,5946

Selon la Figure 12, environ 61% des meilleurs scores d'affinité sont enregistré avec le Relebactam, qui est l'un des derniers inhibiteurs de β -lactamase de deuxième génération ayant eu l'AMM en médecine clinique, donc il peut être considéré comme inhibiteur de référence pour notre étude. La plage de variation de ces scores d'affinité est comprise entre -8,8173 et -17,6615 selon le l'entrée PDB concernée (Table 9).

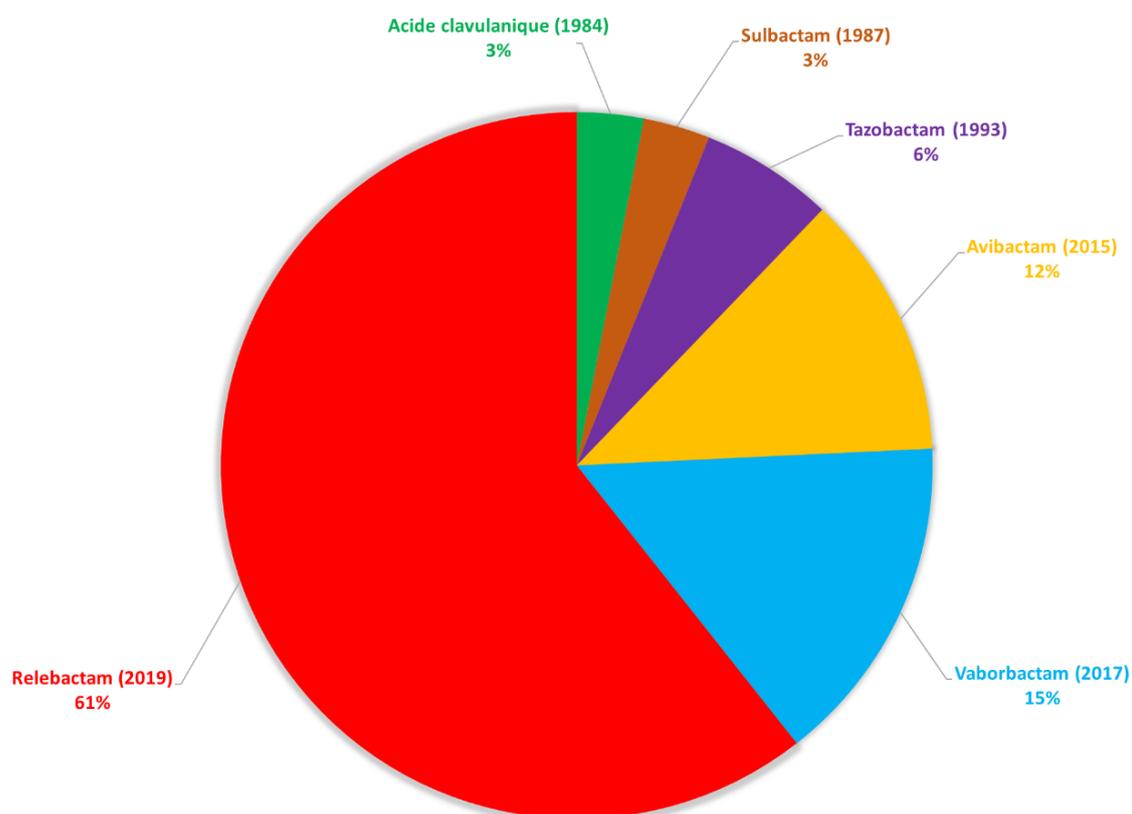


Figure 12 : Répartition des meilleurs scores d'affinité obtenus avec les β -lactamases choisies sur les inhibiteurs de β -lactamase connus.

1.3.2 Deuxième opération de docking (β -lactamase + composés phytochimiques de *Nigella sativa*)

Cette opération de docking a pour but d'identifier les composés phytochimiques de *Nigella sativa* ayant de meilleur score d'affinité vis-à-vis les β -lactamases choisies par rapport à ceux de l'inhibiteur de référence. Les résultats de notre étude ont montré que les meilleurs scores d'affinité vis-à-vis les β -lactamases sont obtenus avec la Nigellicine, ces valeurs de score sont enregistrées chez 31 entrés PDB parmi 33 entrés PDB, ce qui représente environ 94% des β -lactamases étudiées (Figure 13), ils varient entre -9,5125 et -15,0538 selon l'entrée PDB concernée (Table 10 et Figure 13).

Table10 : Résultats du docking entre les β-lactamases choisies et les composés phytochimiques de *Nigella sativa*

β-lactamases choisies	3ISG	4MILL	6ZRG	6ZRH	1BT5	8DE0	8DE1	1IYO	5KMW	2ZQA	5G18	5A92	6J2K	6J2B	4HBU	7U48	6V7H
Composés phytochimiques de <i>Nigella sativa</i>																	
5-Dehydroavenasterol	-8,9613	-7,5567	-7,6967	-9,4523	-7,8424	-9,0037	-8,2240	-8,3814	-8,1188	-8,4235	-9,0698	-9,3705	-7,7925	-8,6633	-6,9386	-7,9288	-8,0076
7-Dehydroavenasterol	-9,3245	-8,0199	-8,4023	-9,1816	-7,2935	-9,2374	-9,0295	-8,5231	-6,0923	-7,6763	-8,2824	-10,5136	-8,4213	-7,8772	-7,8256	-7,7049	-8,6607
beta-Amyrin	-9,2565	-7,1332	-7,8800	-8,7226	-8,2037	-9,0443	-9,5478	-8,4071	-7,5895	-8,4550	-8,3464	-8,7971	-7,4119	-9,1989	-7,7899	-7,8834	-8,2792
Butyrospermol	-10,2433	-7,3309	-7,5406	-9,8043	-7,6451	-8,5541	-10,1496	-8,6288	-7,8446	-8,6279	-8,9315	-9,3473	-8,0661	-10,3148	-7,9701	-8,8745	-9,5236
Campestanol	-9,3091	-8,3263	-7,2199	-9,1396	-7,8462	-8,6002	-10,0169	-8,4231	-8,1974	-8,4246	-8,4990	-9,1658	-7,5058	-9,7258	-7,8785	-8,3378	-7,7956
Campesterol	-8,2264	-8,2648	-7,2286	-9,3585	-7,9885	-8,7828	-8,2895	-8,7984	-7,9073	-8,6609	-9,1157	-9,3791	-8,1652	-9,2835	-8,1361	-7,8119	-8,4206
Carvacrol	-7,9437	-7,4321	-8,2563	-8,4234	-6,6004	-9,1919	-9,8002	-9,3035	-7,8424	-8,7109	-8,7618	-10,0818	-7,2655	-7,1834	-7,2977	-8,8123	-9,3432
Carvone	-6,7215	-6,1360	-6,6114	-6,8396	-6,0147	-7,0793	-7,1045	-7,2410	-6,7434	-7,1174	-7,1063	-7,1831	-6,2976	-7,1501	-6,1585	-6,9683	-6,4593
Citrostadienol	-8,9730	-6,9863	-8,2878	-8,9036	-8,6134	-8,5763	-8,9918	-8,6997	-6,8849	-7,6923	-8,5441	-10,0492	-7,9839	-10,2240	-6,8760	-8,4425	-7,4580
Cycloartanol	-8,8508	-8,5483	-8,4284	-8,0632	-7,5699	-9,0419	-8,6302	-8,6630	-8,0508	-8,2947	-8,6744	-9,6683	-7,4891	-9,5220	-7,4096	-8,9829	-8,1419
Cycloartenol	-8,5263	-7,7254	-7,8894	-9,7149	-8,0099	-8,5766	-8,1726	-9,4398	-7,1870	-8,5607	-9,2046	-9,1861	-7,6133	-9,8976	-7,5721	-8,2789	-8,0552
Cyclooctalenol	-9,0691	-8,4599	-7,6472	-9,5076	-7,8625	-9,2369	-9,0276	-9,3485	-7,7473	-7,8503	-7,7726	-9,4055	-7,0556	-9,7332	-7,6682	-7,4060	-7,5430
Gramistérol	-10,0917	-8,2291	-8,1659	-9,7250	-7,6308	-8,7571	-9,0527	-9,3354	-6,3676	-8,1952	-8,9324	-8,9589	-7,4544	-9,9402	-8,0369	-8,5845	-7,4968
Hederagéline	-9,2750	-7,4893	-9,4418	-11,6912	-8,2441	-10,1532	-10,4909	-11,1420	-8,5301	-9,9358	-8,7703	-11,5333	-7,5182	-9,2446	-9,9040	-8,4438	-9,3642
Nigellicine	-11,4313	-9,5827	-11,1981	-11,8300	-12,1248	-12,9002	-15,0538	-13,5888	-10,7795	-11,9587	-10,1860	-14,4866	-9,5125	-11,3223	-12,0464	-10,2817	-13,5928
Nigellidine	-9,6704	-9,4323	-10,7471	-11,5725	-11,8734	-9,6889	-10,2945	-11,4905	-8,1809	-10,8615	-9,4976	-11,3440	-9,4735	-10,2043	-8,5696	-10,0412	-10,1670
Nigellimine	-8,6353	-6,9952	-7,4084	-7,5301	-6,6053	-7,4010	-8,9116	-8,3508	-7,6267	-7,7552	-7,4944	-9,4161	-7,4525	-8,0377	-6,7396	-8,0170	-7,4512
Nigellimine N-oxide	-9,4547	-8,7387	-8,5205	-9,3013	-10,0784	-10,5381	-10,1097	-11,0570	-8,1596	-8,9059	-9,1270	-9,5576	-7,6981	-9,1813	-7,2462	-9,1097	-8,4704
Nigelline	-6,7375	-7,1241	-7,4879	-7,8927	-7,5358	-7,2641	-8,5570	-7,8336	-7,3126	-7,8974	-7,7669	-7,7891	-6,8548	-7,3566	-6,9523	-8,0361	-7,2536
Nigellone (Dithymoquinone)	-8,9008	-7,5181	-8,6591	-10,1283	-9,1154	-9,3622	-8,7173	-9,0481	-8,1625	-8,1599	-9,1136	-9,6254	-8,0455	-7,2831	-7,7950	-7,7897	-7,8709
Obtusifolol	-10,1235	-7,6894	-7,3180	-9,5633	-8,1437	-8,6244	-10,0173	-8,7794	-7,4106	-8,1234	-8,6769	-8,7270	-8,0857	-10,3199	-7,0900	-7,8208	-7,8914
Taraxérol	-9,0480	-7,2674	-7,4907	-9,4326	-7,7352	-8,8745	-9,5015	-9,6736	-7,2347	-8,2606	-8,6009	-8,9384	-7,5751	-8,6830	-6,9054	-8,2940	-7,9178
Thymoquinone	-8,2903	-7,5042	-8,9441	-8,2425	-9,7623	-10,0246	-9,1495	-9,6965	-8,2275	-9,5561	-8,4169	-10,4587	-8,1189	-7,8425	-8,5070	-8,6733	-8,0865
Thymol	-8,0788	-6,9200	-7,8122	-8,0304	-6,5451	-10,0444	-8,9429	-8,9016	-7,3623	-9,3716	-8,5699	-10,4136	-7,8608	-7,6271	-8,4199	-9,6229	-9,7531
Thymoquinone	-6,9666	-6,6534	-7,1152	-6,6449	-6,2760	-7,6054	-7,5815	-7,8068	-7,3059	-7,4510	-7,6013	-7,2910	-6,4658	-6,5971	-6,2528	-7,5199	-6,5685
Tirucalol	-9,7098	-7,8589	-7,8463	-9,9455	-7,2374	-9,3934	-8,0212	-8,7546	-8,2682	-8,3295	-8,6207	-9,4017	-7,5489	-9,9711	-7,7701	-8,8417	-7,7653

Table 10 : Résultats du docking entre les β -lactamases choisies et les composés phytochimiques de *Nigella sativa* (suite).

β -lactamases choisies	5VLE	5U53	5TW6	7K2Y	6V83	6V7T	6CYU	6CYQ	5TWE	3Q1F	1YMX	1L15	1I5Q	1KVL	5ZA2	5CGX
Composés phytochimiques de <i>Nigella sativa</i>																
5-Dehydroavenasterol	-8,3216	-8,6732	-9,1573	-8,9304	-8,9057	-8,3654	-8,8650	-9,8448	-9,1579	-9,1212	-8,1841	-8,4009	-9,4025	-8,4379	-9,3095	-9,6070
7-Dehydroavenasterol	-8,8021	-8,3744	-9,8754	-8,3053	-8,9414	-8,1449	-8,3182	-8,5954	-9,5564	-9,1610	-8,0852	-7,8877	-10,7040	-9,9744	-7,2953	-8,4900
beta-Amyrin	-8,4028	-8,6035	-10,2907	-8,5860	-9,5377	-8,5180	-7,5873	-9,1244	-8,1723	-8,6281	-7,8778	-7,6364	-10,3947	-8,8117	-9,0784	-9,3106
Butyrospermol	-9,0591	-8,0344	-10,7097	-9,1890	-9,1259	-7,8204	-7,8581	-8,7079	-9,0975	-9,6117	-7,8989	-8,5809	-9,2505	-10,1986	-8,7729	-9,2429
Campestanol	-8,2326	-8,7140	-9,8723	-8,9276	-7,8508	-8,0428	-8,0513	-10,6828	-8,5247	-8,9244	-7,7817	-7,9229	-8,6519	-9,9286	-8,7438	-8,6529
Campesterol	-8,6664	-8,4635	-9,4864	-9,4284	-8,8320	-8,3789	-8,6896	-8,4242	-8,4883	-9,7615	-8,3565	-7,9066	-10,1680	-9,4555	-8,8885	-8,9457
Carvacrol	-9,6934	-8,7231	-7,7009	-8,7100	-9,3331	-8,3108	-9,1878	-8,6798	-8,9761	-10,0660	-8,8596	-6,6654	-7,0924	-9,0095	-8,2656	-8,4389
Carvone	-7,1565	-7,1232	-7,5062	-7,5357	-7,5209	-6,8897	-7,3728	-7,6288	-7,0716	-6,9992	-6,5194	-6,1871	-6,7428	-6,7923	-6,3844	-6,7231
Citrostadienol	-8,1564	-8,6132	-9,9943	-8,7826	-8,0606	-7,9444	-7,9457	-9,2371	-8,8412	-8,7402	-9,0860	-8,9122	-10,4347	-10,5104	-9,5675	-9,1100
Cycloartanol	-8,2959	-8,0259	-10,2293	-8,9523	-10,1163	-7,9172	-9,4355	-9,1917	-8,5871	-8,4597	-8,4049	-8,3157	-10,3189	-8,8940	-8,6062	-8,6101
Cycloartenol	-8,5109	-10,3897	-10,4764	-8,7385	-8,5535	-7,4809	-8,3454	-9,2133	-8,8549	-8,5839	-8,3526	-8,5021	-9,8847	-13,4357	-8,3006	-8,4865
Cycloleucanol	-8,0023	-8,1848	-10,4060	-8,6188	-8,5277	-7,5299	-9,7123	-9,2571	-9,0252	-8,5400	-8,6589	-8,6564	-8,9608	-10,1564	-8,8201	-9,0302
Gramistérol	-8,9924	-8,3818	-9,9038	-9,8020	-8,4882	-7,8266	-7,7239	-8,9914	-8,8948	-8,6718	-8,3366	-8,1547	-9,7987	-11,0224	-9,5929	-8,8527
Hederagénine	-11,7544	-8,4240	-11,2112	-9,5075	-10,9320	-10,7433	-10,0381	-9,4676	-11,4187	-9,5975	-10,2513	-9,5535	-12,0011	-9,2915	-9,6531	-10,8985
Nigellicine	-13,6543	-10,5398	-13,2962	-11,9186	-14,0385	-12,9081	-13,5323	-12,3814	-13,3281	-14,2664	-12,2182	-8,9002	-13,5332	-13,5134	-13,3573	-10,6054
Nigellidine	-12,8504	-9,6599	-11,8430	-11,0176	-12,1436	-9,9455	-10,8939	-12,2338	-10,3051	-10,4474	-10,8271	-10,1334	-9,6502	-10,0448	-9,6814	-10,4624
Nigellimine	-8,2036	-7,9210	-8,5987	-7,8674	-8,4082	-8,0814	-8,2954	-9,4674	-7,7944	-8,8225	-8,0694	-6,9622	-8,5450	-9,1657	-7,1129	-8,7598
Nigellimine N-oxide	-10,1216	-8,0434	-8,7896	-10,1730	-11,5045	-9,3016	-10,2340	-11,5153	-9,8918	-9,5785	-8,4542	-8,8194	-10,0419	-9,0123	-7,5511	-9,6076
Nigelline	-8,2726	-7,4954	-8,3389	-9,2424	-8,7047	-7,4404	-8,4410	-8,3704	-7,7002	-9,1343	-7,7171	-7,1834	-7,2300	-8,6477	-7,0633	-7,7975
Nigellone (Dithymoquinone)	-8,7812	-8,5224	-8,6900	-9,8957	-9,0170	-9,3229	-8,0740	-7,7095	-8,6536	-8,9991	-8,1703	-8,4713	-9,3337	-7,5845	-8,4573	-9,5651
Obtusifolol	-8,3145	-8,8858	-9,4871	-8,9086	-8,8160	-8,3415	-8,4220	-10,0944	-8,7865	-9,1394	-8,7472	-8,1777	-8,9182	-10,8676	-8,5593	-9,0203
Taraxérol	-8,4353	-8,3201	-8,9016	-9,0233	-8,9481	-9,0404	-7,5099	-8,1667	-8,9336	-9,1331	-9,1919	-8,3265	-9,7904	-9,5434	-8,3493	-9,3059
Thymoquinone	-8,2157	-9,0209	-8,6506	-9,1616	-10,5593	-8,5686	-9,1342	-9,5890	-9,1928	-10,2161	-8,5784	-7,7549	-8,2435	-9,3485	-8,0310	-10,3435
Thymol	-10,6942	-7,6217	-9,5393	-7,7902	-10,3468	-8,8214	-9,1065	-9,5304	-8,6141	-10,0935	-9,8666	-7,0820	-6,5935	-8,2995	-7,2397	-7,7201
Thymoquinone	-7,2523	-7,4467	-7,7492	-7,6058	-7,2453	-7,2076	-7,4426	-8,0503	-7,1911	-8,2583	-7,0256	-6,8330	-7,0524	-7,6746	-6,5929	-6,8788
Tirucalol	-8,3910	-8,3527	-8,9998	-9,0577	-9,0054	-8,5465	-8,5208	-8,6184	-8,8714	-9,4099	-8,4938	-8,1791	-9,9966	-9,9162	-8,9246	-9,1130

D'après la Figure 14, la Nigellicine occupant le même site de fixation que les inhibiteurs de référence, possède une allure semblable des valeurs de scores d'affinité par rapport à ceux enregistrés avec la Relebactam, cependant, ces valeurs (variant entre -8,9002 et -15,0538) semblent être plus intéressants que ceux de la Relebactam (variant entre -8,8173 et -17,6615) chez 18 entrés parmi 33 entrés PDB qui sont : 1I5Q, 3ISG, 3Q1F, 4HBU, 5A92, 5CGX, 5KMW, 5TW6, 5TWE, 5VLE, 5ZA2, 6CYQ, 6CYU, 6J2K, 6V7T, 6V83, 6ZRG et 8DE1.

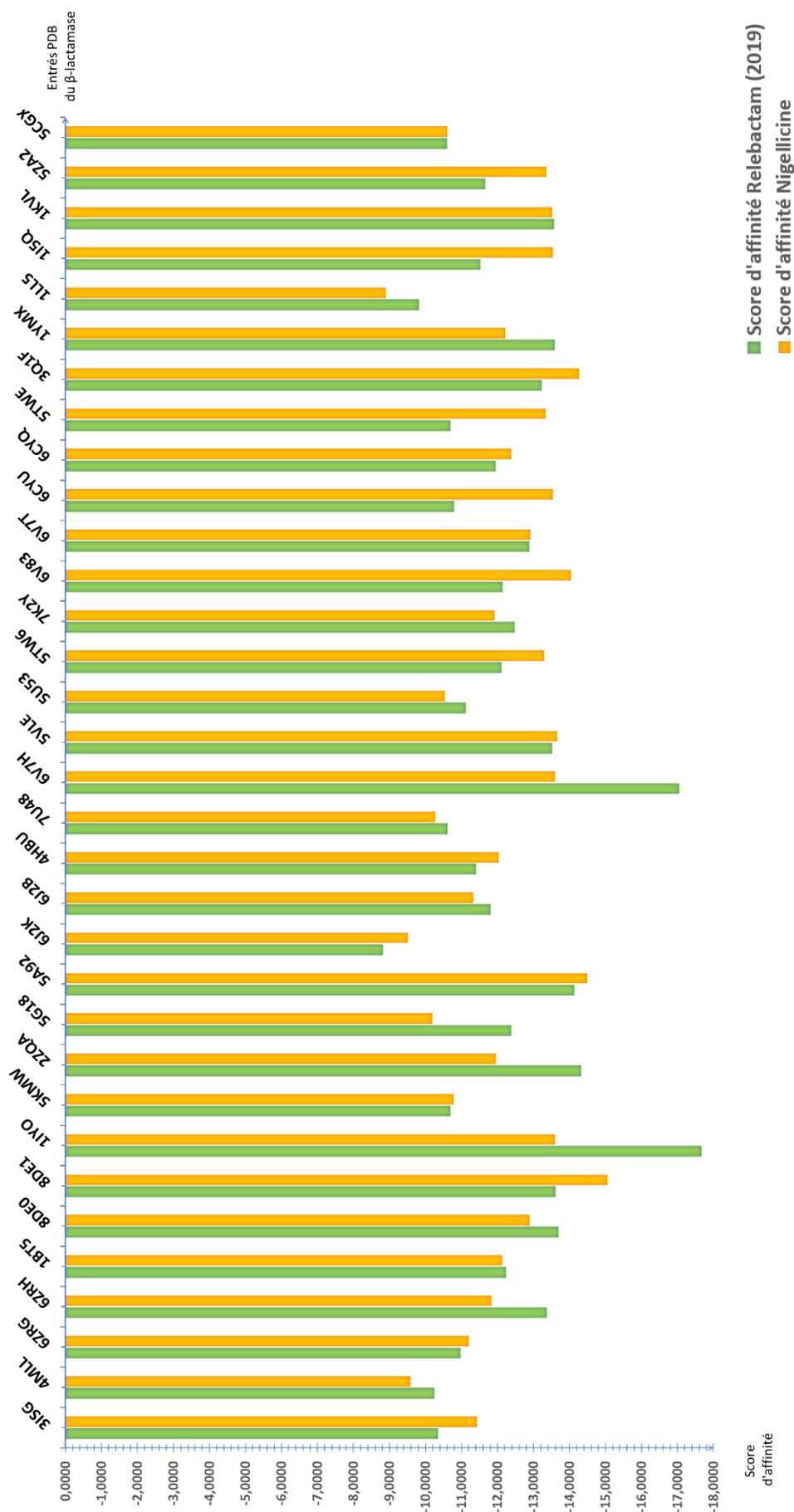


Figure 14 : Scores d'affinité de Relebactam (2019) et de la Nigellidine pour les β -lactamases choisies

La visualisation 3D du β -lactamase en complexe avec la Nigellicine (Figure 15), montre que cette enzyme possède une structure monomérique exposant à sa surface une dépression contenant le site de fixation ainsi que le site actif responsable de la réaction d'hydrolyse des β -lactamines, ce site de fixation prend la forme d'un sillon dans lequel vient se loger la molécule de Nigellicine afin de l'occuper et constituer une gêne stérique empêchant toute autre molécule de s'y lier.

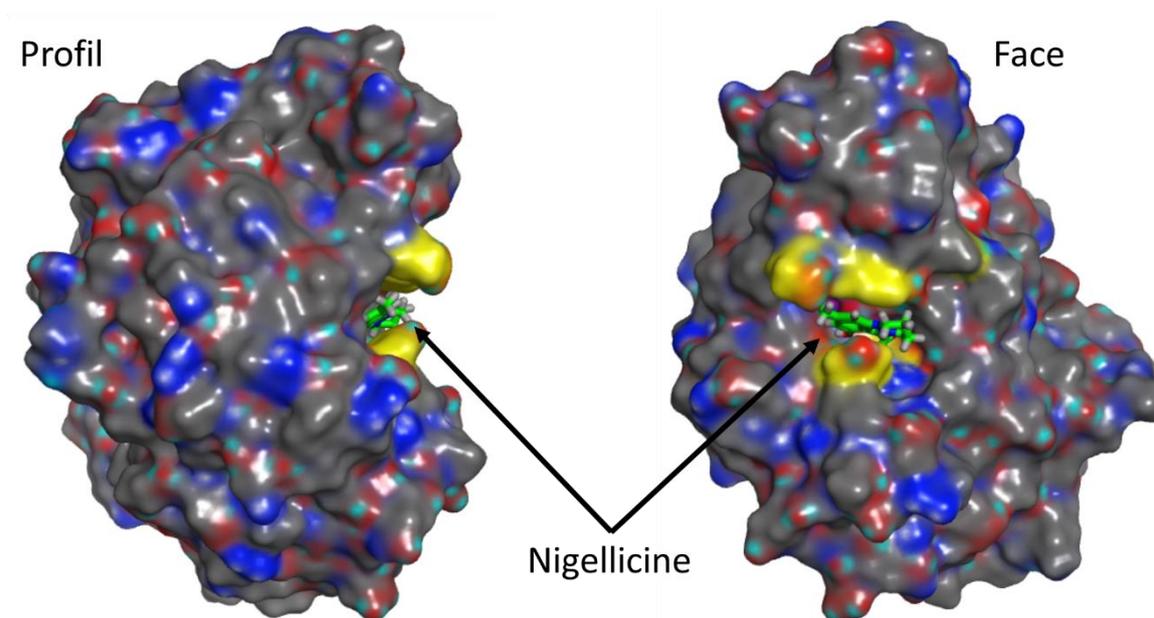


Figure 15 : Représentation en 3D du β -lactamase (8DE1) en complexe avec la Nigellicine.

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (3ISG) montre qu'il est composé des 31 acides aminés suivants : Asp66, **Ser67**, Kcx70, **Met99**, **Trp102**, Met112, Gln113, Phe114, **Ser115**, Val117, Lys150, Glu158, Leu161, Glu162, Asn197, Leu200, Gly211, **Lys212**, **Thr213**, Gly214, **Ala215**, Gly216, Phe217, Asn221, Phe229, **Leu255**, Thr256, Ser257, **Ser258**, Ile259, Lys262. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -11,4313 en formant via son groupement carbonyle une seule liaison ionique avec le résidu Lys212 (E : -1,8kcal/mol ; Dist. : 3,87Å), ainsi que 2 liaisons hydrogène avec les résidus Ser115 (E : -2,0kcal/mol ; Dist. : 2,73Å), Thr213 (E : -3,3kcal/mol ; Dist. : 2,75Å). Le groupement carboxylate forme une autre liaison hydrogène accepteur avec le la Ser258 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,28Å). Le cycle tetrahydropyridazine forme 2 liaisons hydrogène donneur avec les résidus; Met99 (E : -0,6kcal/mol ; Dist. : 3,52Å) et Leu255(E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,77Å), alors que l'indazole interagit par empilement pi-hydrogène avec les résidus Trp102 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,40Å) et Ala215 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,24Å) et (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,55Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Met99, Leu255, Trp102, Ala215, Ile 259 et Ser67.

