

N° d'ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieur et de La Recherche
Scientifique

جامعة عين تموشنت بلحاج بوشايب

Université Ain Témouchent-Belhadj Bouchaib



Faculté : Sciences et de la Technologie
Département : Biologie
Laboratoire : Hydrologie appliquée et
environnement.



THESE

Présentée pour l'obtention du **diplôme de DOCTORAT**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques.

Spécialité : Biochimie.

Par : SAIDI Ainayat ellah

Intitulé

Etude phytochimique, activité anti-oxydante et
antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes
médicinales : *in vitro* et *in silico*

Soutenue publiquement, le 03/07/2025, devant le jury composé de :

Nom & Prénom(s)	Grade	Qualité	Etablissement de rattachement
Pr. ILIAS Faiza	Professeur	Président	Université de Ain Témouchent
Pr. BOUZIDI Nebia	Professeur	Rapporteur	Université de Mascara
Pr. ZIANE Mohammed	Professeur	Co-rapporteur	Université de Ain Témouchent
Dr. BENNABI Farid	MCA	Examineur	Université de Ain Témouchent
Dr. BENAMARA Rym Nouria	MCA	Examineur	Université de Mascara
Pr. BENAROUS Khedidja	Professeur	Examineur	Université de Laghouat

Année Universitaire : 2024/2025

وَاتَّقُوا اللَّهَ وَيُعَلِّمُكُمُ اللَّهُ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

[سورة البقرة : الآية 282]

إهداء إلى جدتي الغالية
شريف عائشة "رحمها الله"

I. REMERCIEMENT

"Louange à Allah, qui enseigne par le Calame et transmet à l'homme ce qu'il ne savait pas. Louange à Allah, par Sa grâce, les bonnes œuvres s'accomplissent. Louange à Allah pour Son soutien constant et Sa guidance parfaite. Et Il demeure, glorifié soit-Il, le Savant suprême au-dessus de tout savant."

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui m'ont soutenu(e), guidé(e) et accompagné(e) tout au long de cette aventure scientifique et humaine.

Je remercie tout d'abord **Prof.dr Nebia Bouzidi** ma directrice de thèse pour sa supervision bienveillante, ses conseils précieux et son soutien constant. Votre expertise et vos encouragements m'ont permis de surmonter les défis et d'approfondir mes connaissances.

J'adresse mes remerciements à **Prof.dr Mohammed Ziane**, mon codirecteur de thèse et le président de la CFD, pour ses encouragements, ses précieux conseils, la rigueur et l'orientation dont j'ai pu bénéficier.

Je souhaite également exprimer ma profonde gratitude aux membres du jury, en particulier à Madame le Professeur **ILIAS Faiza** pour avoir présidé mon jury de thèse, ainsi qu'à **Prof. Dr. BENAROUS Khedidja**, **Dr. BENNABI Farid** et **Dr. BENAMARA Rym Nouria** pour l'intérêt et l'attention qu'ils ont bien voulu accorder à ce travail en acceptant de faire partie de la commission d'examen.

Un immense merci au **Prof.dr Mohammed Gherib**, **Dr. Ahmed M. Sayed**, **Dr. Hafiz Muzzammel Rehman**, **Dr. Vijay Kumar Vishvakarma**, **Dr. Marius Mioc** et **Mr. Belabbas Ghernaout** pour leurs précieux conseils qui ont considérablement amélioré la qualité de l'étude.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au Laboratoire de Physico-Chimie des Macromolécules et des Interfaces Biologiques, Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mustapha Stambouli de Mascara, ainsi qu'au doctorant **M. Daikh** pour leur contribution précieuse et inestimable.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **ma tendre maman et mon cher papa**, à **mes frères**, à **toute la famille Saïdi**, à **mes amies**, à **mes professeurs**, à **mes collègues de**

promotion et à tous ceux qui m'ont soutenu tout au long de ce parcours. Votre amour, votre amitié, vos conseils et vos encouragements ont été inestimables.

Enfin, je remercie toutes les personnes, connues ou inconnues, qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail. Votre soutien a été une source d'inspiration et de motivation constante.

Ainayat ellah SAIDI

II. PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

Publications internationales

1. **Saidi, Ainayat Ellah**, Nebia Bouzidi, Mohammed Ziane, Mohammed Gherib, Chaimaa Rahila, et Marius Mioc. **2024**. « *In Silico* and *in Vitro* Studies : Investigating the Chemical Composition, DFT, Molecular Docking, and Dynamic Simulation of *Satureja Candidissima* (Munby) Briq Essential Oil as a Potential Antibacterial Agent ». *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*: 1-20. doi:10.1080/07391102.2024.2301742

Communication Internationale

1. **SAIDI Ainayat ellah**, BOUZIDI Nebia, ZIANE Mohammed. « Investigating The Antioxidant Activity Of *Satureja candidissima* (Munby) Briq Essential Oil: A Combined *In Silico* and *In Vitro* Study». Online IC NBR-VAL 2023 (Tebessa, Algeria) September 24-26th, 2023.

Communications nationales

1. **SAIDI Ainayat ellah**, BOUZIDI Nebia, GHERIB Mohammed and ZIANE Mohammed. «Potential of *Achillea odorata L* essential oil in food preservation ». 1^{er} Séminaire National des Plantes Aromatiques et Médicinales de l'Est Algérien (SNPAMEA-1), 14 et 15 Septembre 2021, à l'Ecole Normale Supérieure d'Enseignement Technologique (ENSET) de Skikda.
2. **SAIDI Ainayat ellah**, Gherib Mohammed, Ziane Mohammed, Bouzidi Nebia. « Potential Of *Globularia Alypum L* Essential Oil And Extract In Food preservation ». Second National webinar on Biodiversity, Biochemistry & Environmental Microbiology 17 Octobre 2021.

III. Résumé

Etude phytochimique. et activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes médicinales : *in vitro* et *in silico*

Nepeta nepetella subsp. *Amethystina* (Poir.) Briq et *Satureja candidissima* Munby Brik sont des plantes médicinales et aromatiques appartiennent à la famille des lamiacée et utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle algérienne.

Cette étude a pour objectif d'étudier la composition phytochimique et d'examiner les activités antioxydante et antibactérienne et prédire le mécanisme d'action des huiles essentielles extraites de la partie aérienne de *N nepetella* et *S candidissima* récoltée dans la région de Nàama et d'Ain Temouchent respectivement.

L'analyse qualitative par CG/SM des huiles essentielles obtenues nous a permis d'identifier une variation chimique de composant avec 57 composés identifiés dans l'huile de *N nepetella* et 54 dans l'huile de *S. candidissima*, représentant respectivement 90,98 % et 91,01 % de la composition totale des huiles essentielles.

Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *N nepetella* sont Nepetalactone 4 α , 7 α , 7 β (58, 98%), Nepetalactone 4 α , 7 α , 7 α (10.23%), Spiro (5.6) dodecane (5.45%), camphor (4.98%), et pour *S candidissima* les composants majeurs sont le pulegone (53,26 %), le (+)-menthone (11,02 %), le bornéol (4,43 %), 2-cyclohexen-1-one, 3-méthyl-6-(1-méthyléthylidène) (2,50 %) et 3-octanol (2,09 %).

Sur le plan biologique, Les tests DPPH et FRAP ont montré que l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* présente une meilleure activité antioxydante que celle de *Satureja Candidissima*. cependant, pour la capacité antioxydante totale (CAT), les résultats révèlent que l'huile de *Satureja Candidissima* est plus efficace.

En addition, *Satureja candidissima* est plus efficace que *Nepeta nepetella* contre *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche, *Nepeta nepetella* montre une meilleure efficacité que *Satureja candidissima* contre *Bacillus licheniformis* et *Listeria monocytogenes*.

Des études *in silico* de docking moléculaire et ADMET ont été menées pour mettre en évidence le mécanisme antibactérien sous-jacent ainsi que le potentiel antioxydant. Les données enregistrées ont montré que l'activité antibactérienne des composés des deux huiles essentielles pouvait être exercée par l'inhibition de enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase FabI [nadph] (PDB ID : 4ALL). Les composés les plus actifs sont des composants mineurs. Les résultats du docking ont également révélé que les composants des deux huiles essentielles pouvaient exercer leur activité antioxydante *in vitro* par l'inhibition de la xanthine oxydase (PDB ID : 3NRZ). Par conséquent, *N nepetella* et *S candidissima* pourrait être des nouvelles sources naturelles d'antioxydants et d'antiseptiques, avec des applications potentielles dans les industries alimentaires et pharmaceutiques comme alternative à l'utilisation d'additifs synthétiques.

Mots clés : Huile essentielle, CG/SM, Activité antibactérienne, Activité antioxydante, *molecular docking*.

Phytochemical study and antioxidant and antibacterial activity of essential oils from two medicinal plants: *in vitro* and *in silico*

Abstract

Nepeta nepetella subsp. *Amethystina* (Poir.) Briq and *Satureja candidissima* Munby Brik are medicinal and aromatic plants belonging to the Lamiaceae family, traditionally used in Algerian medicine.

This study aims to analyze the phytochemical composition, evaluate the antioxidant and antibacterial activities, and predict the mechanism of action of the essential oils extracted from the aerial parts of *N. nepetella* and *S. candidissima*, collected from the regions of Naâma and Ain Temouchent, respectively.

Qualitative analysis using GC-MS of the obtained essential oils revealed chemical variability, with 57 compounds identified in *N. nepetella* essential oil and 54 in *S. candidissima* essential oil, representing 90.98% and 91.01% of the total composition, respectively.

The major components of *N. nepetella* essential oil are 4 α ,7 α ,7 β -Nepetalactone (58.98%), 4 α ,7 α ,7 α -Nepetalactone (10.23%), Spiro(5.6)dodecane (5.45%), and Camphor (4.98%). For *S. candidissima*, the major components include Pulegone (53.26%), (+)-Menthone (11.02%), Borneol (4.43%), 2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene) (2.50%), and 3-Octanol (2.09%).

Biologically, DPPH and FRAP tests demonstrated that *Nepeta nepetella* essential oil exhibits stronger antioxidant activity than *Satureja candidissima*. However, for total antioxidant capacity (CAT), *Satureja candidissima* showed greater effectiveness.

Additionally, *Satureja candidissima* exhibited higher antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*, whereas *Nepeta nepetella* was more effective against *Bacillus licheniformis* and *Listeria monocytogenes*.

In silico molecular docking and ADMET studies were conducted to elucidate the underlying antibacterial mechanism and antioxidant potential. The recorded data indicated that the antibacterial activity of the essential oil compounds could be attributed to the inhibition of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase FabI [NADPH] (PDB ID: 4ALL). The most active compounds were minor components. Docking results also suggested that the essential oil components could exert their antioxidant activity in vitro by inhibiting xanthine oxidase (PDB ID: 3NRZ). Therefore, *N. nepetella* and *S. candidissima* could serve as novel natural sources of antioxidants and antiseptics, with potential applications in the food and pharmaceutical industries as alternatives to synthetic additives.

Keywords: Essential oil, GC-MS, Antibacterial activity, Antioxidant activity, Molecular docking.

الملخص

نبته *Satureja Candidissima* Munby Brik ونبته *Nepeta nepetella* subsp. *Amethystina* (Poir.) Briq هما نباتان طبيان وعطريان ينتميان إلى الفصيلة الشفوية ويستخدمان تقليدياً في الطب الشعبي الجزائري.

تهدف هذه الدراسة إلى تحليل التركيب الكيميائي النباتي، وتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا، والتنبيه بألية عمل الزيوت العطرية المستخلصة من الأجزاء الهوائية *satureja candidissima* و *nepeta nepetella* والتي تم جمعها من منطقتي النعامة وعين تموشنت على التوالي .

وسمح لنا الفصل الكروماتوغرافي الغازي وطيف الكتلة للزيوت العطرية بتحديد 57 مركباً في نبته *Nepeta nepetella* و54 مركباً في *Satureja candidissima* وهو ما يمثل 90.98% و91.01% من التركيب الكلي للزيوت العطرية على التوالي. والمركبات الرئيسية في الزيت العطري لـ *Nepeta nepetella* هي $4\alpha,7\alpha,7\beta$ Nepetalactone (58.98%)، $5(6)$ Spiro dodecane (5.45%) و camphor (4.98%).

أما بالنسبة لـ *Satureja candidissima* ، فإن المركبات الرئيسية هي (53.26%) pulegone ، و (+)-menthone (11.02%)، و (4.43%) borneol ، و (2.50%) 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene) ، و (2.09%) 3-octanol.

ومن الناحية البيولوجية وفي المختبر، فإن *Satureja candidissima* أكثر فعالية من نبته *Nepeta nepetella* ضد *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* . ومع ذلك، تُظهر *Nepeta nepetella* فعالية أفضل من *Satureja candidissima* (Sceo) ضد *Bacillus licheniformis* و *Listeria monocytogenes*.

بالإضافة إلى ذلك، كشفت اختبارات DPPH و FRAP أن الزيت العطري لنبته *Nepeta nepetella* له نشاط مضاد للأكسدة أقوى من زيت *Satureja candidissima* ومع ذلك، بالنسبة للقدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC) ، أظهرت النتائج أن زيت *Satureja candidissima* الأكثر فعالية.

أجريت دراسات الالتحام الجزيئي *in silico* وتحليل ADMET لتوضيح الآلية الأساسية المضادة للبكتيريا والقدرة المضادة للأكسدة. أشارت البيانات المسجلة إلى أن النشاط المضاد للبكتيريا للمركبات في كل من الزيتين العطريين قد يكون بسبب تثبيط enoyl-[acyl]-carrier-protein reductase FabI [NADPH] المعروف PDB: 4ALL المركبات الأكثر نشاطاً هي المكونات الثانوية. كشفت النتائج أيضاً أن المركبات الموجودة في كلا الزيتين الأساسيين قد تمارس نشاطها المضاد للأكسدة من خلال تثبيط انزيم xanthine oxidase المعروف PDB: 3NRZ .

لذلك، يمكن أن تكون *N. nepetella* و *S. candidissima* بمثابة مصادر طبيعية جديدة لمضادات الأكسدة والمطهرات، مع تطبيقات محتملة في الصناعات الغذائية والصيدلانية كبدايل للمضافات الاصطناعية.

الكلمات المفتاحية: الزيت العطري، GC-MS، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة، الالتحام الجزيئي.

IV. LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
1	Description et pouvoir pathogène des souches testées	33
2	Paramètres d'amarrage moléculaire et cibles protéiques	45
3	Composants chimiques des plantes étudiées et leurs SMILES canoniques	50
4	Résultats de l'indice de réfraction et de la densité des huiles essentielles de <i>S. candidissima</i> et <i>N. nepetella</i>	57
5	Composition chimique par CG/SM de l'HE de <i>Nepeta nepetella</i> subsp. <i>amethystina</i> (Poir.) Briq.	58
6	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Nepeta nepetella</i> subsp. <i>amethystina</i> (Poir.) Briq. rapportée dans la littérature.	65
7	Composition chimique par CG/SM de l'HE de <i>Satureja Candidissima</i> Munby Briq	68
8	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>satureja candidissima munby</i> Briq. rapportée dans la littérature.	73
9	Capacité antioxydante totale de l'huile essentielle (mg/ml AAE)	80
10	Zones d'inhibition antibactérienne des huiles essentielles de <i>Satureja candidissima</i> et <i>Nepeta nepetella</i> contre divers microorganismes.	82
11	Carte thermique des scores d'amarrage enregistrés (énergie libre de liaison-kcal/mol) des composants de l'huile essentielle de <i>Satureja Candidissima</i> (Munby) Briq	87
12	Valeurs RMSD pour les Récepteurs et Ligands Cristallographiques de <i>Nepeta nepetella</i> subsp. <i>amethystina</i>	99
13	Carte thermique des scores d'amarrage enregistrés (énergie libre de liaison-kcal/mol) des composants de l'huile essentielle de <i>Nepeta nepetella</i> subsp. <i>amethystina</i>	100
14	Interactions moléculaires des ligands avec les cibles ATX et ATB : Comparaison entre Ligands de <i>Nepeta nepetella</i> subsp. <i>amethystina</i> (Poir.) Briq (Npeo) et de <i>Satureja Candidissima</i> Munby Briq Sceo)	111
15	Évaluation ADME des composés de l'huile essentielle de <i>Satureja Candidissima</i>	114
16	Évaluation ADME des composés de l'huile essentielle de <i>Nepeta Nepetella</i>	116
17	Toxicité des composés (SCEO) et (NPEO), prédite par l'outil PROTOX 3.0	122

V. LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
1	Division des monoterpènes (acyclique, monocyclique, bicyclique)	6
2	L'origine naturelle des monoterpènes et leurs applications biologiques.	11
3	Montage d'hydrodistillation (Clevenger)	34
4	Réaction du DPPH avec un antioxydant	38
5	Réaction du test FRAP	39
6	Les principaux composants identifiés dans l'huile essentielle de <i>Nepeta nepetella subsp. amethystina</i> (Poir.) Briq. analysée par la technique CG/SM	67
7	Les principaux composants identifiés dans l'huile essentielle de de <i>Satureja Candidissima Munby Brik</i> analysée par la technique CG/SM	75
8	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des huiles essentielle et de l'acide ascorbique	79
9	Pouvoir réducteur des huiles essentielles	77
10	Données obtenues lors de la validation des protocoles d'amarrage moléculaire pour les récepteurs isoleucyl-ARNt synthétase 1JZQ, ADN gyrase 1KZN, dihydroptéroate synthase 2VEG, dihydrofolate réductase 3SRW, ADN gyrase sous-unité B 3TTZ, PBP1a 3UDI, enoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [NADPH] 4ALL, la xanthine oxydase 3NRZ	85
11	Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 17 ; BENZOFURAN, 4,5,6,7-TETRAHYDRO-3,6-DIMETHYL et la xanthine oxydase (PDB ID:3NRZ)	94
12	Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 51 ; 1h-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-triméthyl-4-méthylène- et l'énoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [nadph] (PDB ID:4ALL)	97
13	Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 39 ; 1,1,4,7-tétraméthyl-décahydro-1 h-cyclopropa[e]azulen-4-Ol et l'énoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [nadph] (PDB ID:4ALL)	98
14	Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 28 ; 4-Ethylbenzoic acid, 3-phenylpropyl ester et la xanthine oxydase (PDB ID:3NRZ)	106
15	Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 41 ; 1,4-Methanoazulen-7(1H)-one, octahydro-4,8,8,9-tétraméthyl et l'énoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [nadph] (PDB ID:4ALL)	107
16	Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 36 ; 1,4-methanoazulen-7(1h)-one, octahydro-1,5,5,8a-tétraméthyl et l'énoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [nadph] (PDB ID:4ALL)	108

VI. LISTE DES ABREVIATIONS

CG/SM	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
Sceo	Huile essentielle de <i>Satureja candidissima</i>
Npeo	Huile essentielle de <i>Nepeta nepetella</i>
HE	Huile essentielle
AAE/Eaa	Équivalent Acide Ascorbique
ATX	Activité Antioxydant
ATB	Activité antibactérienne
PDB ID	Identifiant de structure dans la banque de données PDB (<i>Protein Data Bank Identifier</i>)
Lig	ligand
AutoDock	Logiciel de docking moléculaire
GOLD	Optimisation génétique pour le docking des ligands (<i>Genetic Optimization for Ligand Docking</i>)
DOCK	Logiciel de docking moléculaire
ProBiS-Dock	
PyRx	Interface graphique pour le docking moléculaire
AutoDock	Version améliorée d'AutoDock pour le docking moléculaire
Vina	
QSAR	Relation Quantitative Structure-Activité (<i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>)
IA	Intelligence Artificielle
RCSB	Banque de données de structures biologiques (<i>Research Collaboratory for Structural Bioinformatics</i>)
Å	Angström (unité de mesure)
ΔG	Variation d'énergie libre (Gibbs)
RMSD	Écart quadratique moyen des distances (<i>Root Mean Square Deviation</i>)
TPSA (Å²)	Surface Polaire Totale
Consensus	
Log P	Coefficient de partage lipophile consensuel

Poids moléculaire (g mol ⁻¹)	PM (Poids Moléculaire)
nRB	Nombre de liaisons rotatives
nOHA	Nombre de donneurs de liaisons hydrogène (HBA)
nOHD	Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBD)
WLOGP	Log P estimé par la méthode WLOGP
Absorption gastro-intestinale	AGI (Absorption Gastro-Intestinale)
Présence dans la BHE (BBB)	Perméabilité à la Barrière Hémato-Encéphalique
Substrat de la P-gp	Substrat de la Glycoprotéine-P
Inhibiteur du CYP1A2	Inhibition du Cytochrome P450 1A2
Inhibiteur du CYP2C19	Inhibition du Cytochrome P450 2C19
Inhibiteur du CYP2C9	Inhibition du Cytochrome P450 2C9
Inhibiteur du CYP2D6	Inhibition du Cytochrome P450 2D6
Inhibiteur du CYP3A4	Inhibition du Cytochrome P450 3A4
pb	Probabilité
Pr	Prédiction

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	I
Production scientifique.....	II
Résumé.....	III
Liste des tableaux.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des abréviations.....	VI
Introduction.....	2

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. Les huiles essentielles.....	5
I.1.1. Définition de la phytochimie	5
I.1.2. Les huiles essentielles et leurs constituants bioactifs	5
I.1.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	7
I.1.3.1. <i>Distillation à la vapeur</i>	7
I.1.3.2. <i>Hydrodistillation</i>	7
I.1.3.3. <i>Extraction par fluide supercritique</i>	7
I.1.3.4. <i>Extraction assistée par micro-ondes</i>	7
I.1.3.5. <i>Extraction assistée par ultrasons</i>	7
I.1.4. Méthodes d'identification chimiques des huiles essentielles	8
I.1.5. Importance des huiles essentielles dans le monde végétal	8
I.1.6. Propriétés biologiques et pharmacologiques	8
I.1.6.1. Mécanismes d'action des huiles essentielles.....	9
Mécanismes antioxydants et anti-inflammatoires	9
Mécanismes anticancéreux	9

Mécanismes antimicrobiens et antiviraux	10
Mécanismes insecticides	10
I.1.7. La toxicité des huiles essentielles	12
I.2. Activités antioxydante et antimicrobienne	13
I.2.1. Définition des antioxydants	13
I.2.1.1. Importance des antioxydants dans la santé	13
I.2.1.2. Mécanismes de l'activité antioxydante	14
I.2.1.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	15
I.2.1.3.1. Essais chimiques	15
I.2.1.3.2. Essais cellulaires	16
I.2.2. L'activité antibactérienne.....	16
I.2.2.1. Importance de la résistance aux antibiotiques.....	16
I.2.2.2. Mécanismes et propagation	16
I.2.2.3. Mécanismes d'action des agents antibactériens.....	17
I.2.2.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i>	18
I.3. Etude <i>in silico</i>	19
I.3.1. Méthodes <i>in Silico</i>: Présentation et Principes de Base	19
I.3.1.1. L'amarrage moléculaire	20
I.3.1.2. Logiciel de l'amarrage moléculaire.....	20
I.3.1.3. Modèles QSAR.....	21
I.3.1.4. Apprentissage automatique et l'intelligence artificielle.....	21
I.3.1.5. Applications dans la découverte de médicaments	21
I.3.2. Applications des méthodes <i>in Silico</i> dans la Recherche Phytochimique.....	22
I.3.2.1. Thérapie du cancer.....	22
I.3.2.2. Maladies infectieuses	22
I.3.2.3. Applications antioxydantes et anti-inflammatoires.....	22
I.3.2.4. Maladies chroniques et mécanismes épigénétiques.....	22

I.3.2.5. Découverte et développement de médicaments	23
I.4. Monographie des plantes étudiées.....	23
I.4.1. Généralité sur la famille des <i>Lamiacées</i>	23
I.4.2. Genre <i>Satureja</i>	24
I.4.3. Genre <i>Nepeta</i>	26

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1. Matériels utilisés.....	32
II.1.1. Matériel végétal	32
II.1.2. Souches bactériennes.....	32
II.2. Extraction des huiles essentielles	33
II.2.1. Détermination du rendement d'extraction	34
II.2.2. Etude des propriétés organoleptiques (couleur, odeur, aspect)	35
II.3. Analyses physico-chimique de l'huile essentielle.....	35
II.3.1. Densité relative.....	35
II.3.2. Indice de réfraction	35
II.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse CG/SM.....	36
II.5. Etudes <i>in vitro</i> des activités biologiques	37
II.5.1. Détermination de l'activité antioxydante	37
II.5.1.1. Capacité antioxydante totale (TAC).....	37
II.5.1.2. Essai de piégeage des radicaux libres DPPH.....	37
II.5.1.3. La méthode de réduction de fer « <i>Ferric Reducing Antioxydant Power</i> (FRAP) »	39
II.5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	40
II.5.2.1. Souches bactériennes	40
II.5.2.2. Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits).....	40

II.6. analyses statistiques	41
II.7. Étude <i>in silico</i>	42
II.7.1. Docking moléculaire	42
II.7.1.1. Dessin et minimisation des ligands	42
II.7.1.2. Sélection et préparation des cibles	42
II.7.1.3 Protocole de docking	43
II.7.2. Analyse ADMET	49

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

III. Résultats et discussion	56
III.1 Rendement des huiles essentielles	56
III.2. Résultats des analyses physico-chimiques des huiles essentielles	56
III.2.1. Densité	57
III.2.2. Indice de réfraction	57
III.2.3. Composition chimique des huiles essentielles	57
III.3. Détermination de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	76
III.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH	77
III.3.2. Test du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)	79
III.3.3. Capacité antioxydante totale	80
III.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles	82
III.4.1. Résultats de l'antibiogramme	82
III.5. Analyse <i>in silico</i>	84
III.5.1. <i>Satureja candidissima</i> Munby Briq	84
III.5.1.1. Test de fiabilité du protocole	84
III.5.1.2. Discussions sur les composants ayant une activité antioxydante	92
III.5.1.3. Discussions sur les composants ayant une activité antibactérienne	95

III.5.2. <i>Nepeta nepetella</i> subsp. <i>Amethystina</i>	99
III.5.2.1. Test de fiabilité du protocole	99
III.5.2.2. Analyse des composants aux propriétés antioxydantes et antibactériennes.	105
III.6. Comparaison croisée des résultats <i>in vitro</i> et <i>in silico</i>	109
III.7. ADMET	114
III.7.1. Analyse des Données ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion)	119
III.7.2. Prédiction de la toxicité des composés majeurs et de certains composés mineurs par ProTox-3.0	120
CONCLUSION	126
REFERENCES	129
ANNEXES	157
ARTICLE	
SEMINNAIRES	

Introduction

Introduction

L'importance croissante des plantes médicinales, en particulier des huiles essentielles, dans la médecine traditionnelle et moderne est attribuée à leurs diverses propriétés thérapeutiques, notamment leurs effets antimicrobiens, antioxydants et anticancéreux. Ces produits naturels sont largement utilisés dans les industries alimentaires, cosmétiques et agricoles, offrant des alternatives naturelles aux produits chimiques synthétiques **(Bolouri et al., 2022 ; Rahim et al., 2023)**.

Les huiles essentielles (HE) sont des mélanges complexes de composés volatils dérivés de plantes, avec diverses applications dans les domaines de la santé, de l'alimentation et des cosmétiques, en raison de leur composition chimique, notamment les monoterpènes, les sesquiterpènes et les phénylpropanoïdes **(Bunse et al., 2022 ; Ailli et al., 2023 ; Santana de Oliveira et al., 2023)**.

L'intégration de la médecine traditionnelle aux approches scientifiques modernes a facilité la découverte de nouveaux médicaments **(Davis et Choisy 2024)**. Des techniques d'extraction et d'analyse avancées, telles que l'extraction au CO₂ et la GC-MS, ont encore amélioré leur qualité et leurs applications **(Rahim et al., 2023)**.

Les huiles essentielles (HE) sont connues pour leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes, ce qui les rend efficaces dans la prévention des maladies et la lutte contre la résistance aux antimicrobiens **(Vella et al., 2020 ; Assaggaf et al., 2022; Fimbres-García et al., 2022 ; Božović, Mladenović, et Ragno., 2023)**.

Les méthodes *in vitro* et *in silico* sont essentielles pour évaluer leurs activités antioxydantes et antibactériennes. Les essais *in vitro* tels que DPPH, FRAP testent les capacités de piégeage des radicaux libres, tandis que la méthode de diffusion en disque évalue la sensibilité des microorganismes aux antibiotiques **(Jeddi et al., 2023; Mourabiti et al., 2024)**.

Les techniques *in silico* telles que le docking moléculaire prédisent l'affinité de liaison des composés des huiles essentielles aux protéines cibles, révélant leurs mécanismes potentiels **(Bălașoiu et al., 2024 ; Tourabi et al., 2024)**.

Cette thèse est axée sur une recherche dans le monde des huiles essentielles de *Nepeta nepetella subsp. Amethystina* (Poir.) Briq et de *Satureja Candidissima* Munby Brik.

La recherche principale consiste à étudier la composition phytochimique de ces huiles grâce à des méthodes telles que l'analyse GC-MS. Elle explore également leurs propriétés antioxydante et antibactérienne, évaluées par des expériences *in vitro*. En outre, des techniques *in silico* de pointe, telle que le docking moléculaire est utilisée pour comprendre comment ces huiles interagissent avec des cibles spécifiques.

Le contenu de la thèse a été structuré en trois chapitres comme suit :

Chapitre 1 : revue de la littérature

Ce premier chapitre présente les bases théoriques de la thèse en abordant plusieurs aspects clés. Il commence par définir la phytochimie comme l'étude des composés chimiques dans les plantes et met en lumière l'importance des huiles essentielles dans le monde végétal. Les méthodes d'extraction et d'analyse des huiles essentielles, telles que la distillation et la chromatographie, sont également détaillées. La thèse se concentre ensuite sur les plantes étudiées, *Satureja candidissima* munby brik et *Nepeta nepetella subsp. Amethystina* (Poir.) Briq, en présentant leur botanique, leurs utilisations traditionnelles et leurs propriétés pharmacologiques. Le chapitre explore aussi les composés bioactifs des huiles essentielles, notamment les terpènes et les phénols, et leurs mécanismes d'action. Enfin, l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles est abordée, avec un focus sur les méthodes d'évaluation de ces activités. Ce chapitre introduit ainsi les bases nécessaires pour les recherches expérimentales et *in silico* de la thèse.

Chapitre 2 : matériels et méthodes

Le deuxième chapitre fournit une liste complète de tous les matériaux et méthodologies utilisés tout au long du travail de recherche.

Chapitre 3 : Résultats expérimentaux et discussion

Le troisième chapitre présente, examine et discute en détail tous les résultats expérimentaux.

Enfin, la thèse conclut en résumant tous les résultats obtenus et propose des recommandations et des perspectives pour d'autres études complémentaires.

Chapitre I : Revue de la littérature

I.1. Les huiles essentielles

I.1.1. Définition de la phytochimie

La phytochimie est la science qui étudie les composés chimiques produits par les plantes, connus sous le nom de substances phytochimiques. Les substances phytochimiques sont des métabolites secondaires des plantes. Ce sont des composés chimiques biologiquement actifs qui ont des effets bénéfiques sur la santé humaine qui vont au-delà de ceux attribués aux nutriments courants (**Gemechu, 2020; Kumar et al., 2023**).

Les substances phytochimiques, telles que les flavonoïdes, les polyphénols et les terpénoïdes, présentent des propriétés anticancéreuses significatives en induisant l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose et l'autophagie, tout en modulant des voies de signalisation cellulaires essentielles, ce qui souligne leur potentiel dans les stratégies de prévention et de traitement du cancer (**Sharma et al., 2024, Rudzińska et al., 2024**).

Les produits phytochimiques sont étudiés aussi pour remplacer les antibiotiques, en particulier pour lutter contre la résistance aux antibiotiques, ils peuvent perturber les membranes microbiennes, fournissant une défense naturelle contre les agents pathogènes (**Khameneh et al., 2021**).

I.1.2. Les huiles essentielles et leurs constituants bioactifs

Les huiles essentielles (HE) sont des mélanges complexes de composés volatils dérivés principalement de plantes aromatiques. Elles contiennent principalement des terpènes, des phénols et d'autres substances bioactives, chacune jouant un rôle dans les nombreuses activités biologiques des huiles (**Bogdanovic et Skala, 2024**).

La définition retenue, très proche de celle de la norme ISO 9235, est celle adoptée par la commission de la pharmacopée européenne : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [**AFNOR, 1986 et AFSSAPS, 2008**].

La composition chimique des HE varie selon les espèces végétales, influençant leurs effets biologiques spécifiques. Les principaux composés des huiles essentielles sont les terpènes et

terpénoïdes. Les monoterpènes (comme le limonène et l' α -pinène, des molécules cycliques à 10 atomes de carbone) et les sesquiterpènes (comme le β -himachalène et le β -caryophyllène, avec 15 atomes de carbone) prédominent. Ils offrent des propriétés biologiques variées, notamment des effets antimicrobiens et anti-inflammatoires (Masyita et al., 2022; Santana de Oliveira et al., 2023). Ainsi que les composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol sont réputés pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, contribuant de manière significative au potentiel thérapeutique des HE. Ces derniers contiennent également des benzénoïdes et des phénylpropanoïdes, qui enrichissent leurs saveurs et parfums et apportent des bienfaits pour la santé, comme la protection cardiovasculaire (Alves-Silva et al., 2021; Santana de Oliveira et al., 2023).

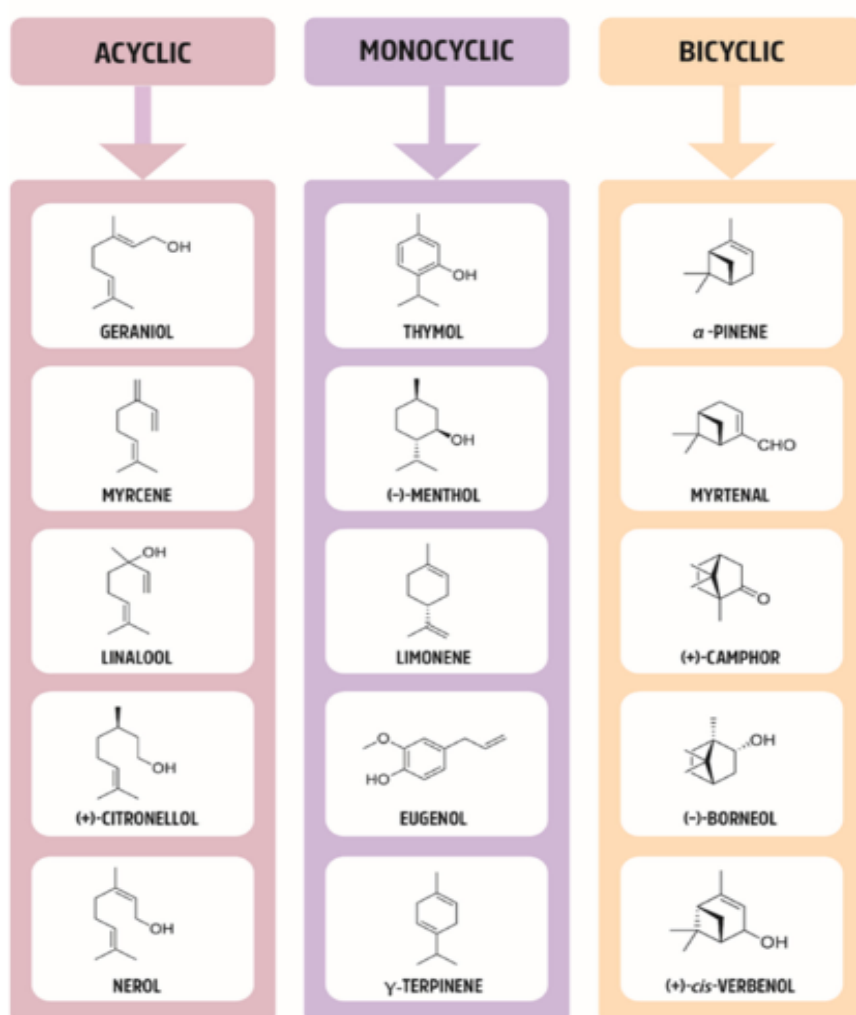


Figure 1 : Division des monoterpènes (acyclique, monocyclique, bicyclique)
(Zielińska-Blajet et Feder-Kubis, 2020)

I.1.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les méthodes utilisées pour extraire et analyser les huiles essentielles (HE) sont variées. Qu'elles soient traditionnelles ou modernes, chacune présente ses propres avantages et contraintes. Des méthodes traditionnelles telles que la distillation à la vapeur et l'hydrodistillation ont été employées, mais elles peuvent s'avérer peu performantes et entraîner la dégradation de certains composés sensibles. D'un autre côté, les techniques contemporaines visent à améliorer la durabilité et l'efficacité, en exploitant des technologies novatrices afin de maximiser le rendement et de préserver la qualité des huiles essentielles. Voici une présentation des principales approches méthodologiques employées pour l'extraction des huiles essentielles.

I.1.3.1. *Distillation à la vapeur*

Cette méthode est largement utilisée pour sa simplicité, bien qu'elle puisse causer une hydrolyse ou une oxydation des composés, affectant ainsi la qualité de l'huile (**Olascuaga-Castillo et al., 2024**).

I.1.3.2. *Hydrodistillation*

L'hydrodistillation est une technique d'extraction qui consiste à faire bouillir les plantes dans de l'eau afin de libérer leurs composés volatils. Toutefois, ce procédé est souvent long et requiert une quantité importante de solvant (**Vandana et Barua, 2024**).

I.1.3.3. *Extraction par fluide supercritique*

Cette méthode repose sur l'utilisation du CO₂ à l'état supercritique, permettant une extraction plus sélective tout en minimisant l'utilisation de solvants (**Rafiq et al., 2024**).

I.1.3.4. *Extraction assistée par micro-ondes*

Cette technique réduit considérablement le temps et l'énergie requis, tout en préservant les composés volatils (**Vandana et Barua, 2024**).

I.1.3.5. *Extraction assistée par ultrasons*

Cette méthode optimise l'efficacité d'extraction grâce aux effets de cavitation, favorisant la libération des composés bioactifs (**Rafiq et al., 2024**).

I.1.4. Méthodes d'identification chimiques des huiles essentielles

Une fois l'extrait le plus représentatif obtenu, l'analyse permet d'identifier et de quantifier les produits qui le composent

La chromatographie en phase gazeuse (GC) constitue une technique couramment employée pour établir des profils détaillés de la composition chimique des huiles essentielles (HE), fournissant des informations détaillées sur les composés volatils (Alimi et al., 2023). Les analyses couplées, notamment la combinaison de la chromatographie et de la spectrométrie de masse, permettent une identification complète des composés présents (Vandana et Barua, 2024).

I.1.5. Importance des huiles essentielles dans le monde végétal

Les huiles essentielles jouent un rôle fondamental dans le règne végétal, où elles remplissent des fonctions qui dépassent largement leurs caractéristiques aromatiques. Constituées de composés volatils bioactifs, elles agissent comme un moyen de défense naturel des plantes contre divers agents pathogènes, en plus d'attirer les pollinisateurs et de favoriser les interactions écologiques. Ce rôle défensif est renforcé par leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et insectifuges (Bolouri et al., 2022).

I.1.6. Propriétés biologiques et pharmacologiques

Les HE sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne pour traiter des pathologies comme le syndrome métabolique et le diabète, certaines, comme celles de la famille des Lamiacées, montrant une activité antivirale (Božović, Mladenović, et Ragno., 2023; Osaili et al., 2023).

Dans le domaine de l'agriculture, les huiles essentielles sont prisées pour leur potentiel comme biopesticides naturels, possédant des effets insecticides, fongicides et nématicides qui contribuent à une protection écologique des cultures (Kesraoui et al., 2022).

Les huiles essentielles offrent également une alternative prometteuse aux conservateurs synthétiques dans l'industrie alimentaire, en raison de leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, permettant ainsi une meilleure conservation des aliments tout en répondant aux attentes croissantes de naturalité (Bolouri et al., 2022 ; Elshafie, 2022).

Dans l'industrie cosmétique et les produits de soins personnels, les HE sont intégrées pour leurs effets bénéfiques sur la peau et leur potentiel à répondre aux besoins esthétiques de manière naturelle. Enfin, l'incorporation d'huiles essentielles dans la fabrication d'aliments fonctionnels met en lumière leurs effets potentiellement protecteurs et anticancérigènes, contribuant à l'élaboration de produits bénéfiques pour la santé (Vella et al., 2020 ; Matera, Lucchi, et Valgimigli., 2023).

I.1.6.1. Mécanismes d'action des huiles essentielles

Les composés bioactifs des huiles essentielles présentent une large gamme d'activités pharmacologiques grâce à leur composition chimique diversifiée. Ces composés interagissent avec diverses cibles biologiques, entraînant plusieurs mécanismes d'action. Les mécanismes d'action de ces composés bioactifs sont complexes et multiformes, impliquant des interactions aux niveaux cellulaire et moléculaire (Giordani et al., 2006 ; Tsuchiya, 2015 ; Naufal, Virginia, et Fatchiyah., 2023 ; Kumar, Bahuguna, et Kim., 2024).

❖ Mécanismes antioxydants et anti-inflammatoires

Les huiles essentielles présentent une activité antioxydante en piégeant les radicaux libres et en réduisant le stress oxydatif, ce qui est essentiel pour prévenir les maladies liées à l'inflammation (Chebbac et al., 2022 ; Lafraxo et al., 2022).

Les HE exercent des effets antioxydants en réduisant les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, et en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes. Cela est souvent lié à la modulation du facteur nucléaire kappa B (NF- κ B), qui diminue l'expression des cytokines pro-inflammatoires (de Lavoretal, 2018).

Elles ciblent également plusieurs voies de signalisation impliquées dans l'inflammation, telles que les récepteurs Toll-like et les kinases activées par les mitogènes, qui jouent un rôle crucial dans les réponses inflammatoires (Zhao et al. 2023).

❖ Mécanismes anticancéreux

Les différents composés aromatiques connus sous le nom d'huiles essentielles présentent des propriétés anticancéreuses importantes, qui peuvent être attribuées à leur capacité remarquable à induire la mort cellulaire programmée, également appelée apoptose, tout en inhibant la prolifération incontrôlée des cellules malignes qui caractérisent les tumeurs cancéreuses dans le corps humain. Cependant, les mécanismes précis restent en cours d'étude, et les recherches

suggèrent des interactions avec les voies cellulaires qui régulent la croissance et la mort cellulaire (**Abdoul-Latif et al., 2023**).

Les composés des HE peuvent également agir comme agonistes des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes, influençant le métabolisme du cholestérol et pouvant fonctionner en synergie avec d'autres agents anticancéreux (**Bahr et al., 2021**).

❖ Mécanismes antimicrobiens et antiviraux

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes en perturbant les membranes cellulaires microbiennes et en inhibant la croissance des pathogènes. Cette action est attribuée à la nature lipophile de leurs composés, qui leur permet de pénétrer et de déstabiliser les membranes microbiennes (**Elshafie, 2022 ; Johansen, Duval, et Sergere., 2022; Zhang et al., 2022**). Les propriétés pro-oxydantes des HE peuvent induire un stress oxydatif dans les cellules bactériennes, ce qui permet de surmonter les mécanismes de résistance et d'améliorer l'efficacité des antibiotiques (**D'Aquila et al., 2022; Kong et al., 2022**).

Les activités antivirales des HE sont liées à l'inhibition de la réplication virale et à l'interférence avec l'entrée du virus dans les cellules hôtes (**de Sousa et al., 2023**).

❖ Mécanismes insecticides

Les HE agissent comme insecticides en ciblant les protéines spécifiques aux hormones juvéniles et les récepteurs octopaminergiques chez les insectes, perturbant ainsi leur développement et leur neurochimie (**Corrêa et al., 2023**).

Les huiles essentielles offrent un potentiel thérapeutique considérable, bien que leur utilisation requière une étude approfondie, il est essentiel de prendre en compte leurs effets indésirables potentiels et la nécessité d'un dosage précis. La variabilité de la composition chimique due à des facteurs comme l'origine de la plante et les méthodes d'extraction peut influencer leur efficacité et leur sécurité. Par conséquent, des recherches supplémentaires et une réglementation sont nécessaires pour optimiser leur utilisation en contexte clinique (**Osaili et al., 2023**).

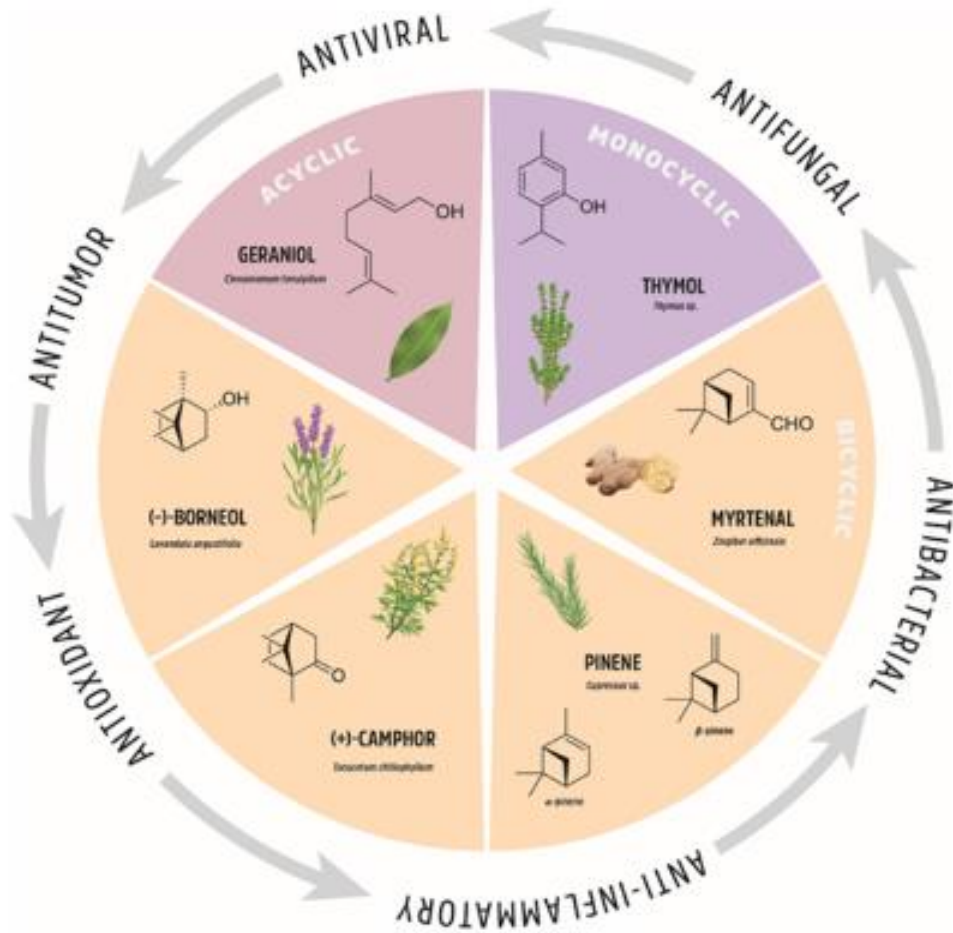


Figure 2 : L'origine naturelle des monoterpènes et leurs applications biologiques (Zielińska-Blajet et Feder-Kubis, 2020)

I.1.7. La toxicité des huiles essentielles

L'évaluation de la toxicité des huiles essentielles représente un enjeu scientifique majeur, englobant plusieurs aspects tels que la toxicité aiguë par ingestion, le potentiel génotoxique, les effets sur le développement, l'impact environnemental et les interactions avec d'autres substances.

Concernant la toxicité orale aiguë désigne les effets nocifs d'une substance après une seule administration orale. Des études ont révélé que l'huile essentielle de *Croton pulegioidorus* présente une toxicité notable à la dose de 2000 mg/kg chez la souris, effet attribué à la présence d'ascaridole, d'eucalyptol et de camphre, tandis que *Croton argyrophyllus* n'a montré aucune toxicité à cette même dose (Santos et al., 2024 ; Oliveira et al., 2024).

La génotoxicité désigne la capacité d'une substance à endommager le matériel génétique, ce qui peut entraîner des mutations ou un cancer. Le potentiel génotoxique des huiles essentielles a été étudié dans différents modèles (Silva et al., 2023).

La toxicité pour le développement fait référence au potentiel d'une substance à interférer avec le développement normal des embryons ou des larves.

L'impact environnemental des huiles essentielles est également un facteur déterminant dans leur évaluation, notamment lorsqu'elles sont utilisées comme pesticides naturels. Une étude a révélé que l'huile essentielle de *Mentha spicata* présente une toxicité plus marquée que celle de *Artemisia absinthium* contre la teigne de la pomme de terre (*Phthorimaea operculella*), suggérant leur potentiel en tant qu'alternatives naturelles aux pesticides chimiques (Mahboub et al., 2024).

La toxicité des huiles essentielles peut être influencée par leur combinaison avec d'autres substances, telles que des composés synthétiques ou d'autres huiles. Il a été rapporté que la combinaison de l'acide propionique et du benzaldéhyde renforce significativement la toxicité contre *Callosobruchus maculatus*, bien que cette synergie puisse également accroître le risque pour les organismes non ciblés (Sankar et al., 2024). De plus, l'administration conjointe de l'huile essentielle de *Piper guineense* avec la quinine chez des rats a entraîné des altérations du poids corporel et des organes ainsi que des modifications biochimiques et hématologiques, indiquant une toxicité potentielle accrue, notamment au niveau hépatique et cardiovasculaire (Daniyan et al., 2024).

La composition chimique des huiles essentielles joue un rôle important dans leur toxicité. Les différents composants peuvent avoir des niveaux de toxicité variables et leur interaction peut influencer la toxicité globale de l'huile. Une étude sur les huiles essentielles marocaines de *Mentha*

spicata et *Artemisia absinthium* a mis en évidence la présence de D-limonène, D-carvone et camphre comme constituants majeurs, leur combinaison contribuant à l'effet toxique global de ces huiles essentielles (Mahboub et al., 2024).

I.2. Activités antioxydante et antimicrobienne

I.2.1. Définition des antioxydants

Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules. En termes d'alimentation, un antioxydant a été défini comme « toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat », mais il a ensuite été défini comme « toute substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs causés à une molécule cible » (Halliwell et Gutteridge, 1989 ; Sies 1993 ; Halliwell, 1995).

Selon une autre définition, un antioxydant est une substance capable de neutraliser directement les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou d'agir indirectement en renforçant les défenses antioxydantes et en limitant la production de ROS. Ces composés peuvent également capter les radicaux libres et prolonger la conservation des produits en ralentissant la peroxydation des lipides, un processus majeur responsable de la détérioration des aliments et des produits pharmaceutiques lors de leur fabrication et de leur stockage (Halliwell, 1997 ; Gulcin, 2020).

I.2.1.1. Importance des antioxydants dans la santé

Les antioxydants jouent un rôle crucial dans le maintien de la santé en neutralisant les radicaux libres, des molécules instables qui peuvent provoquer un stress oxydatif et endommager les cellules. Ce stress oxydatif est impliqué dans le développement de diverses maladies chroniques, notamment le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète et les troubles neurodégénératifs (Çalışkan et al., 2021 ; Tyagi et al., 2023 ; Myhrstad et Wolk., 2023 ; Lalitha & Osama., 2024).

Les antioxydants, tant endogènes qu'exogènes, contribuent à atténuer ces effets en stabilisant les radicaux libres et en prévenant les dommages cellulaires.

Les antioxydants peuvent être obtenus à partir de sources naturelles telles que les fruits, les légumes et d'autres aliments d'origine végétale, qui sont riches en composés tels que les flavonoïdes, les caroténoïdes et les vitamines C et E (**Burle et al., 2023 ; Rahaman et al., 2023**).

Des antioxydants synthétiques sont également disponibles et sont utilisés dans les compléments alimentaires et les aliments fonctionnels pour augmenter l'apport en antioxydants (**Rahaman et al., 2023**).

Les antioxydants agissent par le biais de divers mécanismes, notamment le transfert d'atomes d'hydrogène et le transfert d'électrons simples, pour neutraliser les radicaux libres et chélater les ions métalliques, prévenant ainsi les dommages oxydatifs (**Santos-Sánchez et al., 2019**).

Les antioxydants enzymatiques comme la superoxydedismutase et la catalase jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie redox en convertissant les espèces réactives de l'oxygène en molécules moins nocives (**Ali et al., 2020 ; Blagov et al. 2024**).

Ils sont également utilisés dans la gestion des maladies cardiovasculaires, où des composés comme la coenzyme Q10 et le resvératrol ont montré un potentiel dans la réduction du risque de maladie (**Mlynarska et al., 2024**).

I.2.1.2. Mécanismes de l'activité antioxydante

I.2.1.2.1. Mécanismes directs

Transfert d'atomes d'hydrogène (HAT)

Ce mécanisme implique le transfert d'un atome d'hydrogène de l'antioxydant au radical libre, ce qui le neutralise. Il s'agit d'un mécanisme commun à de nombreux antioxydants, y compris les polyphénols et les flavonoïdes (**Santos-Sánchez et al., 2019 ; Hamadouche et al., 2024**).

Transfert d'un seul électron (SET)

Les antioxydants peuvent donner un électron à un radical libre, le convertissant en une espèce moins réactive. Ce mécanisme est souvent couplé à un transfert de protons (SET-PT) dans les systèmes complexes (**Santos-Sánchez et al., 2019 ; Hamadouche et al., 2024**).

Transfert d'électrons par perte séquentielle de protons (SPLET)

Ce mécanisme, identifié comme favorable dans la bétanine et la bétanidine, implique la perte d'un proton suivie d'un transfert d'électrons, piégeant efficacement les radicaux (**Ramirez-Velasquez et al., 2022**).

1.2.1.2.2. Mécanismes indirects

Modulation de la signalisation redox

Les antioxydants peuvent influencer l'homéostasie redox en modulant les niveaux d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, ce qui a un impact sur diverses voies de signalisation (**Hunyadi 2019**).

Hormèse et fonction mitochondriale

Certains antioxydants favorisent l'activation des voies de détoxification et influencent la fonction mitochondriale, renforçant ainsi la résilience cellulaire au stress oxydatif (**Franco Navarro et Martínez-Pinilla., 2019**).

1.2.1.2.3. Influences structurelles et environnementales

Structure chimique

La présence de groupes fonctionnels spécifiques, tels que les groupes hydroxyles phénoliques, renforce considérablement l'activité antioxydante. Par exemple, le groupe hydroxyle para-phénol dans les flavonoïdes de la réglisse est crucial pour leur activité antioxydante (**Hu et al., 2023**).

Solvant et conditions environnementales

L'activité antioxydante peut être modulée par l'environnement du solvant, comme dans le cas des flavonoïdes de réglisse et des dérivés du 1,3,4-oxadiazole, où la polarité du solvant affecte leur efficacité (**Bakheit et al., 2024; Hu et al., 2023**).

1.2.1.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*.

1.2.1.3.1. Essais chimiques

❖ Essai de piégeage des radicaux DPPH

Cette méthode mesure la capacité des antioxydants à réduire le radical stable DPPH, ce qui entraîne un changement de couleur qui peut être quantifié par spectrophotométrie. Elle est largement utilisée en raison de sa simplicité et de ses résultats rapides (**Gulcin.,2020; Nwachukwu et al. 2021; Oleinik et al. 2022**).

❖ **Essai de décoloration des cations radicaux ABTS**

Semblable au DPPH, ce test implique la réduction du cation radical ABTS, qui est applicable aux antioxydants hydrophiles et lipophiles (**Chaves Santiago et Alías., 2020; Gulcin.,2020**).

❖ **Test du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)**

Cette méthode évalue la réduction des ions ferriques en ions ferreux, indiquant le pouvoir réducteur de l'antioxydant. Elle est simple mais limitée aux antioxydants hydrosolubles (**Gulcin., 2020; Munteanu et Apetrei., 2021**).

❖ **Essai sur la capacité antioxydante de réduction du cuivre (CUPRAC)**

Ce test évalue la réduction des ions cuivriques et s'applique à une large gamme d'antioxydants (**Munteanu et Apetrei, 2021**).

I.2.1.3.2. Essais cellulaires

❖ *Essais biologiques ex vivo*

Ces essais utilisent des cultures cellulaires pour évaluer la capacité de l'antioxydant à pénétrer dans les cellules et à atténuer le stress oxydatif, ce qui permet de mieux comprendre la biodisponibilité et la pertinence biologique (**Nwachukwu et al., 2021; Pasqualetti et al., 2021**).

❖ **Essais biomimétiques**

Utilisant des systèmes tels que les liposomes et la myoglobine, ces essais imitent les conditions biologiques pour évaluer la réactivité des antioxydants, offrant ainsi une évaluation plus pertinente sur le plan physiologique (**Zăgrean-Tuza, Matei, et Silaghi-Dumitrescu., 2024**).