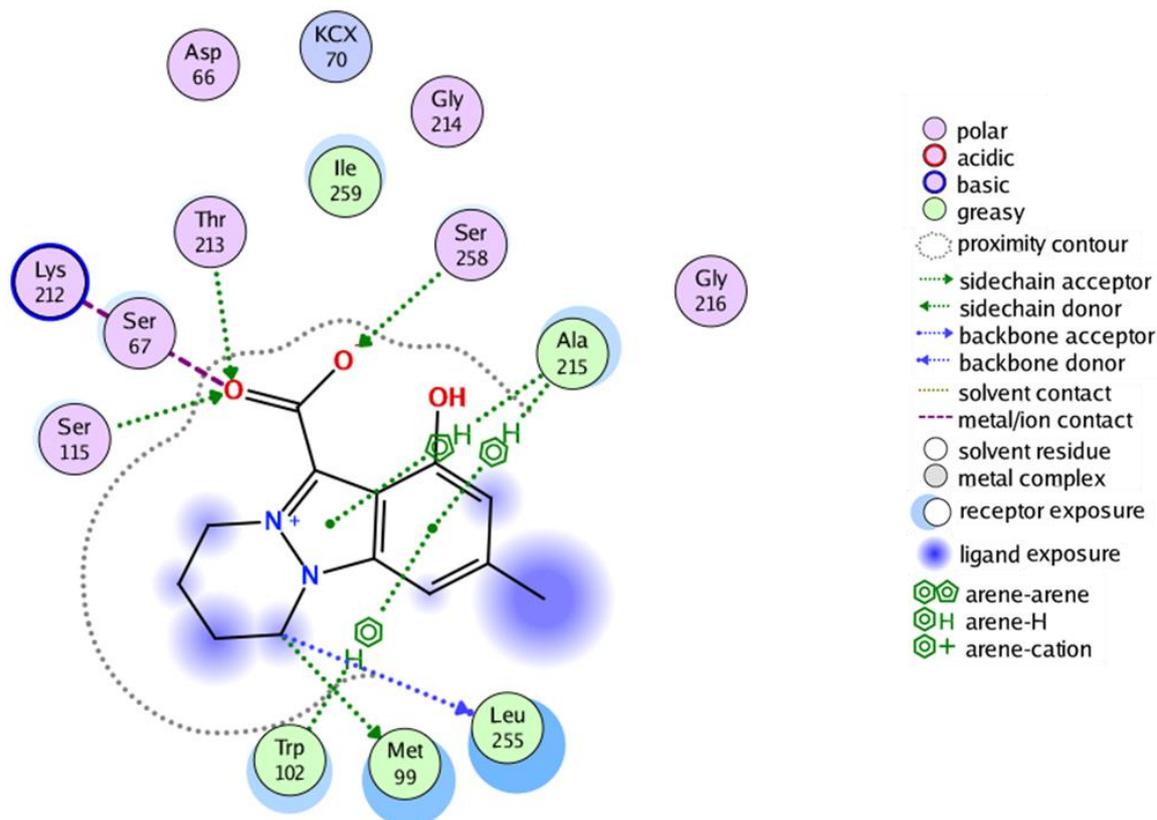


Figure 16 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (3ISG).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (4MLL) montre qu'il est composé des 25 acides aminés suivants : **Asp66**, **Ser67**, Met99, Ile101, **Trp102**, Met112, Gln113, Phe114, Ser115, Val117, Leu161, Glu162, Leu200, Thr213, Gly214, **Ala215**, Gly216, Phe217, Phe229, Asn254, Leu255, Thr256, Ser258, Ile259, Lys262. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -9,5827 en formant avec son groupement carboxylate 2 liaisons hydrogène accepteur avec les résidus Asp66 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 3,42Å) et Ala215 (E : -1,5kcal/mol ; Dist. : 3,48Å). L'indazole interagit par empilement pi-hydrogène avec le résidus Ala215 (E : -0,5kcal/mol ; Dist. : 4,63Å) et Trp102 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 4,29Å), alors que le cycle tetrahydropyridazine, via l'hydrogène lié au C9, interagit par empilement pi-hydrogène avec le résidus Trp102 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,83Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Met99, Leu215, Trp102 et Ala215.

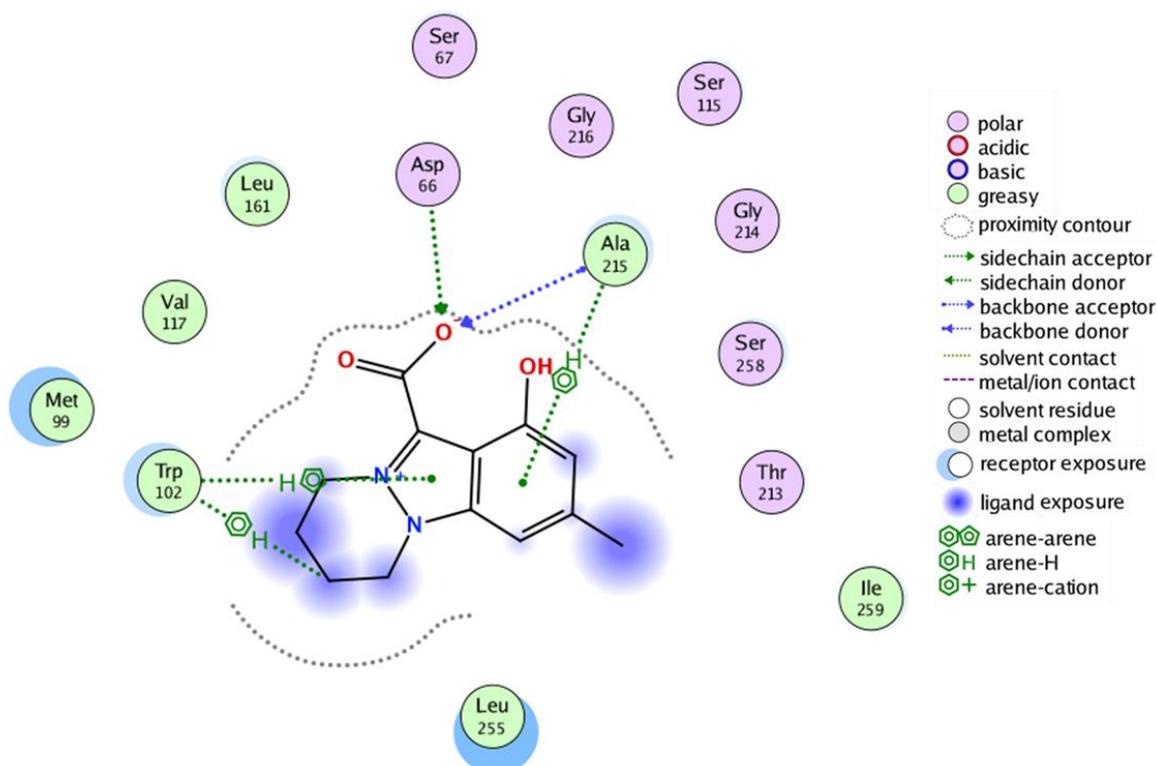


Figure 17 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (4MLL).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (6ZRG) montre qu'il est composé des 19 acides aminés suivants : Leu64, Ala66, **Ser67**, Kcx70, Ala98, **Met99**, Trp102, **Ser115**, Val117, Trp154, Leu155, **Lys205**, **Thr206**, Gly207, **Trp208**, Gly209, Met210, Gly211 et **Arg247**, avec lequel la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -11,1981 en formant avec son groupement acide carboxylique 2 liaisons ioniques avec les résidus Lys205 (E : -5,7kcal/mol ; Dist. : 3,07Å) et Arg247 (E : -5,3kcal/mol ; Dist. : 3,12Å), ainsi que 4 liaisons hydrogène dont 3 liaisons hydrogène entre son groupement carboxylate et les résidus Ser115 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 2,99Å), Lys205 (E : -4,9kcal/mol ; Dist. : 3,07Å), Thr206 (E : -2,7kcal/mol ; Dist. : 2,89Å), et une seule liaison hydrogène entre son groupement carbonyle et le résidu Arg247 (E : -1,0kcal/mol ; Dist. : 3,12Å). Le cycle tetrahydropyridazine forme une seule liaison hydrogène en C6 avec la Met99 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,96Å), alors que l'indazole interagit par 4 empilements pi-hydrogène avec les résidus Ser115 (E : -0,9kcal/mol ; Dist. : 4,47Å) et le résidu Tyr208 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 4,49Å), (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,83Å) et (E : -1,1kcal/mol ; Dist. : 4,18Å). Ces interactions engendrent une exposition du site de fixation par les résidus Met99, Tyr208, Ser115, Thr206 et Thr220.

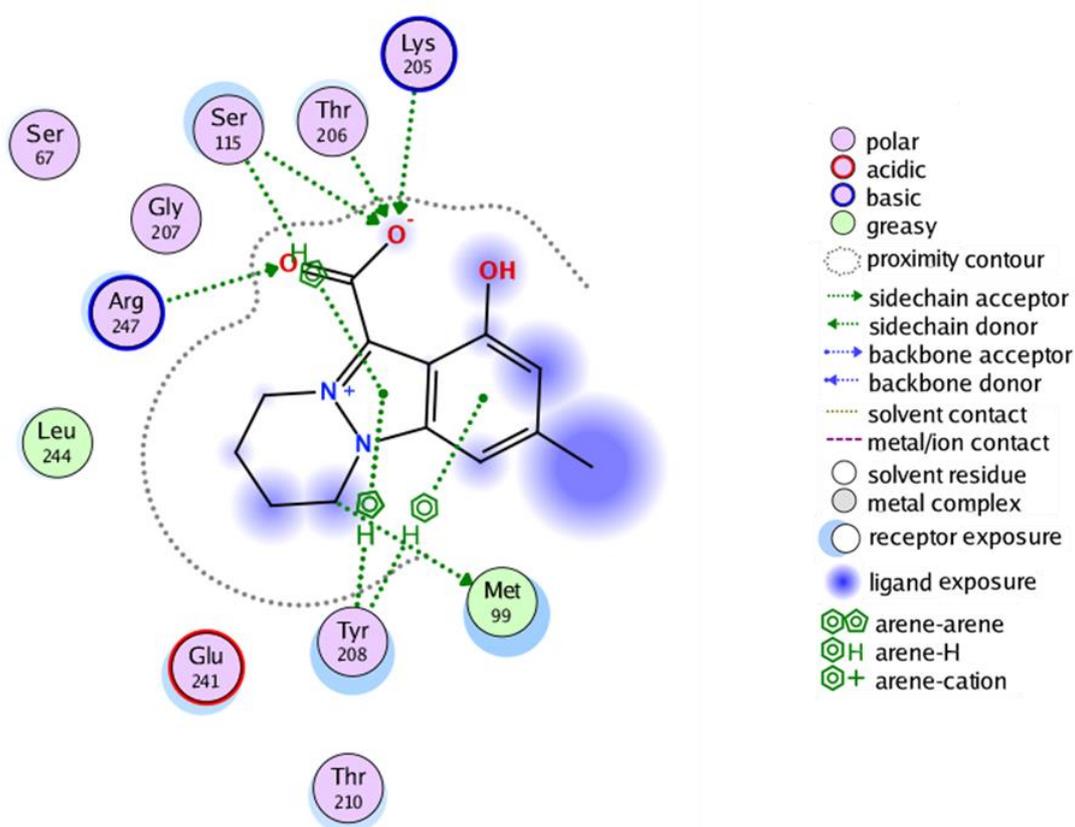


Figure 18 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6ZRG).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (6ZRH) montre qu'il est composé des 18 acides aminés suivants : Leu64, Ala66, **Ser67**, Kcx70, Ala98, Met99, Trp102, Ser115, Val117, Trp154, Leu155, Thr206, Gly207, Trp208, Gly209, Met210, Gly211 et **Arg247** dont la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -11,8300 via seulement sa fonction acide carboxylique, et avec seulement le résidus Arg247, avec lequel elle forme 4 liaisons ioniques partagé équitablement entre ses deux groupement carbonyle (E : -6,8kcal/mol ; Dist. : 2,92Å) et (E : -4,4kcal/mol ; Dist. : 3,27Å) et carboxylate (E : -1,3kcal/mol ; Dist. : 4,01Å) et (E : -5,9kcal/mol ; Dist. : 3,03Å). Cette fonction interagit aussi via son groupement carbonyle formant 2 liaisons hydrogène avec le résidus Arg247 (E : -4,9kcal/mol ; Dist. : 2,92Å) et (E : -0,5kcal/mol ; Dist. : 3,27Å), ainsi que son groupement carboxylate avec le même résidus (E : -2,3kcal/mol ; Dist. : 3,03Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Met99, Trp208, Met210, Arg247, Ser67, Trp102, Ala98 et Ser115.

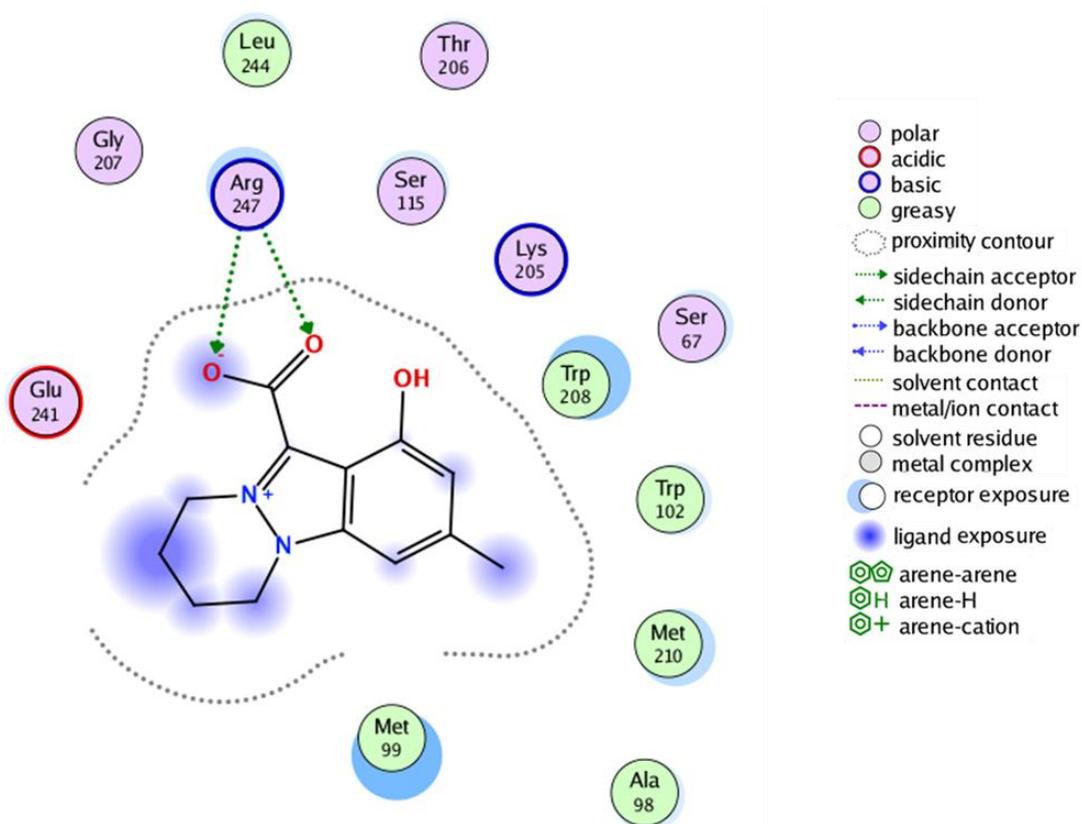


Figure 19 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6ZRH).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (1BT5) montre qu'il est composé des 20 acides aminés suivants : Met69, **Ser70**, **Lys73**, **Glu104**, Tyr105, **Ser130**, Asp131, Asn132, Glu166, Pro167, Asn170, Val216, Lys234, Ser235, Gly236, Ala237, Gly238, Glu240, Arg244 et Met272. Selon le rapport de l'interaction (Annexes), La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -12,1248 en formant une liaison ionique ($E : -2,7\text{kcal/mol}$; Dist. : $3,62\text{\AA}$) entre sa fonction carboxylate et le groupement ($-\text{NH}_3^+$) du résidu Lys73 qui fait partie du site catalytique. L'azote de l'indazolium forme 2 autres liaisons ioniques ($E : -0,3\text{kcal/mol}$; Dist. : $4,55\text{\AA}$) et ($E : -0,4\text{kcal/mol}$; Dist. : $4,5\text{\AA}$) avec le groupement carboxylate du résidu Glu104, ce même groupement forme 2 liaisons hydrogène tdonneur ($E : -0,3\text{kcal/mol}$; Dist. : $3,48\text{\AA}$) et ($E : -0,5\text{kcal/mol}$; Dist. : $3,30\text{\AA}$) avec les hydrogènes du cycle tetrahydropyridazine. Le groupement hydroxyle de la Nigellicine forme une liaison hydrogène donneur ($E : -0,7\text{kcal/mol}$; Dist. : $3,23\text{\AA}$) avec résidu Ser130 faisant partie du site catalytique de cette enzyme. Ces interactions influencent la conformation du site de fixation par exposition des résidus Tyr105, Ala237, Val216, Met272 et Glu104.

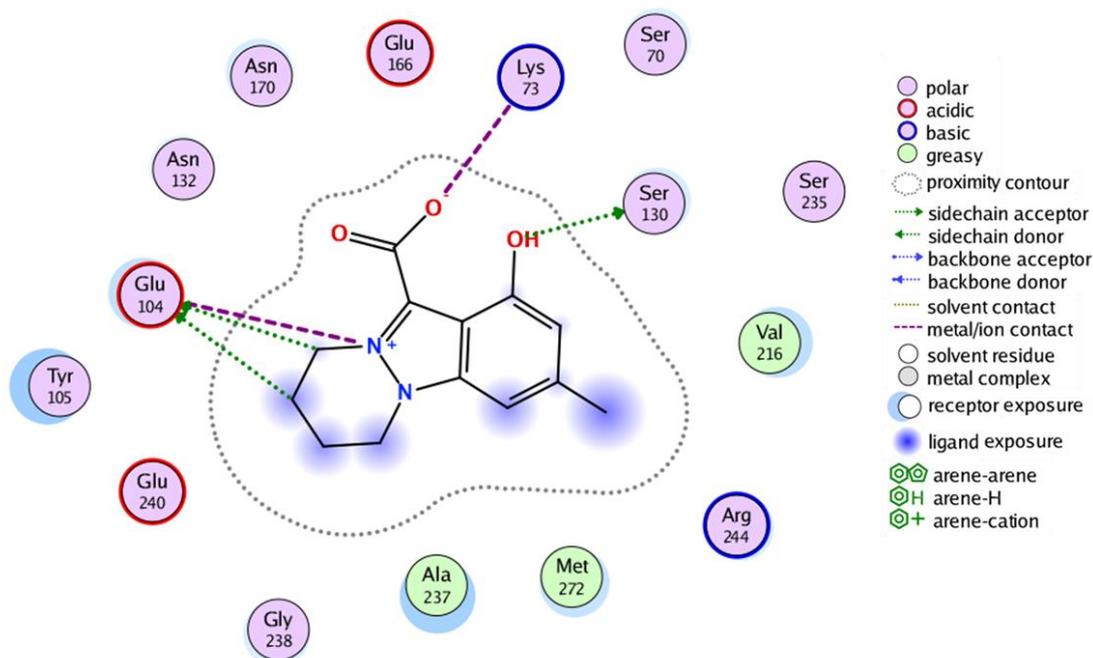


Figure 20 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1BT5)

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (8DE0) montre qu'il est composé des 21 acides aminés suivants : **Ser70**, Glu104, Tyr105, Ser130, Asn132, Glu166, Pro167, Glu168, Asn170, Glu171, **Val216**, Ala217, Pro219, **Lys234**, **Ser235**, Gly236, Ala237, Gly238, Glu239, **Arg243** et Met270, ou la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -12,9002 en formant 3 liaisons ioniques dont une entre le groupement carbonyle et le résidu Lys234 (E : -3,3kcal/mol ; Dist. : 3,47Å), et les deux autres entre le groupement carboxylate et le résidu Arg243 (E : -6,8kcal/mol ; Dist. : 2,91Å) et (E : -6,6kcal/mol ; Dist. : 2,94Å). Cette fonction acide carboxylique interagit via son groupement carbonyle pour former 2 liaisons hydrogène avec les résidus Lys234 (E : -2,4kcal/mol ; Dist. : 3,47Å) et Ser235 (E : -3,5kcal/mol ; Dist. : 2,84Å), et interagit via son groupement carboxylate pour former 4 liaisons hydrogène avec le résidu Ser235 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,20Å) et (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,05Å) et le résidu Arg243 (E : -3,2kcal/mol ; Dist. : 2,91Å) et (E : -6,3kcal/mol ; Dist. : 2,94Å). Le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène avec la Ser70 faisant partie du site catalytique (E : -2,4kcal/mol ; Dist. : 2,78Å), et l'indazole ineragit par empilement pi-hydrogène avec le résidu Val216 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,51Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Tyr105, Val216, Ala237 et 243.

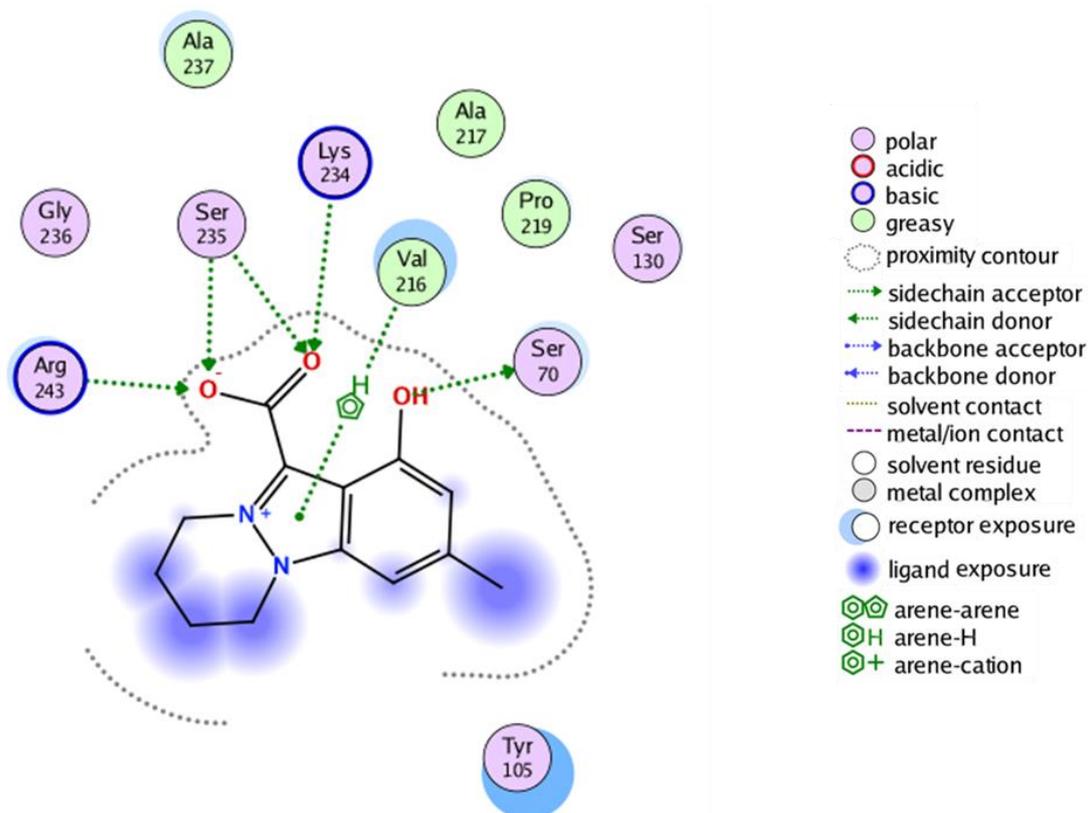


Figure 21 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (8DE0).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (8DE1) montre qu'il est composé des 20 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Glu104, **Tyr105**, **Ser130**, Asn132, Glu166, Pro167, Asn170, Val216, Pro219, **Lys234**, **Ser235**, Gly236, **Tyr237**, Gly238, Glu239, **Arg243**, Met270 et Asn274, avec lequel la Nigellicine interagit au meilleur score d'affinité parmi tout les enzymes étudiées, qui est de -15,0538 en formant via son groupement carbonyle une liaisons ioniques avec Lys234 (E : -6,6kcal/mol ; Dist. : 2,94Å), et via son groupement carboxylate 2 autres liaisons ioniques avec le résidus Arg243 (E : -6,2kcal/mol ; Dist. : 2,99Å) et (E : -2,0kcal/mol ; Dist. : 3,80Å). Quatre liaisons hydrogènes sont établies avec la fonction acide carboxylique, dont 3 liaisons hydrogène entre le groupement carbonyle et les résidus Ser130 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 2,89Å), Lys234 (E : -6,6kcal/mol ; Dist. : 2,94Å) et Ser235 (E : -3,0kcal/mol ; Dist. : 2,87Å), et une seule liaisons hydrogène entre le groupement carboxylate et le résidus Arg243 (E : -6,4kcal/mol ; Dist. : 2,99Å). Le groupement hydroxyle forme une seule liaison hydrogène donneur avec le résidus Tyr237 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 3,02Å). Le cycle tetrahydropyridazine interagit par empilement pi-hydrogène en C6 avec le phényle du résidus Tyr105 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,87Å), alors que l'indazole interagit par un seul empilement pi-hydrogène avec le résidus Ser130 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 4,07Å) et 2 empilement pi-pi avec le résidus Tyr237 (E : -0,0kcal/mol ; Dist. : 3,79Å) et (E : -0,0kcal/mol ; Dist. : 3,77Å). L'ensemble de ces interactions engendre une exposition du site de fixation par les résidus Tyr237, Tyr105, Val216, Asn170 et Asn132.