I.2.2. L'activité antibactérienne

I.2.2.1. Importance de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est reconnue comme l'une des dix principales menaces mondiales pour la santé publique par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (**White et Hughes., 2019 ; Bertagnolio et al., 2023**). On estime que d'ici 2050, les infections résistantes aux antibiotiques pourraient causer 10 millions de décès par an, dépassant le cancer comme principale cause de décès (**Band et Weiss., 2019 ; Davidovich et al., 2020**).

I.2.2.2. Mécanismes et propagation

Les bactéries développent une résistance par le biais de mutations génétiques et de transferts horizontaux de gènes, facilités par des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides et les transposons (**Davidovich et al., 2020; Ramamurthy et al., 2022**).

Les mécanismes de résistance comprennent des changements dans les sites cibles des médicaments, les pompes d'efflux et la dégradation enzymatique des antibiotiques (**Urban-Chmiel et al., 2022 ; Baran, Kwiatkowska et Potocki., 2023**).

La propagation des gènes de résistance est exacerbée par les voyages et le commerce à l'échelle mondiale, comme le montrent les gènes NDM-1 (New Delhi metallo-beta-lactamase 1) et MCR-1(mobilizedcolistin resistance-1) qui se propagent à travers les continents (**White et Hughes, 2019**).

I.2.2.3. Mécanismes d'action des agents antibactériens

Les huiles essentielles présentent une série de mécanismes antibactériens qui les rendent efficaces contre les bactéries multirésistantes. Ces mécanismes comprennent la perturbation des membranes cellulaires, l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, la dénaturation des protéines, l'inhibition des enzymes, l'endommagement de l'ADN et de l'ARN, l'interférence avec le quorum sensing, la perturbation des biofilms, l'induction d'un stress oxydatif et l'inhibition des pompes d'efflux. Chaque mécanisme contribue à l'efficacité antibactérienne des HE, souvent par une combinaison d'actions.

Perturbation de la membrane cellulaire

Les composés actifs des huiles essentielles, tels que la menthone et le cinnamaldéhyde, perturbent l'intégrité des membranes cellulaires bactériennes, entraînant une augmentation de la perméabilité et une fuite du contenu cellulaire. Cette perturbation est mise en évidence par des changements dans le potentiel et l'intégrité de la membrane, ainsi que par l'effondrement des structures cellulaires (**Duan et al., 2022; Zhao et al., 2023**).

Dénaturation des protéines et inhibition des enzymes

Les huiles essentielles peuvent modifier les structures secondaires et tertiaires des protéines bactériennes, entraînant la dénaturation et l'inhibition de l'activité enzymatique. Ce phénomène est observé dans l'action du cinnamaldéhyde, qui affecte les protéines membranaires et les enzymes, perturbant ainsi le métabolisme bactérien (**Duan et al., 2022**).

Domages à l'ADN et à l'ARN

Les HE comme l'huile de *Cinnamomum camphora* inhibent la croissance bactérienne en affectant les processus de l'ADN et de l'ARN, y compris le métabolisme et l'expression des gènes, comme le montrent les analyses de séquençage de l'ARN (**Yu et al., 2021**).

❖ Interférence avec le Quorum Sensing

Les huiles essentielles peuvent interférer avec les systèmes de communication bactériens, tels que le quorum sensing, qui est crucial pour la coordination d'activités telles que la formation de biofilms et la production de facteurs de virulence. Cette interférence peut réduire la pathogénicité bactérienne et le développement de la résistance (Suganya et al., 2022).

Perturbation du biofilm

Les HE ont démontré une activité anti-biofilm significative, perturbant la matrice protectrice du biofilm que les bactéries forment pour se protéger des antibiotiques. Ce phénomène est particulièrement observé avec les huiles de *Thymus sibthorpii* et d'*Origanum vulgare* (Ersanli et al., 2023 ; Papa et al., 2020).

Induction du stress oxydatif

Certaines HE augmentent la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) au sein des cellules bactériennes, entraînant un stress oxydatif et des dommages cellulaires. Ce mécanisme fait partie de l'action de l'huile de *Litsea cubeba* contre *Cronobacter sakazakii* (Wang et al., 2022).

Inhibition de la pompe à efflux

Les HE sont connues pour inhiber les pompes à efflux bactériennes, qui sont responsables de l'expulsion des antibiotiques et d'autres substances nocives des cellules bactériennes, améliorant ainsi l'efficacité des agents antibactériens (Suganya et al., 2022).

I.2.2.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne *in vitro*

Ces méthodes sont essentielles pour déterminer l'efficacité des HE contre différentes souches bactériennes, y compris celles qui sont résistantes aux antibiotiques conventionnels.

1) Méthodes de diffusion en disque et sur plaque de gélose

Test de diffusion en disque

Cette méthode consiste à placer des disques imprégnés d'HE sur une plaque de gélose inoculée avec des bactéries. La zone d'inhibition autour du disque indique l'activité antibactérienne de l'HE (Bismarck et al., 2022; Mollea, Bosco, et Fissore ., 2022).

Méthodes sur plaque d'agar

Il s'agit d'évaluations en phase liquide et en phase vapeur, au cours desquelles les HE sont testées pour leur capacité à inhiber la croissance bactérienne sur des plaques de gélose (**Mollea, Bosco, et Fissore., 2022**).

2) Essais par microdilution en bouillon et sur plaque de microtitration

Microdilution en bouillon

Cette méthode est utilisée pour déterminer la CMI en diluant les HE dans un bouillon et en observant la croissance bactérienne. Elle a été appliquée dans des études évaluant l'activité antibactérienne des HE contre diverses souches, y compris celles formant des biofilms (**Bismarck et al., 2022; Ersanli et al., 2023**).

Essais de biofilm sur plaque de microtitration

Ces essais évaluent la capacité des HE à inhiber la formation de biofilms et à éradiquer les biofilms établis. Cette méthode a été utilisée pour évaluer l'activité anti-biofilm des HE contre *Staphylococcus aureus* (**Aires, Barreto, et Semedo-Lemsaddek., 2021 ; Ersanli et al., 2023**).

3) Essais en phase vapeur

Ces tests évaluent l'activité antibactérienne des vapeurs d'HE, qui peuvent être particulièrement efficaces contre les bactéries aéroportées ou de surface. Cette méthode a été utilisée pour tester l'efficacité de l'huile d'arbre à thé contre les bactéries multirésistantes (**Oliva et al., 2018**).

I.3. Etude *in silico*

I.3.1. Méthodes *in Silico*: Présentation et Principes de Base

Les méthodes *in silico* sont des techniques informatiques utilisées pour simuler et analyser les processus biologiques et chimiques, qui ont un impact significatif sur des domaines tels que la découverte de médicaments, l'évaluation des risques environnementaux et la pharmacocinétique. Ces méthodes s'appuient sur des simulations informatiques pour prédire les interactions, les comportements et les propriétés des molécules, réduisant ainsi la nécessité de procéder à des essais expérimentaux approfondis (**Daniel, 2024**).

Les principales techniques *in silico* comprennent l'amarrage moléculaire, les modèles de relations quantitatives structure-activité (QSAR) et les approches d'apprentissage automatique,

chacune offrant un aperçu unique de la dynamique et des interactions moléculaires (**Gupta et al., 2024**).

Les principes de base et les applications de ces méthodes sont présentés ci-dessous :

I.3.1.1. L'amarrage moléculaire

Le docking moléculaire est une méthode *in silico* clé utilisée pour prédire l'interaction entre un médicament (ligand) et sa cible protéique (récepteur : enzyme, hormone...). Il s'agit de simuler le processus de liaison pour comprendre la dynamique moléculaire et les affinités de liaisons chimiques, permettant ainsi d'évaluer le potentiel thérapeutique des composés étudiés (**Daniel, 2024; Mathur et al., 2024**).

Les fonctions de notation et les algorithmes sont essentiels pour prédire les interactions ligand-récepteur, avec des techniques telles que l'amarrage à corps flexible et rigide qui abordent différents aspects de la flexibilité moléculaire (**Mathur et al., 2024**).

I.3.1.2. Logiciel de l'amarrage moléculaire

AutoDock, GOLD et DOCK: il s'agit de programmes de docking moléculaire largement utilisés et connus pour leurs capacités d'optimisation des composés principaux et de criblage virtuel. Ils fournissent des informations détaillées sur les interactions protéine-ligand, facilitant ainsi le processus de développement des médicaments (**Mursal et al., 2024**).

ProBiS-Dock : Intègre l'algorithme K-CliqueWeight, qui identifie efficacement les k-cliques de poids élevé dans les graphes, améliorant ainsi le processus d'arrimage en améliorant la vitesse et la précision (**Rozman et al., 2024**).

I.3.1.2.1. Aperçu du logiciel PyRx utilisé dans l'étude

PyRx est connu pour son interface utilisateur intuitive, ce qui le rend accessible aux utilisateurs de différents systèmes d'exploitation, notamment Linux, Windows et Mac OS (**Dallakyan et Olson, 2015**).

Il intègre plusieurs outils logiciels libres, tels qu'AutoDock et AutoDock Vina, qui sont essentiels à l'exécution de 'Docking-based virtual screening' DBVS. Cette intégration permet une exécution transparente des tâches d'ancrage (**Kondapuram, Sarvagalla, et Coumar., 2021**).

PyRx est largement utilisé pour le criblage virtuel de bibliothèques de petites molécules afin d'identifier des composés principaux potentiels ayant les fonctions biologiques souhaitées. Il a

été utilisé dans diverses études, notamment pour l'identification d'inhibiteurs de la protéase principale COVID-19 (**FINDRUG 2020**).

I.3.1.3. Modèles QSAR

Les modèles QSAR établissent une corrélation entre les propriétés physicochimiques des composés et leurs activités biologiques, fournissant ainsi un cadre pour prédire les effets de nouveaux composés (**Astuto et al., 2022; Daniel, 2024**).

Ces modèles sont particulièrement utiles dans les évaluations des risques environnementaux, où ils aident à combler les lacunes des données et à prédire les impacts écotoxicologiques (**Astuto et al., 2022**).

I.3.1.4. Apprentissage automatique et l'intelligence artificielle

Les techniques d'apprentissage automatique, telles que les forêts aléatoires et les réseaux neuronaux, sont de plus en plus utilisées pour prédire les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques, offrant une grande précision dans les prédictions (**Vasiliev et al., 2023**).

Les méthodes basées sur l'IA améliorent la découverte de cibles médicamenteuses et l'analyse pharmacocinétique, améliorant ainsi l'efficacité et le taux de réussite des processus de développement de médicaments (**Iwata, 2023**).

I.3.1.5. Applications dans la découverte de médicaments

Les méthodes *in silico* accélèrent la découverte de médicaments en permettant un criblage et un profilage virtuels, réduisant ainsi le temps et les coûts associés aux essais expérimentaux (**Chand, 2023; Roney et MohdAluwi, 2024**).

Si les méthodes *in silico* offrent des avantages significatifs en termes de rapidité et de rentabilité, elles ne sont pas sans limites. Des défis tels que la modélisation précise de la flexibilité conformationnelle et des effets du solvant dans l'amarrage moléculaire, et la nécessité de disposer de nombreuses données pour les modèles d'apprentissage automatique, soulignent l'importance d'intégrer ces méthodes aux données expérimentales pour les valider et les affiner (**Mathur et al., 2024; Rai et al., 2023**).

I.3.2. Applications des méthodes *in Silico* dans la Recherche Phytochimique

I.3.2.1. Thérapie du cancer

Les méthodes *in silico* ont été utilisées pour identifier les substances phytochimiques capables de surmonter la résistance aux médicaments multiples dans le traitement du cancer. Par exemple, une étude a passé au crible 375 substances phytochimiques pour déterminer leur capacité à inhiber la P-glycoprotéine, une protéine associée à la résistance aux médicaments dans les cellules cancéreuses. L'étude a identifié des composés comme la miltirone et le chamazulène, qui ont montré une forte inhibition de la croissance des cellules tumorales et une augmentation de l'absorption intracellulaire des médicaments, démontrant le potentiel des méthodes *in silico* dans la découverte de médicaments anticancéreux (Schäfer et al., 2023).

I.3.2.2. Maladies infectieuses

Des techniques *in silico* ont permis d'étudier le potentiel des composés phytochimiques pour le traitement des maladies infectieuses. Par exemple, les composés *Andrographis paniculata* ont été comparés à la toxine diphtérique, identifiant le bisandrographolide comme un candidat prometteur en raison de sa forte affinité de liaison et de ses propriétés pharmacocinétiques favorables (Al-Khayri et al., 2023). De même, des études *in silico* sur *Mimusopselengi* ont révélé des composés ayant une grande affinité de liaison avec les récepteurs impliqués dans COVID-19, suggérant des applications thérapeutiques potentielles (Sai Ramesh et al., 2023).

I.3.2.3. Applications antioxydantes et anti-inflammatoires

Les méthodes *in silico* ont également été utilisées pour identifier des substances phytochimiques ayant des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Une étude sur *Hemidesmus indicus* a identifié des composés ayant une forte affinité de liaison avec la protéine Keap1, qui est impliquée dans la réponse au stress oxydatif, suggérant leur utilisation potentielle dans le traitement des maladies induites par le stress oxydatif (Vellur et al., 2023). En outre, *Glycyrrhiza glabra* a été étudiée pour ses propriétés de renforcement immunitaire contre COVID-19, la liquiritigénine étant identifiée comme une molécule potentielle pour l'inhibition de l'activité de la protéase virale (Sekaran et al., 2024).

I.3.2.4. Maladies chroniques et mécanismes épigénétiques

Le potentiel des substances phytochimiques pour cibler les mécanismes épigénétiques dans les maladies chroniques telles que la polyarthrite rhumatoïde a été exploré à l'aide de méthodes *in*

silico. L'aglaithioduline, un composé identifié par indexation de similarité, a montré une liaison stable à HDAC8, une cible épigénétique, suggérant son utilisation potentielle dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde (**Deshpande et al., 2023**).

I.3.2.5. Découverte et développement de médicaments

Les méthodes *in silico* facilitent les premières étapes de la découverte de médicaments en prédisant les profils ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) des substances phytochimiques. Par exemple, les aloès indigènes d'Éthiopie ont fait l'objet d'un profil pour leur ressemblance avec les médicaments et leurs cibles thérapeutiques, révélant leurs effets polypharmacologiques sur diverses maladies (**Bultum et al., 2022**). De même, la génotoxicité et la toxicité d'*Annona muricata L* ont été évaluées, soulignant l'importance des études *in silico* dans l'évaluation de la sécurité des substances phytochimiques (**Ferreira et al., 2023**).

I.4. Monographie des plantes étudiées

I.4.1. Généralité sur la famille des *Lamiacées*

La famille des *Lamiacées*, communément appelée famille de la menthe, représente un groupe majeur parmi les angiospermes, 7 000 espèces réparties mondialement (**Chrysargyris, 2024**). Elle se distingue par son importance écologique, ethnobotanique et floristique, fournissant des huiles aromatiques, du bois, et des plantes aux usages ornementaux, culinaires, et médicinaux. La famille des *Lamiaceae* est organisée en 12 sous-familles et des études récentes ont permis d'identifier 22 tribus, dont trois nouvellement définies (**Li et al., 2016; Zhao et al., 2021**).

Les *Lamiacées* sont riches en métabolites secondaires, comme les diterpènes, les flavonoïdes et les huiles essentielles, souvent exploités en médecine traditionnelle pour leurs propriétés antioxydantes et antiallergiques (**Barbosa Silva Cavalcanti et al., 2019; Sim, Abd Rani, et Husain, 2019**).

Des études à l'échelle du génome ont mis en lumière des gènes tels que le Mildew Locus O (MLO) chez les *Lamiacées*, qui est impliqué dans la résistance à l'oïdium et pourrait être exploité pour sélectionner des variétés plus résistantes (**Giuseppe & Raffaella, 2023**).

La polyploïdisation récurrente observée dans cette famille, accompagnée de duplications génomiques, a également joué un rôle clé dans sa diversification rapide (**Wang et al., 2024**).

I.4.2. Genre *Satureja*

Le genre *Satureja*, appartenant à la famille des Lamiacées, regroupe environ 200 espèces d'herbes et d'arbustes aromatiques, largement réparties dans les régions méditerranéennes et en Asie.

Reconnu pour ses propriétés aromatiques et médicinales, le genre *Satureja* est très prisé dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques en raison de ses huiles essentielles et de ses composés bioactifs. Traditionnellement, ces plantes sont utilisées pour leurs bienfaits thérapeutiques, notamment pour soulager les douleurs musculaires et traiter les troubles gastro-intestinaux (**Dunkić & Bezić, 2008 ; Tepe & Cilkiz, 2016**).

Les espèces de *Satureja* sont riches en huiles essentielles, contenant des composés comme le thymol, le carvacrol et le limonène, reconnus pour leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes (**Dunkić & Bezić, 2008; Tepe & Cilkiz, 2016 ; Sefidkon & EmamiBistgani, 2021**). Certaines espèces présentent également des effets anti-inflammatoires notables. Par exemple, des études sur *Satureja nepeta* montrent son potentiel pour moduler les réponses inflammatoires en interagissant avec l'interleukine-6 (IL-6) (**Ezaouine et al., 2022**).

Satureja montana, une espèce couramment étudiée, a démontré des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires significatives, grâce à des composés comme l'acide ursolique et l'acide oléanolique (**Abdelshafeek et al., 2023**).

Les huiles essentielles de *Satureja* révèlent également des propriétés insecticides, notamment contre les larves de moustiques, suggérant une utilisation potentielle comme agents naturels de lutte contre les nuisibles (**Michaelakis et al., 2007**). Par ailleurs, des espèces comme *Satureja pilosa* montrent des propriétés prometteuses pour la cicatrisation des plaies et l'activité antibactérienne, ouvrant des perspectives dans le traitement des affections cutanées (**Panagiotidou et al., 2023**).

I.4.2.1. *Satureja candidissima* Munby Brik

I.4.2.1.1. Description Botanique

Cette plante, appartenant à la famille des Lamiacées, est recouverte d'un épais tomentum velouté de couleur blanchâtre, à l'exception de l'inflorescence. Ses feuilles sont ovoïdes, et ses fleurs, de 8 à 12 mm, sont courtement pédicellées et présentent une teinte rosée. Le calice et

l'inflorescence sont glabres. Elle pousse naturellement entre les lauriers-roses et les pelouses rocailleuses. En Algérie, on la trouve à l'état sauvage dans la région d'Oran et ses environs (**Attou, 2015**).

Elle a d'abord été décrite par Munby sous le nom de *Melissa candidissima* dans la province d'Oran. Par la suite, cette plante a été référencée sous divers synonymes, notamment *Calamintha candidissima* (Munby) Benth. Et *Satureja candidissima* (Munby) Briq (Engler et al., 1897).

Cette plante se connaît localement sous les noms de « Zaatercheleuh » et « Nabtaelbida » (**Quezel & Santa, 1962**).

I.4.2.1.2. Classification Botanique

Le classement de *Satureja candidissima* Munby Briq dans le règne des plantes est comme suit :

- **Règne** : *Plantae* (Haeckel, 1866)
- **Sous-règne** : *Viridiplantae*
- **Division** : *Magnoliophyta* (Cronquist, Takhtajan & W. Zimmermann, 1966)
- **Classe** : *Equisetopsida* (Agardh, 1825)
- **Sous-classe** : *Magnoliidae* (Novák ex Takhtajan, 1967)
- **Super-ordre** : *Asteranae* (Takhtajan, 1967)
- **Ordre** : *Lamiales* (Bromhead, 1838)
- **Famille** : *Lamiaceae* (Martinov, 1820)
- **Genre** : *Satureja*
- **Espèce** : *Satureja candidissima* (Munby) Briq.



I.4.2.1.3. Propriétés Thérapeutiques

Satureja candidissima a démontré des effets bénéfiques dans les usages traditionnels.

Une enquête ethnobotanique menée dans la région de Tlemcen révèle que la population locale utilise cette plante, connue sous le nom de « Nabta el bida », pour lutter contre la grippe, les vers intestinaux, les infections, ainsi que pour favoriser la cicatrisation des brûlures et des plaies (**Benyoucef et al., 2019**).

Elle possède également des effets spasmolytiques, utiles contre les troubles gastro-intestinaux comme l'indigestion et la diarrhée, et elle présente des actions anti-inflammatoires et analgésiques (**Attou, 2017**). Cette plante est aussi reconnue pour réduire les ballonnements, stimuler la digestion, agir comme tonique, antiseptique et antispasmodique, et soulager les coliques. Elle possède par ailleurs des vertus réchauffantes et est recommandée en cas d'infections des voies respiratoires, comme la bronchite (**Iserin, 2001 ; Chevallier et Larousse, 2001**).

En cuisine, *Satureja candidissima* Munby Brik est utilisée pour parfumer les sauces et pour préparer des plats traditionnels. Dans la région Ouest algérienne, elle est incorporée dans la « galette mbesses avec nabta », un mets composé de semoule, d'un mélange de beurre et d'huile, de sel, d'eau et de feuilles fraîches de la plante finement hachées.

Dans la région de Sid Safi, on prépare le « Rfiss », un plat fait de semoule, de beurre, de sel, d'eau et de feuilles fraîches de la plante. Une fois cuite, cette préparation est découpée en morceaux et mélangée avec du lait ou du beurre fondu (**Attou, 2017 ; Bouriah, 2023**).

Cette plante, restée longtemps peu étudiée, présente une large gamme d'applications médicinales et culinaires appréciées par les populations locales, qui en valorisent ses multiples bienfaits dans leur quotidien.

I.4.3. Genre Nepeta

Le genre *Nepeta*, faisant partie de la famille des Lamiacées, regroupe environ 300 espèces de plantes reconnues pour leurs propriétés médicinales et aromatiques. Ces espèces sont largement réparties en Afrique, en Asie, en Inde et en Amérique. Les plantes du genre *Nepeta* sont renommées pour leurs utilisations en médecine traditionnelle et sont appréciées pour leurs composés phytochimiques, qui confèrent divers effets thérapeutiques (**Razavi, Ghaffari, et Bidarlord., 2018 ; Mollova et al., 2023**).

Les espèces de *Nepeta* sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de divers maux, tels que le rhume, la fièvre, et d'autres troubles. La forme de préparation la plus courante est la décoction, avec une préférence pour les feuilles utilisées à des fins médicinales (**Manzoor et al., 2023**). Le genre présente une gamme d'effets pharmacologiques, notamment des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires et sédatives, attribuées à la présence d'huiles essentielles et d'autres composés bioactifs (**Salehi et al., 2018 ; Acquaviva et al., 2023**).

Les espèces de *Nepeta* contiennent deux principaux types de composés aromatiques : la népétalactone et le 1,8-cinéole/linalool. Ces composés sont responsables des diverses activités biologiques du genre, incluant des effets potentiels antidépresseurs et cardioprotecteurs (**Salehi et al., 2018**). Des espèces spécifiques, comme *Nepeta paulsenii*, ont démontré des effets cytotoxiques contre des lignées de cellules cancéreuses, soulignant leur potentiel en oncologie (**Hanif et al., 2023**). Ce potentiel médicinal et aromatique fait du genre *Nepeta* un sujet de grand intérêt pour la recherche de nouvelles applications thérapeutiques et de nouveaux composés bioactifs.

I.4.3.1 Espèce étudiée : *Nepeta nepetella* subsp. *Amethystina* (Poir.) Briq

I.4.3.1.1. Description Botanique

Nepeta nepetella subsp. *Amethystina* (Poir.) Briq est une plante médicinale récemment répertoriée en Algérie, où elle n'avait pas encore été signalée (**Bouafia, 2021**). Cette espèce se développe dans l'Atlas saharien, préférant les milieux secs et rocailleux, et elle est appelée localement "Gouzia".

Cette plante odorante et vivace, mesurant entre 20 et 50 cm de hauteur, fleurit de juin à août. Ses tiges quadrangulaires sont ramifiées et portent des feuilles opposées, lancéolées et crénelées, mesurant de 1 à 2 cm sur 0,4 à 0,8 cm, avec une teinte grisâtre caractéristique. Les inflorescences sont formées de cymes axillaires courtes et lâches, accompagnées de petites bractées écailleuses. La floraison présente des fleurs bleues, une corolle irrégulière bilabée avec quatre étamines (les inférieures étant plus courtes que les supérieures), un calice à cinq dents, et des fruits constitués de quatre akènes soudés (**Quézel et Santa, 1963 ; Valdés et al., 1987**).

I. 4.3.1.2. Classification Botanique

Sur le plan taxonomique, *Nepeta nepetella* subsp. *Amethystina* est classée, selon Quézel et Santa (1962), Cantino et al. (1992), Ubera et Valdés (1983), ainsi que Valdés et al. (1987), de la manière suivante :

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Ordre : Tubiflorales

Famille : Labiées

Sous-famille : Nepetoide

Genre : *Nepeta*

Espèce : *Nepeta nepetella*

Sous-espèce : *Nepeta amethystina*



I.4.3.1.3. Propriétés Thérapeutiques

Les espèces du genre *Nepeta* sont traditionnellement utilisées pour leurs effets fortifiants, diurétiques, diaphorétiques, antispasmodiques, et antiasthmatiques, ainsi que pour lutter contre les bactéries, les champignons, les virus et les insectes (Usher, 1984 ; Gkinis et al., 2003 ; Touami, 2017).

Les huiles essentielles de certaines espèces de *Nepeta* ont été largement étudiées, notamment pour leur teneur en nepetalactone (Dabiri et Sefidkon, 2003 ; Sefidkon et al., 2006).

En Algérie, une seule étude a exploré l'activité antimicrobienne et la composition chimique de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Nepeta nepetella* subsp. *Amethystina* (Poir.) Briq. (Bellahsene et al., 2015). Ces résultats pourraient favoriser l'émergence de nouvelles recherches en vue d'études biologiques et pharmacologiques complémentaires.

Chapitre II : Matériels et méthodes

II. Matériels et méthodes

Ce travail vise à investiguer les activités antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de deux plantes médicinales *Nepeta Nepetella* et *Satureja Candidissima* ainsi que leur profil phytochimique.

Dans ce contexte, l'étude comporte les deux parties suivantes :

➤ **La partie *in vitro*** comprend :

- L'extraction des huiles essentielles.
- Caractérisation physico-chimiques des huiles essentielles.
- Caractérisation chromatographique des huiles essentielles par GC/MS.
- Evaluation de l'activité antioxydante « CAT, DPPH, FRAP».
- Evaluation de l'activité antibactérienne « authentification des souches testé par coloration de gram - test de catalase, diffusion en puits».

➤ **La partie *in silico*** comprend :

- Sélection des cibles : Identification des protéines d'intérêt.
- Préparation des ligands : Optimisation des structures moléculaires.
- Docking moléculaire : Simulation des interactions ligand-protéine.
- Analyse ADMET : Prédiction des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques.

Huile essentielle obtenue par hydrodistillation de 4 heures à l'aide de l'appareil Clevenger.



Etude In vitro

Etude In silico

Etude phytochimique

Activité Antioxydante

Activité Antibactérienne



Les structures 3D des composés ont été dessinées à l'aide de ChemDraw et l'énergie a été minimisée à l'aide du logiciel Chem3D.

Composés ancrés via PyRxAutoDock Vina.

Admet



II.1. Matériels utilisés

II.1.1. Matériel végétal

Satureja candidissima Munby Brik et *Nepeta nepetella* subsp. *Amethystina* sont des plantes médicinales et aromatiques appartenant à la famille des *Lamiaceae* ou *Labiatae*.

La récolte des échantillons frais (partie aérienne) de *Satureja candidissima* et *Nepeta nepetella* a été effectuée dans les régions d'Ain Temouchent (35° 17' 22" N, 1° 08' 28" W) et d'Ain Safra (32° 45' 20" N 0°35'09" W) respectivement pendant la période de floraison.

En ce qui concerne l'identification botanique des deux espèces étudiées, *Nepeta nepetella* a été identifiée par le professeur Gherib (université de Naama) et *Satureja candidissima* par le professeur de science Mr Ghernaout.

Après la récolte, le matériel végétal est nettoyé (débarassé des débris) et séché à l'ombre et à l'air libre. Une fois séché, les plantes sont soumises à l'extraction.



(A)

Satureja candidissima (A)



(B)

Nepeta nepetella (B)

II.1.2. Souches bactériennes

L'efficacité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée contre une série de bactéries gram-positives, dont *Bacillus cereus* ATCC 25921, *Bacillus cereus* groupe IV caractérisé par Ziane et al. (2014), *Bacillus cereus* groupe III identifié par Ziane et al. (2016),

Chapitre II : Matériels et méthodes

et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ces souches ont été fournies par le laboratoire de, Département de SNV, Institut des sciences et technologies, Université Belhadj Bouchaib, Aïn Temouchent.

Tableau 1 : Description et pouvoir pathogène des souches testées

Espèce	Gram	Code ATCC	Habitat	mode de contamination	Références
<i>Bacillus cereus</i>	+	25921	Sol, eau, aliments (riz, produits laitiers)	Ingestion d'aliments contaminés (toxines)	(Jessberger et al., 2020)
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	6538	Peau, muqueuses, aliments	Contact direct, ingestion, aérosols	(Argudín, Mendoza, et Rodicio.,2010)
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	19111	Sol, eau, aliments (produits laitiers, viandes)	Ingestion d'aliments contaminés	(Silva et al., 2024)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	27853	Eau, sols, surfaces hospitalières	Contact avec surfaces contaminées, aérosols	(Schwartz et al., 2024)
<i>Escherichia coli</i>	-	8739	Intestin des humains et animaux, eau contaminée	Eau/aliments souillés, contact direct	(Schoch et al., 2020)

II.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. 100g de la partie aérienne des plantes étudiées sont introduite dans un ballon de 2 litres rempli d'eau aux 2/3 de son volume, l'ensemble est porté à ébullition pendant trois heures après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur, en prenant garde de ne pas chauffer jusqu'à sec.

Les vapeurs chargées d'huile en traversant un réfrigérant se condensent dans une burette graduée. Après l'élimination des traces d'eau avec du sulfate de sodium anhydre, l'huile essentielle est récupérée et est conservée dans des tubes en verre fermé hermétiquement à l'abri de la lumière et à une température entre 4 et 6°C. Le dispositif de l'extraction est représenté dans la figure ci-dessous :



Figure 3 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger)

II.2.1. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'huile essentielle extraite et le poids de la plante traité (AFNOR, 1986)

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) selon la formule suivante :

$$\mathbf{R\% = (m_{HE}/m_{VS}) \times 100} \quad \text{d'où}$$

R : rendement en huile essentielle

m_{HE} : masse en grammes de l'huile essentielle

m_{VS} : masse en grammes du matériel végétal sec

II.2.2. Etude des propriétés organoleptiques (couleur, odeur, aspect)

Chaque huile essentielle est caractérisée par ces propriétés organoleptiques. L'appréciation des propriétés organoleptiques des huiles essentielles nécessite l'utilisation de nos sens afin d'évaluer l'odeur, la couleur et l'aspect.

II.3. Analyses physico-chimique de l'huile essentielle

La caractérisation des huiles essentielles s'attache surtout à la détermination de la densité et de l'indice de réfraction.

II.3.1. Densité relative

La densité relative à 20 °C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20 °C, à la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20 °C. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est D. Elle est calculée par la formule suivante :

$$D_{20}^{20} = m' / m$$

Où :

- m' : la masse en gramme de l'huile essentielle
- m : la masse en gramme de l'équivalent volume en eau dans les mêmes conditions (AFNOR, 1986).

II.3.2. Indice de réfraction

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'extrait maintenu à une température constante (AFNOR, 1986).

L'indice de réfraction a été mesuré en utilisant un réfractomètre Schmidt Haensch.

II.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse CG/SM

❖ *Principe*

La GC-MS a été utilisée afin d'analyser le poids moléculaire, la composition élémentaire et la structure moléculaire des composés présents dans l'échantillon. Elle utilise deux instruments analytiques différents, la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse. On utilise la chromatographie en phase gazeuse afin de séparer et détecter les différents composants chimiques des échantillons, ainsi que pour déterminer leurs quantités. En revanche, la spectrométrie de masse permet de mesurer le rapport entre la masse et la charge (m/z) des particules chargées (**Hübschmann, 2015**).

❖ *Mode opératoire*

Les huiles essentielles ont été analysées par un chromatographe en phase gazeuse capillaire Shimadzu connecté directement à un système de spectrométrie de masse. Les modèles GC-2010plus et GCMS-TQ8030 de la société Shimadzu scientifique instruments a été utilisée pour effectuer l'analyse.

Une colonne capillaire de 30 m de long et d'un diamètre intérieur de 0,31 mm et d'une épaisseur de film de 0,25 mm a été utilisée.

Les conditions suivantes ont été appliquées : la température du four de la colonne a été réglée à 60,0°C, la température d'injection à 230°C, le mode d'injection à la division, la pression à 100 kPa, le débit total à 7,3 mL/min, le débit de la colonne à 4,33 S mL/ min, vitesse linéaire de 75,9 cm/s, débit de purge de 3,0 mL/min, et le rapport de fractionnement à -1,0. La température de la colonne a été programmée pour passer de 60,0 à 230,0°C à un taux de 2,00°C/min.

Pour le spectromètre de masse (MS), la température de la source d'ions était de 200,00°C, la température de l'interface était de 230,00°C, le temps de coupure du solvant était de 3,00 min et le gain du détecteur a été fixé à 0,80 kV

II.5. Etudes *in vitro* des activités biologiques

II.5.1. Détermination de l'activité antioxydante

II.5.1.1. Capacité antioxydante totale (TAC)

❖ *Principe*

La méthode TAC évalue l'activité antioxydante totale en mesurant la réduction du molybdène hexavalent (Mo(VI)) en molybdène pentavalent (Mo(V)) par l'antioxydant présent dans l'échantillon. Cette réaction forme un complexe vert de phosphate/Mo(V) dont l'absorbance est mesurée à 695 nm.

❖ *Mode opératoire*

Un volume de 0.1 ml de solution mère de l'huile essentielle a été combiné avec 1 mL de solution réactive (acide sulfurique 0,6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes à essai contenant la solution réactionnelle ont été incubés à 95°C pendant 90 min. Ensuite, l'absorbance de la solution a été mesurée à 695 nm par rapport au blanc après refroidissement à température ambiante.

La courbe d'étalonnage a été préparée en mélangeant de l'acide ascorbique avec du méthanol. Le méthanol (0,1 ml) à la place de l'huile essentielle est utilisé comme blanc. L'activité antioxydante est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique (**Wan et al.,2011**).

II.5.1.2. Essai de piégeage des radicaux libres DPPH

❖ *Principe*

Le DPPH, connu officiellement comme le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, est un radical libre stable utilisé fréquemment pour évaluer la capacité des composés à piéger les radicaux libres ou à donner de l'hydrogène. La réaction du DPPH avec un antioxydant ou un composé réducteur peut être suivie par le changement de couleur de pourpre au jaune (absorption de 515 à 528 nm) (**Kedare et Singh 2011**).

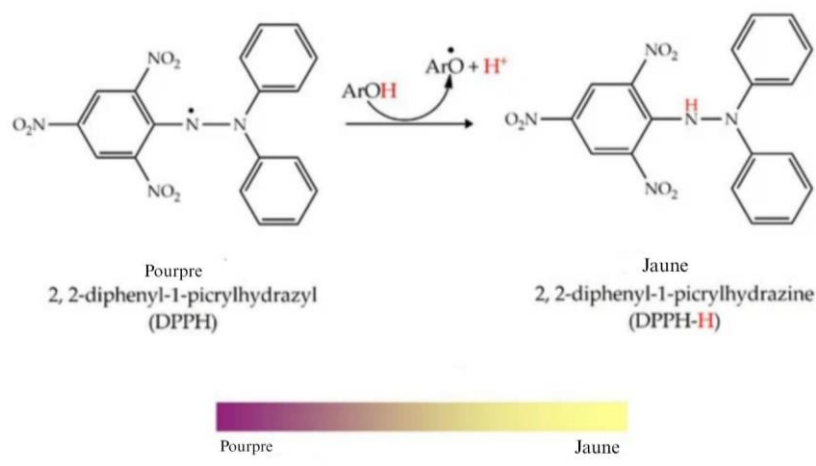


Figure 4 : Réaction du DPPH avec un antioxydant (Bibi Sadeer et al. 2020)

❖ *Mode opératoire*

La solution DPPH à une concentration de 1 mM a été mélangée avec des huiles essentielles à différentes concentrations, utilisant un ratio de 1 ml pour chaque échantillon d'huile essentielle.

Les échantillons d'huile essentielle ont été préparés par dissolution dans le méthanol à raison de 500µg/ml. Cette solution, dite solution mère, a subis ensuite des dilutions pour avoir les concentrations suivantes : 250, 125, 62.5, 31.25µg/ml. Ces mêmes concentrations ont été préparées avec l'acide ascorbique pour servir en tant que témoin positif. On réalise également un blanc avec le méthanol absolu seul. Pour chaque concentration, le test est répété trois fois.

Les échantillons sont ensuite laissés à l'obscurité pendant 30 minutes, et la décoloration par rapport au témoin négatif contenant uniquement la solution du DPPH est mesurée à 517 nm (**Bouhdid et al. 2008**).

Le pourcentage d'inhibition (AA%) de l'activité antiradicalaire est calculé selon la formule suivante:

$$AA (\%) = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Où

Ac : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance de l'échantillon.

II.5.1.3. La méthode de réduction de fer « *Ferric Reducing Antioxydant Power (FRAP)* »

❖ *Principe*

Les substances qui ont un potentiel de réduction, réagissent avec le ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) pour former le ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe ferreux ferrique qui a un maximum d'adsorption à 700 nm (Arulpriya et al., 2010 ; Vijayalakshmi et Ruckmani, 2016).

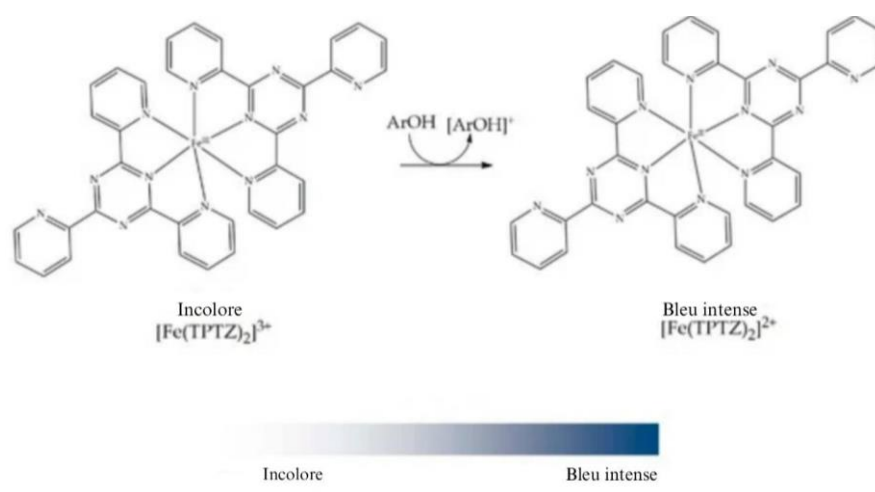


Figure 5 : Réaction du test FRAP (Bibi Sadeer et al. 2020)

Le dosage est proportionnel à la concentration molaire des antioxydants, ce qui en fait un indicateur fiable de la capacité antioxydante (Hsieh et Rajashekaraiyah, 2021).

❖ *Mode opératoire*

Dans un tube à essai contenant 1ml de chaque concentration des huiles essentielles testées, on a ajouté 0,5ml de tampon phosphate (0,2M à pH 6,6) et 2,5 ml d'hexacyanoferrate de potassium (10g/l). Le tube est chauffé à 50°C pendant 20 min dans un bain marie. Un volume de 2,5 ml d'acide trichloracétique (100 g/l) est ajouté au mélange qui est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min. Enfin, 2,5 ml du surnageant ont été mélangé avec 2.5 ml d'eau Distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique (1 g/l). Un contrôle sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions. La lecture est à 700 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif (Mourabiti et al., 2024; Oyaizu, 1986).

II.5.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Dans la présente étude de l'activité antimicrobienne *in vitro* des huiles essentielles testées a été évaluée qualitativement et quantitativement par la technique : la diffusion par puits sur milieu gélosé, permettant d'évaluer l'activité au contact.

II.5.2.1. Souches bactériennes

L'efficacité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluées contre une série de bactéries gram-positives, dont *B. cereus* ATCC 25921, *B. cereus* groupe IV caractérisé par Ziane et al. (2014), *B. cereus* groupe III identifié par Ziane et al. (2016), et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ces souches microbiennes particulières ont été reconnues comme les principaux responsables des épidémies d'origine alimentaire, selon le rapport de l'EFSA One Health 2019 Zoonoses Report (EFSA et ECDC, 2021).

Les souches microbiennes sélectionnées sont repiquées dans des tubes à essai contenant le bouillon d'infusion de cœur de cerveau (BHI) et incubées à 37°C pendant 24 h afin d'obtenir une culture jeune. Après incubation, la pureté des souches a été évaluée par l'observation macroscopique de l'apparence des colonies et l'observation microscopique des cellules après coloration de Gram. L'authentification des souches testées a été confirmée à l'aide de deux tests : l'observation microscopique après coloration de Gram et le test de la catalase.

❖ Préparation des suspensions microbiennes (inoculum)

Les souches microbiennes testées sont repiquées un milieu nutritif solide et incubées pendant 18 heures afin d'obtenir une culture jeune. Ensuite, des colonies sont prélevées et diluées dans de l'eau physiologique pour avoir une absorbance équivalente à 0.5 Mc Farland

II.5.2.2. Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits)

❖ Principe

La méthode de diffusion sur gélose est la technique largement employée en microbiologie pour évaluer l'activité antimicrobienne de diverses substances, comme les antibiotiques, les extraits végétaux ou les composés chimiques. Grâce à cette méthode, il est possible de déterminer la sensibilité ou la résistance d'un micro-organisme à un agent antimicrobien spécifique.

❖ **Mode opératoire**

À l'aide d'un écouvillon stérile, les suspensions microbiennes préparées sont étalées uniformément sur des boîtes de Petri contenant un milieu Mueller Hinton solidifié avec une épaisseur de 8mm

Après séchage des cultures, un puits d'environ 6 mm a été creusé à l'aide de tubes à essai en verre stériles (type Cloche de Durham). En fin, un volume de 5 µL des huiles essentielles à testées de *Satureja candidissima* et *Nepeta nepettela*, ainsi que des témoins d'activité (le Thymol) sont ajoutés dans les puits. Les cultures étaient incubées à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats consiste à mesurer le diamètre des zones d'inhibition autour des puits, exprimé en millimètres.

Les huiles essentielles seront ainsi classées selon l'échelle de Ponce et al. 2003 (93) en :

- HE non active (-) : si le diamètre d'inhibition ne dépasse pas 8mm
- HE active (+) : si 9 < diamètre <14mm
- HE très active (++) : si 15 < diamètre <19mm
- HE extrêmement active (+++) : si le diamètre dépasse 20mm

II.6. analyses statistiques

L'analyse statistique des données a été réalisée en utilisant la méthode de l'analyse de variance (ANOVA). Qui permet d'analyser les différences entre les moyennes des groupes examinés (les huiles essentielles et l'acide ascorbique) en fonction des diverses concentrations expérimentées.

Les valeurs de F obtenues et de probabilité (p-value) indiquent si ces différences sont statistiquement significatifs.

La valeur de probabilité de $p < 0,05$ a été considérée comme indiquant une différence statistiquement significative.

II.7. Étude *in silico*

II.7.1. Docking moléculaire

❖ Principe

Le docking moléculaire est une approche de modélisation qui vise à anticiper la manière dont deux molécules, comme des médicaments ou des protéines, interagissent entre elles. Cette méthode repose sur l'utilisation de modèles informatiques pour estimer la configuration tridimensionnelle des molécules en interaction. L'ambition principale est de déterminer des structures tridimensionnelles crédibles pour les molécules examinées. Les solutions proposées par le docking sont ensuite évaluées et classées selon divers critères afin de déterminer la configuration la plus susceptible d'exister dans un contexte naturel.

Plus spécifiquement, la méthode de docking moléculaire implique de prédire la position et la conformation d'une petite molécule (appelée ligand) lorsqu'elle se lie à une molécule plus grande, souvent une protéine (le récepteur). L'objectif est de simuler l'interaction entre ces deux molécules au niveau des atomes pour identifier la configuration du complexe formé qui offre la plus grande stabilité (**Huang et Zou, 2010 ; Ferreira et al., 2015 ; Ahuja et al., 2022; Arya et Kaur, 2022**).

II.7.1.1. Dessin et minimisation des ligands

Les structures tridimensionnelles (3D) de tous les composés chimiques présents dans les deux plantes médicinales analysées ont été élaborées à l'aide du logiciel ChemDraw Professional 15 (**Novitasari, 2021**). Par la suite, ces structures ont été optimisées en termes d'énergie à l'aide du logiciel Chem3D 15.0 (**PerkinElmer, États-Unis**).

Les ligands ainsi obtenus ont été préparés pour les études de docking en utilisant l'outil Python Prescription Virtual Screening (PyRx) (**Dallakyan et Olson, 2015**). Les fichiers au format sdf des ligands ont été convertis en format pdbqt à l'aide du logiciel OpenBabel intégré dans PyRx (**O'Boyle et al., 2011**).

II.7.1.2. Sélection et préparation des cibles

Les structures tridimensionnelles (3D) des protéines cibles, présentées dans les photos suivantes, ont été obtenues en téléchargeant des fichiers PDB contenant la conformation

tridimensionnelle de l'enzyme depuis la base de données Protein Data Bank RCSB (<https://www.rcsb.org/>) (Berman et al., 2000).

Dans notre étude, le docking a été réalisé avec les codes 1JZQ, 1KZN, 2VEG, 3SRW, 3TTZ, 3UDI, 4ALL comme cibles antibactériennes et 1OG5, 2CDU, 3NRZ comme cibles antioxydantes, car ce sont des structures correctement définies avec des résolutions respectives de 3.00 Å, 2.30 Å, 2.40 Å, 1.70 Å, 1.63 Å, 2.60 Å, 2.80 Å et 2.55 Å, 1.80 Å, 1.80 Å et largement reconnue et utilisée dans de nombreux articles scientifique (Alves et al., 2014; Kannabiran, 2016 ; Aouf et al., 2022; Boudechicha et al., 2024).

Les complexes protéiques ont été séparé de ses ligands afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre. Le récepteur est ensuite préparé par Auto Dock Tools (version 1.5.6, The ScrippsResearch Institute, La Jolla, CA, USA) en éliminant les molécules d'eau, les hétéroatomes, les chaînes protéiques indésirables et les ligands cocrystallisés.

Ensuite des atomes d'hydrogène polaires et des charges de Gesteigeront été ajoutée. Les structures résultantes ont été converties au format pdbqt requis par le programme Auto Dock Vina.

II.7.1.3 Protocole de docking




Le processus de docking moléculaire des composés a été effectué à l'aide du logiciel graphique PyRx, en utilisant l'algorithme de notation d'AutoDock Vina pour estimer l'énergie d'interaction (ΔG) de chaque ligand avec la protéine cible (Dallakyan et Olson, 2015).



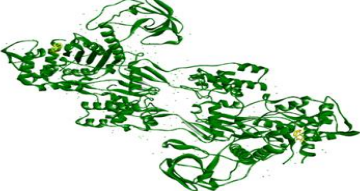
Pour démarrer, la protéine et les molécules de ligand ont été sélectionnées et positionnées dans l'assistant Vina. Une boîte de grille a ensuite été placée autour de la structure de la protéine, en ajustant sa taille pour englober les résidus du site actif préalablement identifiés. Le logiciel AutoDock Vina a été exécuté avec ces paramètres pour réaliser le docking des ligands.



La boîte de grille définissait l'espace de recherche pour le docking, avec ses dimensions et son emplacement déterminés en fonction des coordonnées du site actif de la protéine (voir tableau 2 pour les détails).

Les résultats du docking ont été obtenus sous forme de valeurs d'énergie libre de liaison (ΔG , en kcal/mol) pour chaque molécule testée. L'analyse des interactions entre les ligands et

la protéine a été réalisée à l'aide de BIOVIA Discovery Studio 2021 Client, tandis que l'évaluation de la précision des prédictions de docking a été effectuée en calculant les valeurs de déviation quadratique moyenne (RMSD) avec le logiciel PyMOL.

Récepteur	Code PDB	Ligand co-cristallisé	Centre de la grille	Taille de la grille	Structure 3D
Isoleucyl-tRNA synthetase	1JZQ	N-[isoleuciny]-n'-[adenosyl]-diaminosufone (ILA)	center_x = -27.9244 center_y = 6.7316 center_z = -28.9219	size_x = 16.5063 size_y = 12.1031 size_z = 6.7610	
ADN gyrase	1KZN	Clorobiocin (CBN)	center_x = 19.1535 center_y = 30.3937 center_z = 34.7436	size_x = 13.6159 size_y = 15.6881 size_z = 19.3188	
Dihydropteroate synthase	2VEG	Pterin-6-yl-methyl-monophosphate (PMM)	center_x = 31.1645 center_y = 48.2070 center_z = 0.0389	size_x = 9.0647 size_y = 12.2710 size_z = 8.8451	

Dihydrofolatere ductase	3SRW	7-(2-ethoxynaphthalen-1-yl)-6-methylquinazoline2,4-diamine (Q27)	center_x = -5.1462 center_y = -32.1218 center_z = 6.0652	size_x = 9.0414 size_y = 12.7914 size_z = 7.2857	
DNA gyrasesubunit B	3TTZ	2-[(3S,4R)-4-[(3,4-dichloro-5-methyl-1H-pyrrol-2-yl)carbonyl]amino}-3-fluoropiperidin-1-yl]-1,3-thiazole-5-carboxylic acid (07 N)	center_x = 16.0885 center_y = -18.9871 center_z = 6.7818	size_x = 21.7448 size_y = 14.4702 size_z = 12.0405	
Penicillin-binding protein 1aPBP1a	3UDI	Penicillin G-open form (PNM)	center_x = 34.0974 center_y = -0.6934 center_z = 12.5146	size_x = 8.2053 size_y = 9.8831 size_z = 10.5326	

<p>Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH]</p>	<p>4ALL</p>	<p>Triclosan (TLC)</p>	<p>center_x = 0.8499 center_y = -21.5459 center_z = -23.3818</p>	<p>size_x = 6.8737 size_y = 6.4816 size_z = 9.8664</p>	
<p>CYTOCHROM E P450 2C9</p>	<p>1OG5</p>	<p>S-WARFARIN (SWF)</p>	<p>center_x = -20.3082 center_y = 86.8182 center_z = 38.6554</p>	<p>size_x = 8.5196 size_y = 7.9703 size_z = 8.3328</p>	


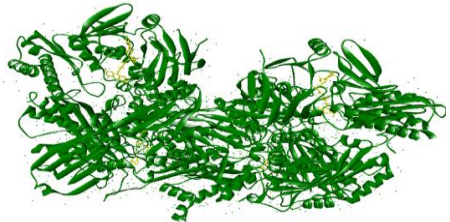
<p>NADPH OXIDASE</p>	<p>2CDU</p>	<p>ADENOSINE-5'- DIPHOSPHATE (ADP)</p>	<p>center_x = 18.6264 center_y = -6.1721 center_z = -0.4429</p>	<p>size_x = 9.8077 size_y = 11.2666 size_z = 13.9974</p>	
<p>Xanthine dehydrogenase/o xidase</p>	<p>3NRZ</p>	<p>HYPOXANTHINE (HPA)</p>	<p>center_x = 37.9405 center_y = 19.6880 center_z = 18.0849</p>	<p>size_x = 12.1100 size_y = 9.6306 size_z = 12.0415</p>	

Tableau 2 : Paramètres d'amarrage moléculaire et cibles protéiques.

II.7.2. Analyse ADMET

La sélection des ligands pour l'analyse du profil ADMET repose sur deux critères principaux. Tout d'abord, nous avons étudié le profil ADMET de tous les composants majoritaires des huiles essentielles ceux présentant les concentrations les plus élevées. Ensuite, nous avons inclus dans notre analyse les ligands caractérisés par une affinité de liaison élevée avec les cibles biologiques 3NRZ et 4ALL. Cette approche nous permet d'évaluer à la fois les principaux constituants des huiles essentielles et les molécules présentant un fort potentiel d'interaction, garantissant ainsi une analyse approfondie de leur comportement pharmacocinétique et toxicologique.

Le logiciel ChemDraw Professional 15.0 a été utilisé pour représenter les structures des composés sélectionnés dans les huiles essentielles en vue des analyses pharmacocinétiques, couvrant l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion (ADME). Les ligands ont été convertis au format SMILES comme illustré dans le tableau 3 puis leurs propriétés pharmacocinétiques ont été évaluées à l'aide de l'outil ADME du serveur en ligne SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>, consulté le 02 mars 2025) (Daina et al., 2017).

Par ailleurs, l'évaluation du profil toxicologique a été réalisée à l'aide de la plateforme ProTox-3 (<https://tox.charite.de/protox3/>, consulté en mars 2025), qui permet de prédire divers paramètres de toxicité, notamment l'hépatotoxicité, la cytotoxicité, la mutagénicité, la cancérogénicité et l'immunotoxicité et la dose létale 50 (DL50) et la classe de toxicité (Banerjee et al., 2024).

		Molécule	SMILES canonique
<i>Satureja candidissima</i>	Composants majeurs	Lig29	Pulegone <chem>CC1CC(/C(CC1)=C(C)/C)=O</chem>
		Lig15	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, trans <chem>O=C1[C@H](C(C)C)CC[C@@H](C)C1</chem>
		Lig35	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo) borneol <chem>OC1[C@@](C2(C)C)(C)CCC2C1</chem>
		Lig46	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene) <chem>O=C1C=C(C)CC/C1=C(C)\C</chem>
	Composants ayant un pouvoir antioxydant	Lig8	Benzene, methyl(1-methylethyl)- <chem>CC(C1=CC=CC=C1)C</chem>
		Lig9	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- <chem>C/C(C)=C1CC=C(C)CC/1</chem>
		Lig17	Benzofuran, 4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl- <chem>CC(C1)CCC2=C1OC=C2C</chem>
		Lig31	2-cyclohexen-1-one, 2-(2-methyl-2- <chem>O=C1C(CC(C)=C)=CCCC1</chem>

		propenyl)-	
	Lig32	Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	<chem>C=CCC1=CC=C(OC)C=C1</chem>
	Lig38	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-	<chem>O=C1C(C)=CCC(C(C)=C)C1</chem>
	Lig43	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethenyl)-, (+)-	<chem>O=C1C=C(C)CCC1C(C)=C</chem>
	Lig46	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)-	<chem>O=C1C=C(C)CC/C1=C(C)\C</chem>
	Lig49	2-Allyl-4-methylphenol	<chem>OC1=CC=C(C)C=C1CC=C</chem>
Composants ayant un pouvoir antibactérien	Lig30	1,4,8-cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (e,e,e)-	<chem>C/C1=C\CC(C)(C)/C=C/C/C(C)=C/CC1</chem>
	Lig34	1,6-cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(e,e)]-	<chem>CC([C@H]1/C=C/C(CC/C=C(C)/CC1)=C)C</chem>

		Lig37	Bicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tetramethyl-, (1r*,2z,6e,10r*)-(.-.-)	<chem>CC1(C)[C@]2([H])CC/C(C)=C/CC/C(C)=C\[C@@]12[H]</chem>
		Lig40	Cedrene	<chem>C=C1CC[C@]2(C(C)([C@H]3C[C@@]12CC[C@H]3C)C)[H]</chem>
		Lig50	1-Hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene	<chem>CC(C1/C=C/C(C)(O)CC/C=C(C)/CC1)C</chem>
		Lig51	1h-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-	<chem>OC(C1C(C2(C)C)C2CC3)(C)CCC1C3=C</chem>
<i>Nepeta Nepetella</i>	Composants majeurs	Lig42	4a Alpha, 7alpha, 7a Beta-Nepetalactone	<chem>C[C@@H]1CC[C@H]2[C@H]1C(=O)OC=C2C</chem>
		Lig37	4a Alpha, 7alpha, 7a Alpha-Nepetalactone	<chem>C[C@]([C@@]12[H])([H])CC[C@@]1([H])C(C)=COC2=O</chem>
		Lig57	Spiro[5.6]dodecane	<chem>C1CCCCC12CCCCC2</chem>
		Lig16	Camphor	<chem>CC12C(CC(C(C)2C)CC1)=O</chem>

Composants ayant un pouvoir antioxydant	Lig26	Farnesene <(E)-, beta->	<chem>CCC(CC/C=C(CC/C=C(C)/C)\C)=C</chem>
	Lig28	4-Ethylbenzoic acid, 3-phenylpropyl ester	<chem>O=C(OCCCC1=CC=CC=C1)C2=CC=C(CC)C=C2</chem>
	Lig34	Hydrocinnamate <ethyl->	<chem>O=C([O-])C(CC)CC1=CC=CC=C1</chem>
	Lig51	Alpha.-bisabolol	<chem>CC1=CC[C@H](CC1)[C@](C)(CCC=C(C)C)O</chem>
Composants ayant un pouvoir antibactérien	Lig15	Copaene	<chem>CC1=CC[C@H]2[C@H]3[C@@H]1[C@@]2(CC[C@H]3C(C)C)C</chem>
	Lig17	Cyclobuta[1,2:3,4]dicyclopentene, 1,2,3,3a,3b.beta.,4,5,6,6a.beta.,6b.alpha.-decahydro-1.alpha.-isopropyl	<chem>CC([C@H]1C(C2C3CCC2)C3CC1)C</chem>
	Lig22	Caryophyllene	<chem>C/C/1=C\CCC(=C)[C@H]2CC([C@@H]2CC1)(C)C</chem>

		Lig41	1,4-Methanoazulen-7(1H)-one, octahydro-4,8,8,9-tetramethyl-, (+)-	<chem>O=C1CCC2(C)C3CCC(C2C)C3C1(C)C</chem>
		Lig47	Muurolol <alpha-,epi->	<chem>CC1=C[C@H]2[C@@H](CC[C@]([C@H]2CC1)(C)O)C(C)C</chem>
		Lig50	Alpha.-cadinol	<chem>CC1=C[C@H]2[C@@H](CC[C@]([C@@H]2CC1)(C)O)C(C)C</chem>

Tableau 3 : Composants chimiques des plantes étudiées et leurs SMILES canoniques

Chapitre III : Résultats et Discussion

III. Résultats et discussion

III.1 Rendement des huiles essentielles

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la quantité de la matière végétale sèche utilisée. Les résultats des rendements en huiles essentielles obtenus par hydrodistillation à partir de *Satureja candidissima* et *Nepeta nepetella* sont respectivement 1,6 % et 0,65 %.