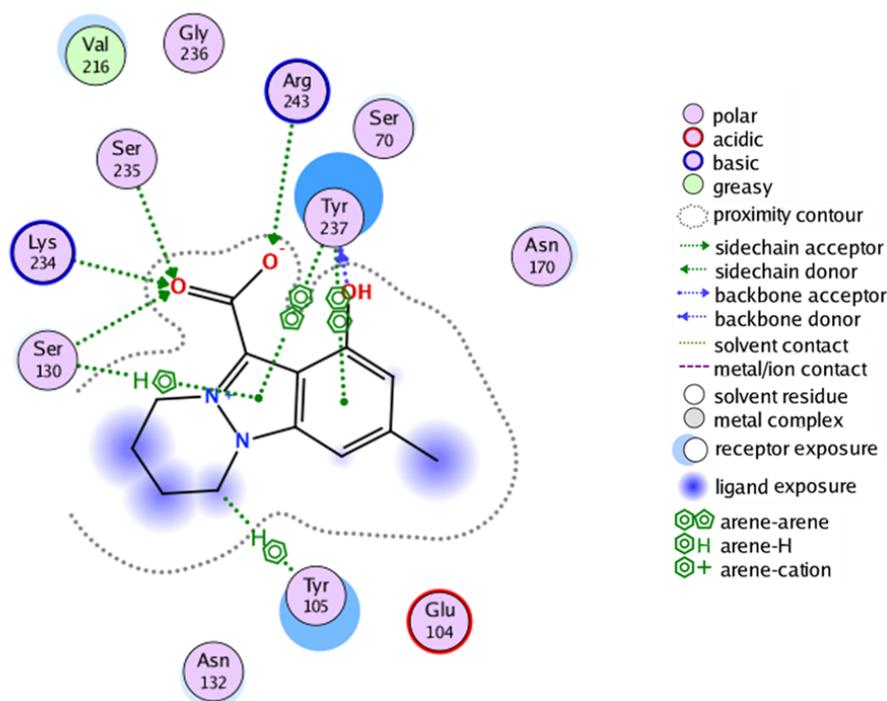


Figure 22 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (8DE1).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (1IYO) montre qu'il est composé des 20 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Asn104, Tyr105, **Ser130**, Asn132, Pro167, Asn170, Thr171, Thr215, Thr216, Ala219, **Lys234**, **Thr235**, **Gly236**, **Ser237**, Gly238, Asp240, Arg274, **Arg276**. La molécule de Nigellicine n'interagit qu'avec le groupement carboxylate avec un score d'affinité de -13,5888 en formant 3 liaisons ioniques, l'une avec les résidus Lys234 (E : -5,8kcal/mol ; Dist. : 3,05Å) et les 2 autres avec Arg276 (E : -7kcal/mol ; Dist. : 2,89Å) et (E : -1,7kcal/mol ; Dist. : 3,90Å), en plus elle forme des liaisons hydrogènes accepteurs avec deux résidus du site catalytique, à savoir les résidus Ser70 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,33Å) et Ser130 (E : -3,1kcal/mol ; Dist. : 2,72Å). Cinq liaisons hydrogènes accepteurs sont formés entre le groupement carboxylate et les résidus Lys234 (E : -1,2kcal/mol ; Dist. : 3,05Å), Gly236 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,69Å), Thr235 (E : -0,9kcal/mol ; Dist. : 2,95Å), Ser237 (E : -1,7kcal/mol ; Dist. : 2,83Å) et Arg276 (E : -8,3kcal/mol ; Dist. : 2,89Å). Toutes ces interactions engendrent une exposition du site de fixation par les résidus Tyr104, Ser237 et Thr216.

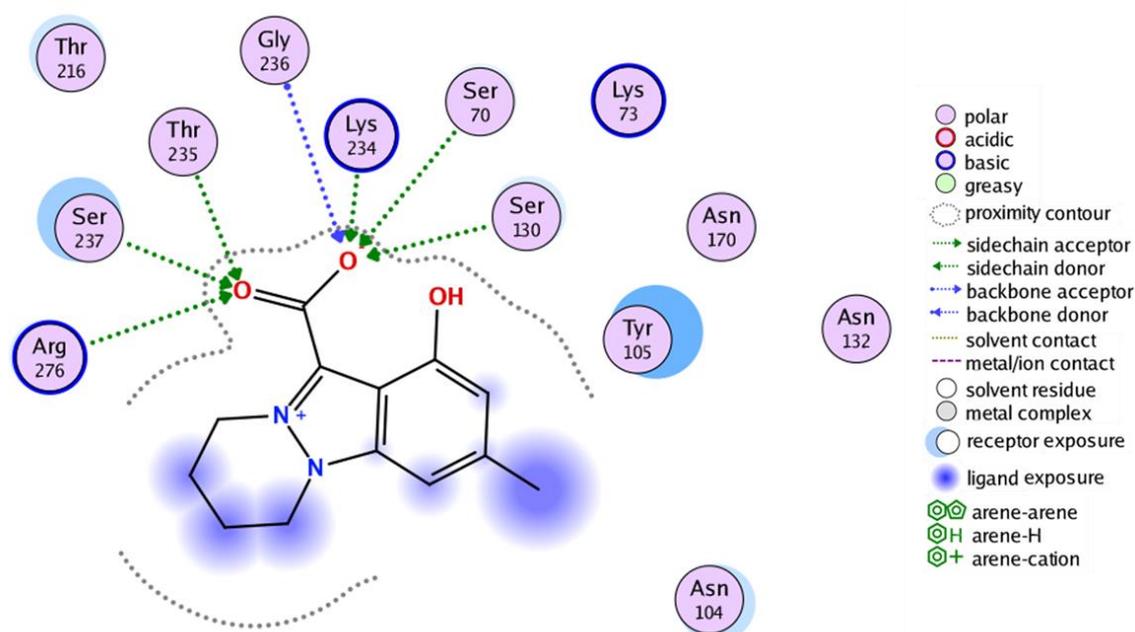


Figure 23 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1IYO).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5KMW) montre qu'il est composé des 16 acides aminés suivants : **Ser69**, **Lys72**, **Asn103**, Tyr104, Ser129, **Asn131**, Pro166, Asn169, Thr170, Thr215, Thr234, Gly235, **Ser236**, Gly237, Asp238, Asn271. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -10,7795 en formant avec son groupement acide carboxylique 4 liaisons hydrogène dont 2 liaisons hydrogène accepteur entre le groupement carbonyle et les résidus Asn103 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,57Å) et Asn131 (E : -1,8kcal/mol ; Dist. : 3,39Å), et 2 liaisons hydrogène accepteur entre le groupement carboxylate et les résidus Asn103 (E : -1,3kcal/mol ; Dist. : 3,06Å) et Asn131 (E : -1,3kcal/mol ; Dist. : 2,81Å). L'indazole interagit par empilement pi-hydrogène avec la Ser236 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 4,36Å). Par ailleurs, une exposition du site de fixation est faite par les résidus Ser236, Tyr104, Asn103 et Thr215.

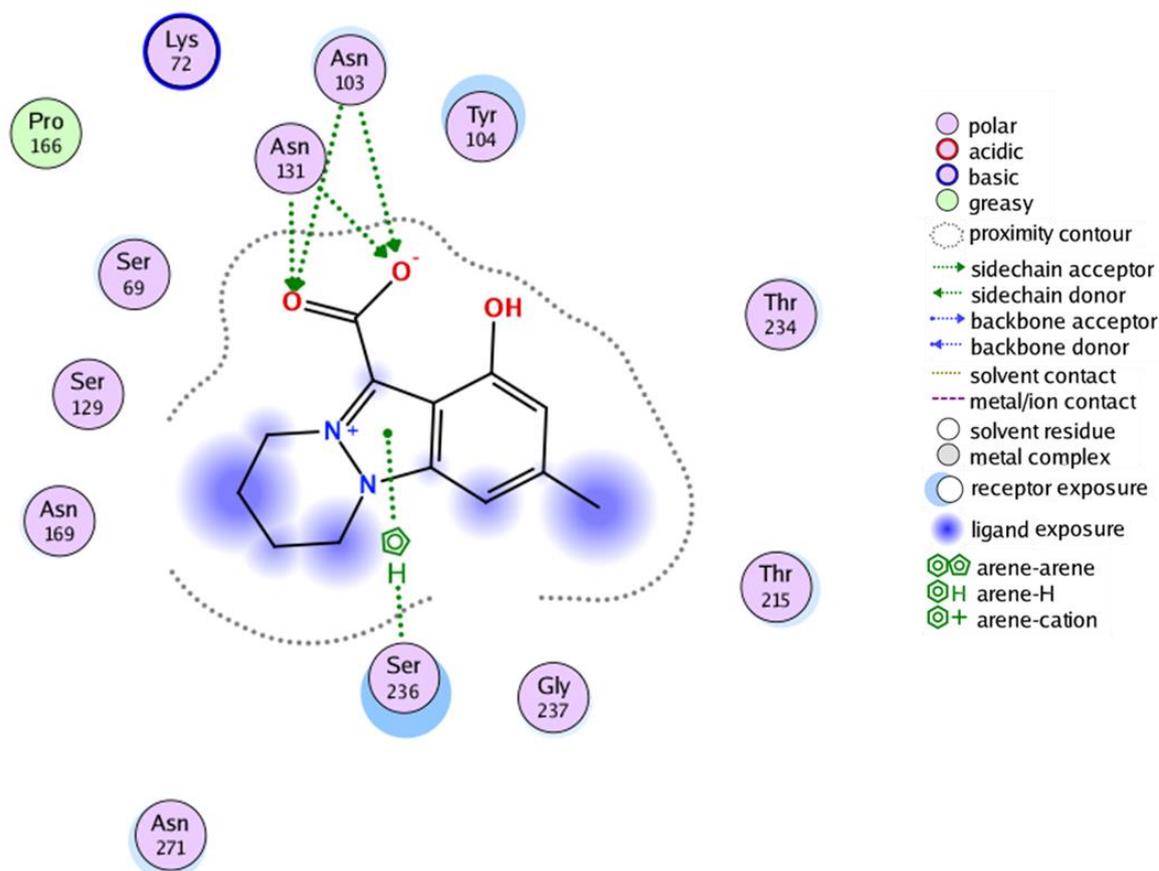


Figure 24 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5KMW).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (2ZQA) montre qu'il est composé des 22 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Asn104, **Tyr105**, **Ser130**, Asn132, Pro167, Thr168, Asn170, Thr171, Thr216, Ala219, Ser220, **Lys234**, **Thr235**, Gly236, **Ser237**, Gly238, Asp240, Thr244, Asn274, Asn276, avec lequel la Nigellicine possède un score d'affinité de -11,9587. Les oxygènes du groupement acide carboxylique forment une seule liaison ionique entre le carbonyle et le résidu Lys234 (E : -5,0kcal/mol ; Dist. : 3,17Å) ainsi que 5 liaisons hydrogène dont 3 liaisons entre le carbonyle et les résidus Ser130 (E : -1,6kcal/mol ; Dist. : 2,70Å), Lys234 (E : -7,3kcal/mol ; Dist. : 3,17Å) et Thr235 (E : -0,5kcal/mol ; Dist. : 2,80Å), et 2 liaisons hydrogène accepteur entre le carboxylate et les résidus Thr235 (E : -2,2kcal/mol ; Dist. : 2,92Å) et Ser237 (E : -3,6kcal/mol ; Dist. : 2,84Å). Tandis que le groupement hydroxyle forme une seule liaison hydrogène donneur avec la Ser237 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 2,87Å), le cycle tetrahydropyridazine interagit par empilement pi-hydrogène avec le phényle du résidu Tyr105 (E : -0,6kcal/mol ; Dist. : 4,33Å). Les résidus Tyr105, Ser237 et Thr216 participent à l'interaction en exposant du site de fixation.

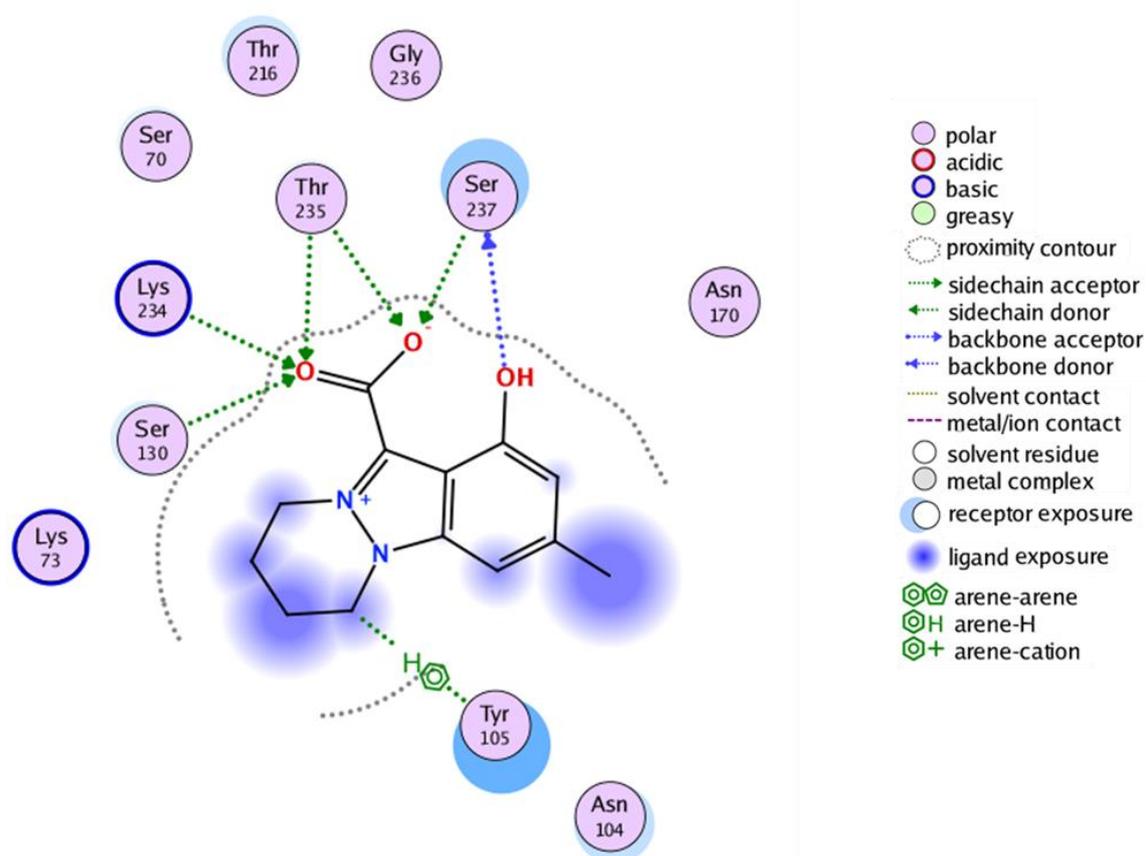


Figure 25 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (2ZQA).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5G18) montre qu'il est composé des 20 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, **Asn104**, Tyr105, Ser130, **Asn132**, Pro167, Thr168, Asn170, Thr171, Thr216, Ser220, Thr235, Gly236, Ser237, Gly238, Asp240, Thr244, Asn245 et Asn276 avec lequel interagit la Nigellicine via son groupement carbonyle à un score d'affinité de -10,1860 formant 2 liaisons hydrogène accepteur avec le groupement amide des résidus Asn104 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,55Å) et Asn132 (E : -4,8kcal/mol ; Dist. : 3,08Å). Les résidus Ser237, Asn104, Tyr105, Ser70, Thr216, Asn274 et Gly238 participent à cette interaction par exposition du site de fixation.

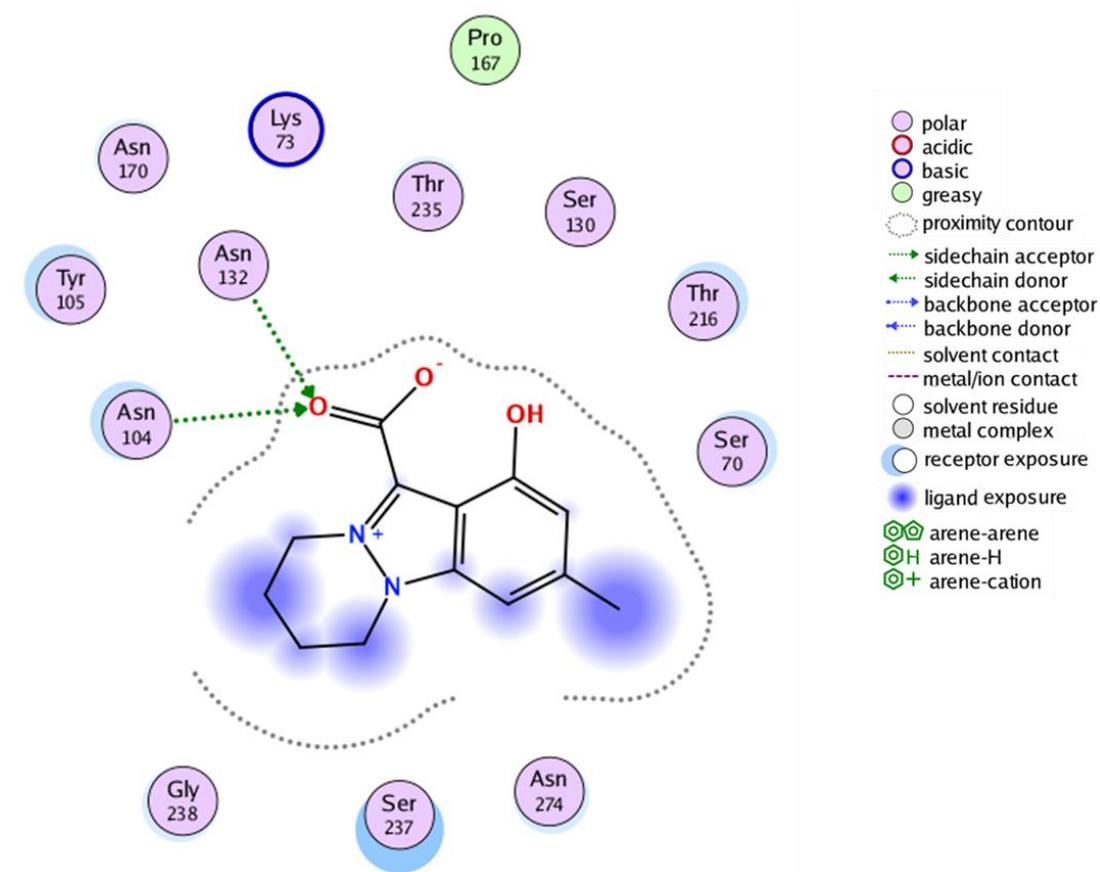


Figure 26 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5G18).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5A92) montre qu'il est composé des 25 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Asn104, Tyr105, **Ser130**, Asn132, Pro167, Asn170, Thr171, **Thr216**, Ala219, **Lys234**, **Thr235**, Gly236, **Ser237**, Gly238, Asp240, Tyr241, Gly242, Gln270, Lys271, Ala272, Glu273, Asn274 et Asn276, avec lesquels la Nigellicine interagit par rien que sa fonction acide carboxylique, à un score d'affinité de -14,4866, formant d'une part, une seule liaison ionique entre son groupement carbonyle avec la Lys234 (E : -6,5kcal/mol ; Dist. : 2,95Å), ainsi que 3 liaisons hydrogène accepteur avec les résidus Ser130 (E : -1,6kcal/mol ; Dist. : 2,77Å), Thr216 (E : -0,8kcal/mol ; Dist. : 3,38Å), Lys234 (E : -13,3kcal/mol ; Dist. : 2,95Å), et d'autre part, 3 liaison hydrogène accepteur entre le groupement carboxylate et les résidus Thr235 (E : -2,9kcal/mol ; Dist. : 2,74Å) et Ser237 (E : -3,7kcal/mol ; Dist. : 3,04Å) et (E : -3,8kcal/mol ; Dist. : 2,68Å). Par ailleurs, une exposition du site de fixation est faite par les résidus Tyr105, Ser237 et Thr216.

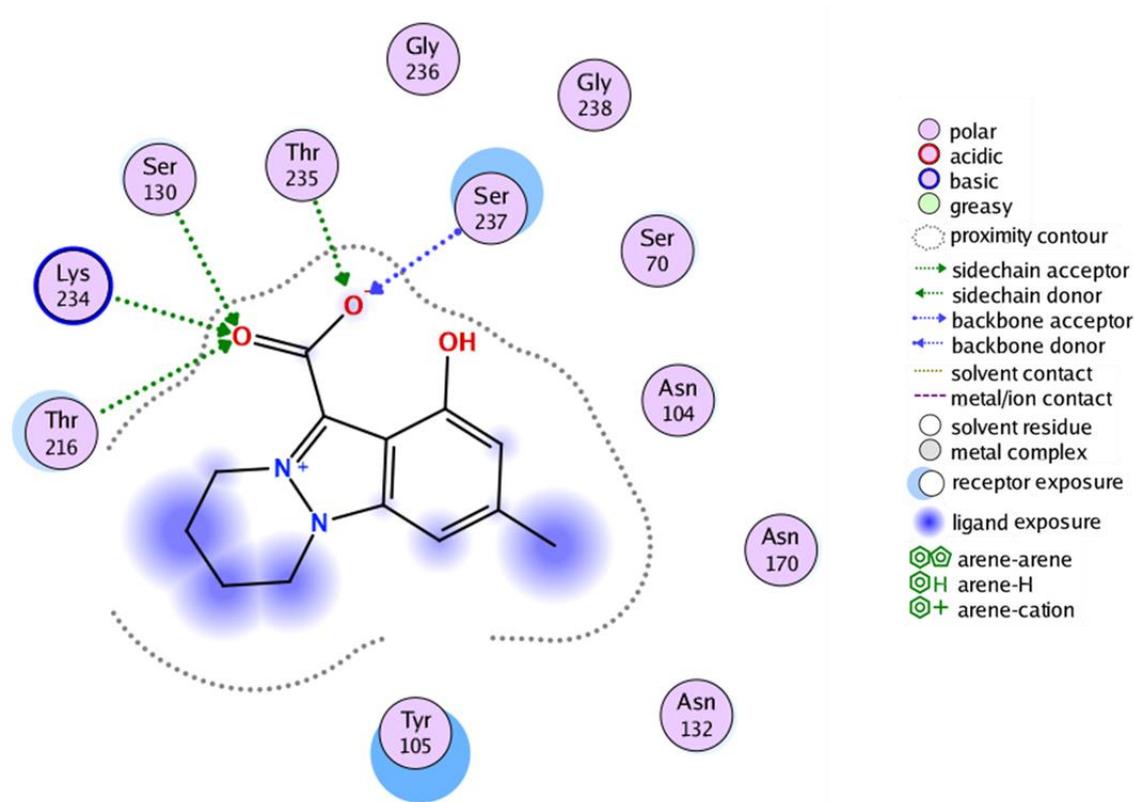


Figure 27 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5A92).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (6J2K) montre qu'il est composé des 20 acides aminés suivants : **Ser70**, Asn104, **Tyr105**, Thr130, **Asn132**, Glu166, Pro167, Thr168, Asn170, Thr171, Ser237, Gly238, Gly240, Gly242, Thr243, Thr244, Lys270, Ala271, Glu272 et Ser273 avec lequel la Nigellicine n'interagit pas avec sa fonction acide carboxylique, mais interagit autrement à un score d'affinité de -9,5125, ou le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène avec la Ser70, faisant partie du site catalytique de l'enzyme (E : -1,0kcal/mol ; Dist. : 3,13Å). Le cycle tetrahydropyridazine interagit en C9 par empilement pi-hydrogène avec le phényle du résidu Tyr105 (E : -0,5kcal/mol ; Dist. : 3,96Å), alors que l'indazole interagit par empilement pi-hydrogène avec le résidu Asn132 (E : -0,8kcal/mol ; Dist. : 4,39Å). Cette interaction engendre l'exposition du site de fixation par les résidus Tyr105, Ser237, Asn104e Thr130.

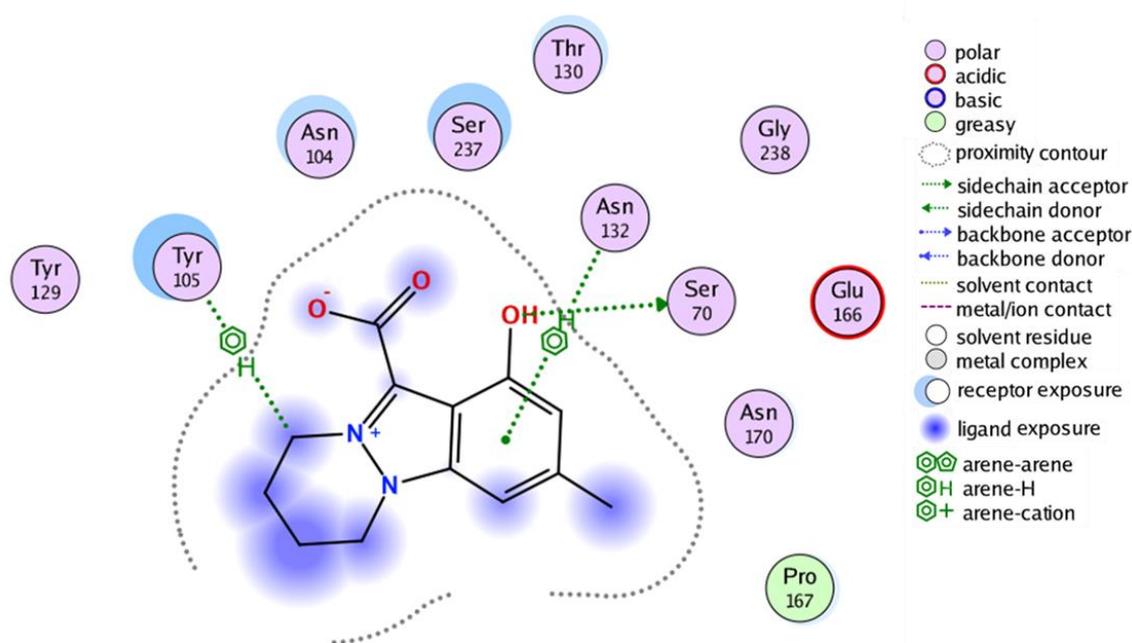


Figure 28 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6J2K).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (62JB) montre qu'il est composé des 15 acides aminés suivants : Cys69, **Ser70**, **Lys73**, Asn104, Tyr105, Thr130, Asn132, Pro167, Asn170, Thr171, Gly236, Ser237, **Gly238**, Gly240 et **Lys270** dont la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -11,3223 en formant 2 liaisons ioniques avec Lys270, une via son groupement carbonyle (E : -6,7kcal/mol ; Dist. : 2,92Å), et l'autre via son groupement carboxylate (E : -7,0kcal/mol ; Dist. : 2,89Å). Deux liaisons hydrogène sont établies via son groupement carboxylate avec les résidus Lys270 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 2,89Å) et Gly238 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,36Å). Cette fixation de la molécule de Nigellicine engendre son exposition par les résidus Tyr105, Ser237, Lys270 et Arg275.

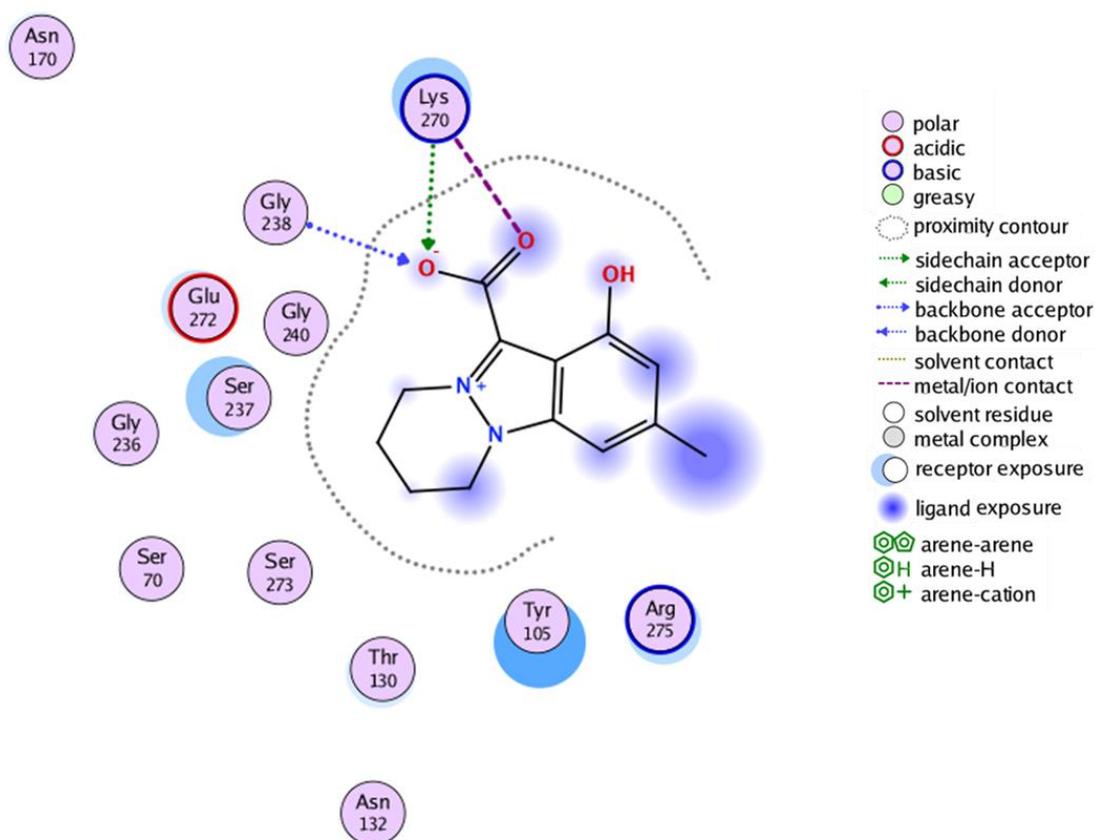


Figure 29 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6J2B).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (4HBU) montre qu'il contient les 18 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Asn104, Tyr105, Ser130, Asn132, Glu166, Pro167, Thr168, Asn170, Thr216, Ala219, **Lys234**, **Thr235**, Gly236, **Ser237**, Ser272, Arg274, ou la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -12,0464 via son groupement carbonyle et carboxylate avec le résidu Lys234 pour former 2 liaisons ioniques respectivement (E : -4,7kcal/mol ; Dist. : 3,22Å) et (E : -1,8kcal/mol ; Dist. : 3,86Å), ainsi que 2 liaisons hydrogène accepteur sur le groupement carbonyle avec les résidus Lys234 (E : -1,7kcal/mol ; Dist. : 3,22Å) et Thr235 (E : -1,7kcal/mol ; Dist. : 2,98Å). Le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène donneur avec le résidu Ser70 (E : -1,2kcal/mol ; Dist. : 2,86Å) impliqué dans le site catalytique de l'enzyme. Par ailleurs, l'indazole interagit par 2 empilements pi-hydrogène avec le résidu Ser237 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,73Å) et (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,90Å), avec participation des résidus Ser237, Tyr105, Arg274, Ser272, Asn104 et Ser130 à l'exposition du site de fixation.