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés précédemment par Bouriah (2023) et Radulović et al. (2011) respectivement pour *S. candidissima* (1,9%) et *N. nepetella* (1.3%).

Rațulescu et al. (2021) ont noté que la teneur en huile essentielle est fortement influencée par des facteurs biotiques et abiotiques, ainsi que par les variations entre les années de récolte et les caractéristiques génétiques des génotypes.

Les variations dans le rendement d'huile essentielle au sein des espèces peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. Parmi ceux-ci figurent les conditions climatiques et environnementales, le stade de croissance des plantes, ainsi que la période de récolte. De plus, la variabilité génétique, les méthodes de traitement post-récolte, et les techniques de distillation ont également un impact significatif sur le rendement des huiles essentielles (Fontana, et Nicola 2013, Srivastava et al., 2021; Stefanakis et al., 2022; Tibaldi, Vlachou et al., 2023).

III.2. Résultats des analyses physico-chimiques des huiles essentielles

Les propriétés physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de qualité des huiles essentielles. Mais certaines propriétés organoleptiques comme la couleur, et l'odeur peuvent aussi être pertinentes pour juger la qualité d'une huile. L'hydrodistillation des parties aérienne de *Satureja candidissima* et *Nepeta nepetella* a donné des huiles essentielles de couleur jaune avec une odeur douce et mentholé

III.2.1. Densité

Tableau 4 : Résultats de l'indice de réfraction et de la densité des huiles essentielles de *S. candidissima* et *N. nepetella*

Paramètres	<i>Nepeta nepetella</i>	<i>Satureja candidissima</i>
Densité	0.863	0.928
Indice de réfraction	1,3335	1,4977

D'après les résultats obtenus, *Nepeta nepetella* a une densité de 0,863, inférieure à celle de *Satureja candidissima*, qui est de 0,928.

Cette différence peut indiquer une variation dans les proportions des composés chimiques présents, tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes, ou d'autres substances volatiles.

Les monoterpènes, plus légers et plus volatils, sont souvent présents en plus fortes concentrations dans les huiles moins denses, ce qui renforce leur profil aromatique (Dehsheikh et al., 2020).

III.2.2. Indice de réfraction

Nepeta nepetella a un indice de réfraction de 1,3335, ce qui est inférieur à celui de *Satureja candidissima*, qui est de 1,4977.

L'indice de réfraction peut représenter un outil essentiel pour une vérification rapide et économique de la qualité. Un indice de réfraction supérieur pour *Satureja candidissima* peut suggérer une présence accrue de composés aux structures moléculaires plus complexes ou plus importantes, telles que les sesquiterpènes (Delgado Ospina et al., 2016).


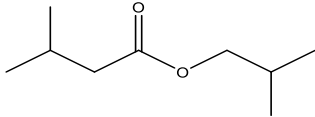
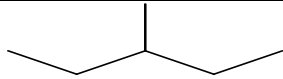
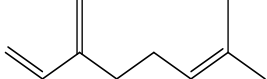
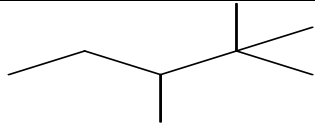
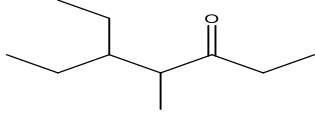
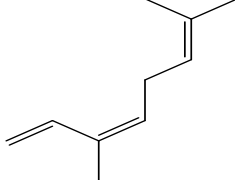
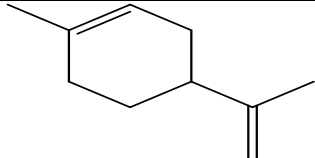
III.2.3. Composition chimique des huiles essentielles

III.2.3.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* par CG-SM

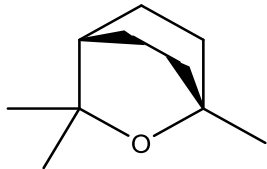
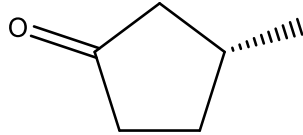
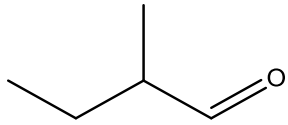
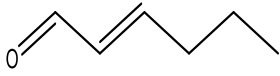
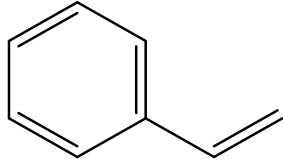
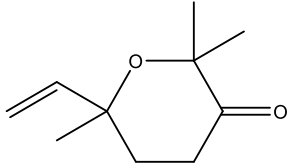
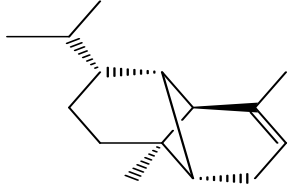
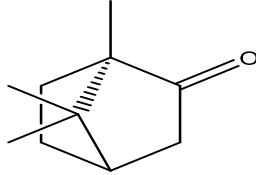
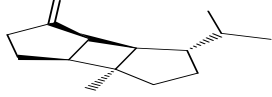
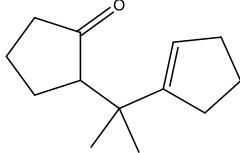
L'identification des composants d'huile essentielle de *Nepeta nepetella* a été réalisée par l'utilisation de GC (RI) et GC (MS). Cinquante-sept composés ont été identifiés (Tableau 5), représentant 91,01 % de la composition totale.

Le tableau suivant présente les différents composés, ainsi que leur temps de rétention, leur surface, et leur représentation en 2D dessinée à l'aide du logiciel ChemDraw.

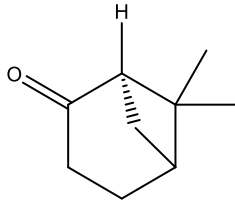
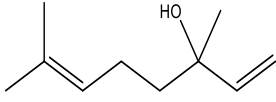
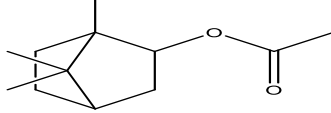
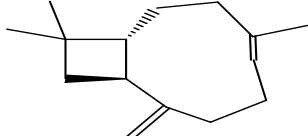
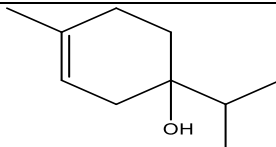
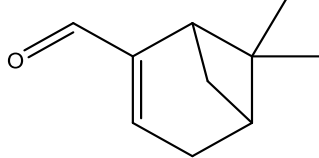
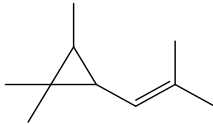
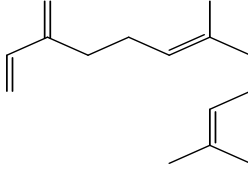
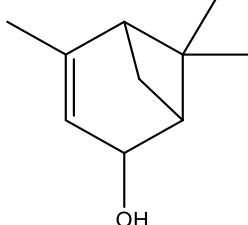
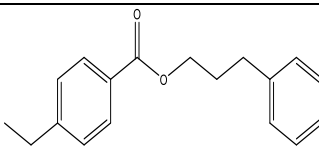
Tableau 5 : Composition chimique par CG/SM de l'HE de *Nepeta nepetella* subsp. *Amethystina* (Poir.) Briq.

N	Nom Du Composé	Temps de rétention (min)	Surface %	Structure 2D
lig1	Hexane	3.020	0,34	
lig2	Butanoic Acid, 3-Methyl-, 2-Methylpropyl Ester	3.310	0,07	
lig3	Pentane, 3-Methyl	3.385	0,06	
lig4	Myrcene	3.444	0,17	
lig5	Pentane, 2,2,3-Trimethyl	3.517	0,06	
lig6	3-Heptanone, 5-Ethyl-4-Methyl	3.625	0,05	
lig7	1,3,6-Octatriene, 3,7-Dimethyl-, (Z)	3.716	0,22	
lig8	P-Mentha-1,8-Diene	4.060	0,11	

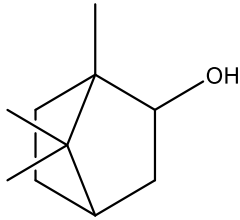
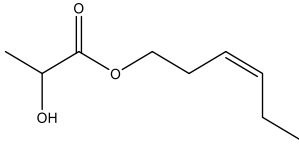
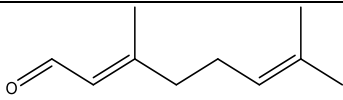
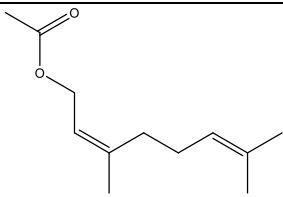
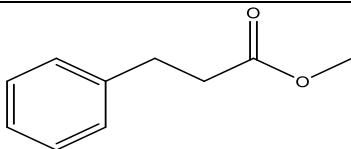
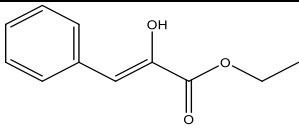
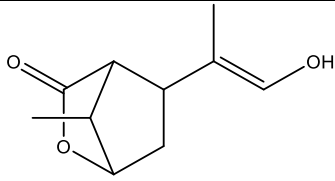
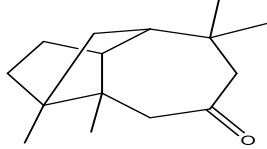
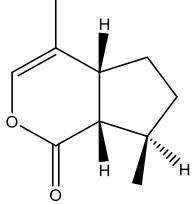
Chapitre III : Résultats et Discussion

lig9	Eucalyptol	4.214	0,32	
lig10	(R)-(+)-3-Methylcyclopentanone	4.447	0,06	
lig11	Butanal, 2-Methyl	4.529	0,06	
lig12	Hex-2(E)-Enal	4.702	0,07	
lig13	Benzene, Ethenyl	5.950	0,11	
lig14	2h-Pyran-3(4h)-One, 6-Ethenyldihydro-2,2,6-Trimethyl	14.364	0,29	
lig15	Copaene	14.692	0,05	
lig16	Camphre	15.298	4,98	
lig17	Cyclobuta[1,2:3,4]Dicyclopentene, 1,2,3,3a,3b.Beta.,4,5,6,6a.Beta.,6b.Alpha.- Decahydro-1.Alpha.-Isopro Pyl	15.453	0,06	
lig18	2-(1-Cyclopent-1-Enyl-1-Methyl-Ethyl)- Cyclopentanone	15.718	0,05	

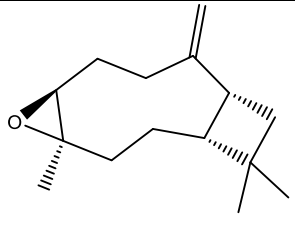
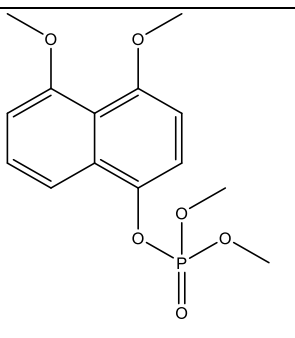
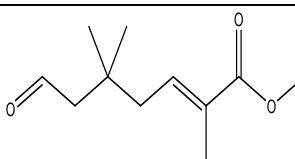
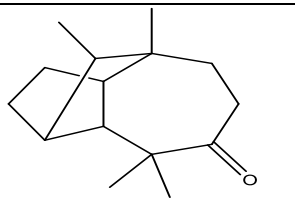
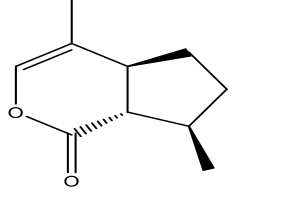
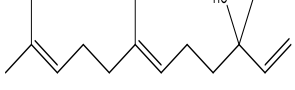
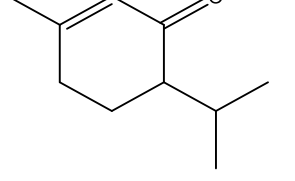
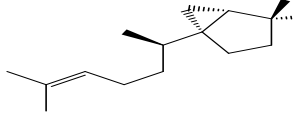
Chapitre III : Résultats et Discussion

lig19	Bicyclo[3.1.1]Heptan-2-One, 6,6-Dimethyl-, (1R) ((1R)-(+)-Nopinone)	17.003	0,05	
lig20	1,6-Octadien-3-Ol, 3,7-Dimethyl	17.198	0,18	
lig21	Bicyclo[2.2.1]Heptan-2-Ol, 1,7,7-Trimethyl-, Acetate, Endo (Bornyl Acetate)	17.397	0,18	
lig22	Caryophyllene	17.549	0,3	
lig23	3-Cyclohexen-1-Ol, 4-Methyl-1-(1-Methylethyl)	18.189	0,13	
lig24	Bicyclo[3.1.1]Hept-2-Ene-2-Carboxaldehyde, 6,6-Dimethyl ((1r)-(-)-Myrtenal)	18.440	0,05	
lig25	Cyclopropane, 1,1,2-Trimethyl-3-(2-Methyl-1-Propenyl)	19.424	0,74	
lig26	(E)-, Beta-Farnesene	20.000	0,55	
lig27	4,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]Hept-3-En-2-Ol (S)-Cis-Verbenol	20.105	0,15	
lig28	4-Ethylbenzoic Acid, 3-Phenylpropyl Ester	20.289	0,11	

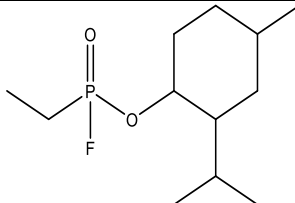
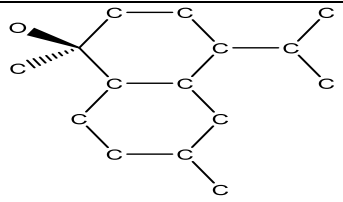
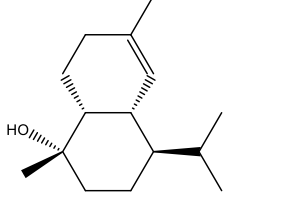
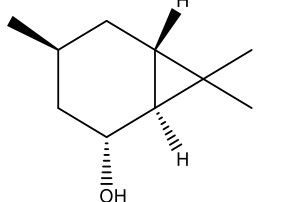
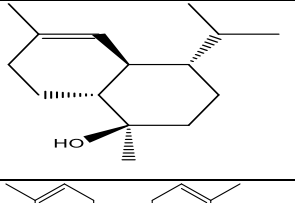
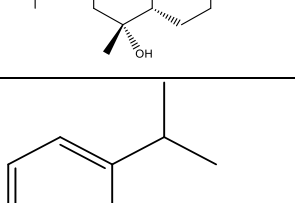
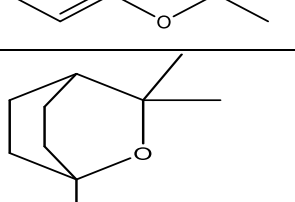
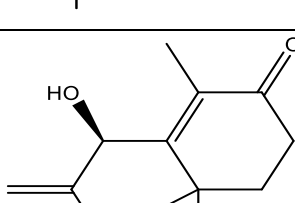
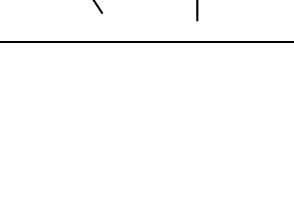
Chapitre III : Résultats et Discussion

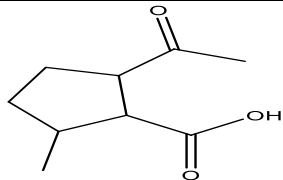
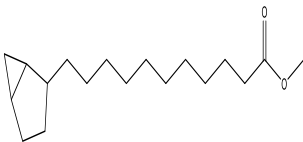
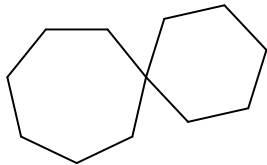
lig29	Borneol	20.594	0,31	
lig30	Z-3-Hexenyl Lactate	21.308	0,12	
lig31	2,6-Octadienal, 3,7-Dimethyl	21.376	0,08	
lig32	Neryl Acetate	22.105	0,06	
lig33	Benzenepropanoic Acid, Methyl Ester	23.825	0,21	
lig34	Hydrocinnamate <Ethyl->	24.682	0,15	
lig35	Cyclopentanecarboxylic Acid, 2-(2-Hydroxy-1-Methylvinyl)-5-Methyl-, .Delta.-Lactone	25.735	0,6	
lig36	1,4-Methanoazulen-7(1h)-One, Octahydro-1,5,5,8a-Tetramethyl	25.905	0,09	
lig37	4a Alpha, 7alpha, 7a Alpha-Nepetalactone	26.311	10,23	

Chapitre III : Résultats et Discussion

lig38	(-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]Dodecane,,12-Trimethyl-9-Methylene-, [1r-(1r*,4r*,6r*,10s*)] ou (Caryophyllene Oxide)	26.474	0,3	
lig39	Phosphoric Acid, 4,5-Dimethoxy-1-Naphthalenyl Dimethyl Ester	26.685	0,05	
lig40	(E)-Ethyl 7-Oxo-2,5,5-Trimethylhept-2-Enoate	26.945	0,07	
lig41	1,4-Methanoazulen-7(1H)-One, Octahydro-4,8,8,9-Tetramethyl-, (+)-	27.015	0,17	
lig42	4a Alpha, 7alpha, 7a Beta-Nepetalactone	27.733	58.98	
lig43	1,6,10-Dodecatrien-3-Ol, 3,7,11-Trimethyl (Nerolidol)	28.059	0,06	
lig44	2-Cyclohexen-1-One, 3-Methyl-6-(1-Methylethyl) (P-Menth-1-En-3-One)	28.305	0,1	
lig45	Sesquisabinene Hydrate	29.219	0,21	

Chapitre III : Résultats et Discussion

lig46	2-Isopropyl-4-Methylcyclohexyl Ethylphosphonofluoridate	29.565	0,26	
lig47	Muurolol <Alpha-,Epi->	30.137	0,09	
lig48	1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-Octahydro- 1,6-Dimethyl-4-(1-Methylethyl)-, [1s- (1.Alpha.,4.Alpha.,4a.Alpha)	30.425	0,28	
lig49	5-Caranol, Trans,Trans-(+)	31.079	0,87	
lig50	Alpha.-Cadinol	31.202	0,11	
lig51	Alpha.-Bisabolol	32.263	0,28	
lig52	O-Isopropylphenetole	32.775	0,67	
lig53	2-Oxabicyclo[2.2.2]Octane, 1,3,3-Trimethyl	33.892	0,1	
lig54	4-Oxo-.Beta.-Isodamascol	37.980	0,13	

lig55	Cyclopentanecarboxylic Acid, 2-Acetyl-5-Methyl	38.413	0,28	
lig56	Bicyclo[3.1.0]Hexane-2-Undecanoic Acid, Methyl Ester	40.151	1,13	
lig57	Spiro[5.6]Dodecane	40.443	5,45	

D'après la base de données du *National Institute of Standards and Technology* (NIST), utilisée pour nos analyses en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) ainsi que les groupes fonctionnels clés, les principaux composants identifiés dans cette huile semblent être des monoterpènes oxygénés de formule $C_{10}H_{16}O$.

Selon l'analyse phytochimique de cette l'huile essentielle, plusieurs composés importants ont été identifiés. Parmi ceux-ci, on a identifié des isomères de Nepetalactone $4\alpha,7\alpha,7\beta$ et $4\alpha,7\alpha,7\alpha$, le Spiro[5.6]Dodecane, le camphre, le caryophyllène et le (-)- β -bourbonène.

Il est observé que la Nepetalactone représente 69,21 % de l'huile, en faisant le composé principal, suivie par le Spiro[5.6]dodecane et le Camphre qui représentent respectivement 5.45% et 4.98% de l'huile essentielle. Des composants similaires ont été identifiés par des recherches antérieures (**Seladji, 2015; Bellahsene et al., 2015**).

Le pourcentage de népétalactone dans cette étude est supérieur à celui rapporté par Seladji (65 %) mais inférieur aux résultats décrits par Bellahsene et al. (2015) (88,65 %). En ce qui concerne le camphre, cette étude a révélé une concentration plus élevée de 4,98 %, comparée à celle rapportée par **Belhacene et al. (2015)**, qui était de 0,21 %.

Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que les variations climatiques et édaphiques (**Boucherit, Benaradj et Bouderbala, 2021**).

De plus, des divergences dans les techniques d'extraction et d'analyses sont également notables. Seladji (2015) n'a pas utilisé l'appareil de Clevenger, qui permet une mesure directe du volume d'huile essentielle. La maturité des plantes au moment de la récolte pourrait également jouer un rôle crucial dans la biosynthèse des composés spécifiques (**Yang et al., 2018**).

Parmi les composés de la plante, on observe plusieurs substances en faible concentration mais très efficaces, notamment avec des propriétés antibactériennes comme le caryophyllène oxyde, le caryophyllène, le (-)- β -bourbonène, ainsi que d'autres aux propriétés antioxydantes, telles que l'ethyl hydrocinnamate. Ces aspects seront détaillés dans la section *in silico*, où les propriétés de l'ensemble des composés seront étudiées sur des cibles médicamenteuses antibactériennes et antioxydantes.

Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Nepeta nepetella subsp. amethystina* (Poir.) Briq. rapportée dans la littérature.

Espèce	Source	Rendement(%)	Composants détectés	Références
<i>Nepeta Nepetella</i>	Région d'Aïn-Safra située dans l'ouest de l'Algérie	1.50%	α -Thujène (0.1%), α -Pinène (1.2%), Oct-1-èn-3-ol (0.2%), Sabinène (tr), β -Pinène (3.0%), p-Cymène (0.2%), Limonène (0.1%), β -Phellandrène (tr), (Z)- β -Ocimène (0.7%), (E)- β -Ocimène (1.9%), γ -Terpinène (0.3%), Linalol (0.6%), Salicylate de méthyle (0.1%), Géraniol (0.2%), Nepetalactone 4α,7α,7α (0.7%), Nepetalactone 4α,7α,7β (64.3%), β -Bourbonène (0.6%), (E)- β -Caryophyllène (5.2%), (E)- β -Farnésène (7.8%), α -Humulène (0.2%), Germacrène D (0.2%), Oxyde de caryophyllène (0.7%). Représentent 88.3% de l'huile essentielle totale.	Seladji (2015)
<i>Nepeta Nepetella Subsp. Amethystina</i> (Poir.) Briq	Région d'Aïn-Safra située dans	0.60%	(z)-Hex-2-en-1-ol (tr), α -Pinene (0.20%), Camphene (tr), Octan-3-one(0.10%), Sabinene (tr), β -Pinene (0.41%), p-Cymene (0.23%), 1,8-Cineole (0.45%), (Z)- β -Ocimène (0.10%), γ -Terpinene (tr), Linalool (0.12%), trans-p-Menth-2-en-1-ol	(Bellahsene et al. 2015)

	l'ouest de l'Algérie		(0.10%), Camphor (0.21%), Terpinene 4-ol (0.32%), α -Terpineol (0.41%), Myrtenal (0.21%), trans-Piperitol (0.40%), Linalyl acetate (tr), Thymol (2.30%), Bornyl acetate (0.50%), Carvacrol (0.35%), Nepetalactone 4α,7α,7α (16.25%), Nepetalactone 4α,7α,7β (72.40%), (E)- β – Caryophyllene (0.60%), α –Humulene (0.10%), (E)- β –Farnesene (0.21%), β- Ionone (tr), α –Muurolene (0.10%), γ- Cadinene (0.20%), Elemol (tr), Spathulenol (tr), Caryophyllene oxyde (0.40%), α –Cadinol (tr). Représentent 96.77% de l'huile essentielle totale.	
<i>Nepeta Nepetella L. Amethystina Poiret</i>	Espagne		α -Pinene (0.12%), β -Pinene (0.78%), 3 octanone (0.17%), myrcene (0.25%), α phellandrene (0.15%), p-Cymène (0.28%), 1.8 Cinéol + Limoène (1.11%), Cis β -Ocimène (0.82%), Trans β -Ocimène (0.73%), cis linalyl oxyde (0.13%), trans linalyl oxide (0.08%), Linalol (0.78%), neo allocimene (0.20%), terpinene 4-ol (0.19%), p-Cymène-8-ol (0.41%), Aldehyde NI (5.30%), t-carvéol (0.10%), Géraniol (0.15%), thymol (0.05%), methyl nonyl ketone (0.05%), 4α-7α-7α-nepetalactone (41.88%), 4α-7α-7β-nepetalactone (39.42%), 4β-7α-7β-nepetalactone (1.01%) β -Bourbonène (0.72%), β -Elemène (0.52%), β -Caryophyllène (0.63%), α -Humulène (0.82%), δ -Cadinène + acide népétalique	Velasco-Negueruela et al. (1989)

			(0.20%), caryophyllene Oxyde (1.82%), humulène Oxyde (0.34%), α -Cadinol (0.19%).	
--	--	--	--	--

La composition chimique de l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* a été caractérisée par une faible teneur en caryophyllène et en oxyde de caryophyllène. Ces résultats se concordent avec ceux de **Rodríguez (1990)** et **Bellahsene et al. (2015)**.

Nous avons constaté que nos résultats sont en accord avec ceux de Velasco concernant la présence du composé β -bourbonène. Dans notre étude, ce composé est présent à 0,06 %, tandis que Velasco a rapporté une concentration de 0,72 % (**Rodríguez 1990**).

Nous notons également la présence de certains composés rapportés pour la première fois dans l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* tels que le pentane, 3-méthyl-, l'acide butanoïque 3-méthyl-, l'ester 2-méthylpropyl, le p-mentha-1,8-diène, le nérolidol, le muurolol et l' α -bisabolol.