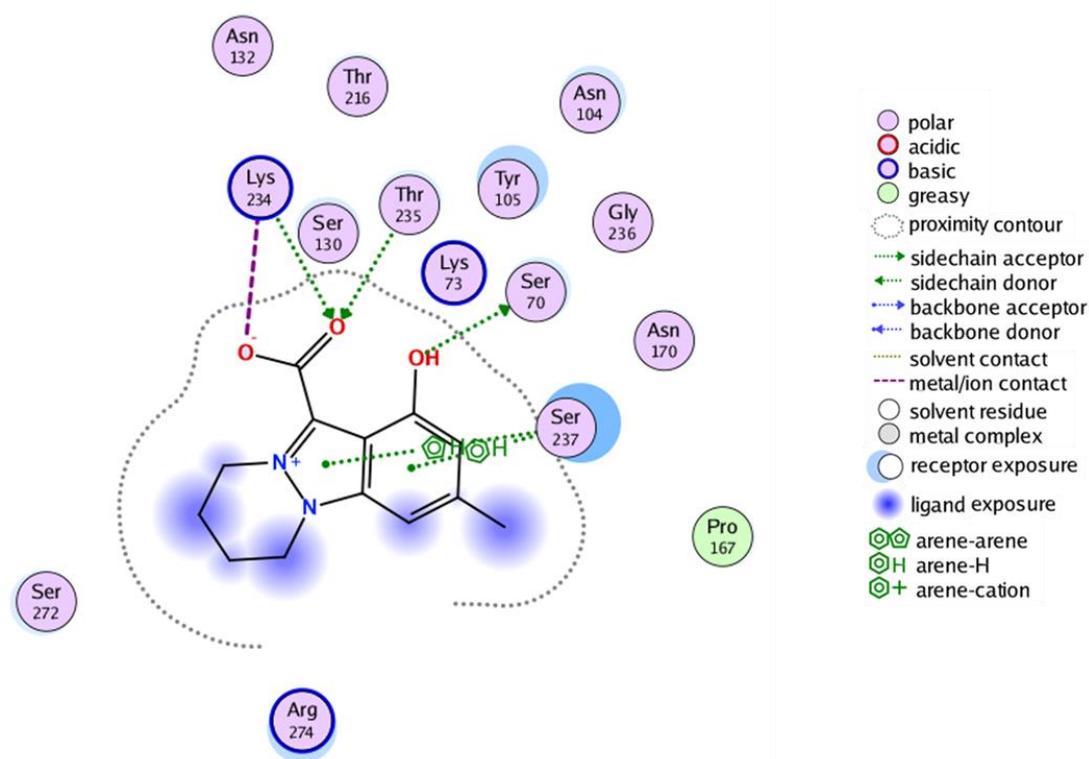


Figure 30 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (4HBU).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (7U48) montre qu'il est composé des 21 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, **Tyr105**, Ser130, Asn132, Glu166, Pro167, Asn170, **Thr216**, Ser220, Lys234, Thr235, **Gly236**, Ser237, Gly238, Gly239, Thr243, Asn244, Ser272, Arg274 et Leu277, avec lesquels la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -10,2817 en formant avec son groupement carbonyle une liaisons hydrogène avec les résidus Gly236 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,27Å), et avec son groupement carboxylate une autre liaison hydrogène avec le résidus Thr216 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,27Å), et avec son groupement carboxylate une autre liaison hydrogène avec le résidus Thr216 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,27Å), et avec son groupement carboxylate une autre liaison hydrogène avec le résidus Thr216 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,27Å). Le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène avec la Ser70 faisant partie du site catalytique (E : 4,5kcal/mol ; Dist. : 2,81Å), alors que l'indazole ineragit par empilement pi-pi avec la Tyr105 (E : 0,0kcal/mol ; Dist. : 3,85Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Tyr105, Ser237, Arg274.

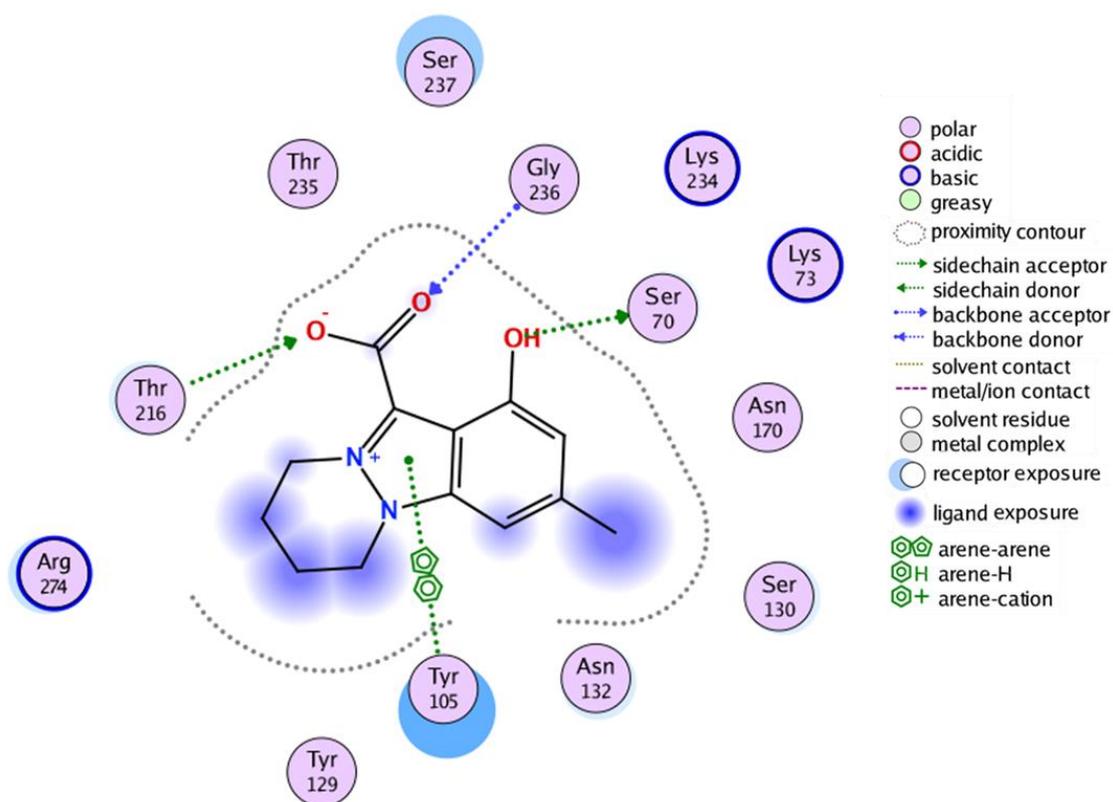


Figure 31 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (7U48).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (6V7H) montre qu'il est composé des 18 acides aminés suivants : Cys69, **Ser70**, **Lys73**, Asn104, Tyr105, **Ser130**, Asn132, Pro167, Asn170, **Thr216**, **Lys234**, **Thr235**, **Gly236**, Ser237, Gly238, Glu273, Ser274 et **Arg276**. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -13,5928 en formant avec son groupement acide carboxylique 3 liaisons ioniques dont une via son groupement carboxylate avec le groupement ($-\text{NH}_3^+$) de la chaîne latérale de Lys234 (E : -2,9kcal/mol ; Dist. : 3,57Å) et les deux autre via son groupement carbonyle avec Arg276 (E : -6,8kcal/mol ; Dist. : 2,92Å) et (E : -7,3kcal/mol ; Dist. : 2,85Å). Sept liaisons hydrogène sont établies dont 4 liaisons via son groupement carbonyle avec les résidus Thr216 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,49Å), Thr235 (E : -3,2kcal/mol ; Dist. : 2,86Å), Arg276 (E : -8,7kcal/mol ; Dist. : 2,92Å) et (E : -4,2kcal/mol ; Dist. : 2,85Å), 3 liaisons hydrogène via son groupement carboxylate avec les résidus Ser130 (E : -2,1kcal/mol ; Dist. : 2,72Å), Lys234 (E : -0,9kcal/mol ; Dist. : 3,57Å), Gly236 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 3,57Å). Toutes ces interactions engendrent une exposition du site de fixation par les résidus Tyr105, Thr216, Ser237 et Arg276.

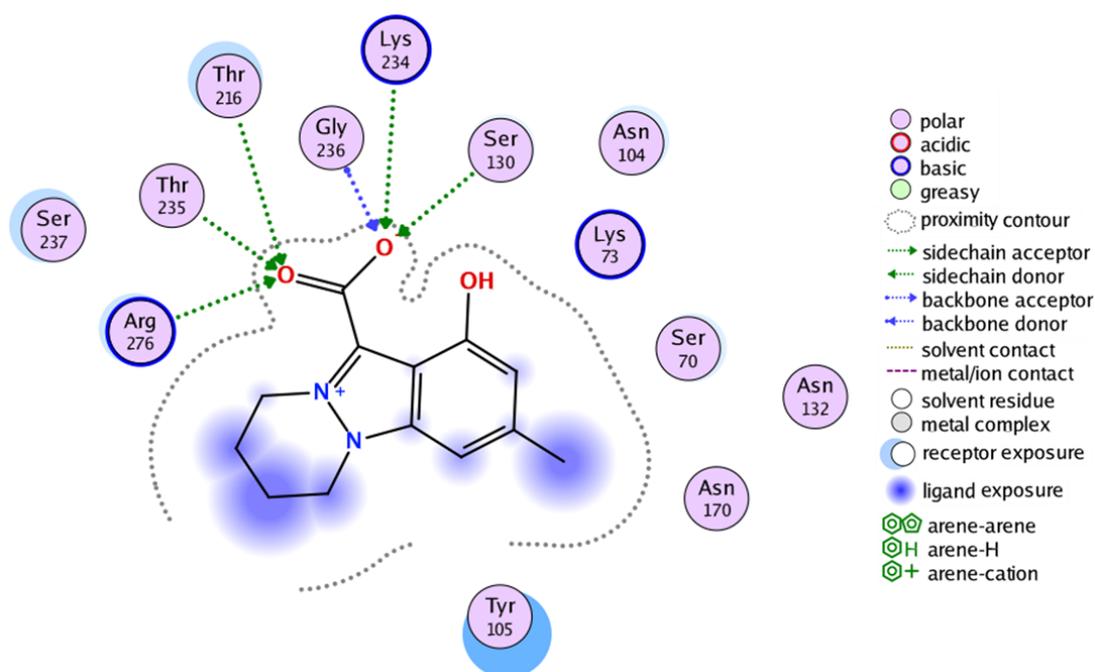


Figure 32 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6V7H).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5VLE) montre qu'il est composé des 19 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Asn104, Tyr105, **Ser130**, Asn132, Pro167, Thr168, **Asn170**, Thr171, Thr216, Gly217, **Lys234**, **Thr235**, **Gly236**, **Ser237**, Gly238, Asp240 et **Arg276** ou la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -13,6543 via son groupement acide carboxylique en formant 3 liaisons ioniques dont une entre le groupement carboxylate et le groupement ($-\text{NH}_3^+$) de la chaîne latérale du Lys234 (E : -7,7kcal/mol ; Dist. : 2,81Å) et les deux autres entre le groupement carbonyle et le résidu Arg276 (E : -1,3kcal/mol ; Dist. : 4,02Å) et (E : -7,5kcal/mol ; Dist. : 2,82Å). Sept liaisons hydrogène sont formés, dont le groupement carbonyle se lie au résidu Thr235 (E : -1,0kcal/mol ; Dist. : 2,91Å), Ser237 (E : -0,5kcal/mol ; Dist. : 3,32Å) et Arg276 (E : -9,3kcal/mol ; Dist. : 2,82Å), alors que le groupement carboxylate se lie au résidu Ser130 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 2,99Å), Lys234 (E : -7,9kcal/mol ; Dist. : 2,81Å), Thr235 (E : -0,9kcal/mol ; Dist. : 3,14Å) et Gly236 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,50Å). Le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène donneur avec Asn170 (E : -0,8kcal/mol ; Dist. : 3,16Å). L'indazole interagit par 2 empilements pi-hydrogène avec la Ser130 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,65Å) et (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,42Å), avec exposition du site de fixation par les résidus Tyr105, Thr216, Ser237, Ser130, Asn104 et Arg276.

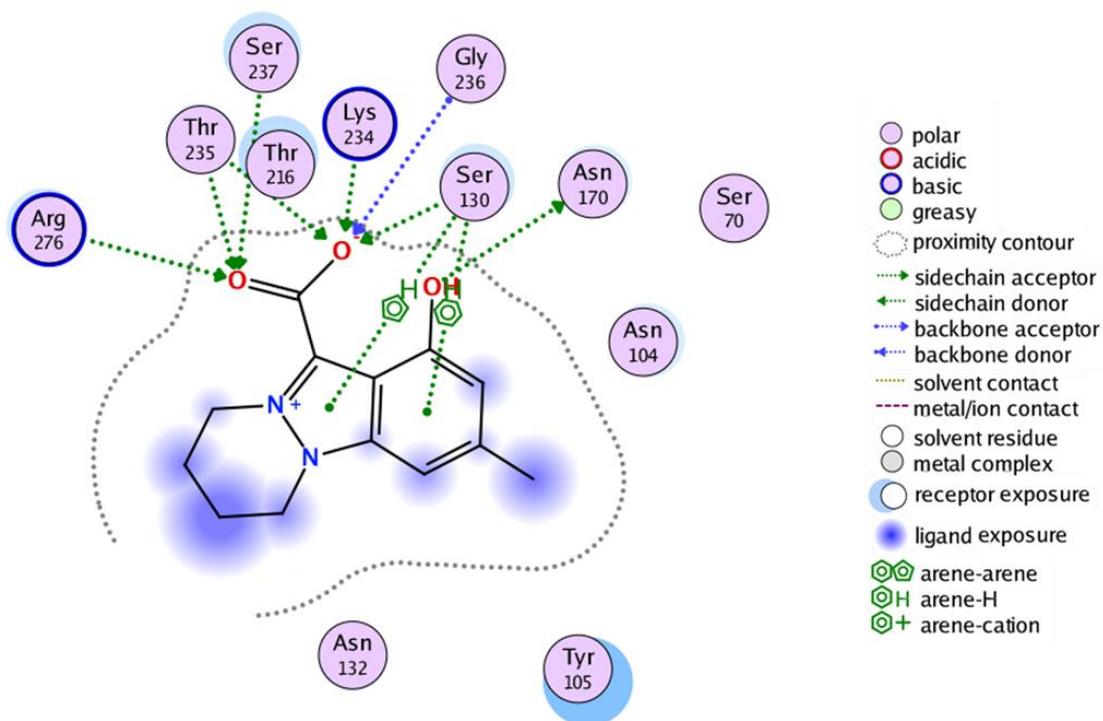


Figure 33 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5VLE).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5U53) montre qu'il est composé des 13 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, **Asn104**, Tyr105, Ser130, Asn132, Pro167, Asn170, Thr171, Ser237, **Gly238**, Asp240 et Ser274, avec lequel La Nigellicine interagit à un score d'affinité de -10,5398 en formant avec son groupement carboxylate une liaison hydrogène accepteur avec le groupement amide du résidu Asn104 (E : -5,4kcal/mol ; Dist. : 2,96Å). L'indazole interagit par empilement pi-hydrogène avec le résidu Gly238 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,73Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Ser237, Ser274, Asn104 et Tyr105.

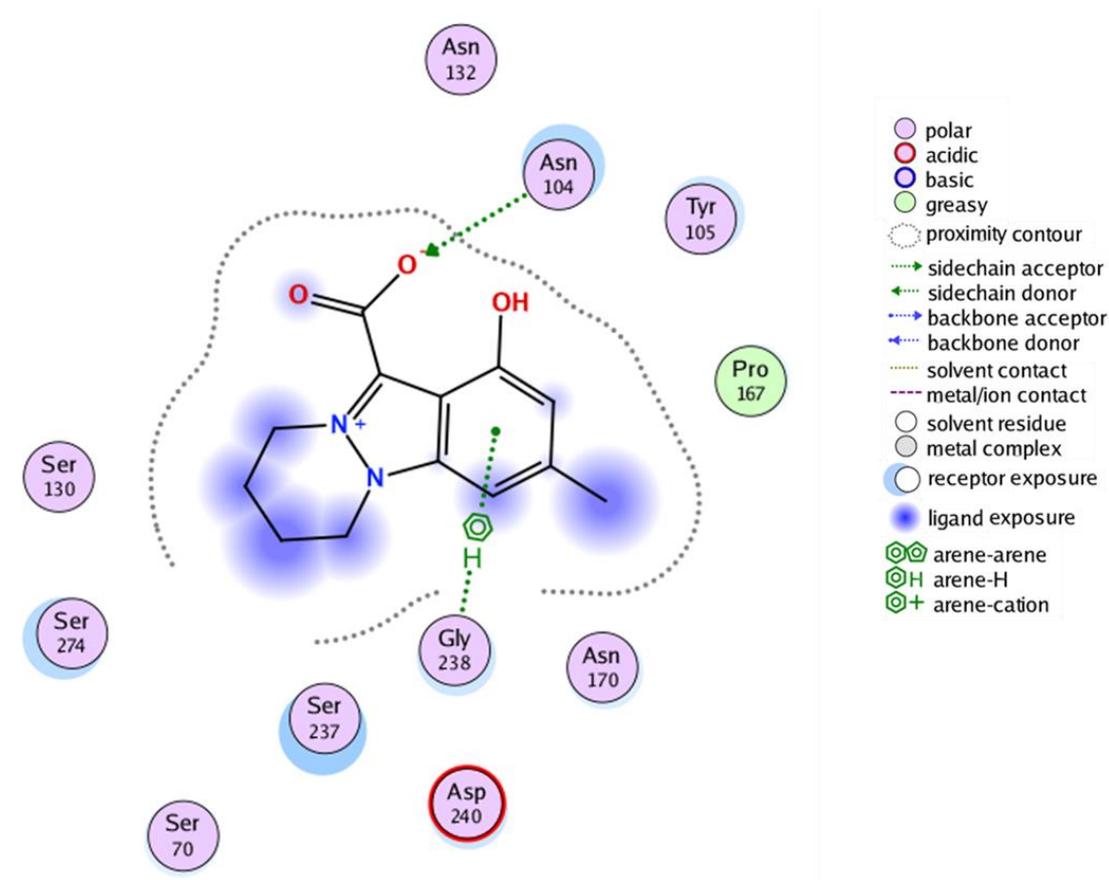


Figure 34 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5U53).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5TW6) montre qu'il est composé des 35 acides aminés suivants : Pro67, Met68, Cys69, **Ser70**, Ser72, **Lys73**, Asn104, Tyr105, **Ser130**, Asn132, Met135, Ile139, Leu162, Arg164, Thr165, Ala166, Leu169, Asn170, Thr171, Ala172, Arg178, Asp179, Thr216, **Thr235**, Gly236, **Ser237**, Gly238, Asp240, Tyr241, Gln270, Asn271, Ala272, Glu273, Ser274 et **Arg276**, avec lesquels la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -13,2962 en formant avec son groupement carbonyle 2 liaisons ioniques avec le groupement (-NH₂) du résidu Arg276 (E : -6,3kcal/mol ; Dist. : 2,98Å) et (E : -6,9kcal/mol ; Dist. : 2,90Å), ainsi que 4 liaisons hydrogène avec les résidus Thr235 (E : -1,0kcal/mol ; Dist. : 2,92Å), Ser237 (E : -2,2kcal/mol ; Dist. : 2,90Å) et Arg276 (E : -3,9kcal/mol ; Dist. : 2,98Å) et (E : -6,0kcal/mol ; Dist. : 2,90Å). La Nigellicine agit également par liaisons hydrogène accepteur via son groupement carboxylate avec les résidus Ser130 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 3,02Å) et Thr235 (E : -0,6kcal/mol ; Dist. : 2,85Å). Par ailleurs, une exposition du site de fixation est faite par les résidus Tyr105, Ser237, Arg276 et Asn104.

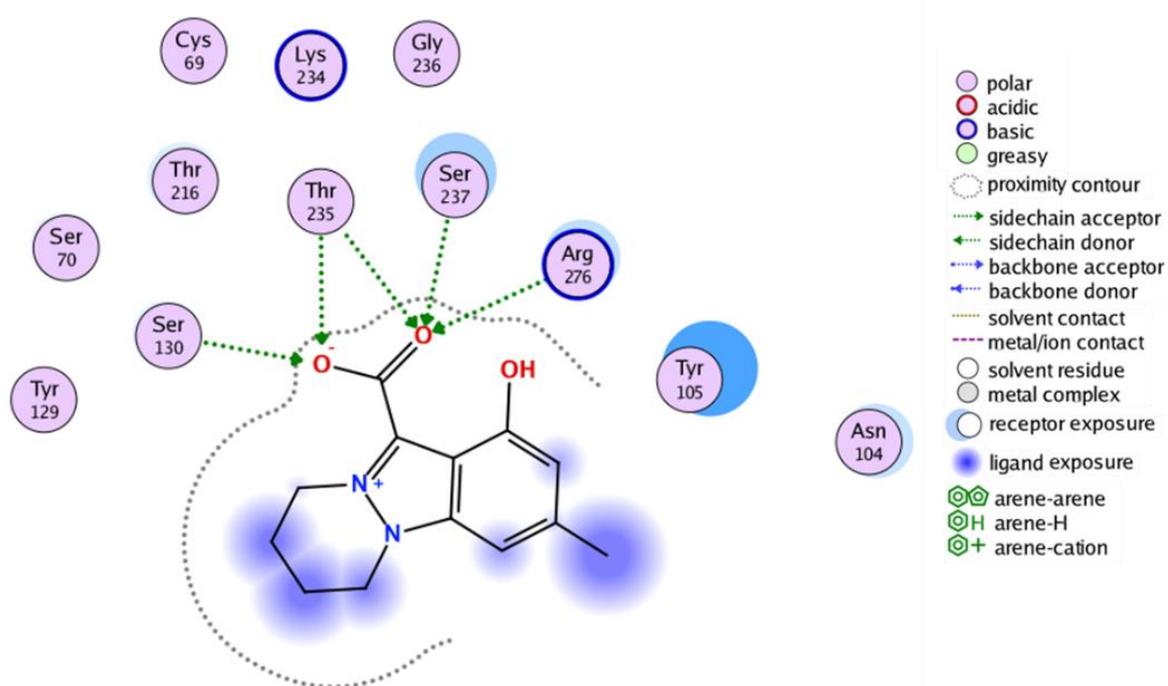


Figure 35 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5TW6).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (7K2Y) montre qu'il est composé des 17 acides aminés suivants : **Ser70**, Asn104, Tyr105, Ser130, Asn132, Pro167, Asn170, Thr171, **Thr216**, Ala219, Arg234, **Thr235**, Gly236, **Ser237**, Gly238, Asp240 et Arg276. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -11,9186 en formant avec son groupement carboxylate 4 liaisons hydrogène avec les résidus Thr235 (E : -0,5kcal/mol ; Dist. : 3,19Å) et (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,14Å) ainsi que le résidus Ser237 (E : -3,9kcal/mol ; Dist. : 3,20Å) et (E : -1,9kcal/mol ; Dist. : 2,77Å). Le groupement carbonyle forme une seule liaison hydrogène avec le résidus Thr216 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 3,57Å), alors que le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène avec la Ser70 faisant partie du site catalytique (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,31Å). Ces interactions exercent une exposition du site de fixation par les résidus Tyr105, Ser237, Arg276 et Thr216.

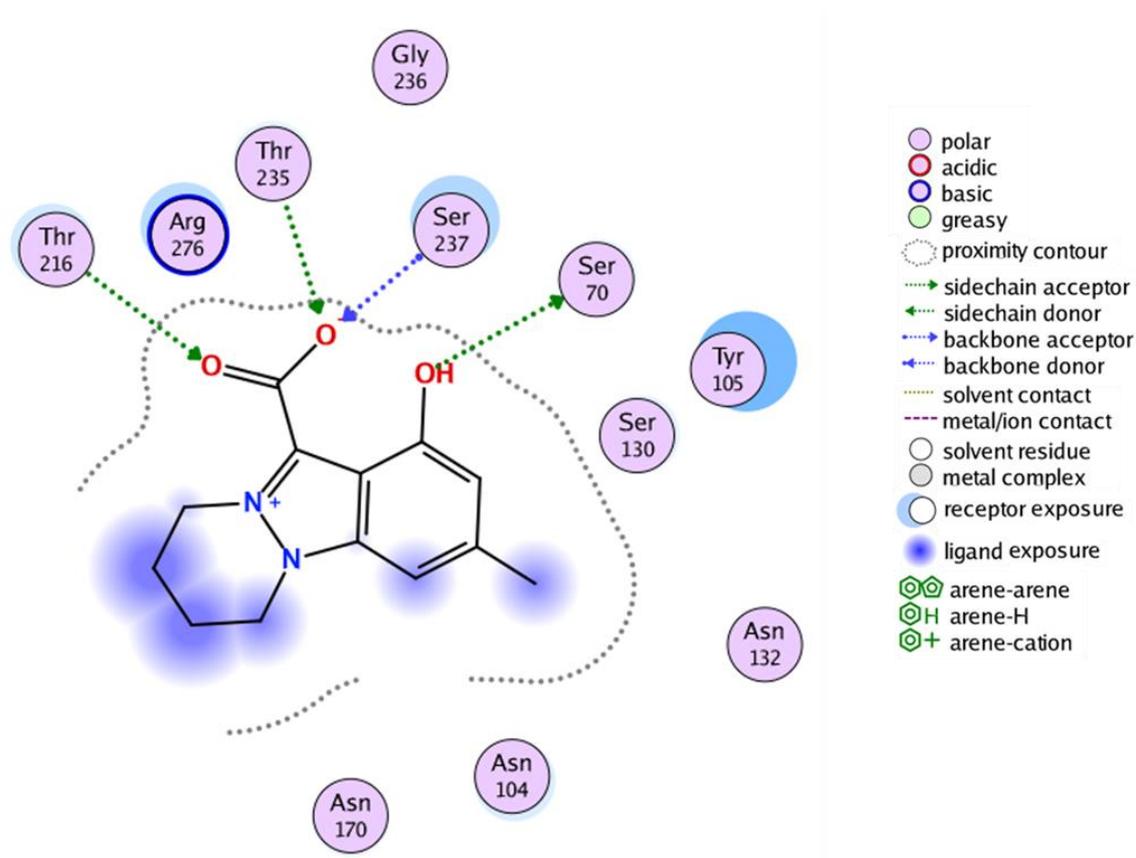


Figure 36 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (7K2Y).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (6V83) montre qu'il est composé des 17 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Asn104, **Tyr105**, **Ser130**, Asn132, Ala166, Asn170, **Thr216**, Ala219, **Lys234**, **Thr235**, Gly236, Ser237, Gly238, Ser274 et **Arg276**. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -14,0385 en formant avec son groupement acide carboxylique 3 liaisons ioniques dont une via son groupement carboxylate avec le résidu Lys234 (E : -1,8kcal/mol ; Dist. : 3,86Å) et les deux autres via son groupement carbonyle avec le résidu Arg276 (E : -1,6kcal/mol ; Dist. : 3,94Å) et (E : -7,5kcal/mol ; Dist. : 2,83Å). Quatre 4 liaisons hydrogène sont établies avec cette fonction acide carboxylique dont 2 liaisons sont formées entre son groupement carboxylate et les résidus Ser130 (E : -3,7kcal/mol ; Dist. : 2,72Å) et Thr235 (E : -3,5kcal/mol ; Dist. : 2,77Å), et 2 autres sont formées entre son groupement carbonyle et les résidus Thr216 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,36Å) et Arg276 (E : -3,7kcal/mol ; Dist. : 2,83Å). Le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène donneur avec la Ser70 faisant partie du site catalytique (E : 3,6kcal/mol ; Dist. : 2,80Å), alors que le cycle tetrahydropyridazine interagit par empilement pi-hydrogène en C6 avec le résidu Tyr105 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,09Å). Ces interactions permettent une exposition du site de fixation par les résidus Tyr105, Arg276, Ser237 et Thr216.

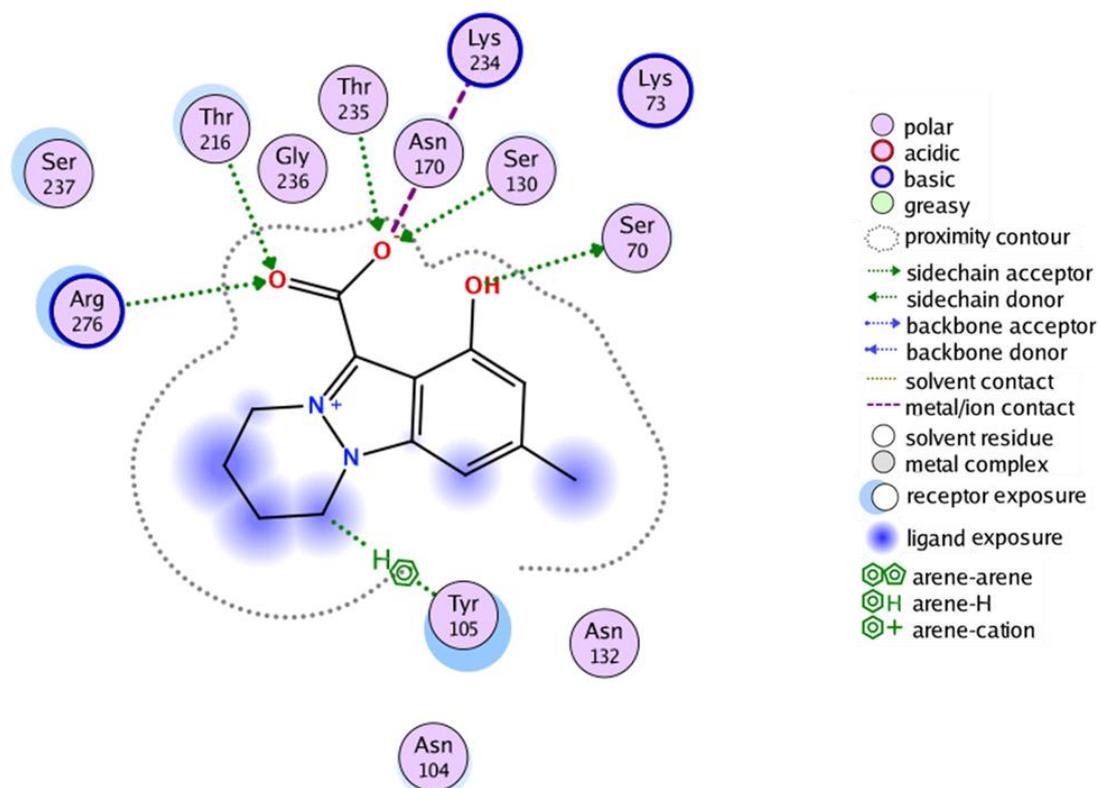


Figure 37 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6V83).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (6V7T) montre qu'il est composé des 19 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Asn104, **Tyr105**, **Ser130**, Asn132, Pro167, Thr168, Asn170, Thr171, Thr216, Ala219, **Lys234**, **Thr235**, Gly236, **Ser237**, Gly238, Gly240 et **Arg276** avec lequel la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -12,9081 en formant avec son groupement acide carboxylique 3 liaisons ioniques dont une entre son groupement carbonyle et le résidu Lys234 (E : -7,0kcal/mol ; Dist. : 2,90Å) et les deux autres entre son groupement carboxylate et le résidu Arg276 (E : -7,4kcal/mol ; Dist. : 2,84Å) et (E : -1,6kcal/mol ; Dist. : 3,93Å). Six liaisons hydrogène sont établies dont le groupement carbonyle forme 3 liaisons avec les résidus Ser70 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,44Å) et Ser130 (E : -3,4kcal/mol ; Dist. : 2,74Å), faisant partie du site catalytique de l'enzyme, et les résidus Lys234 (E : -2,1kcal/mol ; Dist. : 2,90Å), et le groupement carboxylate forme 3 liaisons hydrogène avec les résidus Thr235 (E : -2,0kcal/mol ; Dist. : 2,79Å), Ser237 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,54Å) et Arg276 (E : -8,8kcal/mol ; Dist. : 2,84Å). Le cycle tetrahydropyridazine interagit par empilement pi-hydrogène en C6 avec le phényle du résidu Tyr105 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,85Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Tyr105, Ser237, Arg276 et Thr216.

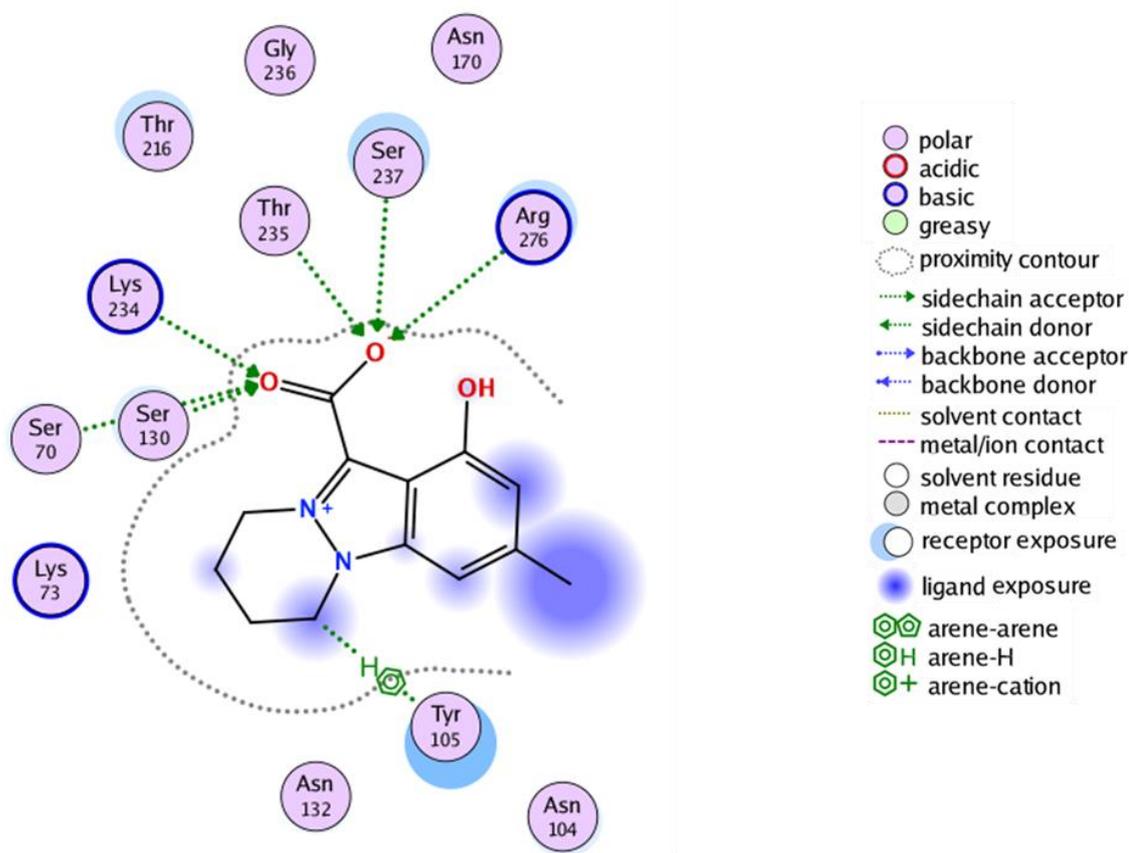


Figure 38 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6V7T).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (6CYU) montre qu'il est composé des 26 acides aminés suivants : Cys69, **Gly70**, **Lys73**, Asn104, Tyr105, Pro107, Tyr129, **Ser130**, Asp131, Asn132, Pro167, Asn170, Thr171, Thr215, Thr216, **Lys234**, **Thr235**, Gly236, **Ser237**, Gly238, Gly240, Gly242, Ala272, Glu273, Ser274 et Arg276 avec lequel la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -13,5323 avec seulement son fonction acide carboxylique, composée d'un groupement carboxylate qui forme une seule liaison ionique avec le résidu Lys234 (E : -7,4kcal/mol ; Dist. : 2,85Å) ainsi que 2 liaisons hydrogène avec les résidus Ser130 (E : -1,8kcal/mol ; Dist. : 2,77Å), Lys234 (E : -4,6kcal/mol ; Dist. : 2,85Å), et d'un groupement carbonyle qui forme 2 liaisons hydrogène avec les résidus Thr235 (E : -3,5kcal/mol ; Dist. : 2,74Å) et Ser237 (E : -2,9kcal/mol ; Dist. : 2,81Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Ser237, Tyr105, Ser130 et Arg276.

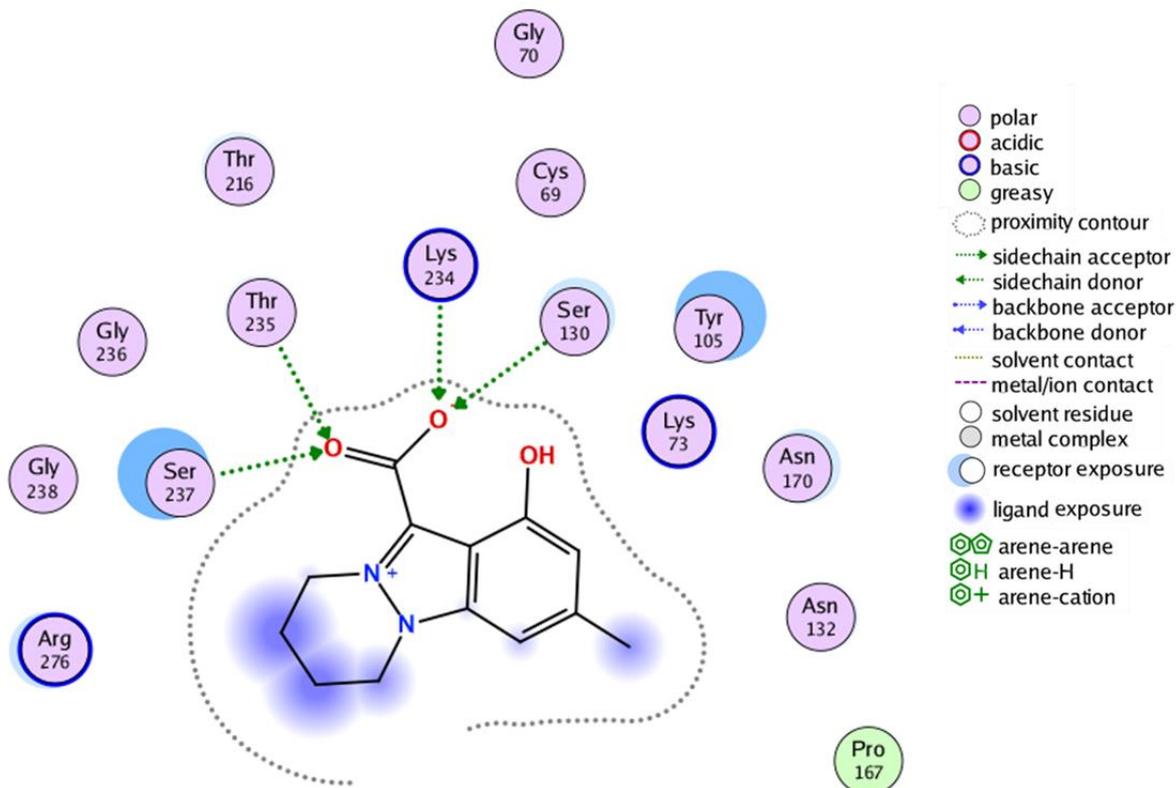


Figure 39 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6CYU).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (6CYQ) révèle qu'il est composé des 32 acides aminés suivants : Cys69, **Gly70**, **Lys73**, Asn104, **Tyr105**, Ser106, Pro107, Tyr129, Ser130, Asp131, Asn132, Pro167, Thr168, Asn170, Thr171, Thr215, Thr216, **Lys234**, **Thr235**, **Gly236**, **Ser237**, Gly238, Asp240, Tyr241, Gly242, Thr243, Gln270, Asn271, Ala272, Glu273, Ser274 et Arg276. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -12,3814 en formant 2 liaisons ioniques avec la chaîne latérale du Lys234 via son groupement carboxylate (E : -2,2kcal/mol ; Dist. : 3,74Å) et son groupement carbonyle (E : -5,9kcal/mol ; Dist. : 3,04Å), ce dernier forme 3 liaisons hydrogène accepteur avec les résidus Lys234 (E : -3,7kcal/mol ; Dist. : 3,04Å), Thr235 (E : -2,5kcal/mol ; Dist. : 2,91Å) et Gly236 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,22Å). Le cycle tetrahydropyridazine interagit en C6 par empilement pi-hydrogène avec le cycle phényle de la Tyr105 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,44Å), alors que l'indazole interagit par empilement pi-hydrogène avec les résidus Ser237 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,20Å) et Tyr105 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,75Å) en C4. La participation des résidus Ser237, Tyr105, Ser130 et Arg276 est assurée par exposition du site de fixation.

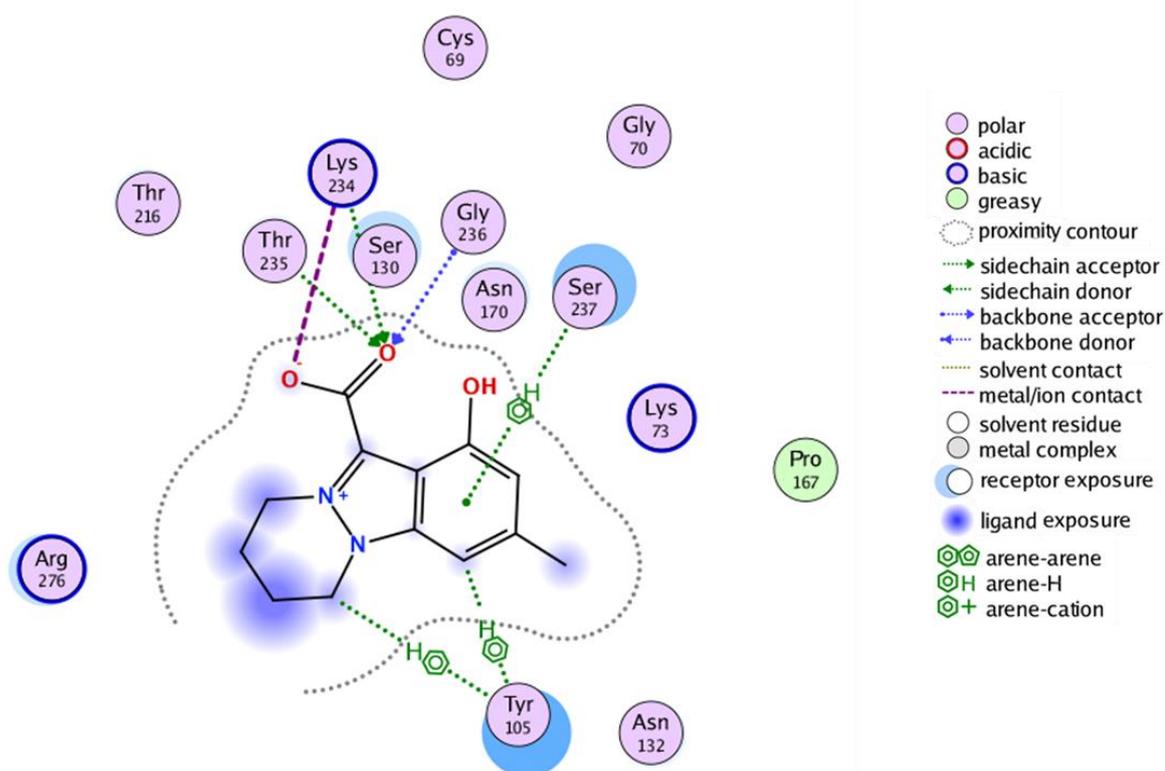


Figure 40 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (6CYQ).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5TWE) montre qu'il est composé des 31 acides aminés suivants : Cys69, **Gly70**, **Lys73**, Asn104, **Tyr105**, Ser130, Asn132, Glu166, Ser167, Thr168, Leu169, Asn170, Thr171, Thr216, Ala219, Ser220, Lys234, Thr235, **Gly236**, **Ser237**, Gly238, Asp240, Tyr241, Gly242, Thr243, Thr244, Gln270, Ala272, Glu273, Ser274 et Arg276. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -13,3281 en formant avec son groupement carboxylate une seule liaison ionique avec le groupement ($-\text{NH}_3^+$) du la chaîne latérale du Lys73 faisant partie du site catalytique de l'enzyme (E : -6,7kcal/mol ; Dist. : 2,93Å), alors que groupement carbonyle forme 4 liaisons hydrogène accepteur avec les résidus Gly70 (E : -2,7kcal/mol ; Dist. : 3,04Å) et (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,26Å), Gly236 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,17Å) et Ser237 (E : -5,1kcal/mol ; Dist. : 2,85Å). Le cycle tetrahydropyridazine forme une liaison hydrogène donneur en C9 avec la Ser237(E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,71Å) et interagit par empilement pi-hydrogène avec le phényle du résidus Tyr105 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,55Å). Certains résidus participent par l'exposition du site de fixation, à savoir les résidus Tyr105, Ser237, Asn104, Thr216 et Ser130.

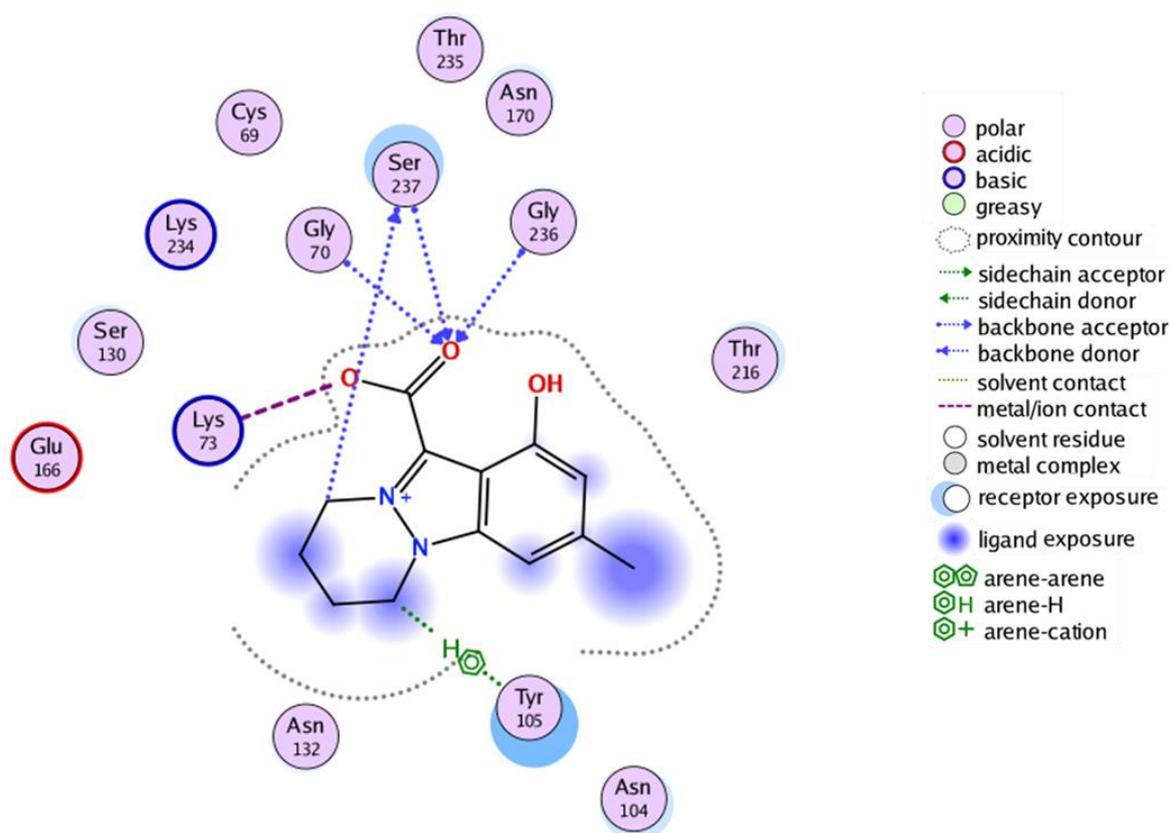


Figure 41 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5TWE).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (3Q1F) montre qu'il est composé des 25 acides aminés suivants : Cys69, **Gly70**, **Lys73**, Asn104, Tyr105, **Ser130**, Asn132, Glu166, Pro167, Asn170, Thr171, Thr216, Ser220, **Thr235**, Gly236, **Ser237**, Gly238, Asp239, Gly241, Thr242, Thr243, Ala270, Glu271, Ser272, **Arg274**. Le score d'affinité de la Nigellicine pour cette enzyme est de -14,2664. Elle forme avec son groupement carbonyle une seule liaison ionique avec le résidu Lys73 (E : -6,9kcal/mol ; Dist. : 2,91Å) faisant partie du site catalytique de l'enzyme ainsi que 3 liaisons hydrogène avec les résidus Gly70 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,39Å) faisant partie de son site actif mais en substitution à la sérine, Lys73 (E : -12,1kcal/mol ; Dist. : 2,91Å) et Ser130 (E : -2,8kcal/mol ; Dist. : 2,69Å), ajouté à cela 2 liaison hydrogène entre le carboxylate et les résidus Gly70 (E : -5,1kcal/mol ; Dist. : 2,93Å) et Ser237 (E : -4,6kcal/mol ; Dist. : 2,88Å). Le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène avec le résidu Thr235 (E : -2,2kcal/mol ; Dist. : 2,87Å) alors que le cycle tetrahydropyridazine forme une seule liaison hydrogène avec Ser237 (E : -0,6kcal/mol ; Dist. : 3,35Å). L'indazole interagit par un empilement pi-cation avec Arg274 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,13Å) et empilement pi-hydrogène avec Ser237 (E : -1,0kcal/mol ; Dist. : 4,03Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Ser237, Arg274, Tyr105 et Asn104.

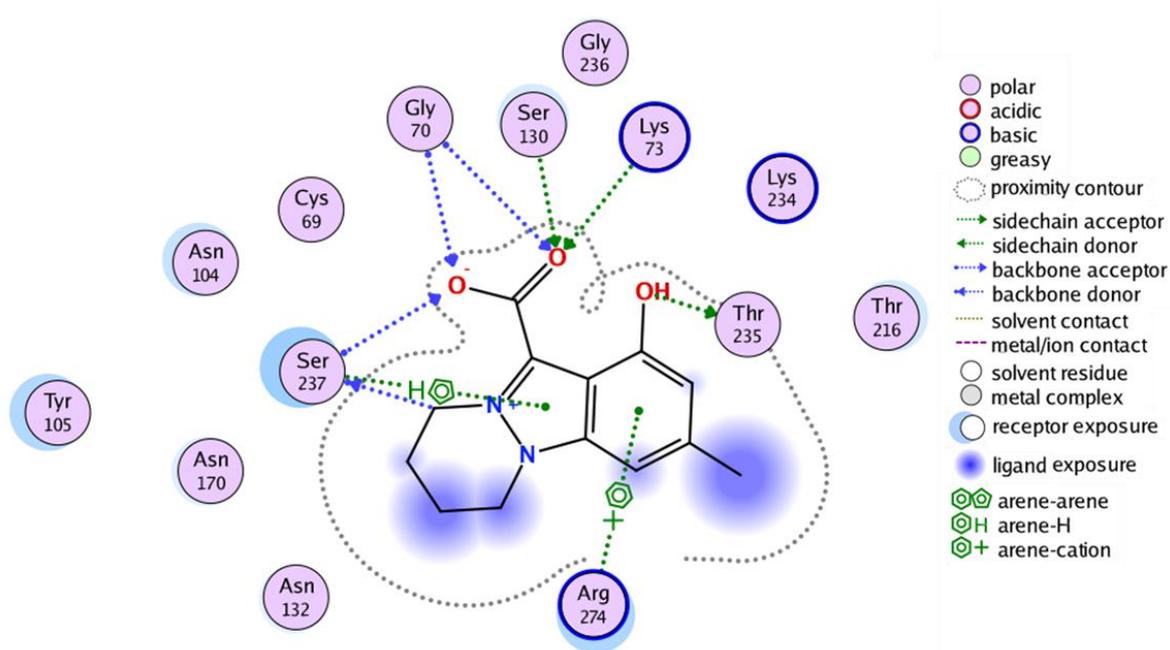


Figure 42 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (3Q1F).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (1YMX) montre qu'il est composé des 18 acides aminés suivants : **Ser70**, **Lys73**, Asn104, **Tyr105**, **Ser130**, Asn132, Glu166, Pro167, Asn170, Thr216, **Lys234**, **Thr235**, **Gly236**, **Ser237**, Gly238, Glu273, Ser274, **Arg276**. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -12,2182 en formant 2 liaisons ioniques avec le groupement acide carboxylique, une liaison ionique entre le carbonyle et le groupement ($=\text{NH}_2^+$) du résidu Arg276 (E : -7,3kcal/mol ; Dist. : 2,86Å) et l'autre liaison ionique entre le groupement ($-\text{NH}_3^+$) du résidu Lys234 avec le carboxylate (E : -6,1kcal/mol ; Dist. : 3,01Å). Cinq liaisons hydrogènes sont établies entre la fonction acide carboxylique de la Nigellicine et les résidus Ser130 (E : -1,9kcal/mol ; Dist. : 2,79Å), Lys234 (E : -3,0kcal/mol ; Dist. : 3,01Å), Thr235 (E : -0,6kcal/mol ; Dist. : 3,20Å) et (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 3,67Å), Gly236 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,53Å) et Arg276 (E : -6,6kcal/mol ; Dist. : 2,86Å). Le groupement hydroxyle forme une seule liaison hydrogène avec la Ser237 (E : -0,8kcal/mol ; Dist. : 3,05Å). Il existe trois interactions par empilement pi-hydrogène dont 2 interactions entre l'indazole et les résidus Ser130 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,49Å) et Ser237 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,65Å), et une seule interaction pi-hydrogène entre le cycle tetrahydropyridazine et le phényle du résidu Tyr105 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,10Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Tyr105, Ser237, Thr216 et Arg276.