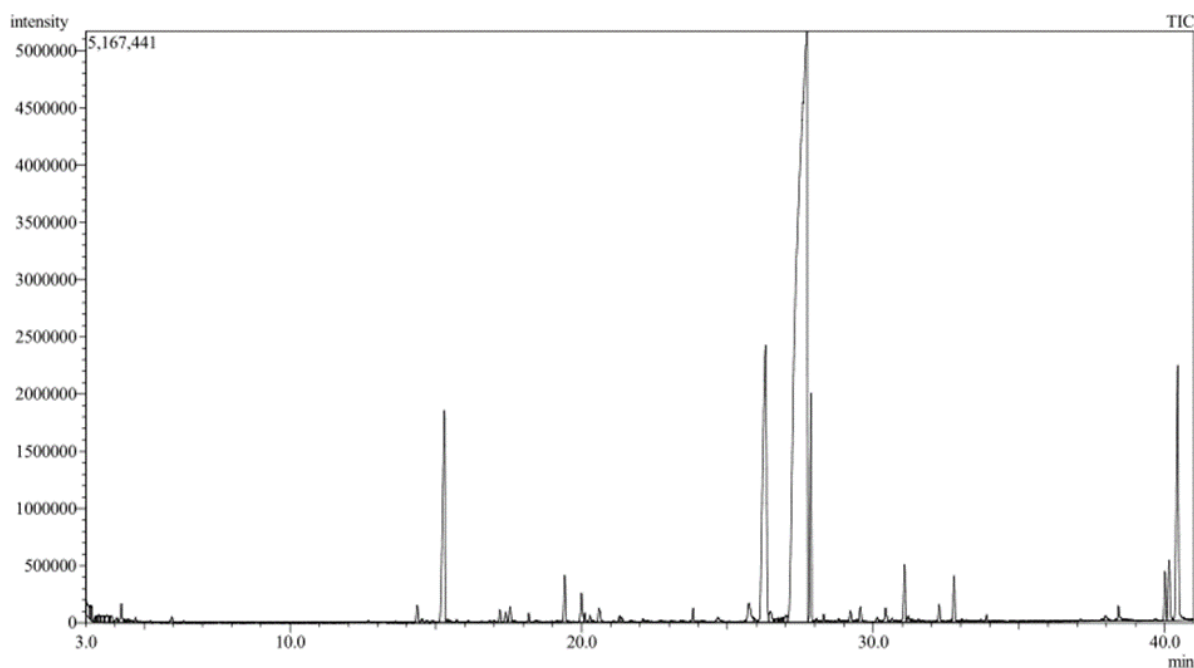

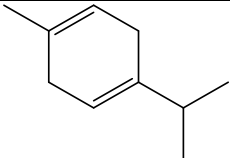
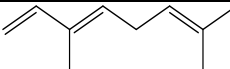
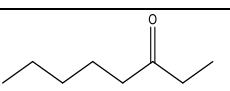
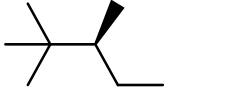
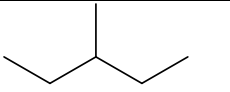
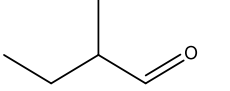
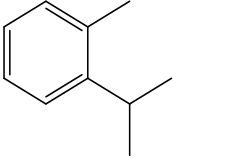
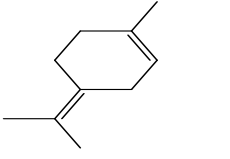


Figure 6 : Les principaux composants identifiés dans l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* subsp. *Amethystina* (Poir.) Briq. analysée par la technique CG/SM


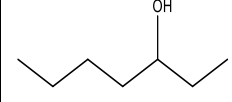
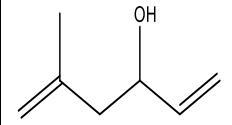
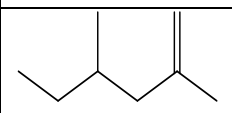
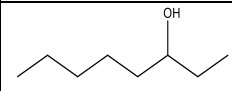
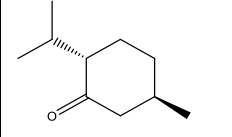
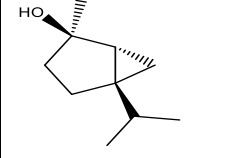
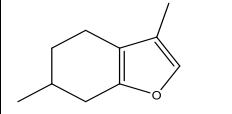
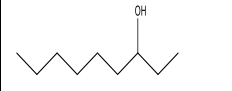
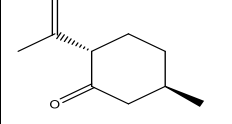
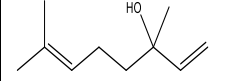
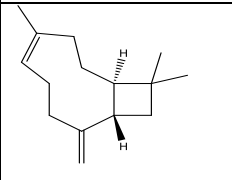
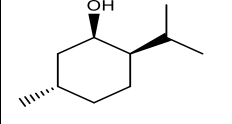
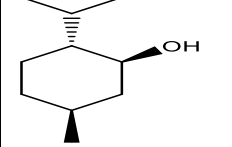
III.2.3.2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja candidissima* Munby Briq par CG-SM

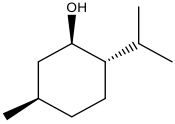
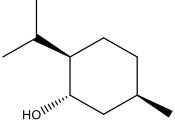
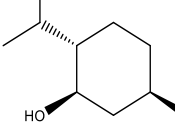
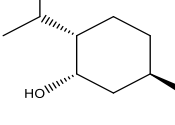
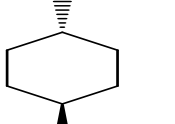
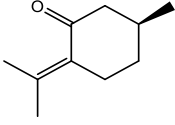
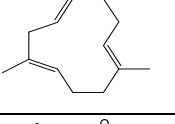
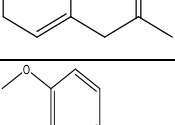
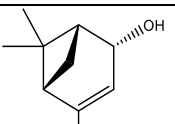
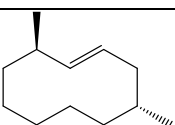
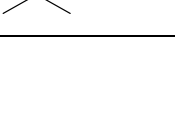
L'échantillon d'huile essentielle de *Satureja candidissima* (Munby) Briq a été analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) (tableau 7). Au total, cinquante-quatre composants ont été identifiés, représentant 90,98 % du total.

Tableau 7 : La composition chimique par CG/SM de l'HE de *Satureja Candidissima* Munby Brik

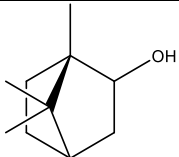
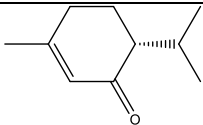
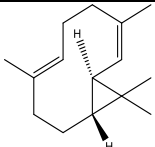
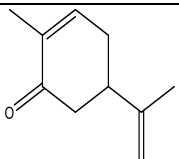
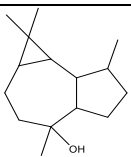
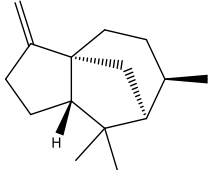
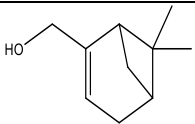
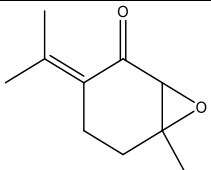
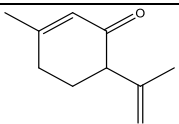
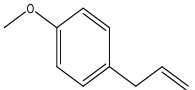
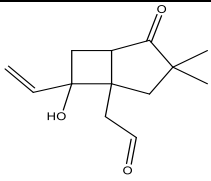
N	Nom Du Composé	Temps de rétention (min)	Surface%	Structure 2D
lig 1	Hexane	3.019	0.31	
Lig2	1,4-cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	3.265	0.42	
lig3	Ocimene<(e)-, beta->	3.405	0.15	
lig4	3-octanone	3.450	0.14	
lig5	Pentane, 2,2,3-trimethyl	3.495	0.15	
lig6	Pentane, 3-methyl	3.570	0.05	
lig7	Butanal, 2-methyl	3.594	0.07	
lig8	Benzene, methyl(1-methylethyl)	3.685	0.24	
lig9	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)	3.876	0.18	

Chapitre III : Résultats et Discussion

lig10	Octanal	4.068	0.05	
lig11	3-heptanol	4.228	0.09	
lig12	5-methyl-1,5-hexadien-3-ol	4.341	0.09	
lig13	1-hexene, 2,4 dimethyl	4.697	0.08	
lig14	3-octanol	6.840	2.09	
lig15	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, trans	8.658	11.02	
lig16	4-thujanol	8.968	0.07	
lig17	Benzofuran, 4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl	9.221	0.17	
lig18	3-nonanol	10.337	0.10	
lig19	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, trans	12.500	0.65	
lig20	1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl	12.614	0.52	
lig21	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, (z)-(1r,9s)-(-)	13.740	0.13	
lig22	Neomenthol	14.307	0.95	
lig23	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	14.343	0.26	

lig24	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)	14.385	0.25	
lig25	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.beta.)	14.460	0.57	
lig26	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1r- (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]	14.485	0.23	
lig27	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)	14.630	1.35	
lig28	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	14.730	1.25	
lig29	Pulegone	16.423	53.26	
lig30	1,4,8-cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (e,e,e)	16.662	0.06	
lig31	2-cyclohexen-1-one, 2-(2-methyl-2-propenyl)	17.184	0.12	
lig32	Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	17.349	0.05	
lig33	Verbenol	17.824	0.09	
lig34	1,6-cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(e,e)]	18.309	1.28	

Chapitre III : Résultats et Discussion

lig35	Borneol	18.887	4.43	
lig36	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)	19.219	0.70	
lig37	Bicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tetramethyl-, (1r*,2z,6e,10r*)-(.,+.)	19.524	2.28	
lig38	2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)	19.708	0.98	
lig39	1,1,4,7-tetramethyldecahydro-1 h-cyclopropa[e]azulen-4-ol	20.560	0.14	
lig40	Cedrene	20.866	0.08	
lig41	Myrtenol	23.162	0.10	
lig42	7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethylidene)	24.146	0.09	
lig43	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethenyl)-, (+)	24.433	0.07	
lig44	Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	24.593	0.12	
lig45	Bicyclo[3.2.0]heptan-2-one, 5-formylmethyl-6-hydroxy-3,3-dimethyl-6-vinyl	27.763	0.10	

lig46	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)	28.093	2.50	
lig47	2-cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2-pentenyl)-, (z)	29.508	0.52	
lig48	Piperitenone oxide	30.051	0.44	
lig49	2-allyl-4-methylphenol	33.483	0.07	
lig50	1-hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene	34.789	0.05	
lig51	1 h-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene	38.130	0.91	
lig52	3-allyl-6-methoxyphenol	40.600	0.05	
lig53	Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	41.791	0.36	
lig54	Isospathulenol	42.823	0.50	

Les monoterpènes et les monoterpènes oxygénés sont les composants principaux de l'huile essentielle de *Satureja candidissima*.

L'analyse phytochimique de cette huile a permis d'identifier plusieurs composés importants, parmi lesquels on retrouve la pulégone (53,26 %), la menthone (11,02 %), le bornéol

(4,43 %), la 2-cyclohexen-1-one, 3-méthyl-6-(1-méthyléthylidène) (2,50 %) et le 3-octanol (2,09 %).

La pulegone a été identifiée comme le principal composé dans la plante *satureja candidissima*, ce qui est en accord avec des études antérieures où sa concentration varie entre 44,8 % et 70,4 % (Benyoucef et al., 2017 ; Attou et al., 2021; Bouriah,2023).

Une étude antérieure réalisée à Tlemcen, en Algérie, a également révélé que la pulégone (70,4%) et le menthol (5,2 %) étaient les principaux constituants de l'huile essentielle de *Satureja candidissima* (Benyoucef et al., 2019). De plus, selon Attou et Davenne (2021), les principaux composants de l'huile essentielle de *Satureja candidissima* sont la pulégone (47,62 %), la menthone (24,50 %) et le terpinen-4-ol (11,63 %).

Tableau 8 : Composition chimique de l'huile essentielle de *satureja candidissima munby* Briq. rapportée dans la littérature.

Source	Rendement(%)	Composants détectés	Références
Région d'Aïn-temouchent située dans l'ouest de l'Algérie	0.90%	α -pinene (0.53%), camphene (0.53%), sabinene (0.24%), β -pinene (0.56%), myrcene (0.99%), p-cymene (0.06%), limonene (0.90%), linalool (0.25%), menthone (24.50%) , iso-menthone (2.80%), terpinen-4-ol (11.63%), pulegone (47.62%) . Représentent 90.61 % de l'huile essentielle totale.	(Attou, 2015)
Région de Tlemcen située dans l'ouest de l'Algérie	1.3%	(Z)- β -Ocimene (1.1%), (E)- β -Ocimene (0.1%), Iso-Menthone (4.5%), Neo-Menthol (0.6%), Terpinene-4-ol (2.3%), Menthol (5.2%), Iso-Menthol (0.1%), Pulegone (70.4%) , Piperitenone oxide (2.5%), E- β -Caryophyllene (1.5%), α -Humulene (0.1%), γ -Muurolene (0.8%), Germacrene D (0.5%), α -Muurolene (0.3%). Représentent 92,6% de l'huile essentielle totale.	(Benyoucef et al.,2019)

<p>Région d'oran située dans l'ouest de l'Algérie</p>	<p>1.9%</p>	<p>β-pinene(0.3%), p-cymene (0.4%), Limonene (1.1%), Linalool (0.1%), Camphor (1.0%), Menthone (0.6%), Menthofuran (0.3%), neo-menthol (3.8%), Isopulegone (5.8%), α-terpineol (1.4%), Decanal (0.2%), Pulegone (44.8%), Piperitone (0.5%), Isopiperitenone (0.1%), (E)-anethole (0.4%), p-cymen-7-ol (0.5%), Carvacrol (0.1%), iso-dihydrocarveol acetate (0.2%), δ-elemene (0.7%), Piperitenone (6.6%), piperitenone oxide (0.4%), α-copaene (0.6%), β-bourbonene (0.8%), β-cubebene (0.4%), β-elemene (1.0%), (Z)-jasmone (1.5%), α-gurjunene (0.2%), β-ylangene (1.6%), β-copaene (0.8%), Aromadendrene (0.3%), Alloaromadendrene (0.5%), cis-muurola-4(14),5-diene (0.3%), γ-muurolene (0.3%), germacrene D (16.2%), Bicyclogermacrene (3.0%), trans-γ-cadinene (0.2%), δ-cadinene (0.5%), Spathulenol (1.2%).</p> <p>Représentent 98.7% de l'huile essentielle totale.</p>	<p>(BOURIAH, 2023)</p>
--	-------------	--	-------------------------------

Le menthone et l'iso-menthone sont présents dans les compositions chimiques des recherches précédentes, mais sont absents dans nos résultats, où seuls leurs isomères sont détectés.

On constate l'absence de certaines molécules dans nos résultats, telles que le limonène, présent dans l'étude de Benyoucef et Attou (2015), ainsi que le myrcène et le camphène, observés dans l'étude d'Attou (2021). De plus, le β -ocimène apparaît uniquement dans l'étude de Benyoucef (2019). On observe la présence de cèdrene et de verbenol pour la première fois dans notre étude, avec de faibles concentrations de 0,08 % et 0,09 % respectivement.

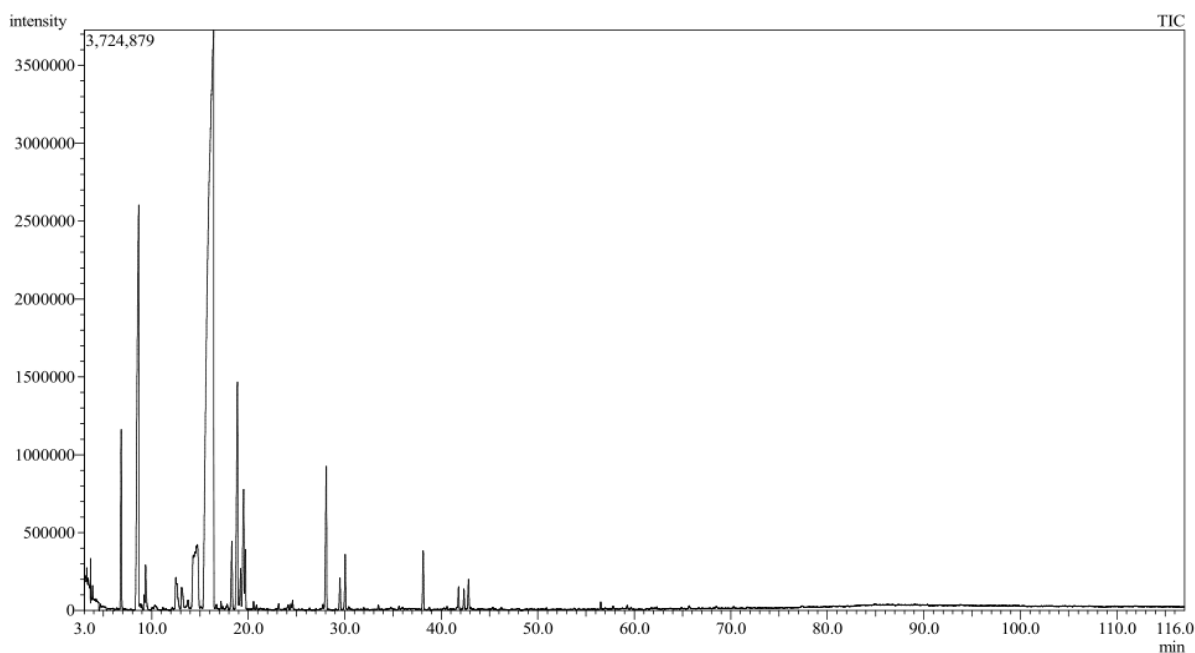


Figure 7 : Les principaux composants identifiés dans l'huile essentielle de de *Satureja Candidissima* Munby Brik analysée par la technique CG/SM

Nepeta nepetella et *Satureja candidissima* appartiennent à la famille des Lamiaceae. Leurs huiles essentielles sont riches en monoterpènes, avec la pulegone comme composant principal dans *Satureja candidissima*, tandis que l'isomère de la népétalactone est le composant majoritaire dans *Nepeta nepetella*.

Les différences entre les profils chimiques des huiles essentielles de *Nepeta nepetella* et de *Satureja candidissima* peuvent être significatives, notamment en ce qui concerne leur potentiel thérapeutique. Ces différences affectent l'efficacité des huiles dans de nombreuses applications, car les principaux composants, tels que la pulégone et la népétalactone, possèdent une activité biologique particulière.

La pulegone est en effet déjà reconnue pour ses effets antioxydant, antimicrobiens, anti-alimentation, antifongique, antiviral et pesticide, et joue un rôle important en tant qu'abortif et emménagogue. Ainsi, ces activités peuvent justifier l'utilisation de cette plante de manière traditionnelle (Roy et al., 2018 ; Dhingra et Chopra, 2023).

Toutefois, la pulégone est également connue pour ses effets toxiques, en particulier lorsqu'elle est consommée à forte concentration, et son utilisation dans certaines formulations médicamenteuses est donc restreinte (Zhou et al., 2004).

En revanche, la népétalactone, notamment les isomères $4\alpha,7\alpha,7\alpha$ et $4\alpha,7\alpha,7\beta$, manifeste des effets sédatifs, antimicrobiens et insectifuges. Ces propriétés confèrent à l'huile essentielle de *N. nepetella* un fort potentiel pour des applications dans la prévention des maladies transmises par les insectes (Nestorović et al., 2010).

Ces huiles comportent encore d'autres composés mineurs qui attribuent également des propriétés médicinales à ces plantes, 54 composés mineurs dans *Satureja candidissima* et 57 dans *Nepeta nepetella*.

Les variations en matière de rendements en huiles essentielles (0.65% pour *Nepeta nepetella* et le rendement 1.6% pour *Satureja candidissima* peuvent influencer leur disponibilité et leur utilisation dans les formulations pharmaceutiques. Les huiles ayant un rendement plus élevé peuvent être privilégiées pour des applications nécessitant des volumes importants, tandis que celles produisant un rendement plus faible, mais riches en composés bioactifs, pourraient être réservées à des usages spécifiques.

Par conséquent, la diversité des aspects chimique affecte de manière positive les deux espèces et son emplacement en phytothérapie. Ces différences pourraient guider le choix de l'une ou l'autre des huiles selon les besoins thérapeutiques spécifiques, notamment en ce qui concerne l'action antimicrobienne, antioxydante (Chakravarty, Parmar, et Mandavgane., 2023; Singh et al., 2024).

III.3. Détermination de l'activité antioxydante *in vitro*

Pour évaluer le pouvoir antioxydant des huiles essentielles, nous avons choisi trois tests chimiques : le test de piégeage des radicaux libres utilisant le DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) sous sa forme radicalaire, impliquant à la fois le transfert d'atome d'hydrogène et le transfert d'électron ; le test du pouvoir réducteur antioxydant (FRAP, Ferric Reducing Antioxidant Power), basé sur le transfert d'électron et enfin, la mesure de la capacité antioxydante totale (CAT).

III.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

Le test de DPPH est une méthode simple et rapide fréquemment utilisée pour évaluer la capacité des antioxydants à piéger les radicaux libres. Il donne des informations fiables concernant la capacité antioxydante des composés testés à agir comme piégeurs de radicaux libres ou donneurs d'hydrogène.

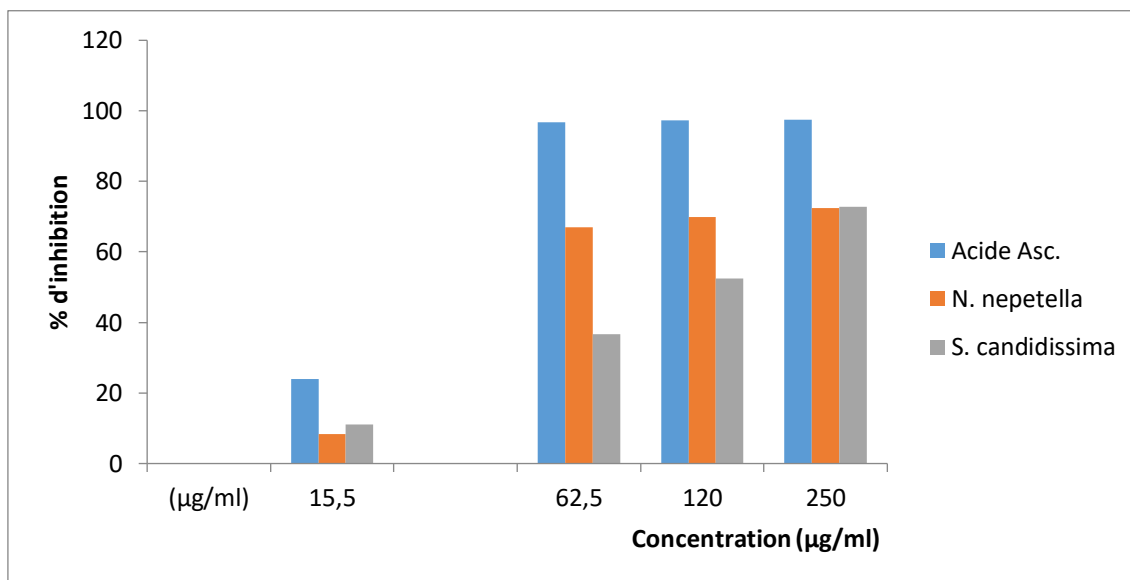


Figure 8 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations des huiles essentielle et de l'acide ascorbique

L'histogramme ci-dessus illustre les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique et les huiles essentielles de *Nepeta nepetella* et *Satureja candidissima*. Il est observé que l'acide ascorbique présente une inhibition bien supérieure à celle des deux huiles essentielles à toutes les concentrations.

L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif dans cette expérience. Il montre une forte capacité antioxydante, avec un pourcentage d'inhibition presque de 100% dès la concentration de 62,5 µg/mL. Sa valeur CI_{50} très basse de 5,77 µg/mL confirme son efficacité remarquable à neutraliser les radicaux libres. Ces résultats sont cohérents avec la littérature, où l'acide ascorbique est fréquemment cité comme un puissant antioxydant, grâce à sa capacité à donner des électrons et stabiliser les radicaux libres. La forte activité antioxydante observée souligne que l'acide ascorbique est un modèle approprié pour comparer l'efficacité des autres antioxydants (Niki, 1991 ; Chakraborty et al., 2014; Gęgotek et Skrzydlewska, 2022; Hieu et al., 2022;).

À faible concentration, *Satureja candidissima* est légèrement moins efficace que *Nepeta nepetella*, mais à 250 µg/mL, les deux huiles présentent des niveaux d'inhibition similaires.

Les propriétés antioxydantes de l'huile essentielle de *N. nepetella* sont modérées. La concentration entraîne une augmentation du taux d'inhibition, qui atteint environ 80 % à 250 µg/mL. L'huile essentielle affiche une CI_{50} de 47,32 µg/mL supérieure à celle de l'acide ascorbique, ce qui indique que cette huile est moins efficace que l'acide ascorbique. Il est intéressant de noter que l'acide ascorbique est un antioxydant pur, alors que l'huile essentielle est un mélange de plusieurs substances phytochimiques.

Cependant, l'activité antioxydante demeure significative, grâce à la présence de composés bioactifs qui peuvent neutraliser les radicaux libres.

En comparaison avec les extraits aqueux, qui sont généralement riches en composés polaires comme les polyphénols et les flavonoïdes, les huiles essentielles sont composées de substances volatiles et non polaires, telles que les terpènes et les terpénoïdes. Alors que les extraits aqueux de *Nepeta nepetella* montrent une forte activité antioxydante grâce à leur teneur en composés phénoliques (Seladji et al., 2014), l'huile essentielle étudiée dans ce travail présente une importante capacité de piégeage des radicaux libres, probablement due à des composés tels que la népétalactone (Jianu et al., 2021), le caryophyllène oxyde (Fidy et al., 2016) et la myrcène (Surendran et al., 2021).

Ces résultats suggèrent que les extraits aqueux et l'huile essentielle de *N. nepetella* offrent un potentiel antioxydant significatif, bien qu'elles agissent via des mécanismes et des classes de composés différents.

L'analyse de variance (ANOVA) (Tableau 18 Annexe 2) a montré une différence hautement significative entre les échantillons testés ($F = 11,02$ contre un F théorique à 1 % = 10,92). De plus, l'impact des concentrations est également très significatif ($F = 22,60$, $p = 0,0011$), indiquant une relation dose-dépendante entre la concentration et l'inhibition du radical DPPH. La corrélation positive entre l'augmentation des concentrations et le pourcentage d'inhibition suggère une activité antioxydante accrue à des doses plus élevées.

Ces résultats soulignent le potentiel antioxydant des huiles essentielles testées, bien que leur activité reste inférieure à celle de l'acide ascorbique, utilisé comme référence.

III.3.2. Test du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

L'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles a été réalisée par la mesure de l'aptitude de cette dernière, à différentes concentrations, à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). L'acide ascorbique a été utilisé, à différentes concentrations, comme antioxydant standard. Les résultats ont été exprimées en mg d'équivalent d'acide ascorbique (AAE)/ ml d'huile.

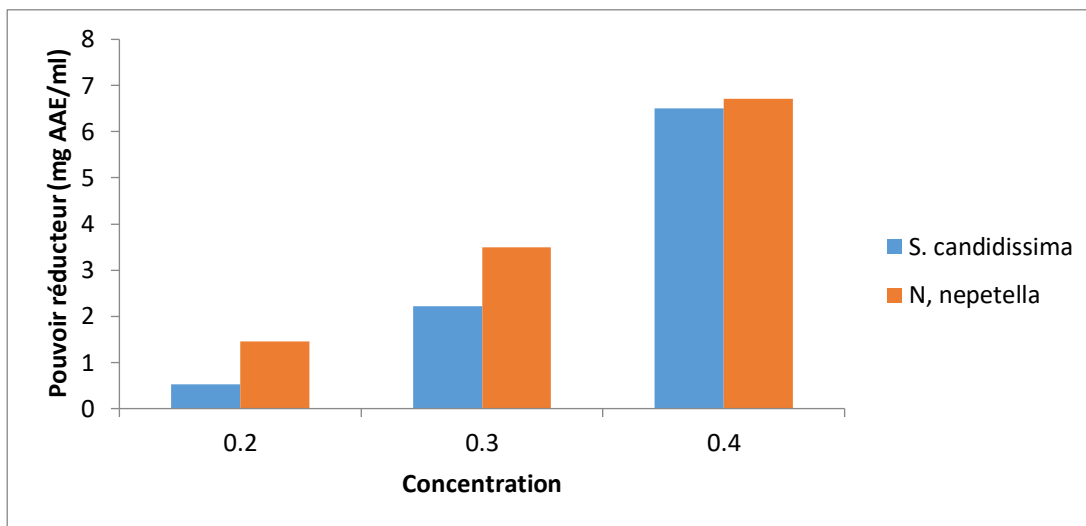


Figure 9 : Pouvoir réducteur des huiles essentielles

On remarque qu'à 0,2 mg/mL, *Nepeta nepetella* présente un pouvoir réducteur beaucoup plus élevé (2 mg AAE/mL) par rapport à *Satureja candidissima* (0,5 mg AAE/mL).

À 0,4 mg/mL, les deux huiles atteignent un pouvoir réducteur similaire (7 mg AAE/mL). Le pouvoir réducteur de *Nepeta nepetella* est globalement plus élevé aux concentrations plus faibles, indiquant une meilleure capacité antioxydante à ces niveaux. Cependant, à la concentration la plus élevée, les deux huiles atteignent un pouvoir réducteur similaire, suggérant que *Satureja candidissima* pourrait devenir aussi efficace à des concentrations plus élevées.

L'acide ascorbique montre la pente la plus élevée, indiquant une activité antioxydante plus forte par rapport aux deux huiles essentielles. Cela est en accord avec les travaux d'**Attou. (2015) et Touami (2017).**

Les deux huiles *Nepeta nepetella* et *Satureja candidissima* ont des pentes similaires, bien que *Nepeta* semble avoir une activité antioxydante légèrement supérieure à celle de *Satureja*.

Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,9049$) indique une bonne corrélation linéaire entre la concentration et l'absorbance, ce qui signifie que l'activité antioxydante augmente proportionnellement avec la concentration (voir annexe 1 figure 17).

L'analyse de variance (ANOVA) (Tableau 19 annexe 3) révèle une différence non significative entre les échantillons ($F = 2,50$, $p = 0,162$), avec un F calculé inférieur aux seuils critiques à 1 % (10,92) et 5 % (5,14). En revanche, l'effet des concentrations est hautement significatif ($F = 27,85$, $p = 0,0006$), indiquant que l'augmentation de la concentration influence significativement la capacité réductrice des échantillons.

Ces conclusions indiquent que malgré l'influence considérable de la concentration sur l'activité FRAP, l'écart entre les huiles essentielles examinées et l'acide ascorbique n'est pas significatif d'un point de vue statistique, suggérant ainsi une activité antioxydante assez comparable parmi les extraits évalués.

III.3.3. Capacité antioxydante totale

Le tableau présente la capacité antioxydante totale des huiles essentielles de *Satureja candidissima* et *Nepeta nepetella*, exprimée en mg EAA/ml.

Tableau 9 : Capacité antioxydante totale des huiles essentielles (mg/ml AAE)

Concentration	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
<i>Satureja candidissima</i> Munby Brik	3,54	3,89	4,44	4,71	4,91
<i>Nepeta nepetella</i> subsp. <i>amethystina</i>	2,94	3,41	3,69	4,09	4,26

L'étude de la capacité antioxydante totale des huiles essentielles a montré leur richesse en substance antioxydante exprimée en acide ascorbique.

La capacité antioxydante totale augmente progressivement avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle, variant de 3,54 mg EAA/ml à 4,91 mg EAA/ml. Cela montre

que l'huile essentielle de *Satureja candidissima* possède une forte capacité antioxydante, qui devient plus marquée à des concentrations plus élevées.

La capacité antioxydante de l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* augmente de 2,94 mg EAA/ml à 4,26 mg EAA/ml. Bien qu'elle suive également une tendance croissante, l'activité antioxydante de cette huile est inférieure à celle de *Satureja candidissima*.

L'activité antioxydante des deux huiles essentielles présente une relation claire de dépendance à la dose, où des concentrations plus élevées conduisent à un effet antioxydant accru. De plus, des études indiquent que l'activité antioxydante des herbes augmente de manière linéaire avec la concentration (**Kouřimská et al., 2013**).

En comparant les deux espèces, *Satureja candidissima* présente une activité antioxydante plus élevée à toutes les concentrations testées, ce qui suggère qu'elle est plus riche en composés antioxydants bioactifs par rapport à *Nepeta nepetella*.

Nepeta nepetella pourrait avoir une meilleure activité réductrice dans les tests FRAP et DPPH en raison de la présence de certains composés spécifiques (par exemple, des monoterpènes comme la nepetalactone). En revanche, *Satureja candidissima* pourrait avoir des composés qui agissent plus globalement dans le test CAT, mais moins efficacement dans les tests spécifiques DPPH ou FRAP.

Certains composés présents dans *Satureja candidissima* pourraient fonctionner par des mécanismes autres que la simple réduction de radicaux libres ou d'ions métalliques, ce qui leur permettrait de mieux performer dans un test comme le CAT, qui intègre une évaluation plus globale de la capacité antioxydante.

L'analyse de variance (ANOVA) (Tableau 20 annexe 4) a révélé une différence très significative entre les deux huiles essentielles ($F = 203,39$, $p = 0,00014$), avec un F calculé nettement supérieur aux seuils critiques à 1 % (21,20) et 5 % (7,71). De plus, l'effet des concentrations est également hautement significatif ($F = 127,60$, $p = 0,00018$), indiquant une augmentation progressive de la capacité antioxydante avec la concentration.

Ces résultats soulignent une activité antioxydante marquée des huiles essentielles étudiées, *Satureja candidissima* affichant une capacité antioxydante légèrement supérieure à celle de *Nepeta nepetella*.

III.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude incluent *Bacillus cereus* (ATCC 25921), *Bacillus cereus* groupe IV, *Bacillus licheniformis*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Escherichia coli* (ATCC 8739).

Tableau 10 : Zones d'inhibition antibactérienne des huiles essentielles de *Satureja candidissima* et *Nepeta nepetella* contre divers microorganismes

Organisme	DMSO	Thymol	Zone d'inhibition <i>S.candidissima</i>	Zone d'inhibition <i>N.nepetella</i>
<i>Bacillus cereus</i>	3,5	5,4	3,7	2,9
<i>Bacillus cereus goupe iv</i>	3,5	3,8	3,5	2,8
<i>Bacillus licheniformis</i>	5	2,9	3,3	4,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,5	2,5	2,9	1,6
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,8	4,9	3,1	3,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,9	3,5	2	1,7
<i>Escherichia coli</i>	2	4,3	3,1	2

III.4.1. Résultats de l'antibiogramme

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne *in vitro*. La représentation des diamètres d'inhibition des bactéries étudiées sont illustrés dans le tableau 10

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Nepeta nepetella* et de *Satureja Candidissima* a été étudiée contre des bactéries Gram-positives et Gram-négatives dans cette étude.

Afin d'évaluer l'efficacité de ces huiles essentielles et leur potentiel en tant qu'agents antibactériens, les zones d'inhibition ont été évaluées. Les résultats indiquent que l'activité des deux huiles varie considérablement en fonction des espèces bactériennes, ce qui souligne la particularité de chaque huile et ses potentielles applications thérapeutiques.

L'analyse des zones d'inhibition a révélé que l'huile essentielle de *Satureja Candidissima* présente une plus grande efficacité antibactérienne contre la majorité des souches testées, notamment les bactéries Gram-positives telles que *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* et *Staphylococcus aureus*. Les diamètres d'inhibition de *Satureja Candidissima* contre ces souches varient de 2,9 cm à 3,7 cm, ce qui les classe comme une huile extrêmement active (+++), selon l'échelle de **Ponce et al. (2003)**. Cela confirme le grand potentiel de cette huile pour traiter les infections causées par des bactéries Gram-positives, qui sont souvent plus sensibles aux composés lipophiles présents dans les huiles essentielles (**Abers et al., 2021**).

L'huile essentielle de *Nepeta nepetella*, bien qu'ayant montré une activité antibactérienne importante, semble moins efficace que l'huile essentielle de *Satureja Candidissima* dans la plupart des cas. Cependant, elle présente une meilleure activité contre certaines *Listeria monocytogenes*. L'efficacité contre *Listeria* avec une zone d'inhibition de 3,5 cm est particulièrement intéressante, surtout compte tenu de la virulence de cette bactérie dans des contextes alimentaires.

La persistance de *L. monocytogenes* dans les environnements alimentaires est renforcée par la formation de biofilms sur les surfaces en contact avec les aliments (**Byun et al., 2023 ; Silva et al., 2024**). Ainsi, les deux huiles ont montré une activité inhibitrice contre *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie Gram-négative souvent résistante aux traitements conventionnels. Selon Gozali et Tjampakasari (2023), *P. aeruginosa* présente des barrières naturelles, comme une membrane externe peu perméable et des pompes d'efflux, qui restreignent l'accès aux antibiotiques (**Gozali & Tjampakasari, 2023**). Le transfert horizontal de gènes (HGT) permet à cette bactérie d'acquérir des gènes de résistance provenant d'autres organismes, ce qui améliore son adaptabilité et sa survie (**Dweh & Rayanoothala, 2023**).

La sensibilité des bactéries Gram-positives aux huiles essentielles est bien documentée dans la littérature (**Patterson, McElmeel, et Wiederhold., 2017; Tkachenko et al. 2022**). Nos résultats confirment ces observations.

Les cellules Gram-positives sont plus sensibles aux composés antimicrobiens lipophiles des huiles essentielles, car leur paroi cellulaire est principalement constituée de peptidoglycane, ce qui leur permet de pénétrer et de perturber leur membrane cellulaire (**Bai et al. 2023**).

En revanche, les bactéries Gram-négatives, telles que *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, ont une membrane externe supplémentaire composée de lipopolysaccharides qui agit comme une barrière protectrice, rendant ces bactéries généralement plus résistantes aux huiles essentielles (**Ebbensgaard et al. 2018; May et Grabowicz, 2018**).

Cependant, les résultats indiquent que ces bactéries sont inhibées par les huiles essentielles de *Satureja Candidissima* et *Nepeta nepetella*, avec des zones d'inhibition respectives de 3,1 cm et 2 cm pour *E. coli*. Cela suggère que les deux huiles contiennent des composés capables de traverser cette barrière externe ou d'interagir efficacement avec les cibles cellulaires de ces bactéries.

Les résultats de cette étude suggèrent que les huiles essentielles de *Satureja Candidissima* et de *Nepeta nepetella* peuvent renforcer l'efficacité antibactérienne des antibiotiques et offrir une alternative prometteuse aux additifs alimentaires, en particulier face à la montée de la résistance aux antimicrobiens. L'huile essentielle de *Satureja Candidissima*, avec son efficacité généralisée contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, pourrait être particulièrement utile dans les infections mixtes ou lorsque l'agent pathogène exact n'a pas encore été identifié.

L'huile essentielle de *Nepeta nepetella*, bien que légèrement moins puissante dans l'ensemble, pourrait trouver des applications spécifiques contre des bactéries comme *Listeria monocytogenes*, qui est une menace majeure dans l'industrie alimentaire et *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie souvent impliquée dans les infections nosocomiales et résistante à de nombreux antibiotiques (Biquand, 2017).

Le potentiel élevé des huiles essentielles de *Satureja Candidissima* et *Nepeta nepetella* en tant qu'agents antibactériens naturels est mis en évidence dans cette étude. Ces résultats incitent à des études approfondies afin d'explorer l'utilisation de ces huiles dans les secteurs thérapeutiques et agroalimentaires.

III.5. Analyse *in silico*

III.5.1. *Satureja candidissima* Munby Briq

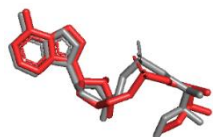
III.5.1.1. Test de fiabilité du protocole

Le docking des composés a été réalisé à l'aide de l'interface graphique PyRx, en utilisant la fonction de notation d'AutoDock Vina pour le docking moléculaire. Avant de procéder à l'étude de l'inhibition des cibles par les constituants des huiles essentielles examinées, nous avons évalué la fiabilité du logiciel utilisé dans cette analyse en appliquant deux critères distincts : l'écart quadratique moyen (RMSD, Root Mean Square Deviation) et l'examen visuel des positions du ligand avant et après le docking, à l'aide du logiciel PYMOL.

La Figure10 présente les protocoles de validation pour le docking moléculaire, en soulignant que les valeurs de RMSD, qui représentent la corrélation entre le ligand calculé et celui cristallisé, doivent être inférieures à 2,0 Å selon Cole et al. (2005). Les résultats du docking moléculaire ont révélé une faible valeur de RMSD pour le chevauchement des poses

Chapitre III : Résultats et Discussion

cristallographiques (en gris) et des poses calculées (en rouge), ce qui indique des résultats favorables conformément aux normes de la littérature (voir Figure 10). Ces résultats confirment que les protocoles appliqués peuvent être utilisés pour les analyses de docking moléculaire entre les récepteurs d'activité antibactérienne et antioxydante et les ligands.



ILA

PDB code **1JZQ**

Resolution : 3.00 Å

Affinity binding = -8.4 kcal mol⁻¹

RMSD : 0.870Å



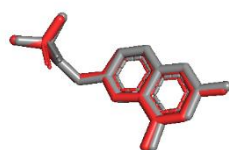
CBN

PDB code **1KZN**

Resolution: 2.30 Å

Affinity binding = -9.3 kcal mol⁻¹

RMSD : 0.371Å



PMM

PDB code **2VEG**

Resolution: 2.40 Å

Affinity binding = -6.9 kcal mol⁻¹

RMSD : 0.359Å



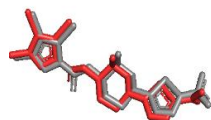
Q27

PDB code **3SRW**

Resolution: 1.70 Å

Affinity binding = -9.8 kcal mol⁻¹

RMSD : 0.356Å



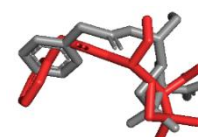
07N

PDB code **3TTZ**

Resolution: 1.63 Å

Affinity binding = -8.3 kcal mol⁻¹

RMSD : 0.491Å



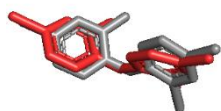
PNM

PDB code **3UDI**

Resolution: 2.60 Å

Affinity binding = -7.4 kcal mol⁻¹

RMSD : 1.117Å



TCL

PDB code **4ALL**

Resolution: 2.80 Å

Affinity binding = -7.1 kcal mol⁻¹

RMSD : 0.560Å



HPA(hypoxanthine)

PDB code **3NRZ**

Resolution: 1.80 Å

Affinity binding = -6,7 kcal mol⁻¹

Figure 10: Données obtenues lors de la validation des protocoles d'amarrage moléculaire pour les récepteurs isoleucyl-ARNt synthétase 1JZQ, ADN gyrase 1KZN, dihydroptéroate synthase 2VEG, dihydrofolate réductase 3SRW, ADN gyrase sous-unité B 3TTZ, PBP1a 3UDI, enoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [NADPH] 4ALL, la xanthine oxydase 3NRZ

Tableau d'affinité : Présentation des affinités entre les molécules et les cibles sous forme de tableau.

Tableau 11 : Carte thermique des scores d'amarrage enregistrés (énergie libre de liaison-kcal/mol) des composants de l'huile essentielle de *Satureja Candidissima (Munby) Briq*

<i>Satureja candidissima</i>		1JZQ	1KZN	2VEG	3SRW	3TTZ	3UDI	4ALL	1og5	2cdu	3nrz
	Native ligand	-8,4	-9,3	-6,9	-9,8	-8,3	-7,4	-7,1	-9,7	-9,2	-6,7
1	Hexane	-3,4	-3,6	-3,2	-3,7	-3,7	-2,8	-4	-4	-3,5	-4,6
2	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	-4,9	-5,8	-4,5	-5,6	-5,8	-4,6	-6,2	-6,1	-5,6	-6,8
3	Ocimene<(E)-, beta->	-4,9	-5,5	-4,5	-5,4	-5,6	-4,2	-5,3	-5,5	-5,1	-6,3
4	3-octanone	-4,1	-4,5	-4,2	-4,3	-4,7	-3,8	-4,6	-4,7	-4,5	-5,7
5	Pentane, 2,2,3-trimethyl-	-4	-3,9	-3,1	-4,2	-4,1	-3,6	-4,9	-4,4	-4,2	-4,4
6	Pentane, 3-methyl-	-3,7	-3,9	-3,2	-3,7	-3,9	-2,9	-4,3	-4	-3,7	-4,7
7	Butanal, 2-methyl-	-3,5	-3,7	-3,4	-3,5	-3,8	-3,2	-4	-3,9	-3,7	-4,8
8	Benzene, methyl(1-methylethyl)-	-5	-5,6	-4	-5,6	-5,4	-4,7	-5,9	-5,7	-5,8	-7
9	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	-5,1	-5,7	-4,4	-5,5	-5,8	-4,9	-6,2	-6	-5,5	-6,8
10	Octanal	-3,7	-4,5	-3,7	-4,1	-4,6	-3,8	-4,6	-4,6	-4,1	-5,2

11	3-heptanol	-4	-4,3	-3,9	-4,4	-4,4	-3,7	-4,3	-4,1	-4,2	-5
12	5-Methyl-1,5-hexadien-3-ol	-4,2	-4,7	-3,8	-4,3	-4,8	-3,7	-4,4	-4,7	-4,2	-5,2
13	1-hexene, 2,4 dimethyl-	-4,1	-4,7	-3,5	-4,5	-4,3	-3,6	-4,7	-4,7	-4,5	-4,6
14	3-octanol	-4	-4,6	-4,2	-4,7	-4,6	-3,9	-4,5	-4,4	-4,5	-5,4
15	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, trans-	-4,8	-5,5	-3,7	-5,7	-5	-4,9	-6,1	-5,8	-5,1	-5,4
16	4-thujanol	-5,1	-6,1	-4	-5,7	-5,2	-4,8	-5,8	-5,8	-5,3	-6
17	Benzofuran, 4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl-	-5,3	-6,3	-5	-5,9	-6	-5	-6,5	-6,3	-6,2	-7,7
18	3-nonanol	-4,3	-4,8	-4,2	-4,7	-4,9	-4	-4,8	-4,8	-4,4	-5,3
19	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, , trans-	-5,1	-5,6	-3,8	-5,7	-5,2	-4,8	-6,2	-5,7	-5,5	-5,6
20	1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	-5	-5,6	-4,5	-5,3	-5,5	-4,5	-5,3	-5,3	-5	-5,1
21	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl- 8-methylene-, (z)-(1r,9s)-(-)-	-6,2	-6,2	-4,2	-7,7	-6,2	-5,5	-7	-7	-6,2	-5,8
22	Neomenthol	-5,3	-6,2	-4	-5,6	-5,5	-4,9	-6	-6,1	-5,5	-6,5
23	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-	-5,3	-6,2	-4	-5,6	-5,5	-4,9	-6	-6,1	-5,5	-6,5
24	Cyclohexanol, 5-METHYL-2-(1- METHYLETHYL)-, (1.ALPHA.,2.ALPHA.,5.BETA.)-	-4,9	-5,3	-3,7	-5,7	-5,1	-4,6	-5,9	-5,4	-4,9	-5,2
25	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.beta.)-	-5	-5,5	-3,8	-5,6	-5,5	-4,9	-5,7	-5,7	-5,2	-5,3

26	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1r-(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]-	-5,3	-5	-3,7	-5,5	-5,2	-4,7	-5,8	-5,5	-4,9	-5,5
27	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)	-4,9	-5,3	-3,7	-5,7	-5,2	-4,7	-6	-5,5	-5	-5,6
28	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-	-5,1	-6,2	-4	-5,5	-5,5	-4,9	-5,9	-6,1	-5,5	-6,5
29	Pulegone	-5,1	-5,7	-4,3	-5,5	-5,5	-4,7	-5,9	-6,3	-5,6	-6,7
30	1,4,8-cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl- (e,e,e)-	-6	-5,6	-4,2	-7	-5,9	-5,3	-7,5	-7,1	-6,1	-5,4
31	2-cyclohexen-1-one, 2-(2-methyl-2-propenyl)-	-4,9	-5,6	-4,2	-5,7	-5,5	-4,5	-6,1	-5,5	-5,4	-7,1
32	Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	-4,9	-5,5	-4,5	-5,3	-5,5	-4,7	-5,4	-5,4	-5,5	-7,3
33	Verbenol	-4,8	-4,9	-3,9	-5,8	-5,1	-5,3	-6,5	-5,8	-5,5	-5,2
34	1,6-cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8- (1-methylethyl)-, [s-(e,e)]-	-6,1	-6,3	-5,5	-7,4	-7,1	-6,4	-7,6	-7,4	-6,7	-6,6
35	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7- trimethyl-, (1S-endo)-	-4,6	-4,6	-4,1	-5,6	-4,9	-5	-6	-5,7	-4,8	-4,9
36	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1- methylethyl)-	-5,2	-5,8	-4,8	-5,6	-5,5	-4,9	-6,1	-6,2	-5,5	-6,6
37	Bicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11- tetramethyl-, (1r*,2z,6e,10r*)-(.+-.)	-6,4	-6,1	-4,3	-7,3	-6,5	-5,9	-7,4	-7,3	-6,8	-6

38	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-	-5,3	-6	-4,6	-5,5	-5,8	-5	-6,3	-6,4	-6,1	-7,1
39	1,1,4,7-tetramethyldecahydro-1h-cyclopropa[e]azulen-4-ol	-6,2	-5,8	-4,4	-7,5	-6,2	-6,6	-7,9	-7,2	-5,8	-5,5
40	Cedrene	-6,3	-6,5	-4,7	-7,3	-6,6	-6,1	-7,8	-7,4	-6,2	-6,7
41	Myrtenol	-4,8	-4,8	-4,1	-6	-5,3	-5,2	-6,2	-5,8	-5,1	-5,5
42	7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethylidene)	-5,7	-6,2	-4,9	-6,1	-6,2	-5,4	-6,4	-6,3	-6,3	-6,9
43	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethenyl)-, (+)-	-5,2	-5,6	-4,1	-5,7	-5,3	-4,8	-6,1	-6,1	-5,4	-7,2
44	Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	-4,9	-5,6	-4,5	-5,4	-5,5	-4,7	-5,3	-5,4	-5,6	-7,2
45	Bicyclo[3.2.0]heptan-2-one, 5-formylmethyl-6-hydroxy-3,3-dimethyl-6-vinyl-	-5,7	-5,6	-4,1	-6,1	-5,7	-5,3	-6,5	-6,3	-5,8	-4,9
46	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)-	-5,4	-6,4	-5,1	-6,1	-6,3	-5	-6,4	-6,5	-5,9	-7,6
47	2-cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2-pentenyl)-, (z)-	-5,6	-5,9	-4,5	-5,9	-6,2	-5,1	-6	-6,2	-5,6	-6,8
48	Piperitenone oxide	-5,6	-5,9	-5,6	-6,1	-6,2	-6	-6,3	-6,4	-6	-6,4
49	2-Allyl-4-methylphenol	-5,2	-5,8	-5,1	-5,5	-5,8	-5	-6,2	-6,1	-5,6	-7,2
50	1-Hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene	-6,3	-6,1	-4,5	-7,3	-6,3	-5,7	-7,4	-7,3	-6,7	-6,5

51	1h-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-	-6,2	-6,1	-4,4	-7,3	-6,7	-6	-8	-7,3	-6,5	-6,2
52	3-Allyl-6-methoxyphenol	-5,2	-5,8	-5,2	-5,7	-5,9	-5,2	-5,6	-5,7	-5,6	-7,5
53	Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	-5,3	-6,2	-4,5	-5,7	-5,8	-5	-6,3	-6	-5,4	-6,7
54	Isospathulenol	-6,5	-6,3	-4,7	-7,7	-7,3	-5,9	-6,7	-7,6	-6,9	-5,6

L'échelle de couleurs va du vert au jaune (de l'énergie libre de liaison la plus faible à la plus élevée).

III.5.1.2. Discussions sur les composants ayant une activité antioxydante

Pour afficher les scores d'amarrage, nous avons utilisé un tableau thermique à deux couleurs (tableau 11) dans lequel les couleurs verte et jaune représentent des affinités de liaison faibles et élevées, respectivement. Cette méthode a été adaptée à nos conditions actuelles à partir des études rapportées par **Jianu et al. (2021)** et **Radulescu et al. (2021)**.

Tableau 11 permet d'identifier facilement les composés susceptibles d'agir comme inhibiteurs potentiels d'une protéine spécifique. Pour chaque protéine cible, la gamme de couleurs a été définie sur la base de la valeur énergétique du ligand natif. Cette approche est particulièrement adaptée aux groupes de composés présentant des caractéristiques structurales similaires.

Les monoterpènes sont des métabolites végétaux secondaires dont les effets antioxydants sont connus et sont principalement dus à leur système de double liaison conjuguée au sein de leur structure. Certains dérivés présentent cet effet par la présence supplémentaire de groupes facilement oxydables, tels que des hydroxyles phénoliques ou alcooliques (**Wojtunik-Kulesza et al., 2019**).

La xanthine oxydase (3NRZ). Cette enzyme est responsable de l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine, suivie de la conversion de la xanthine en acide urique. De plus, la xanthine oxydase est une source importante d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que l'ion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène, qui jouent un rôle clé dans l'activation de certaines voies métaboliques (**Battelli et al., 2016**).

Selon les scores d'amarrage, 12 composés ont montré une meilleure affinité que le ligand natif, l'hypoxanthine, avec des énergies de liaison inférieures à -6,7 kcal/mol.

Ces résultats confirment une étude antérieure qui a démontré le potentiel antioxydant des huiles essentielles riches en monoterpènes issues de *Mentha × smithiana* (**Jianu et al., 2021**). Ainsi, il est probable que l'huile essentielle de *Satureja candidissima* puisse exercer une activité antioxydante *in vitro* en inhibant la xanthine oxydase.

Les structures les mieux notées étaient le Lig8, identifié comme Benzène, Méthyle(1-Méthyléthyl), présente une affinité de -7, suivi du Lig9 avec une structure de Cyclohexène, 1-Méthyl-4-(1-Méthyléthylidène) et un score de -6,8. Le Lig17, correspondant au Benzofurane,

Chapitre III : Résultats et Discussion

4,5,6,7-Tétrahydro-3,6-Diméthyl, obtient le meilleur score avec -7,7. D'autres composés remarquables incluent le Lig31 (2-Cyclohexène-1-one, 2-(2-Méthyl-2-propényl)) et le Lig32 (Benzène, 1-Méthoxy-4-(2-propényl)) qui ont respectivement des scores de -7,1 et -7,3. Le Lig38 et le Lig42, portant sur des dérivés cyclohexènes, obtiennent des valeurs proches de -7,1 et -6,9. Enfin, le Lig43, Lig44, Lig46, et Lig49 présentent également des scores significatifs, entre -7,2 et -7,6, suggérant une interaction favorable avec la xanthine oxydase.

L'analyse de la liaison a montré que le composé 17 Benzofurane, 4,5,6,7-Tétrahydro-3,6-Diméthyl était bien logée dans la poche de liaison de la xanthine oxydase grâce à une liaison hydrogène formés avec THR 1010, au moyen du groupe hydroxyle, et qu'elle était bien stabilisée par plusieurs interactions hydrophobes supplémentaires (Figure 11).

Analyse visuelle : Interprétation graphique des résultats de docking pour faciliter la compréhension des interactions.

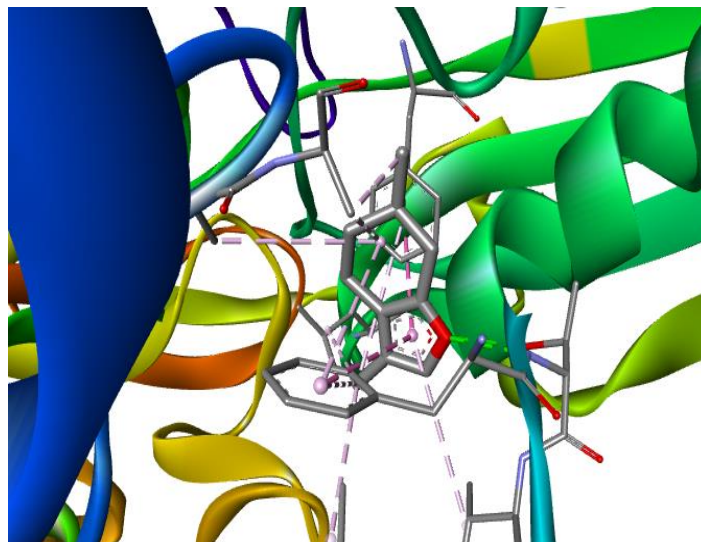
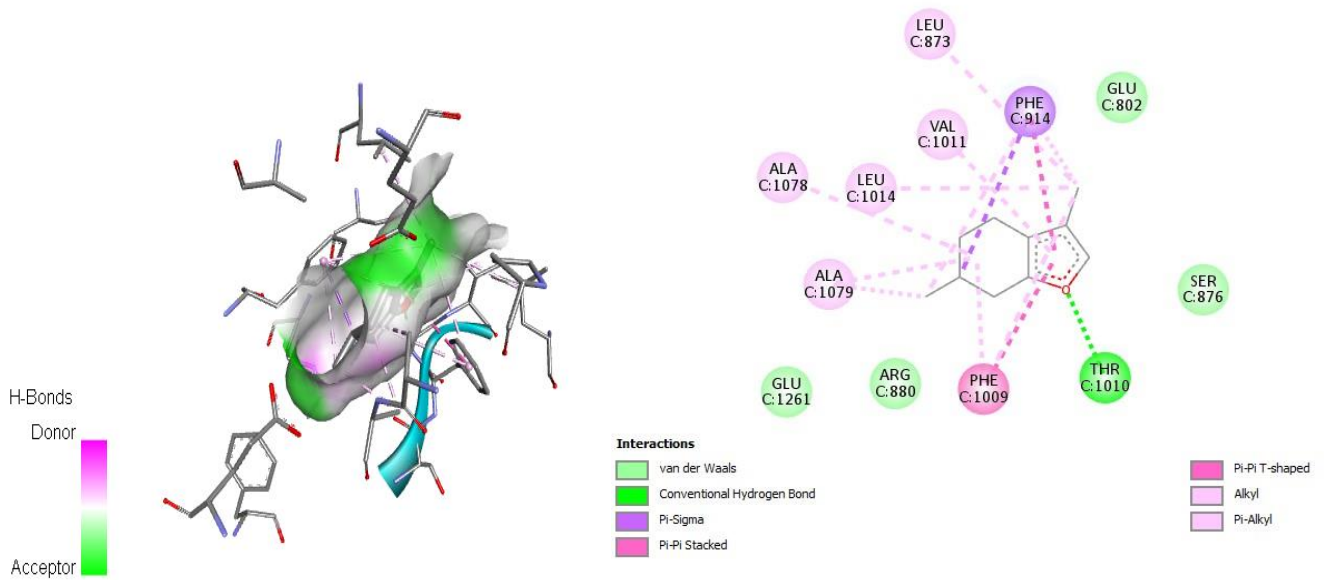


Figure 11 : Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 17 ; Benzofuran, 4,5,6,7-tetrahydro-3,6-diméthyl et la xanthine oxydase (PDB ID:3NRZ)

III.5.1.3. Discussions sur les composants ayant une activité antibactérienne

Dans notre étude, la majorité des 54 composants identifiés dans l'huile essentielle étaient composés de terpènes/dérivés de terpènes.