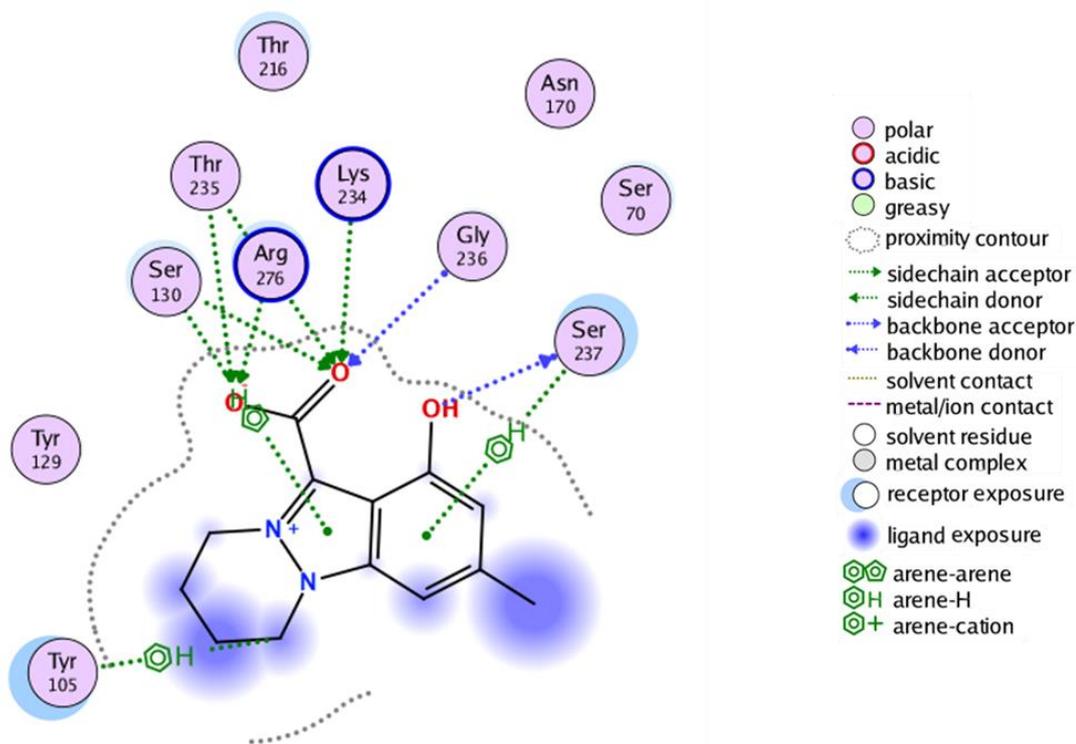


Figure 43 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1YMX).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (1LL5) révèle qu'il est composé des 47 acides aminés, à savoir : Gly63, **Ser64**, **Lys67**, Leu119, Gln120, Val121, Pro122, Asp123, Val125, Arg148, **Tyr150**, Asn152, Val211, Gly214, Ala215, Leu216, Asp217, Ala220, Tyr221, Thr262, Met265, Glu272, Leu274, Ser282, Ile283, Nme284, Ace290, Ile291, Ala292, Leu293, Ala294, Ala295, Arg296, His314, Lys315, Thr316, Gly317, Ala318, Thr319, Gly320, Tyr325, Asn343, Tyr344, Pro345, **Asn346**, **Arg349**, Val350. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -8,9002 en formant 3 liaisons ioniques avec le résidu Arg349, d'une part avec le groupement (C-NH₂) (E : -6,1kcal/mol ; Dist. : 3,00Å), et d'autre part avec le groupement (C=NH₂⁺) (E : -4,9kcal/mol ; Dist. : 3,18Å) et (E : -6,4kcal/mol ; Dist. : 2,97Å). Ce même résidu forme une seule liaison hydrogène accepteur avec le carboxylate de la Nigellicine (E : -2,2kcal/mol ; Dist. : 3,18Å) ainsi que 2 liaisons hydrogène accepteur avec le carbonyle (E : -4,0kcal/mol ; Dist. : 3,00Å) et (E : -4,5kcal/mol ; Dist. : 2,97Å). Deux interactions de type empilement pi-hydrogène, la première entre l'indazole et le résidu Asn346 (E : -0,9kcal/mol ; Dist. : 3,60Å), et la deuxième entre le cycle tetrahydropyridazine et le phényle du résidu Tyr150 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,71Å). Certains résidus manifestent une exposition du site de fixation à savoir Asn346, Tyr150, Thr316 et Ile291.

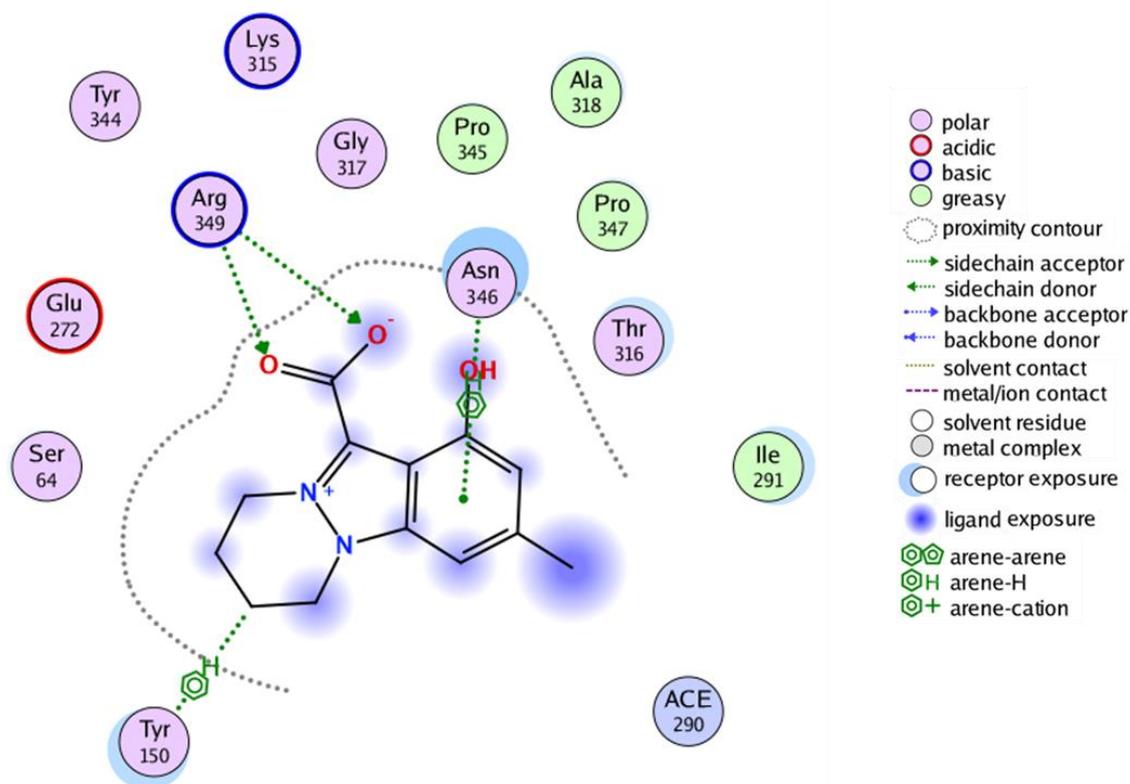


Figure 44 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1LL5).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (1I5Q) montre que ce site est composé de 49 acides aminés qui sont : Glu61, Gly63, **Ser64**, **Lys67**, Leu119, Gln120, Val121, Asp123, Arg148, Leu149, Tyr150, Ala152, Val209, His210, Val211, Ala215, Tyr221, Thr262, Asp264, Met265, Glu272, Leu274, Ser282, Ile283, Asn285, Gly286, Ser287, Asp288, **Asn289**, Lys290, Ile291, Ala292, Leu293, Ala294, Ala295, Arg296, His314, **Lys315**, **Thr316**, Gly317, Ala318, Thr319, Gly320, Gly321, Asn343, Tyr344, Pro345, **Asn346**, Arg349, avec lequel la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -13,5332 en formant 2 liaisons ioniques (E : -5,6kcal/mol ; Dist. : 3,07Å) et (E : -6,9kcal/mol ; Dist. : 2,91Å) entre sa fonction carboxylate et le groupement (-NH₃⁺) du résidu Lys315 (voir le rapport de l'interaction dans les Annexes), ainsi qu'une liaison hydrogène accepteur (E : -4,2kcal/mol ; Dist. : 2,91Å) avec l'oxygène de son groupement carbonyle. Le résidu Thr316 forme une liaison hydrogène donneur (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,43Å) avec le groupement hydroxyle, alors que l'indazole interagit par 3 empilements pi-hydrogène, dont un avec le résidu Asn346 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,32Å) et 2 empilements avec les résidus Asn289 (E : -1,5kcal/mol ; Dist. : 4,40Å) et (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 4,62Å). Les liaisons établies avec la Nigellicine engendrent l'exposition du site de fixation par les résidus Ala294, Asn289, Asp288, Tyr150, Ser64 et Ser287.

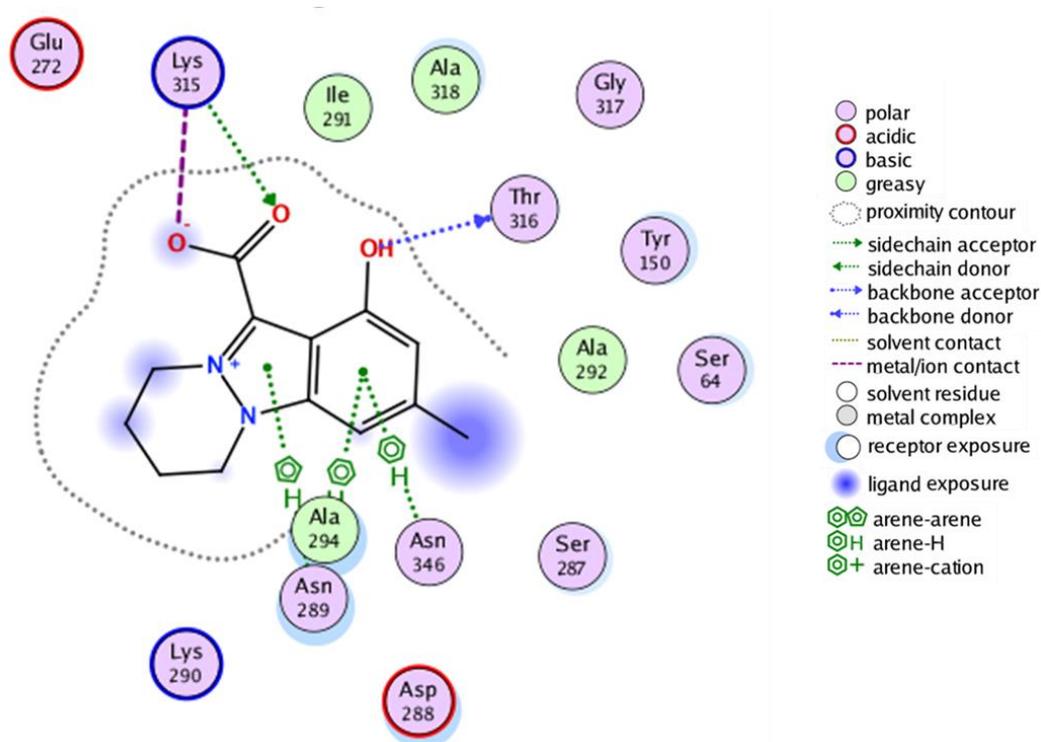


Figure 45 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1I5Q).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (1KVL) montre qu'il est composé des 43 acides aminés suivants : Gly63, **Gly64**, **Lys67**, Leu119, Gln120, Val121, Pro122, Asp123, Lys126, Arg148, Tyr150, Asn152, Val211, Ser212, Pro213, Gly214, Ala215, Leu216, Asp217, Ala220, Tyr221, Met265, Glu272, Asn285, **Gly286**, Ser287, **Asp288**, **Asn289**, Lys290, **Ile291**, Ala292, Ala294, Ala295, Arg296, His314, **Lys315**, **Thr316**, Gly317, Ala318, Thr319, Gly320, Tyr325, **Asn346**. La Nigellicine interagit avec cette enzyme à un score d'affinité de -13,5134 en formant 2 liaisons ioniques avec le résidu Lys315, une avec le carbonyle (E : -1,5kcal/mol ; Dist. : 3,97Å) et l'autre avec le carboxylate (E : -6,9kcal/mol ; Dist. : 2,90Å), ainsi qu'une troisième liaison ionique qui est établie entre l'azote de l'indazolium et le carboxylate du résidu Asp288 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 4,65Å). Quatre liaisons hydrogènes sont formées avec la Nigellicine dont 2 liaisons hydrogène accepteur avec les résidus Thr316 (E : -2,1kcal/mol ; Dist. : 2,89Å) et Asn346 (E : -1,3kcal/mol ; Dist. : 2,98Å) et 2 liaisons hydrogène donneur dont une formé entre le groupement hydroxyle et le résidu Gly286 (E : -2,8kcal/mol ; Dist. : 3,03Å) et l'autre entre le cycle tetrahydropyridazine et le résidu Ile291 (E : -0,4kcal/mol ; Dist. : 3,28Å). En plus de 2 interactions par empilement pi-hydrogène entre l'indazole et les résidus Asp288 (E : -0,2kcal/mol ; Dist. : 4,07Å) et Asn289 (E : -3,8kcal/mol ; Dist. : 4,19Å). Une exposition du site de fixation est assurée par les résidus Tyr150, Asn289, Asp288 et Ile291.

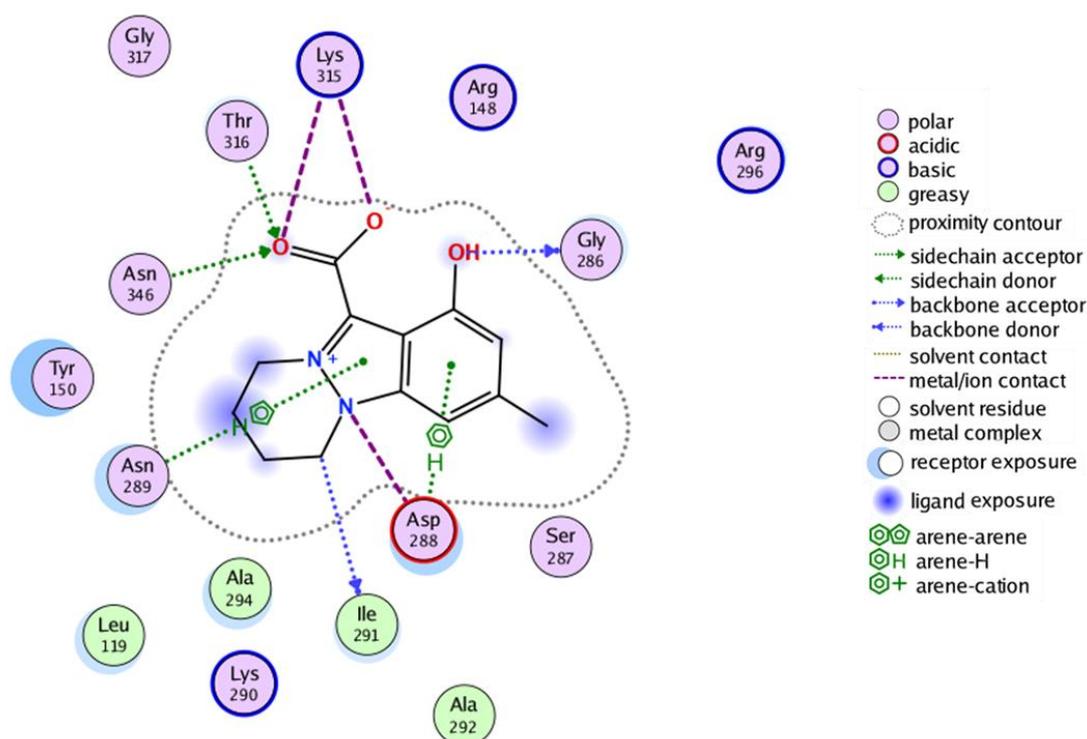


Figure 46 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (1KVL).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5ZA2) montre qu'il est composé des 33 acides aminés suivants : Glu61, **Ser64**, **Lys67**, Leu119, Gln120, Arg148, **Tyr150**, Asn152, Lys205, Ile210, Arg211, Ala212, Thr213, Tyr222, Glu271, Gly285, Asn286, Ser287, Pro288, Val290, Ser291, Phe292, Asn313, **Lys314**, Thr315, **Gly316**, **Ser317**, Thr318, Gly319, Gly320, Asn342, Ile345 et Arg348 dont la Nigellicine interagit à un score d'affinité de -13,3573 en formant avec son groupement carbonyle une seule liaison ionique avec le groupement ($-\text{NH}_3^+$) de la chaîne latérale du Lys314 (E : -7,0kcal/mol ; Dist. : 2,89Å), ainsi qu'une seule liaison hydrogène accepteur avec le meme résidus (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 2,89Å). Tandis que le groupement carboxylate se lie via 2 liaisons hydrogène accepteur avec les résidus Gly316 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 3,26Å) et Ser317 (E : -2,7kcal/mol ; Dist. : 3,07Å), le groupement hydroxyle forme une liaison hydrogène donneur avec la Ser317 (E : -2,2kcal/mol ; Dist. : 2,90Å). Le cycle tetrahydropyridazine interagit par empilement pi-hydrogène en C9 avec le phényle du résidus Tyr150 (E : -0,6kcal/mol ; Dist. : 4,20Å), alors que l'indazole interagit par empilement pi-hydrogène avec le résidus Ser317 (E : -0,3kcal/mol ; Dist. : 4,48Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Ser317, Leu119, Ile345, Tyr150 et Gln120.

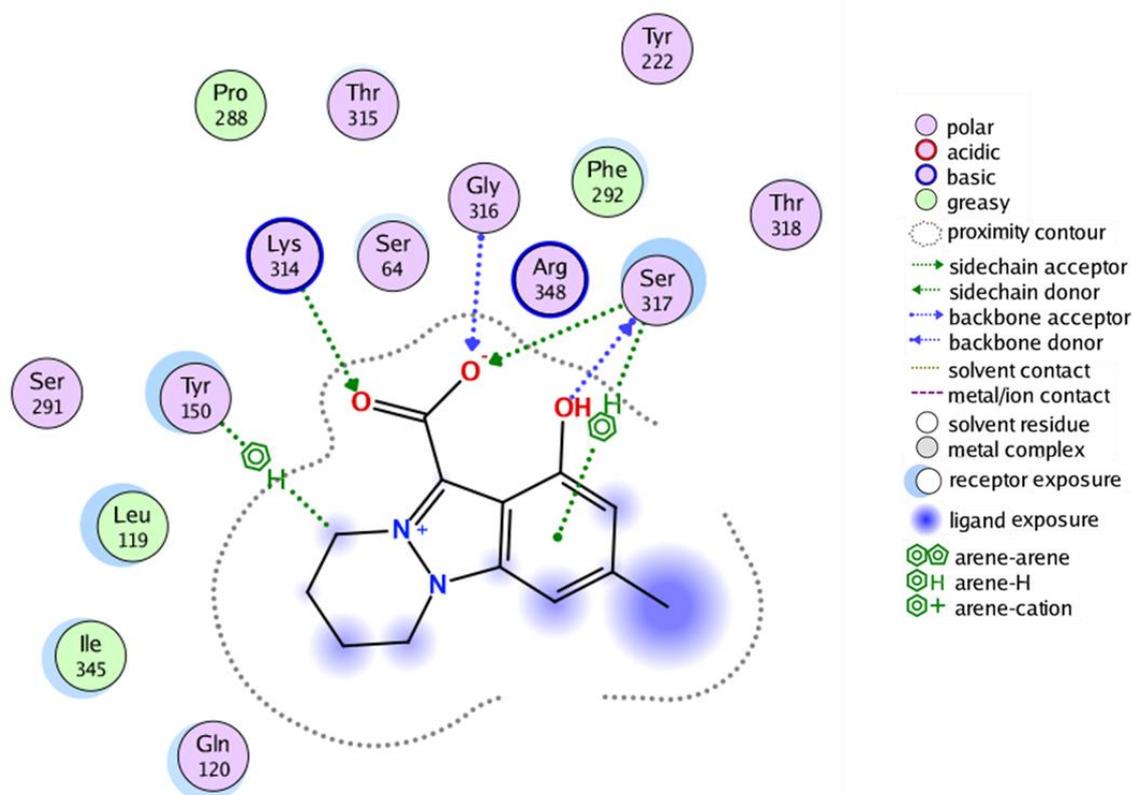


Figure 47 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5ZA2).

La prédiction du site de fixation du β -lactamase (5CGX) montre qu'il est composé des 19 acides aminés suivants : Gly63, **Ser64**, **Lys67**, Leu119, Gln120, Phe121, Phe150, Ser151, **Asn152**, Lys205, Ala212, Thr213, Ala221, Tyr222, **Phe292**, **Ser317**, Thr318, Gly319, et Asn342 auxquels s'interagit la Nigellicine à un score d'affinité de -10,6054 en formant avec son groupement acide carboxylique 2 liaisons ioniques avec le résidu Lys67 faisant partie du site catalytique de l'enzyme (E : -4,3kcal/mol ; Dist. : 3,29Å) et (E : -6,2kcal/mol ; Dist. : 3,00Å), ainsi que 2 liaisons hydrogène avec les résidus Lys67 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,29Å) et Asn152 (E : -1,4kcal/mol ; Dist. : 3,18Å). Le groupement hydroxyle de la Nigellicine interagit par un empilement pi-hydrogène avec le résidu Phe292 (E : -0,7kcal/mol ; Dist. : 3,98Å), alors que l'indazole interagit par empilement pi-hydrogène en C2 avec les résidus Phe292 (E : -0,6kcal/mol ; Dist. : 4,11Å) et Ser317 (E : -0,5kcal/mol ; Dist. : 4,23Å). Une exposition du site de fixation est faite par les résidus Ser317, Phe292, Lys205, Thr318, Leu119 et Asn152.

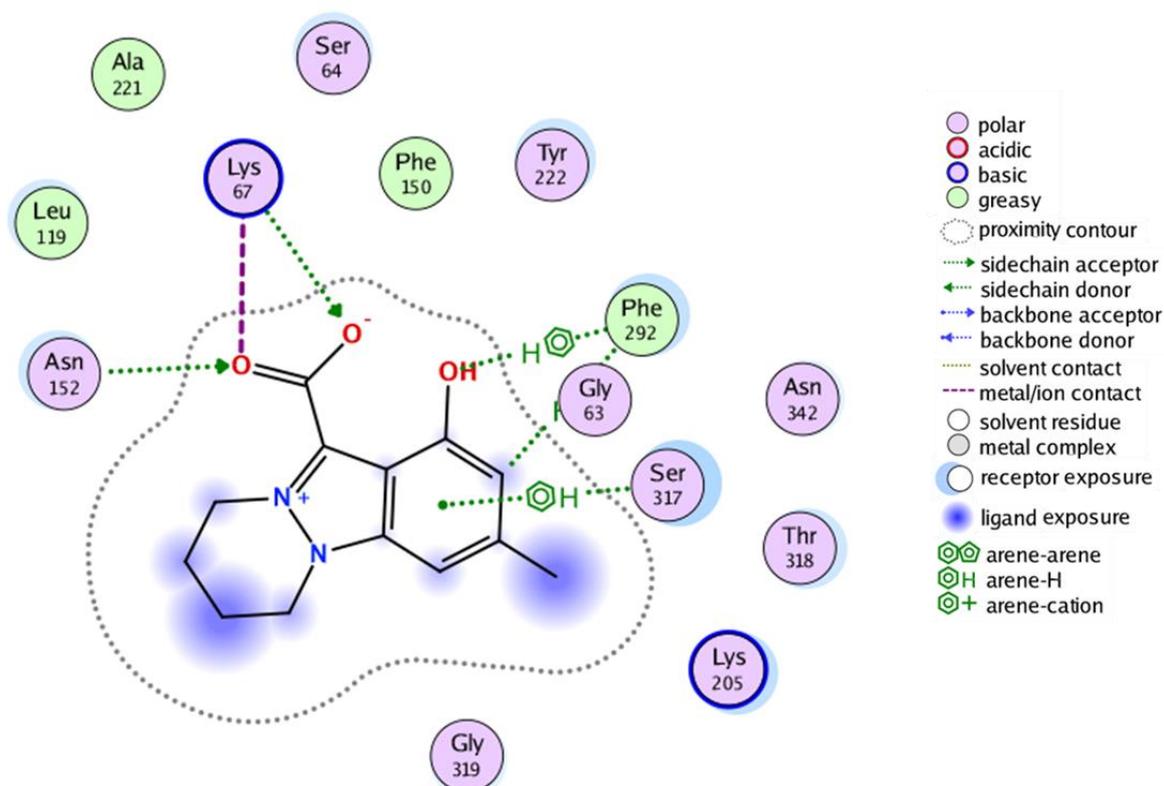


Figure 48 : Mode d'interaction de la Nigellicine au site actif de β -lactamase (5CGX).

Dans l'exemple du β -lactamase (8DE1), la visualisation 3D du site actif ainsi que le mode d'interaction de ses résidus avec la Nigellicine (Figure 49) montre que les résidus Ser70 et Lys73 sont positionnés au fond du sillon formé par l'enzyme, ces résidus n'interagissent pas directement avec la Nigellicine, alors que les résidus Tyr105, Lys234, Ser235, Gly236, Tyr237 et Arg243 interagissant avec la Nigellicine sont positionnés sur les parois latérales du sillon permettant ainsi de fixer la molécule de Nigellicine en place. Cet exemple est le cas de toutes les β -lactamases étudiées avec des différences dans le nombre et la nature des acides aminés impliqués dans cette interaction.

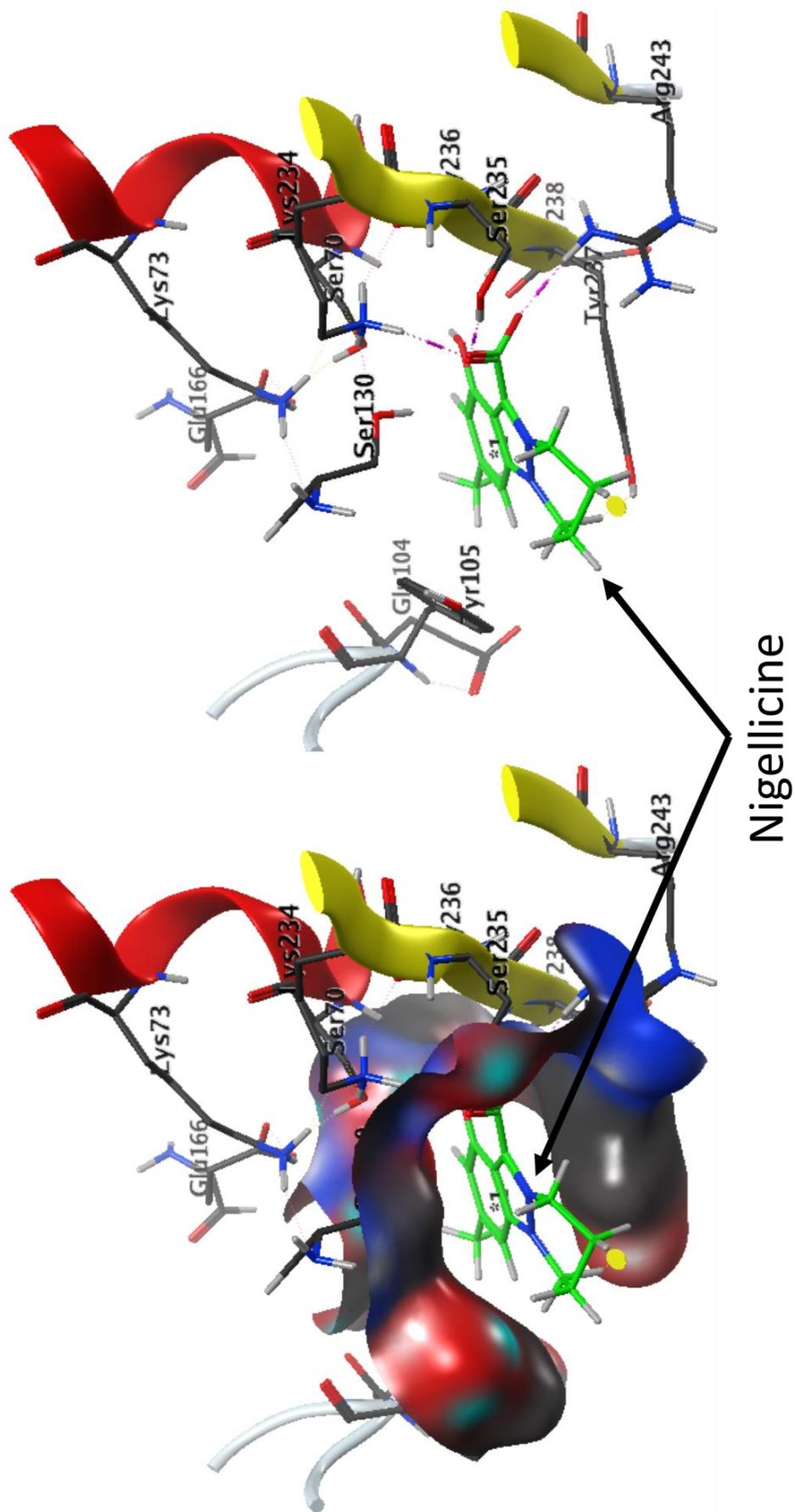


Figure 49 : Représentation en 3D des interactions entre les résidus du site actif du β -lactamase (8DE1) avec la Nigellicine

2. Discussion

Notre étude a montré que le motif en tétrade Ser-Xaa-Xaa-Lys, caractéristique du site actif des sérine- β -lactamases, est globalement conservé pour les 33 entrées PDB, sauf pour les entrées : 1KVL, 3Q1F, 5TWE, 6CYQ et 6CYU où le résidu Ser70 est substitué par le résidu Gly70 probablement à cause d'une mutation génétique. Ceci ne s'accorde pas avec les données de la littérature qui précisent que l'hydrolyse du noyau β -lactame nécessite l'activation du résidu Ser70 afin d'agir par attaque nucléophile via son groupement hydroxyle, ce qui n'est pas le cas du résidu Gly70, cela nous mène à penser que si ces enzymes sont actives, alors l'hydrolyse du noyau β -lactame se fera probablement en impliquant d'autres mécanismes enzymatiques.

L'analyse visuelle des différentes β -lactamases étudiées montre que leur site de fixation prend la forme d'un sillon au fond duquel sont localisés les résidus Ser70, Lys73, Ser130 et Glu166 qui sont les acides aminés directement impliqués dans le mécanisme réactionnel d'hydrolyse du noyau β -lactame.

Le docking entre les β -lactamases et les inhibiteurs connus a montré que le Relebactam présente environ 61% des meilleurs scores d'affinité par rapport aux autres inhibiteurs vis-à-vis les β -lactamases des classes et des familles d'enzyme, ceci renseigne sur l'étendue de son spectre d'activité et l'amplitude de son effet inhibiteur sur le groupe des sérine- β -lactamases étudiée auxquelles sera comparé les résultats qui seront obtenus avec les composés phytochimiques de *Nigella sativa*.

Le docking entre les β -lactamases et les composés phytochimiques de *Nigella sativa* a montré que les meilleurs scores d'affinité sont obtenus avec la Nigellicine chez environ 94% des β -lactamases étudiées, il semble qu'elle possède un effet inhibiteur potentiel semblable voire plus intéressant que celui du Relebactam vis-à-vis les sérine- β -lactamases. Cet effet est justifié par ses valeurs de score d'affinité qui se rapprochent à celles du Relebactam et le dépasse dans plus de la moitié des cas.

L'analyse des modes d'interaction entre la Nigellicine et les différentes β -lactamases étudiées a montré que la composition en acides aminés du site de fixation et du site catalytique peut différer d'une enzyme à l'autre, et que, si les inhibiteurs de β -lactamase exercent leurs effets systématiquement en formant une liaison covalente avec le résidu Ser70, la Nigellicine peut agir et exercer son effet inhibiteur en se liant indifféremment et d'une façon non spécifique, à un ou plusieurs résidus du site de fixation par des liaisons essentiellement

non covalentes selon des interactions de forte énergie (liaison ionique, liaison métallique) et/ou des interactions de faible énergie (liaison hydrogène, empilement pi).

En général, c'est la fonction acide carboxylique de la molécule de Nigellicine, via ses groupement carbonyle et carboxylate, qui interagit par des liaisons ioniques et des liaisons hydrogène accepteur avec un ou plusieurs acides aminé du site de fixation, alors que sa fonction hydroxyle n'interagit que par des liaisons hydrogène donneur, ces interactions sont renforcées par la contribution de l'indazole qui interagit très souvent par des liaisons faibles de type empilement pi-hydrogène.

La séquence Lys234-Thr235-Gly236-Ser237, ainsi que le résidu Arg276 participent fréquemment aux interactions avec la Nigellicine, parfois en établissant des liaisons de multiple nature, ceci est surtout observé si c'est la fonction acide carboxylique qui est mise en jeu. On constate que la Nigellicine n'a pas forcément besoin de se lier aux acides aminés du site catalytique afin d'occuper le site de fixation et exercer son effet inhibiteur potentiel.

Toutes ces interactions vont permettre à la molécule de Nigellicine de se loger à l'intérieur du sillon formé par le site de fixation et exercer un effet d'encombrement stérique empêchant l'accès des molécules de β -lactamines vers le site actif, et par conséquence inhiber leurs hydrolyse. Ce type de liaisons non covalentes nous semble être intéressant puisqu'ils protègent la molécule de Nigellicine contre toute éventuelle hydrolyse réversible par la β -lactamase, comme c'est le cas des molécules de β -lactamines.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail avait pour objectif de rechercher et identifier parmi les composés phytochimiques de *Nigella sativa* ceux qui peuvent présenter un effet inhibiteur vis-à-vis la β -lactamase afin de proposer un alternatif naturel non toxique qui permet de lutter contre le problème de l'antibiorésistance.

Notre étude prend en considération les travaux de Nizami *et al.* en 2018, qui ont montré qu'en plus de son efficacité antimicrobienne directe, l'huile essentielle de *Nigella sativa* semble avoir un effet significatif sur le taux de résistance de certaines souches productrices de β -lactamase si elle est associée à des β -lactamines, pour répondre à notre hypothèse qui stipule que cette huile renferme probablement des composés phytochimiques interagissant et exerçant un effet inhibiteur potentiel sur la β -lactamase, l'enzyme clé dans le mécanisme de résistance de ce type de souches.

Les résultats de l'étude *in silico* de l'interaction des différents composés phytochimiques du *Nigella sativa* vis-à-vis la β -lactamase ont suggérés, que la Nigellicine, alcaloïde contenu dans les graines de *Nigella sativa*, semble avoir un effet inhibiteur potentiel semblable voire plus intéressant que les inhibiteurs de référence vis-à-vis les sérine- β -lactamases étudiées. Par conséquent, la Nigellicine peut être considérée comme un composé prometteur qui pourra renforcer l'arsenal thérapeutique dans le cadre du traitement des infections causées par des bactéries résistantes aux β -lactamines. Par ailleurs, les résultats de notre étude ont été obtenus dans les limites du programme de docking, ne permettant pas le docking covalent.

Dans les perspectives de ce travail, et afin de compléter les résultats de notre étude, il semblerait utile de :

- s'étaler sur les autres classes et familles de β -lactamases afin d'avoir plus de précisions sur l'étendue du spectre d'activité de cette molécule ;
- réaliser un docking covalent qui permettra d'estimer l'effet inhibiteur potentiel type « suicide » de la Nigellicine ;
- procéder à l'isolement de la Nigellicine pour confirmer les résultats de l'étude *in silico* et tester expérimentalement son effet inhibiteur *in vitro* ;
- optimiser les scores d'affinités de la Nigellicine vis-à-vis la β -lactamase par modification structurale et étudier les propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des dérivés obtenus.

*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*

- Aboul Ezz, H. S., Khadrawy, Y. A., & Noor, N. A. (2011). The neuroprotective effect of curcumin and *Nigella sativa* oil against oxidative stress in the pilocarpine model of epilepsy : a comparison with valproate. *Neurochemical research*, 36, 2195-2204.
- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa* : A miracle herb. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(5), 337-352.
- Akhtar, M., Maikiyo, A. M., Khanam, R., Mujeeb, M., Aqil, M., & Najmi, A. K. (2012). Ameliorating effects of two extracts of *Nigella sativa* in middle cerebral artery occluded rat. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 4(1), 70.
- Al Mofleh, I. A., Alhaider, A. A., Mossa, J. S., Al-Sohaibani, M. O., Al-Yahya, M. A., Rafatullah, S., & Shaik, S. A. (2008). Gastroprotective effect of an aqueous suspension of black cumin *Nigella sativa* on necrotizing agents-induced gastric injury in experimental animals. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*, 14(3), 128.
- Alemi, M., Sabouni, F., Sanjarian, F., Haghbeen, K., & Ansari, S. (2013). Anti-inflammatory effect of seeds and callus of *Nigella sativa* L. extracts on mix glial cells with regard to their thymoquinone content. *Aaps Pharmscitech*, 14, 160-167.
- Aliaki, E., Etsè, K. D., Glato, K., Pitékélabou, R., Koba, K., & Aïdam, A. (2017). Régénération et floraison in vitro des plantules d'*Ocimum canum* (Sims), une importante plante médicinale. *Afrique science*, 13(4), 1-7.
- Aljabre, S. H. M., Randhawa, M. A., Akhtar, N., Alakloby, O. M., Alqurashi, A. M., & Aldossary, A. (2005). Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 116-119.
- Al-Othman, A. M., Ahmad, F., Al-Orf, S., Al-Murshed, K. S., & Arif, Z. (2006). Effect of dietary supplementation of *Ellataria cardamomum* and *Nigella sativa* on the toxicity of rancid corn oil in Rats. *Int J Pharmacol*, 2(1), 60-5.
- ANSM (2012). Dix ans d'évolution des consommations d'antibiotiques en France. *Agence Nationale de Sécurité du Médicament*, p6.
- Assimakopoulos, S. F., Karamouzos, V., Eleftheriotis, G., Lagadinou, M., Bartzavali, C., Kolonitsiou, F., ... & Marangos, M. (2023). Efficacy of Fosfomycin-Containing Regimens for Treatment of Bacteremia Due to Pan-Drug Resistant *Acinetobacter baumannii* in Critically Ill Patients: A Case Series Study. *Pathogens*, 12(2), 286
- Bakathir, H. A., & Abbas, N. A. (2011). Detection of the antibacterial effect of *Nigella sativa* ground seeds with water. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(2).
- Bamosa, A. O., Kaatabi, H., Lebdaa, F. M., Elq, A. M., & Al-Sultanb, A. (2010). Effect of *Nigella sativa* seeds on the glycemic control of patients with type 2 diabetes mellitus. *Indian J Physiol Pharmacol*, 54(4), 344-54.

- Behegaoui, L., Zerzi, F., & Mosbah, C. (2019). Contribution à l'étude des substances bioactives et de l'activité antioxydante des deux extraits des graines de *Nigella sativa* (Mémoire de Master). Université Oum El Bouaghi.
- Benazzouz-Smail, L., Achat, S., Brahmi, F., Bachir-Bey, M., Arab, R., Lorenzo, J. M., & Madani, K. (2023). Biological Properties, Phenolic Profile, and Botanical Aspect of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. Seeds: A Comparative Study. *Molecules*, 28(2), 571.
- Benhaddou Andaloussi, A. (2010). Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa* : sites d'action cellulaires et moléculaires. p72-73
- Biskri, L., & Mazel, D. (2003). Erythromycin esterase gene ere (A) is located in a functional gene cassette in an unusual class 2 integron. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(10), 3326-3331.
- Bonomo, R. A., & Rice, L. B. (1999). Inhibitor resistant class A beta-lactamases. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 4(5), 34-41.
- Boskabady, M. H., Javan, H., Sajady, M., & Rakhshandeh, H. (2007). The possible prophylactic effect of *Nigella sativa* seed extract in asthmatic patients. *Fundamental & clinical pharmacology*, 21(5), 559-566.
- Bouchet, F. (2022). Développement de nouvelles méthodologies pour accéder à des inhibiteurs de β -lactamase de seconde génération de type diazabicyclooctanes. (Doctoral dissertation). Université Paris Cité.
- Bouhabila, S., Belli, A., Boubridàa, F., & Benhamada, W. E. (2011). Rôle des bactériophages dans la guérison des infections d'origine bactérienne (Doctoral dissertation). Université de jijel.
- Bush, K. (2018). Past and present perspectives on β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(10), e01076-18.
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(3), 969-976.
- Butaye, Patrick, Cloeckaert, Axel, Et Schwarz, Stefan (2003). Mobile genes coding for efflux-mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *International journal of antimicrobial agents*, vol. 22, no 3, p. 205-210.
- Camara, D. (2012). Etude de la voie de biosynthèse du folate: caractérisation biochimique et recherche d'inhibiteurs de la formation de l'acide para-aminobenzoïque. (Doctoral dissertation). Université de Grenoble.
- Campbell, G. L. (2017). l'OMS veut de nouveaux antibiotiques. *Pharmacovigilance*, 14(5), 62.
- Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42(2), 6-21.

- Chaieb, K., Kouidhi, B., Jrah, H., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2011). Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC complementary and alternative medicine*, 11, 1-6.
- ChapElAin, L. (2023). L'antibiorésistance, une menace de premier plan. *Actualités Pharmaceutiques*, 62(627), 23-26.
- Chen, Y. C. (2015). Beware of docking! *Trends in pharmacological sciences*, 36(2), 78-95.
- Chen, Y., Bonnet, R., & Shoichet, B. K. (2007). The acylation mechanism of CTX-M β -lactamase at 0.88 Å resolution. *Journal of the American Chemical Society*, 129(17), 5378-5380.
- Chevrollier, N. (2019). Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. (*Doctoral dissertation*). Université Paris-Saclay (ComUE).
- Curello, J., & MacDougall, C. (2014). Beyond susceptible and resistant, part II: treatment of infections due to Gram-negative organisms producing extended-spectrum β -lactamases. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*, 19(3), 156-164.
- Darby, Elizabeth M., Trampari, Eleftheria, Siasat, Pauline (2022). Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology*, , p. 1-16.
- Dauvergne, E. (2018). Détection de gènes de résistance aux antibiotiques dans les bactéries isolées des produits de la mer. *Microbiologie et Parasitologie*.
- Davin-Regli, A., Masi, M., & Pagès, J. M. (2020). Le rôle des porines dans la résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(519), 28-37.
- Duncker, S. C., Philippe, D., Martin-Paschoud, C., Moser, M., Mercenier, A., & Nutten, S. (2012). *Nigella sativa* (black cumin) seed extract alleviates symptoms of allergic diarrhea in mice, involving opioid receptors. *PLoS One*, 7(6), e39841.
- Eddouks, M., Ouahidi, M. L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., & Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5(4), 194-203.
- El Mezayen, R., El Gazzar, M., Nicolls, M. R., Marecki, J. C., Dreskin, S. C., & Nomiyama, H. (2006). Effect of thymoquinone on cyclooxygenase expression and prostaglandin production in a mouse model of allergic airway inflammation. *Immunology letters*, 106(1), 72-81.
- Elander, R. P. (2003). Industrial production of β -lactam antibiotics. *Applied microbiology and biotechnology*, 61(5-6), 385-392.
- Elhani, D. (2012, March). The widening challenge of extended spectrum β -lactamases. *In Annales de biologie clinique* (Vol. 70, No. 2, pp. 117-140).

- Etebu, E., & Ariekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*, 4(2016), 90-101.
- Etminani, F., Etminani, A., Hasson, S. O., Judi, H. K., Akter, S., & Saki, M. (2023). *In silico* study of inhibition effects of phytochemicals from four medicinal plants against the *Staphylococcus aureus* β -lactamase. *Informatics in Medicine Unlocked*, 37, 101186.
- Fabiane, S. M., Sohi, M. K., Wan, T., Payne, D. J., Bateson, J. H., Mitchell, T., & Sutton, B. J. (1998). Crystal structure of the zinc-dependent β -lactamase from *Bacillus cereus* at 1.9 Å resolution: binuclear active site with features of a mononuclear enzyme. *Biochemistry*, 37(36), 12404-12411.
- Floss, H. G., & Yu, T. W. (2005). Rifamycin mode of action, resistance, and biosynthesis. *Chemical reviews*, 105(2), 621-632.
- Gadou V. (2019). Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le District d'Abidjan, Côte d'Ivoire. (*Doctoral dissertation*). Université Félix Houphouët Boigny.
- Guengerich, F. P. (2001). Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. *Chemical research in toxicology*, 14(6), 611-650.
- Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action (*Doctoral dissertation*). Université de Corse.
- Harpet, C. (2022). L'antibiorésistance: Un fait social total. *L'antibiorésistance*, 168-1.
- Haseena, S., Aithal, M., Das, K. K., & Saheb, S. H. (2015). Phytochemical analysis of *Nigella sativa* and its effect on reproductive system. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(8), 514.
- Heep, M., Rieger, U., Beck, D., & Lehn, N. (2000). Mutations in the beginning of the *rpoB* gene can induce resistance to rifamycins in both *Helicobacter pylori* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(4), 1075-1077.
- Jacoby, G. A. (2009). AmpC β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 22(1), 161-182.
- Judge, A., Hu, L., Sankaran, B., Van Riper, J., Venkataram Prasad, B. V., & Palzkill, T. (2023). Mapping the determinants of catalysis and substrate specificity of the antibiotic resistance enzyme CTX-M β -lactamase. *Communications Biology*, 6(1), 1-11.
- Kallaba, M. B. (2017). Etude des sites métalliques et modélisation de la réactivité des métallo- β -lactamases par des calculs de chimie quantique (*Doctoral dissertation*). Université Montpellier.

- Kanter, M., Akpolat, M., & Aktas, C. (2009). Protective effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on β -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats: a light and electron microscopic study. *Journal of molecular histology*, 40, 379-385.
- Kapoor, S. (2009). Emerging clinical and therapeutic applications of *Nigella sativa* in gastroenterology. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 15(17), 2170.
- Karrandou. A (2016). La Nigelle, une panacée peu connue en Occident. (*Doctoral dissertation*). Université de Bourgogne.
- Kayser, Fritz H., Böttger, Erik Christian, Zinkernagel, R. M., (2008). Manuel de poche de microbiologie médicale. *Flammarion Médecine-Sciences*, , p 233-243
- Khan, N., & Sultana, S. (2005). Inhibition of two stage renal carcinogenesis, oxidative damage and hyperproliferative response by *Nigella sativa*. *European Journal of Cancer Prevention*, 159-168.
- Lamotte-Brasseur, Josette, et al (1994). "The structures and catalytic mechanisms of active-site serine β -lactamases." *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 12.1 189-230.
- Laouar, I. (2015). Etude des interactions Enzyme-Ligand. Cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (*Mémoire de Master*). Université d'El-Oued.
- Lei, X., Liu, M., Yang, Z., Ji, M., Guo, X., & Dong, W. (2012). Thymoquinone prevents and ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Digestive diseases and sciences*, 57, 2296-2303.
- Lemaoui, C. E., Layaida, H., Badi, A., & Foudi, N. (2017). Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux*, 19(1), 12-19.
- Macé, K. (2016). Le contrôle qualité de la synthèse protéique comme cible pour le développement de nouveaux antibiotiques (*Doctoral dissertation*). Université Rennes 1.
- Mangin, L. (2016). Antibiotiques et résistances: enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. (*Doctoral dissertation*). Université De Lorraine.
- Matagne, A., Lamotte-Brasseur, J., & Frère, J. M. (1998). Catalytic properties of class A β -lactamases: efficiency and diversity. *Biochemical Journal*, 330(2), 581-598.
- Maveyraud, L., Golemi, D., Kotra, L. P., Tranier, S., Vakulenko, S., Mobashery, S., & Samama, J. P. (2000). Insights into class D β -lactamases are revealed by the crystal structure of the OXA10 enzyme from *Pseudomonas aeruginosa*. *Structure*, 8(12), 1289-1298.
- McDermott .W et Rogers D.E, (1982) « Social ramifications of control of microbial disease », *The Johns Hopkins Medical Journal*, vol. 151, , p. 302-312
- Morris, G. M., & Lim-Wilby, M. (2008). Molecular docking. *Molecular modeling of proteins*, 365-382.

- Morsi, N. M. (2000). Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiologica Polonica*, 49(1), 63-74.
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Virulence mechanisms of bacterial pathogens*, 481-511.
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., Tasak, N. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655.
- Najmi, A., Nasiruddin, M., Khan, R. A., & Haque, S. F. (2008). Effect of *Nigella sativa* oil on various clinical and biochemical parameters of insulin resistance syndrome. *International journal of diabetes in developing countries*, 28(1), 11.
- Narendrakumar, L., Chakraborty, M., Kumari, S., Paul, D., & Das, B. (2023). β -Lactam potentiators to re-sensitize resistant pathogens: Discovery, development, clinical use and the way forward. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1092556.
- Nemmar, A., Al-Salam, S., Zia, S., Marzouqi, F., Al-Dhaheri, A., Subramaniyan, D., ... & Kazzam, E. E. (2011). Contrasting actions of diesel exhaust particles on the pulmonary and cardiovascular systems and the effects of thymoquinone. *British journal of pharmacology*, 164(7), 1871-1882.
- Nicholas, R. A., Krings, S., Tomberg, J., Nicola, G., & Davies, C. (2003). Crystal structure of wild-type penicillin-binding protein 5 from *Escherichia coli* : implications for deacylation of the acyl-enzyme complex. *Journal of Biological Chemistry*, 278(52), 52826-52833.
- Nizami Duran, E. A., Bayraktar, S., Çolak, S., & Kaya, D. A. (2018). Effects of *Nigella sativa* Essential Oils on Multi-Drug Resistant *Escherichia coli* Isolates. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 32.
- O'Neill, J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally : *final report and recommendations*. <https://apo.org.au/node/63983>.
- Ouedraogo, Windbedema Prisca. (2020) Détection de la résistance à la vancomycine par mise en évidence d'une activité D-Ala-D-Ala dipeptidase. (*Doctoral dissertation*). *Université de Normandie*.
- Pandey, N., & Cascella, M. (2022). Beta-lactam antibiotics. In StatPearls. *StatPearls Publishing*.
- Papp-Wallace, K. M., Bethel, C. R., Distler, A. M., Kasuboski, C., Taracila, M., & Bonomo, R. A. (2010). Inhibitor resistance in the KPC-2 β -lactamase, a preeminent property of this class A β -lactamase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(2), 890-897.
- Papp-Wallace, K. M., Barnes, M. D., Taracila, M. A., Bethel, C. R., Rutter, J. D., Zeiser, E. T., ... & Bonomo, R. A. (2023). The Effectiveness of Imipenem–Relebactam against Ceftazidime-Avibactam Resistant Variants of the KPC-2 β -Lactamase. *Antibiotics*, 12(5), 892.

- Peng, L., Liu, A., Shen, Y., Xu, H. Z., Yang, S. Z., Ying, X. Z., ... & Shen, W. D. (2013). Antitumor and anti-angiogenesis effects of thymoquinone on osteosarcoma through the NF- κ B pathway. *Oncology reports*, 29(2), 571-578.
- Perry, Julie Ann, Westman, Erin Louise, Et Wright, Gerard D. (2014). The antibiotic resistome: what's new?. *Current opinion in microbiology*, , vol. 21, p. 45-50.
- Perveen, T., Abdullah, A., Haider, S., Sonia, B., Munawar, A. S., & Haleem, D. J. (2008). Long-term administration of *Nigella sativa* effects nociception and improves learning and memory in rats. *Pak J Biochem Mol Biol*, 41(3), 141-143.
- Poole, K. (2004). Resistance to β -lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61, 2200-2223.
- PubChem (2023). PubChem. Consulté le 12 mai 2023, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- RCSB PDB (2023): Homepage. Consulté le 12 mai 2023, à l'adresse <https://www.rcsb.org/>
- Robin, F., Gibold, L., & Bonnet, R. (2012). Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries: comment les identifier en pratique quotidienne ? *Revue Francophone des laboratoires*, 2012(445), 47-58.
- Russell, A. D. (1998). Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics and biocides. *Progress in medicinal chemistry*, 35, 133-198.
- Said M, A. N., Mohamed DM, E. S., & Mostafa MH, O. (2000). Amelioration by *Nigella sativa* of Methotrexate-induced toxicity in male albino rats: a biochemical, hematological and histological study.
- Salahuddin, P., Kumar, A., & Khan, A. U. (2018). Structure, function of serine and metallo- β -lactamases and their inhibitors. *Current Protein and Peptide Science*, 19(2), 130-144.
- Salem, E. M., Yar, T., Bamosa, A. O., Al-Quorain, A., Yasawy, M. I., Alsulaiman, R. M., & Randhawa, M. A. (2010). Comparative study of *Nigella sativa* and triple therapy in eradication of *Helicobacter Pylori* in patients with non-ulcer dyspepsia. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*, 16(3), 207.
- Salem, M. L., Alenzi, F. Q., & Attia, W. Y. (2011). Thymoquinone, the active ingredient of *Nigella sativa* seeds, enhances survival and activity of antigen-specific CD8-positive T cells in vitro. *British journal of biomedical science*, 68(3), 131-137.
- Schlienger, J. L. (2014). Diabète et phytothérapie: les faits. *Médecine des maladies Métaboliques*, 8(1), 101-106.
- Shields, R. K., Potoski, B. A., Haidar, G., Hao, B., Doi, Y., Chen, L., ... & Nguyen, M. H. (2016). Clinical outcomes, drug toxicity, and emergence of ceftazidime-avibactam resistance among patients treated for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Clinical Infectious Diseases*, 63(12), 1615-1618.

- Shuid, A. N., Mohamed, N., Mohamed, I. N., Othman, F., Suhaimi, F., Mohd Ramli, E. S., ... & Soelaiman, I. N. (2012). *Nigella sativa* : A potential antiosteoporotic agent. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- SOMIPEV (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes. <https://pharmacie.ma/uploads/pdfs/Leguide-pratique-des-bacteries-pathogenes.pdf>
- Tamma, P. D., & Villegas, M. V. (2017). Use of β -lactam/ β -lactamase inhibitors for extended-spectrum- β -lactamase infections: defining the right patient population. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(8), e01094-17.
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of molecular biology*, 431(18), 3472-3500.
- Torres, M. P., Ponnusamy, M. P., Chakraborty, S., Smith, L. M., Das, S., Arafat, H. A., & Batra, S. K. (2010). Effects of thymoquinone in the expression of mucin 4 in pancreatic cancer cells: implications for the development of novel cancer therapies. *Molecular cancer therapeutics*, 9(5), 1419-1431.
- Umar, S., Zargan, J., Umar, K., Ahmad, S., Katiyar, C. K., & Khan, H. A. (2012). Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. *Chemico-biological interactions*, 197(1), 40-46.
- Wienkötter, N., Höpner, D., Schütte, U., Bauer, K., Begrow, F., El-Dakhakhny, M., & Verspohl, E. J. (2008). The effect of nigellone and thymoquinone on inhibiting trachea contraction and mucociliary clearance. *Planta medica*, 74(02), 105-108.
- Wikipedia contributors. (2022). Molecular Operating Environment. In Wikipedia, *The Free Encyclopedia*. Retrieved 01:11, April 7, 2023, from https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Molecular_Operating_Environment&oldid=1128189448
- Woo, C. C., Loo, S. Y., Gee, V., Yap, C. W., Sethi, G., Kumar, A. P., & Tan, K. H. B. (2011). Anticancer activity of thymoquinone in breast cancer cells: possible involvement of PPAR- γ pathway. *Biochemical pharmacology*, 82(5), 464-475.
- Wright, G. D. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Advanced drug delivery reviews*, 57(10), 1451-1470.
- Zerdaoui, S., & Bounasla, S. (2020). Docking Moléculaire De Deux Flavones Naturels contre L'acétylcholinestérase Et Le Butylcholinestérase (*Doctoral Dissertation*). *Université Mohamed Boudiaf-M'sila*.

ANNEXES

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (3ISG)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:45:07 2023 (MOE 2015.10)

3ISG: HYDROLASE / 3ISG

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
C 7	SD MET 99 (A)	H-donor	3.52	-0.6
C 7	O LEU 255 (A)	H-donor	3.77	-0.2
O 3	OG SER 258 (A)	H-acceptor	3.28	-0.2
O 4	OG SER 115 (A)	H-acceptor	2.73	-2.0
O 4	OG1 THR 213 (A)	H-acceptor	2.75	-3.3
O 4	NZ LYS 212 (A)	ionic	3.87	-1.8
6-ring	CH2 TRP 102 (A)	pi-H	4.40	-0.3
5-ring	CB ALA 215 (A)	pi-H	4.24	-0.4
6-ring	CB ALA 215 (A)	pi-H	4.55	-0.4

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (4MLL)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:55:36 2023 (MOE 2015.10)

4MLL: HYDROLASE/ANTIBIOTIC / 4MLL

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	CB ASP 66 (A)	H-acceptor	3.42	-0.4
O 3	N ALA 215 (A)	H-acceptor	3.48	-1.5
C 9	6-ring TRP 102 (A)	H-pi	4.83	-0.3
5-ring	CH2 TRP 102 (A)	pi-H	4.29	-0.2
6-ring	CB ALA 215 (A)	pi-H	4.63	-0.5

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6ZRG)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 12:02:52 2023 (MOE 2015.10)

6ZRG: HYDROLASE / 6ZRG

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
C 7	SD MET 99 (A)	H-donor	3.96	-0.7
O 3	OG SER 115 (A)	H-acceptor	2.99	-0.3
O 3	NZ LYS 205 (A)	H-acceptor	3.07	-4.9
O 3	OG1 THR 206 (A)	H-acceptor	2.89	-2.7
O 4	NH1 ARG 247 (A)	H-acceptor	3.12	-1.0
O 3	NZ LYS 205 (A)	ionic	3.07	-5.7
O 4	NH1 ARG 247 (A)	ionic	3.12	-5.3
5-ring	OG SER 115 (A)	pi-H	4.47	-0.9
5-ring	CB TYR 208 (A)	pi-H	4.49	-0.2
6-ring	CD2 TYR 208 (A)	pi-H	4.83	-0.3
5-ring	CD2 TYR 208 (A)	pi-H	4.18	-1.1

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6ZRH)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 13:28:15 2023 (MOE 2015.10)

6ZRH: HYDROLASE / 6ZRH

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	NH2 ARG 247 (A)	H-acceptor	3.03	-2.3
O 4	NH1 ARG 247 (A)	H-acceptor	2.92	-4.9
O 4	NH2 ARG 247 (A)	H-acceptor	3.27	-0.5
O 3	NH1 ARG 247 (A)	ionic	4.01	-1.3
O 3	NH2 ARG 247 (A)	ionic	3.03	-5.9
O 4	NH1 ARG 247 (A)	ionic	2.92	-6.8
O 4	NH2 ARG 247 (A)	ionic	3.27	-4.4

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (1BT5)**

Ligand Interactions Report

Sun May 28 20:40:52 2023 (MOE 2015.10)

1BT5: HYDROLASE / 1BT5

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OG SER 130 (A)	H-donor	3.23	-0.7
C 8	OE1 GLU 104 (A)	H-donor	3.48	-0.3
C 10	OE2 GLU 104 (A)	H-donor	3.30	-0.5
O 3	NZ LYS 73 (A)	ionic	3.62	-2.7
N 6	OE1 GLU 104 (A)	ionic	4.55	-0.3
N 6	OE2 GLU 104 (A)	ionic	4.50	-0.4

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (8DE0)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 13:36:13 2023 (MOE 2015.10)

8DE0: HYDROLASE/INHIBITOR / 8DE0

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OG SER 70 (A)	H-donor	2.78	-2.4
O 3	CB SER 235 (A)	H-acceptor	3.20	-0.3
O 3	OG SER 235 (A)	H-acceptor	3.05	-0.3
O 3	NH1 ARG 243 (A)	H-acceptor	2.91	-3.2
O 3	NH2 ARG 243 (A)	H-acceptor	2.94	-6.3
O 4	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	3.47	-2.4
O 4	OG SER 235 (A)	H-acceptor	2.84	-3.5
O 3	NH1 ARG 243 (A)	ionic	2.91	-6.8
O 3	NH2 ARG 243 (A)	ionic	2.94	-6.6
O 4	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.47	-3.3
5-ring	CB VAL 216 (A)	pi-H	4.51	-0.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (8DE1)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 13:38:44 2023 (MOE 2015.10)

8DE1: HYDROLASE/INHIBITOR / 8DE1

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	O TYR 237 (A)	H-donor	3.02	-0.4
O 3	NH1 ARG 243 (A)	H-acceptor	2.99	-6.4
O 4	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.89	-0.3
O 4	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	2.94	-6.6
O 4	OG SER 235 (A)	H-acceptor	2.87	-3.0
O 3	NH1 ARG 243 (A)	ionic	2.99	-6.2
O 3	NH2 ARG 243 (A)	ionic	3.80	-2.0
O 4	NZ LYS 234 (A)	ionic	2.94	-6.6
C 7	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	3.87	-0.2
5-ring	OG SER 130 (A)	pi-H	4.07	-0.2
5-ring	6-ring TYR 237 (A)	pi-pi	3.79	-0.0
6-ring	6-ring TYR 237 (A)	pi-pi	3.77	-0.0

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (1IYO)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:26:22 2023 (MOE 2015.10)

1IYO: HYDROLASE / 1IYO

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	CB SER 70 (A)	H-acceptor	3.33	-0.3
O 3	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.72	-3.1
O 3	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	3.05	-1.2
O 3	CA GLY 236 (A)	H-acceptor	3.69	-0.2
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.95	-0.9
O 4	OG SER 237 (A)	H-acceptor	2.83	-1.7
O 4	NH1 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.89	-8.3
O 3	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.05	-5.8
O 4	NH1 ARG 276 (A)	ionic	2.89	-7.0
O 4	NH2 ARG 276 (A)	ionic	3.90	-1.7

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5KMW)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:02:44 2023 (MOE 2015.10)

5KMW: HYDROLASE / 5KMW

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	ND2 ASN 103 (A)	H-acceptor	3.06	-1.3
O 3	ND2 ASN 131 (A)	H-acceptor	2.81	-1.3
O 4	ND2 ASN 103 (A)	H-acceptor	3.57	-0.3
O 4	ND2 ASN 131 (A)	H-acceptor	3.39	-1.8
5-ring	CB SER 236 (A)	pi-H	4.36	-0.7

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (2ZQA)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:41:54 2023 (MOE 2015.10)

2ZQA: HYDROLASE / 2ZQA

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	O SER 237 (A)	H-donor	2.87	-0.3
O 3	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.92	-2.2
O 3	OG SER 237 (A)	H-acceptor	2.84	-3.6
O 4	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.70	-1.6
O 4	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	3.17	-7.3
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.80	-0.5
O 4	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.17	-5.0
C 7	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	4.33	-0.6

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5G18)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 10:59:43 2023 (MOE 2015.10)

5G18: HYDROLASE / 5G18

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 4	ND2 ASN 104 (A)	H-acceptor	3.55	-0.3
O 4	ND2 ASN 132 (A)	H-acceptor	3.08	-4.8

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5A92)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 01:02:16 2023 (MOE 2015.10)

5A92: HYDROLASE / 5A92

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.74	-2.9
O 3	N SER 237 (A)	H-acceptor	3.04	-3.7
O 3	OG SER 237 (A)	H-acceptor	2.68	-3.8
O 4	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.77	-1.6
O 4	CG2 THR 216 (A)	H-acceptor	3.38	0.8
O 4	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	2.95	-13.3
O 4	NZ LYS 234 (A)	ionic	2.95	-6.5

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6J2K)**

Ligand Interactions Report

Thu Jun 01 01:50:30 2023 (MOE 2015.10)

6J2K: HYDROLASE/INHIBITOR / 6J2K

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OG SER 70 (A)	H-donor	3.13	-1.0
C 8	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	3.96	-0.5
6-ring	ND2 ASN 132 (A)	pi-H	4.39	-0.8

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6J2B)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:43:13 2023 (MOE 2015.10)

6J2B: HYDROLASE/INHIBITOR / 6J2B

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	CA GLY 238 (A)	H-acceptor	3.36	-0.2
O 3	NZ LYS 270 (A)	H-acceptor	2.89	-0.4
O 3	NZ LYS 270 (A)	ionic	2.89	-7.0
O 4	NZ LYS 270 (A)	ionic	2.92	-6.7

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (4HBU)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:52:36 2023 (MOE 2015.10)

4HBU: HYDROLASE/HYDROLASE INHIBITOR / 4HBU

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OG SER 70 (A)	H-donor	2.86	-1.2
O 4	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	3.22	-1.7
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.98	-1.7
O 3	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.86	-1.8
O 4	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.22	-4.7
5-ring	CB SER 237 (A)	pi-H	3.73	-0.2
6-ring	CB SER 237 (A)	pi-H	3.90	-0.2

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (7U48)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 13:32:40 2023 (MOE 2015.10)

7U48: STRUCTURAL PROTEIN / 7U48

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OG SER 70 (A)	H-donor	2.81	4.5
O 3	CG2 THR 216 (A)	H-acceptor	3.41	0.2
O 4	CA GLY 236 (A)	H-acceptor	3.27	-0.7
5-ring	6-ring TYR 105 (A)	pi-pi	3.85	-0.0

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6V7H)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:50:31 2023 (MOE 2015.10)

6V7H: HYDROLASE / 6V7H

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.72	-2.1
O 3	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	3.57	-0.9
O 3	CA GLY 236 (A)	H-acceptor	3.57	-0.4
O 4	CB THR 216 (A)	H-acceptor	3.49	-0.3
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.86	-3.2
O 4	NH1 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.92	-8.7
O 4	NH2 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.85	-4.2
O 3	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.57	-2.9
O 4	NH1 ARG 276 (A)	ionic	2.92	-6.8
O 4	NH2 ARG 276 (A)	ionic	2.85	-7.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5VLE)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:29:27 2023 (MOE 2015.10)

5VLE: HYDROLASE / 5VLE

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OD1 ASN 170 (A)	H-donor	3.16	-0.8
O 3	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.99	-0.4
O 3	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	2.81	-7.9
O 3	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	3.14	-0.9
O 3	CA GLY 236 (A)	H-acceptor	3.50	-0.3
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.91	-1.0
O 4	OG SER 237 (A)	H-acceptor	3.32	-0.5
O 4	NH2 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.82	-9.3
O 3	NZ LYS 234 (A)	ionic	2.81	-7.7
O 4	NE ARG 276 (A)	ionic	4.02	-1.3
O 4	NH2 ARG 276 (A)	ionic	2.82	-7.5
6-ring	OG SER 130 (A)	pi-H	4.65	-0.4
5-ring	OG SER 130 (A)	pi-H	4.42	-0.4

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5U53)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:10:30 2023 (MOE 2015.10)

5U53: HYDROLASE/ANTIBIOTIC / 5U53

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	ND2 ASN 104 (A)	H-acceptor	2.96	-5.4
6-ring	CA GLY 238 (A)	π -H	3.73	-0.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5TW6)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:05:32 2023 (MOE 2015.10)

5TW6: HYDROLASE/ANTIBIOTIC / 5TW6

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	OG SER 130 (A)	H-acceptor	3.02	-0.4
O 3	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.85	-0.6
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.92	-1.0
O 4	OG SER 237 (A)	H-acceptor	2.90	-2.2
O 4	NH1 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.98	-3.9
O 4	NH2 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.90	-6.0
O 4	NH1 ARG 276 (A)	ionic	2.98	-6.3
O 4	NH2 ARG 276 (A)	ionic	2.90	-6.9

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (7K2Y)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 13:30:26 2023 (MOE 2015.10)

7K2Y: HYDROLASE / 7K2Y

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OG SER 70 (A)	H-donor	3.31	-0.2
O 3	CB THR 235 (A)	H-acceptor	3.19	-0.5
O 3	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	3.14	-0.2
O 3	N SER 237 (A)	H-acceptor	3.20	-3.9
O 3	OG SER 237 (A)	H-acceptor	2.77	-1.9
O 4	CB THR 216 (A)	H-acceptor	3.57	-0.4

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6V83)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 12:00:00 2023 (MOE 2015.10)

6V83: HYDROLASE / 6V83

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OG SER 70 (A)	H-donor	2.80	3.6
O 3	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.72	-3.7
O 3	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.77	-3.5
O 4	CB THR 216 (A)	H-acceptor	3.36	-0.3
O 4	NH2 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.83	-3.7
O 3	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.86	-1.8
O 4	NE ARG 276 (A)	ionic	3.94	-1.6
O 4	NH2 ARG 276 (A)	ionic	2.83	-7.5
C 7	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	4.09	-0.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6V7T)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:57:26 2023 (MOE 2015.10)

6V7T: HYDROLASE / 6V7T

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.79	-2.0
O 3	CB SER 237 (A)	H-acceptor	3.54	-0.3
O 3	NH1 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.84	-8.8
O 4	CB SER 70 (A)	H-acceptor	3.44	-0.2
O 4	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.74	-3.4
O 4	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	2.90	-2.1
O 3	NH1 ARG 276 (A)	ionic	2.84	-7.4
O 3	NH2 ARG 276 (A)	ionic	3.93	-1.6
O 4	NZ LYS 234 (A)	ionic	2.90	-7.0
C 7	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	3.85	-0.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6CYU)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:39:51 2023 (MOE 2015.10)

6CYU: HYDROLASE/ANTIBIOTIC / 6CYU

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.77	-1.8
O 3	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	2.85	-4.6
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.74	-3.5
O 4	OG SER 237 (A)	H-acceptor	2.81	-2.9
O 3	NZ LYS 234 (A)	ionic	2.85	-7.4

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (6CYQ)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:37:07 2023 (MOE 2015.10)

6CYQ: HYDROLASE/ANTIBIOTIC / 6CYQ

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 4	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	3.04	-3.7
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	2.91	-2.5
O 4	CA GLY 236 (A)	H-acceptor	3.22	-0.7
O 3	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.74	-2.2
O 4	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.04	-5.9
C 7	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	4.44	-0.4
C 14	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	3.75	-0.2
6-ring	N SER 237 (A)	pi-H	4.20	-0.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5TWE)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:07:56 2023 (MOE 2015.10)

5TWE: HYDROLASE/ANTIBIOTIC / 5TWE

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
C 8	O SER 237 (A)	H-donor	3.71	-0.2
O 4	N GLY 70 (A)	H-acceptor	3.04	-2.7
O 4	CA GLY 70 (A)	H-acceptor	3.26	-0.3
O 4	CA GLY 236 (A)	H-acceptor	3.17	-0.7
O 4	N SER 237 (A)	H-acceptor	2.85	-5.1
O 3	NZ LYS 73 (A)	ionic	2.93	-6.7
C 7	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	4.55	-0.4

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (3Q1F)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:48:48 2023 (MOE 2015.10)

3Q1F: HYDROLASE/ANTIBIOTIC / 3Q1F

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	OG1 THR 235 (A)	H-donor	2.87	-2.2
C 8	O SER 237 (A)	H-donor	3.35	-0.6
O 3	N GLY 70 (A)	H-acceptor	2.93	-5.1
O 3	N SER 237 (A)	H-acceptor	2.88	-4.6
O 4	CA GLY 70 (A)	H-acceptor	3.39	-0.3
O 4	NZ LYS 73 (A)	H-acceptor	2.91	-12.1
O 4	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.69	-2.8
O 4	NZ LYS 73 (A)	ionic	2.91	-6.9
5-ring	CB SER 237 (A)	pi-H	4.03	-1.0
6-ring	NH1 ARG 274 (A)	pi-cation	4.13	-0.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (1YMX)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:38:50 2023 (MOE 2015.10)

1YMX: HYDROLASE / 1YMX

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	O SER 237 (A)	H-donor	3.05	-0.8
O 3	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	3.20	-0.6
O 3	NH1 ARG 276 (A)	H-acceptor	2.86	-6.6
O 4	OG SER 130 (A)	H-acceptor	2.79	-1.9
O 4	NZ LYS 234 (A)	H-acceptor	3.01	-3.0
O 4	OG1 THR 235 (A)	H-acceptor	3.67	-0.2
O 4	CA GLY 236 (A)	H-acceptor	3.53	-0.3
O 3	NH1 ARG 276 (A)	ionic	2.86	-7.3
O 4	NZ LYS 234 (A)	ionic	3.01	-6.1
C 7	6-ring TYR 105 (A)	H-pi	4.10	-0.4
5-ring	OG SER 130 (A)	pi-H	4.49	-0.3
6-ring	CB SER 237 (A)	pi-H	4.65	-0.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (1LL5)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:36:15 2023 (MOE 2015.10)

1LL5: HYDROLASE / 1LL5

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	NH2 ARG 349 (A)	H-acceptor	3.18	-2.2
O 4	NH1 ARG 349 (A)	H-acceptor	3.00	-4.0
O 4	NH2 ARG 349 (A)	H-acceptor	2.97	-4.5
O 3	NH2 ARG 349 (A)	ionic	3.18	-4.9
O 4	NH1 ARG 349 (A)	ionic	3.00	-6.1
O 4	NH2 ARG 349 (A)	ionic	2.97	-6.4
C 9	6-ring TYR 150 (A)	H-pi	3.71	-0.3
6-ring	ND2 ASN 346 (A)	pi-H	3.60	-0.9

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (1I5Q)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:15:21 2023 (MOE 2015.10)

1I5Q: HYDROLASE / 1I5Q

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	O THR 316 (A)	H-donor	3.43	-0.3
O 4	NZ LYS 315 (A)	H-acceptor	2.91	-4.2
O 3	NZ LYS 315 (A)	ionic	3.07	-5.6
O 4	NZ LYS 315 (A)	ionic	2.91	-6.9
6-ring	CA ASN 289 (A)	pi-H	4.62	-0.4
5-ring	CA ASN 289 (A)	pi-H	4.40	-1.5
6-ring	ND2 ASN 346 (A)	pi-H	4.32	-0.4

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (1KVL)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 00:33:32 2023 (MOE 2015.10)

1KVL: HYDROLASE / 1KVL

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	O GLY 286 (A)	H-donor	3.03	-2.8
C 7	O ILE 291 (A)	H-donor	3.28	-0.4
O 4	OG1 THR 316 (A)	H-acceptor	2.89	-2.1
O 4	ND2 ASN 346 (A)	H-acceptor	2.98	-1.3
O 3	NZ LYS 315 (A)	ionic	2.90	-6.9
O 4	NZ LYS 315 (A)	ionic	3.97	-1.5
N 5	OD1 ASP 288 (A)	ionic	4.65	-0.2
6-ring	CB ASP 288 (A)	pi-H	4.07	-0.2
5-ring	CA ASN 289 (A)	pi-H	4.19	-3.8

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5ZA2)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 11:33:36 2023 (MOE 2015.10)

5ZA2: HYDROLASE / 5ZA2

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 1	O SER 317 (A)	H-donor	2.90	-2.2
O 3	CA GLY 316 (A)	H-acceptor	3.26	-0.3
O 3	OG SER 317 (A)	H-acceptor	3.07	-2.7
O 4	NZ LYS 314 (A)	H-acceptor	2.89	-0.7
O 4	NZ LYS 314 (A)	ionic	2.89	-7.0
C 8	6-ring TYR 150 (A)	H-pi	4.20	-0.6
6-ring	CB SER 317 (A)	pi-H	4.48	-0.3

❖ **Rapport d'interaction entre la Nigellicine et la β -lactamase (5CGX)**

Ligand Interactions Report

Mon May 29 10:55:07 2023 (MOE 2015.10)

5CGX: HYDROLASE / 5CGX

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 3	NZ LYS 67 (A)	H-acceptor	3.29	-0.7
O 4	ND2 ASN 152 (A)	H-acceptor	3.18	-1.4
O 3	NZ LYS 67 (A)	ionic	3.29	-4.3
O 4	NZ LYS 67 (A)	ionic	3.00	-6.2
O 1	6-ring PHE 292 (A)	H-pi	3.98	-0.7
C 18	6-ring PHE 292 (A)	H-pi	4.11	-0.6
6-ring	CB SER 317 (A)	pi-H	4.23	-0.5

ملخص

تشكل مقاومة المضادات الحيوية عن طريق تعطيل المضادات الحيوية لعائلة البييتالاكتامينات بفعل أنزيم البييتالاكتاماز تهديدا كبيرا للصحة العامة. أظهرت النتائج التجريبية أن إضافة الزيت العطري لحبة البركة الى بعض المضادات الحيوية من عائلة البييتالاكتامينات قد يحسن من فعالية هذا الأخير ضد بعض سلالات *E. coli* متعدد مقاومة المضادات الحيوية. الهدف من هذا العمل هو إجراء دراسة نظرية لتفاعل بعض المواد الكيميائية النباتية من حبة البركة مع الأنزيمات من نوع سيرين بيتالاكتاماز من أجل تحديد تلك التي قد يكون لها تقارب أفضل مقارنة بالمثبطات المرجعية بناء على نتائج التنبؤ عن طريق الالتحام الجزيئي. تكشف نتائج دراستنا أن النيجيليسين، المركب الكيميائي النباتي الموجود في بذور حبة البركة، يرتبط بالإنزيم من خلال احتلال موقع التثبيت ويتفاعل بروابط غير تساهمية أيونية، هيدروجينية، التراص pi-pi ، وكذلك التراص الهيدروجين-pi، مع درجات تقارب تتراوح من -8.9002 إلى -15.0538. مقابل تلك الموجودة في كل من *acide clavulanique*, *Sulbactam*, *Tazobactam*, *Avibactam*, *Vaborbactam* et *le Relebactam* مع أفضل درجات التقارب التي تتراوح من -8.8173 إلى -17.6615. يمكن أن يكون النيجيليسين، من خلال تقاربه التفاعلي العالي تجاه موقع التثبيت مع البييتالاكتاماز، تأثير مثبط محتمل بمستويات مماثلة أو حتى أفضل من المثبطات المستخدمة التي تستهدف هذه الإنزيمات علاجيا.

الكلمات المفتاحية البييتالاكتاماز، مثبط، النيجيليسين، الالتحام الجزيئي، *Relebactam*، حبة البركة.

Résumé

L'antibiorésistance par inactivation des antibiotiques de la famille des β -lactamines via l'action des β -lactamases constitue une menace majeure pour la santé publique. Des essais expérimentales ont montré que l'huile essentielle de *Nigella sativa* associée à certains antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines a amélioré l'efficacité de ces derniers contre des souches d'*E. coli* multirésistantes. L'objectif de ce travail est de réaliser une étude *in silico* de l'interaction de quelques composés phytochimiques du *Nigella sativa* avec des sérine- β -lactamases afin d'identifier ceux pouvant présenter une meilleure affinité comparé à des inhibiteurs de référence sur la base des résultats de prédiction par docking moléculaire. Les résultats de notre étude révèlent que la Nigellicine, composé phytochimique contenu dans les graines de *Nigella sativa*, se fixe sur l'enzyme en occupant le site actif et en interagissant par des liaisons non covalentes ioniques, hydrogène, interaction par empilement pi-pi et pi-hydrogène, avec des scores d'affinité variant entre -8,9002 et -15,0538 contre ceux de l'acide clavulanique, *Sulbactam*, *Tazobactam*, *Avibactam*, *Vaborbactam* et le *Relebactam* présentant les meilleurs scores d'affinité variant entre -8,8173 et -17,6615. La Nigellicine, par sa forte affinité d'interaction envers le site actif des β -lactamases, peut exercer un effet inhibiteur potentiel avec des niveaux comparables voire meilleurs que les inhibiteurs utilisés en thérapeutique ciblant ces enzymes.

Mots-clés β -lactamase, inhibiteur, Nigellicine, docking moléculaire, *Relebactam*, *Nigella sativa*.

Abstract

Antibiotic resistance through inactivation of β -lactam antibiotics under the action of β -lactamases is a major threat to public health. Experimental trials have shown that *Nigella sativa* essential oil combined with certain β -lactam antibiotics improved their efficacy against multi-resistant *E. coli* strains. The aim of this work is to carry out an *in silico* study of the interaction of some phytochemical compounds of *Nigella sativa* with serine- β -lactamases in order to identify those that may present a better affinity compared to reference inhibitors on the basis of molecular docking prediction results. The results of our study reveal that Nigellicine, a phytochemical compound contained in *Nigella sativa* seeds, binds to the enzyme by occupying the active site and interacting through non-covalent ionic, hydrogen bonds, pi-pi and pi-hydrogen stacking interaction, with affinity scores ranging from -8.9002 to -15.0538, versus those of clavulanic acid, *Sulbactam*, *Tazobactam*, *Avibactam*, *Vaborbactam* and *Relebactam*, with the best affinity scores ranging from -8.8173 to -17.6615. Nigellicine's high affinity for interaction with the active site of β -lactamases means it can exert a potential inhibitory effect at levels comparable or even better than the inhibitors used in therapeutics targeting these enzymes.

Key words β -lactamase, inhibitor, Nigellicine, molecular docking, *Relebactam*, *Nigella sativa*.