L'enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI a été initialement identifiée dans les neutrophiles et autres phagocytes et l'on pensait qu'elle était utilisée uniquement pour les mécanismes de défense de l'hôte. Cette enzyme est très conservée dans de nombreux pathogènes, l'enoyl-[acyl-carrier-protein] réductase de *S. aureus* étant la seule FabI connue ayant une nette préférence pour le NADPH. L'essai clinique d'inhibiteurs de FabI, tels que l'isoniazide, un médicament de première intention contre la tuberculose, et plusieurs composés actuellement en phase I d'essais cliniques confirment que cette enzyme est une cible médicamenteuse intéressante (Bai et al. 2023).

Sept des composés ancrés ont montré une affinité pour l'enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI qui était similaire au ligand cocrystallisé triclosan (-7,1 kcal/mol). Cependant, le 1H-cycloprop[e]azulen-7-ol, décahydro-1,1,7-triméthyl-4-méthylène- (-8 kcal/mol), le 1,1,4,7-tétraméthyl-décahydro-1H-cyclopropa[e]azulen-4-ol (-7.9 kcal/mol), cedrène (-7,8 kcal/mol), 1,6-cyclodécadiène, 1-méthyl-5-méthylène-8-(1-méthyléthyle)-, (-7,6 kcal/mol), 1,4,8-cyclodécatriène, 2,6,6,9-tétraméthyle, (-7.5 kcal/mol), bicyclo [8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tétraméthyl-, (1r,2z,6e, 10r) et 1-hydroxy-1,7-diméthyl-4-isopropyl-2,7-cyclodécadiène (-7.4 kcal/mol) ont montré des énergies de liaison plus faibles que le ligand cocrystallisé, Suggérant qu'ils peuvent avoir une affinité plus élevée pour la protéine cible.

Nos données indiquent qu'en dépit d'être le composé le plus abondant, la pulégone (la composante principale) (-5,9 kcal/mol) n'a pas été incluse parmi les sept composés actifs discutés précédemment.

Le composé présentant le meilleur score d'amarrage était le composé 51 ; 1 h-cycloprop[e]azulen-7-ol, décahydro-1,1,7-triméthyl-4-méthylène ; -8 kcal/mol. L'analyse de la liaison a montré qu'il s'intégrait bien dans le site de liaison de la protéine, formant une liaison hydrogène avec Tyr157 et interagissant avec l'alkyle Ala190 et π sigma Tyr147.

De même, le composé 39 ; 1,1,4,7-tétraméthyl-décahydro-1H-cyclopropa[e]azulen-4-ol à -7,9 kcal/mol a montré une bonne interaction avec la protéine, formant une liaison hydrogène conventionnelle avec Tyr157 et interagissant avec le groupe alkyle (Tyr157, Ala198, Val201) et π sigma Tyr147.

Comme le montrent les figures 12 et 13 Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de *satureja candidissima munby brik* a une forte affinité pour l'enoyl-[acyl-carrier-protein] réductase, formant un complexe stable qui catalyse le NADPH pour produire une grande quantité de ROS dans les cellules bactériennes, conduisant à leur mort.

Cet effet antibactérien peut être dû au fait que l'huile essentielles de *satureja candidissima munby brik* se lie au complexe FabI/NADPH par de multiples voies, comme le catéchol fonctionnalisés étudiés, qui a démontré une activité antibactérienne à large spectre contre de multiples bactéries résistantes aux médicaments, y compris le *S. aureus* résistant à la méthicilline (Liu et al., 2021).

Analyse visuelle : Interprétation graphique des résultats de docking pour faciliter la compréhension des interactions.

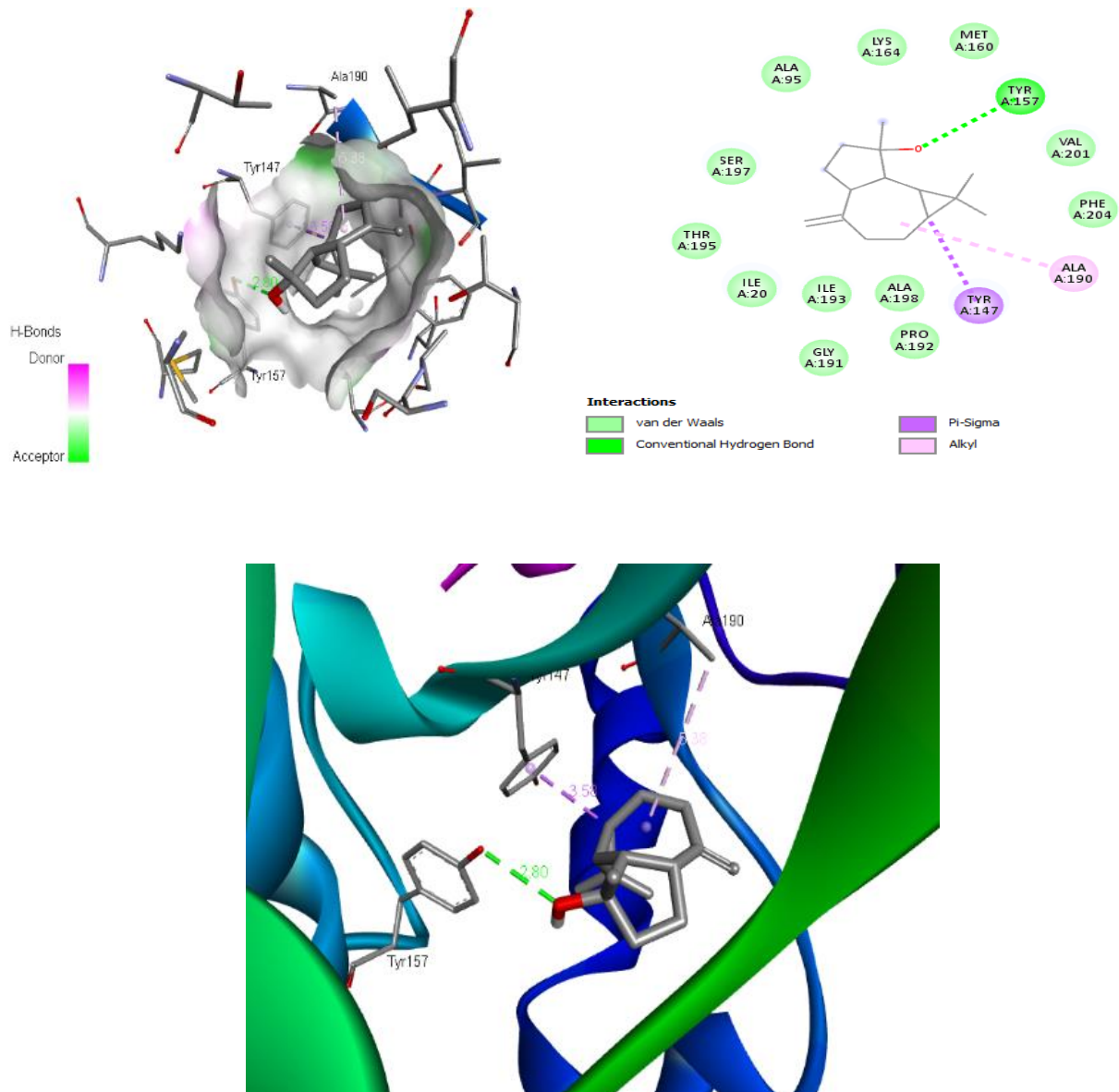


Figure 12 : Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 51 ; 1h-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-triméthyle-4-méthylene- et l'enoyle-[acyl-carrier-protein] reductase [nadph] (PDB ID:4ALL)

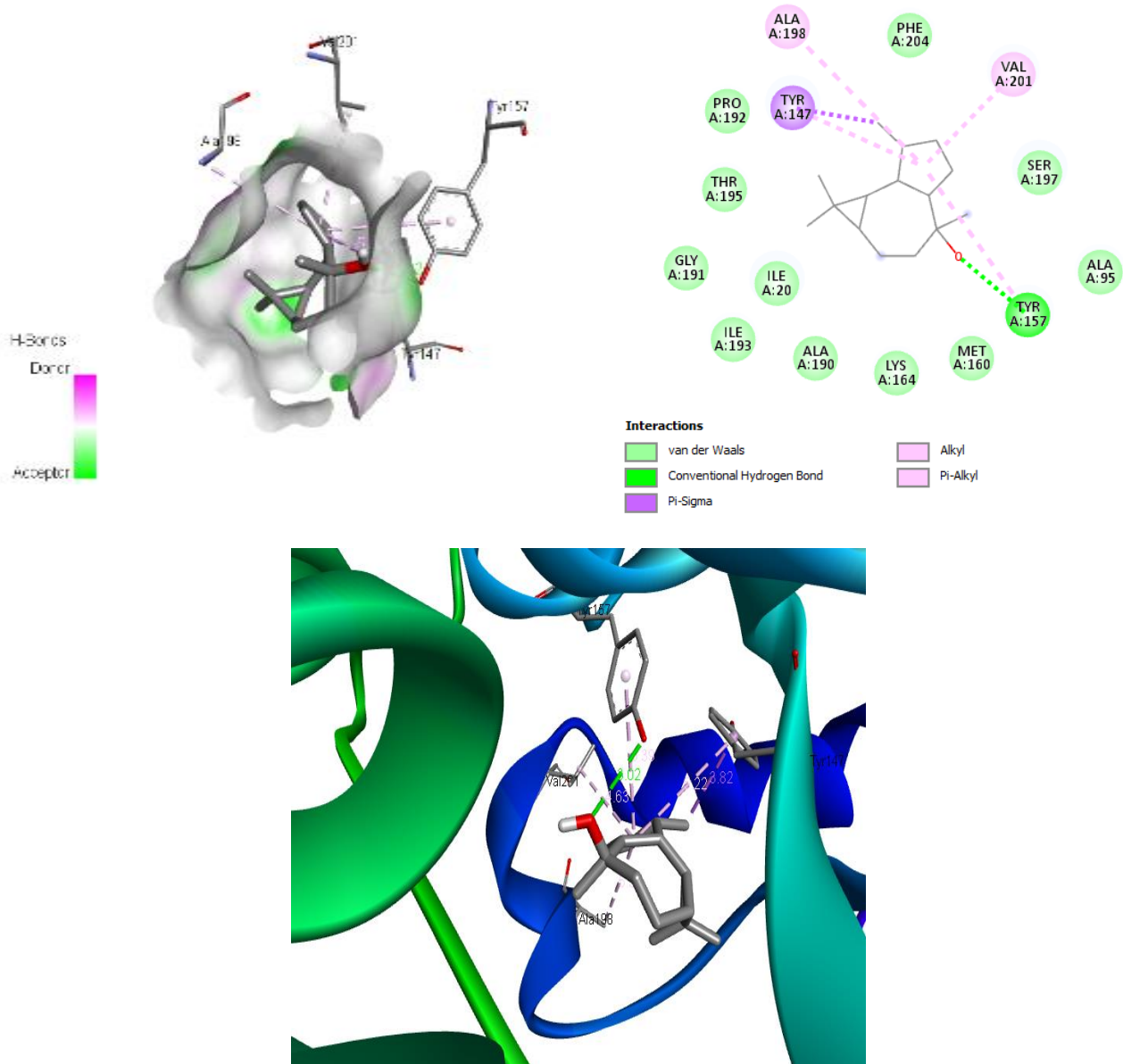


Figure 13 : Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 39 ; 1,1,4,7-tétraméthyl-décahydro-1 h-cyclopropa[e]azulen-4-Ol et l'énoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [nadph] (PDB ID:4ALL)

III.5.2. *Nepeta nepetella subsp. Amethystina*

III.5.2.1. Test de fiabilité du protocole

Pour *nepeta nepetella subsp. Amethystina*, nous avons confirmé l'efficacité du protocole de la même manière qu'avec *Satureja candidissima Munby Brik*, en évaluant les valeurs de RMSD et la correspondance entre les poses cristallographiques calculées et théoriques.

Étant donné que nous avons réalisé le docking pour chaque plante individuellement, il est évident que les valeurs de RMSD varieront, comme l'illustre le tableau suivant. Nous observons que les valeurs de RMSD sont inférieures à 2 angströms, variant de 0.158 Å à 1.642 Å. Ces valeurs diffèrent légèrement de celles de *Satureja candidissima Munby Brik*, comme indiqué dans le tableau 12 Ce changement peut être attribué à la variation de la grille (grid box) utilisée pour toutes les protéines.

Pour l'enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] (4ALL), la grille a les coordonnées suivantes : centre x = 1,385, centre y = -21,423, centre z = -23,224, avec une taille de : taille x = 7,272, taille y = 6,089, taille z = 10,764. Et en ce qui concerne la xanthine oxydase (3NRZ), les coordonnées sont : centre x = 37,940, centre y = 19,688, centre z = 18,084, et la taille est de : taille x = 12,110, taille y = 9,630, taille z = 12,041.

Tableau 12 : Valeurs RMSD pour les Récepteurs et Ligands Cristallographiques de *Nepeta nepetella subsp. Amethystina*

Recepteur	Ligand cristallographiques	RMSD (Å)
1JZQ	ILA	0.551
1KZN	CBN	0.592
2VEG	PMM	0.187
3SRW	Q27	0.158
3TTZ	07N	0.531
3UDI	PNM	1.083
4ALL	TCL	1.642
3NRZ	HPA	0.000

Tableau d'affinité : Présentation des affinités entre les molécules et les cibles sous forme de tableau.

Tableau 13 : Carte thermique des scores d'amarrage enregistrés (énergie libre de liaison-kcal/mol) des composants de l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* subsp. *Amethystina*

<i>Nepeta nepetella</i>		1JZQ	1KZN	2VEG	3UDI	3TTZ	3SRW	4ALL	1OG5	2CDU	3NRZ
	Nl	-8,5	-9,2	-6,9	-6,9	-8,3	-10,1	-7,1	-9,7	-9,2	-6,7
lig1	Hexane	-3,4	-3,7	-3,2	-2,8	-3,8	-3,7	-4	-4,1	-3,6	-4,6
lig2	Butanoic acid, 3-methyl-, 2-methylpropyl ester	-4,7	-4,8	-4,4	-4,5	-5	-5,2	-5,1	-5,5	-4,8	-6,1
lig3	Pentane, 3-methyl	-3,6	-3,9	-3,3	-2,9	-3,9	-3,7	-4,2	-4,1	-3,7	-4,7
lig4	Myrcene	-4,5	-5,2	-4,3	-3,7	-5,3	-5	-5,2	-5,4	-4,9	-5,9
lig5	Pentane, 2,2,3-trimethyl	-4	-3,8	-3	-3,6	-4	-4,3	-5	-4,4	-4,2	-4,2
lig6	3-Heptanone, 5-ethyl-4-methyl	-4,7	-5,1	-4,3	-4,1	-5	-5,3	-5,2	-5,2	-4,9	-4,1
lig7	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)	-5	-5,4	-4,3	-4,2	-5,5	-5,1	-5,2	-5,5	-4,8	-5,9
lig8	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)	-5,1	-5,8	-4,4	-4,4	-5,5	-5,6	-5,9	-6,2	-5,6	-6,6
lig9	Eucalyptol	-4,8	-4,6	-3,6	-4,6	-4,9	-5,8	-6,2	-5,5	-4,3	-1,8
lig10	(R)-(+)-3-methylcyclopentanone	-4	-4,3	-3,9	-3,7	-4,5	-4,3	-4,8	-4,6	-4,3	-5,9
lig11	Butanal, 2-methyl	-3,5	-3,6	-3,4	-3,3	-3,7	-3,5	-4	-3,8	-3,7	-4,8
lig12	Hex-2(E)-enal	-3,7	-4,1	-3,6	-3,6	-4,1	-4	-4,2	-4,2	-4	-5,3
lig13	Benzene, ethenyl	-4,4	-5,2	-4,1	-4	-5	-4,9	-5,5	-5,4	-4,9	-6,6

lig14	2h-pyran-3(4h)-one, 6-ethenyldihydro-2,2,6-trimethyl	-5,3	-4,8	-4,1	-5,2	-5,2	-5,7	-6,1	-6,1	-5	-3,8
lig15	Copaene	-6,6	-6,6	-4,3	-5,4	-6,3	-7,4	-7,3	-7,5	-6,1	-1,7
lig16	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1R)	-4,9	-4,5	-3,4	-5,2	-4,7	-6	-6,5	-5,8	-4,4	0,6
lig17	Cyclobuta[1,2:3,4]dicyclopentene, 1,2,3,3a,3b.beta.,4,5,6,6a.beta.,6b.alpha.-decahydro-1.alpha.-isopropyl	-6,1	-5,5	-3,9	-5,8	-6	-7,1	-8	-7,3	-4,3	0,5
lig18	2-(1-cyclopent-1-enyl-1-methyl-ethyl)-cyclopentanone	-5,7	-6,1	-4,6	-5,5	-6,6	-6,5	-6,9	-6,8	-5,4	-4,1
lig19	Bicyclo[3.1.1]heptan-2-one, 6,6-dimethyl-, (1R)	-4,8	-4,3	-3,5	-4,8	-5,1	-5,4	-6	-5,4	-4,2	-2,2
lig20	1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl	-5,3	-5,6	-4,5	-4,5	-5,6	-5,6	-5,2	-5,4	-4,7	-4,9
lig21	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, endo	-5,4	-5,4	-4,3	-5,3	-5,3	-6,3	-6,4	-6,1	-4,9	0,9
lig22	Caryophyllene	-6,1	-5,5	-4,2	-4,9	-5,6	-7,3	-7,4	-7,3	-6,9	0,8
lig23	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)	-5,1	-4,9	-3,5	-4,5	-5,8	-5,5	-6,1	-5,5	-4,6	-3,8
lig24	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-carboxaldehyde, 6,6-dimethyl	-4,7	-4,8	-3,7	-5,1	-5,1	-5,9	-6,3	-5,8	-4,5	-3,4
lig25	Cyclopropane, 1,1,2-trimethyl-3-(2-methyl-1-propenyl)	-5,1	-4,9	-3,8	-4,3	-5,6	-5,4	-5,8	-5,6	-4,8	-3,4
lig26	Farnesene <(E)-, beta->	-5,4	-5,9	-4,7	-4,8	-5,8	-5,9	-5,9	-6,4	-5,7	-6,7

lig27	4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-ol	-4,9	-4,8	-3,5	-5	-5,3	-5,7	-6,4	-5,6	-4,5	-1,5
lig28	4-Ethylbenzoic acid, 3-phenylpropyl ester	-5,7	-7,3	-5,3	-5,6	-7,1	-7,6	-6,9	-6,7	-7,1	-9,2
lig29	Borneol	-4,7	-4,3	-3,4	-4,9	-4,7	-5,5	-6,1	-5,6	-4,1	-0,8
lig30	Z-3-hexenyl lactate	-4,8	-5,3	-4,7	-5	-5,6	-5,4	-5,1	-5,4	-5	-6,2
lig31	2,6-octadienal, 3,7-dimethyl	-5	-5,4	-4,6	-4,8	-5,5	-5,3	-5,5	-5,6	-5,1	-5,7
lig32	Neryl acetate	-5,7	-5,6	-5	-5,3	-5,9	-5,6	-6,1	-6	-5,6	-5,7
lig33	Benzenepropanoic acid, methyl ester	-5,3	-6	-4,8	-5,2	-6,1	-5,6	-6,2	-5,9	-5,4	-6,6
lig34	Hydrocinnamate <ethyl->	-5,4	-6,2	-5,6	-5,8	-6,4	-6	-6,2	-6,2	-6,2	-7,1
lig35	Cyclopentanecarboxylic acid, 2-(2-hydroxy-1-methylvinyl)-5-methyl-, .delta.-lactone	-5,9	-5,6	-4,3	-5,6	-6,1	-5,9	-6,1	-6,5	-5,7	-2
lig36	1,4-methanoazulen-7(1h)-one, octahydro-1,5,5,8a-tetramethyl	-6,4	-6,2	-3,9	-5	-6	-7,8	-8,2	-7,4	-5	3,1
lig37	Cyclopentanecarboxylic acid, 2-(2-hydroxy-1-methylvinyl)-5-methyl-, .delta.-lac	-5,3	-5,9	-4	-5,6	-5,8	-6,6	-6,5	-5,9	-5,1	-4,8
lig38	(-)-5-oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-trimethyl-9-methylene-, [1r-(1r*,4r*,6r*,10s*)]	-7	-5,6	-4	-6,2	-6,1	-8	-7,8	-7,2	-6,5	-0,1
lig39	Phosphoric acid, 4,5-dimethoxy-1-naphthalenyl dimethyl ester	-6,2	-6,3	-5,2	-6,7	-6,4	-6,7	-6,6	-5,8	-6,5	-0,8

lig40	(E)-ethyl 7-oxo-2,5,5-trimethylhept-2-enoate	-5,5	-5,5	-4,8	-5,3	-6,1	-5,6	-6,1	-5,5	-5,6	-5,4
lig41	1,4-Methanoazulen-7(1H)-one, octahydro-4,8,8,9-tetramethyl-, (+)-	-6,6	-6,3	-2,7	-5,1	-6,7	-6,8	-8,5	-7,4	-5,5	4,6
lig42	Cyclopentanecarboxylic acid, 2-(2-hydroxy-1-methylvinyl)-5-methyl-, .delta.-lac	-5,4	-5,9	-4,1	-5,6	-5,8	-6,6	-6,5	-5,9	-5,1	-6,1
lig43	1,6,10-dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl	-5,8	-6,3	-4,8	-4,9	-6,2	-6,3	-6	-5,7	-6,3	-6,1
lig44	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)	-5,3	-5,7	-4,9	-4,8	-5,5	-5,7	-6	-6,2	-5,4	-6,5
lig45	Sesquisabinene hydrate	-6,4	-6,5	-5,2	-5,7	-7	-6,7	-6,7	-7,1	-6,5	-5
lig46	2-Isopropyl-4-methylcyclohexyl ethylphosphonofluoridate	-5,8	-6	-5,1	-5,3	-5,8	-6,4	-6,8	-6,4	-6,1	-3,2
lig47	Muurolol <alpha-,epi->	-6,1	-6,4	-5,2	-5,5	-6,7	-7,8	-7,3	-7,1	-6,1	-0,1
lig48	1-naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1s-(1.alpha.,4.alpha.,4a.alpha	-6,1	-6,5	-4,5	-5,8	-7	-7,2	-6,8	-7,2	-5,9	-1,8
lig49	5-Caranol, trans,trans-(+)	-5,6	-5,9	-3,7	-4,8	-5,6	-6,1	-6	-5,9	-5,5	-5,4
lig50	Alpha.-cadinol	-6,2	-5,7	-5,2	-6,5	-7,1	-7,9	-7,2	-7,2	-6,9	-1,1
lig51	Alpha.-bisabolol	-6,4	-6,8	-4,8	-5,4	-6,9	-7,2	-6,8	-6,5	-7	-6,8
lig52	O-Isopropylphenetole	-4,8	-5,5	-4,3	-4,9	-5,6	-5,7	-5,8	-5,9	-5,5	-4,8
lig53	2-oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl	-4,8	-4,6	-3,7	-4,6	-4,9	-5,8	-6,2	-5,5	-4,3	-1,4

lig54	4-Oxo-.beta.-isodamascol	-6,4	-6,5	-4,1	-4,8	-6,1	-6,7	-6,4	-6,6	-5,3	-3,1
lig55	Cyclopentanecarboxylic acid, 2-acetyl-5-methyl	-5,3	-6	-4,6	-6,1	-6,1	-5,8	-6,1	-5,8	-5,3	-4,7
lig56	Bicyclo[3.1.0]hexane-2-undecanoic acid, methyl ester	-5,4	-5,9	-4,5	-5,2	-6,4	-6,2	-6,2	-5,7	-5,9	-5,9
lig57	Spiro[5.6]dodecane	-5,8	-5,5	-3,9	-5,1	-5,7	-7,1	-6,7	-6,2	-5,6	-3,8

L'échelle de couleurs va du marron au beige (de l'énergie libre de liaison la plus faible à l'énergie libre de liaison la plus élevée).L'échelle de couleurs va du marron au beige (de l'énergie libre de liaison la plus faible à l'énergie libre de liaison la plus élevée).

III.5.2.2. Analyse des composants aux propriétés antioxydantes et antibactériennes.

Nepeta nepetella présente des similitudes avec *Satureja candidissima*, notamment en ce qui concerne l'effet des composants de son huile essentielle sur les mêmes protéines cibles, à savoir 4ALL et 3NRZ. Cette similitude peut s'expliquer par leur appartenance à la même famille botanique, les Lamiacées. Cette hypothèse est corroborée par d'autres études, comme celles portant sur les huiles essentielles de *Mentha × smithiana* et de *Melissa officinalis*, qui ont également montré des effets sur la protéine 3NRZ (Jianu et al. 2021 ; Rădulescu et al. 2021).

Pour la protéine 3NRZ, les résultats de l'amarrage moléculaire ont permis de comparer les structures les mieux notées au ligand cocrystallisé HPA, qui possède une énergie de liaison de -6,7 kcal/mol. Parmi les ligands évalués, Lig 26 (Farnésène) a une énergie équivalente de -6,7 kcal/mol, tandis que Lig 28 (acide 4-éthylbenzoïque, ester de 3-phénylpropyle) se distingue par une énergie de -9,2 kcal/mol. De plus, Lig 34 (Hydrocinnamate éthyle) montre une énergie de -7,1 kcal/mol, et Lig 51 (alpha-Bisabolol) présente une énergie de -6,8 kcal/mol.

Le composé avec le meilleur score d'amarrage est Lig 28, qui a formé deux liaisons hydrogène avec Thr1010 et Val1011, ainsi que plus de 10 interactions hydrophobes.

L'effet antibactérien de *Nepeta nepetella subsp. Amethystina* sur l'enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] a été étudié en comparant les structures des ligands les mieux notés avec le ligand co-cristallographique triclosan, qui présente une énergie de liaison de (-7,1 kcal/mol). Parmi les ligands testés, le Lig 15, le copaène, a montré une énergie de (-7,3 kcal/mol). Le Lig 17, Cyclobuta[1,2:3,4]Dicyclopentène, 1,2,3,3a,3b-Bêta., 4,5,6,6a-Bêta., 6b-Alpha.-Decahydro-1.Alpha.-Isopropyle, a obtenu la meilleure performance avec une énergie de (-8 kcal/mol). D'autres ligands notables incluent le Lig 22, le caryophyllène (-7,4 kcal/mol), le Lig 36, 1,4-Méthanoazulène-7(1H)-one, octahydro-1,5,5,8a-tétraméthyl (-8 kcal/mol), et le Lig 41, 1,4-Méthanoazulène-7(1H)-one, octahydro-4,8,8,9-tétraméthyl-, avec une énergie de (-8,5 kcal/mol). Cela suggère que cette huile essentielle pourrait avoir un potentiel en tant qu'agent antibactérien naturel.

De plus, le composé 36 a formé deux liaisons hydrogène avec les résidus Thr195 et Ala198, tandis que le composé 41 a établi une liaison hydrogène avec Tyr157, ce qui indique une bonne affinité pour la cible. Ces interactions renforcent l'idée que les composants de *Nepeta nepetella* pourraient jouer un rôle significatif dans le développement d'agents antimicrobiens naturels

Analyse visuelle : Interprétation graphique des résultats pour illustrer les interactions entre les molécules et les cibles.

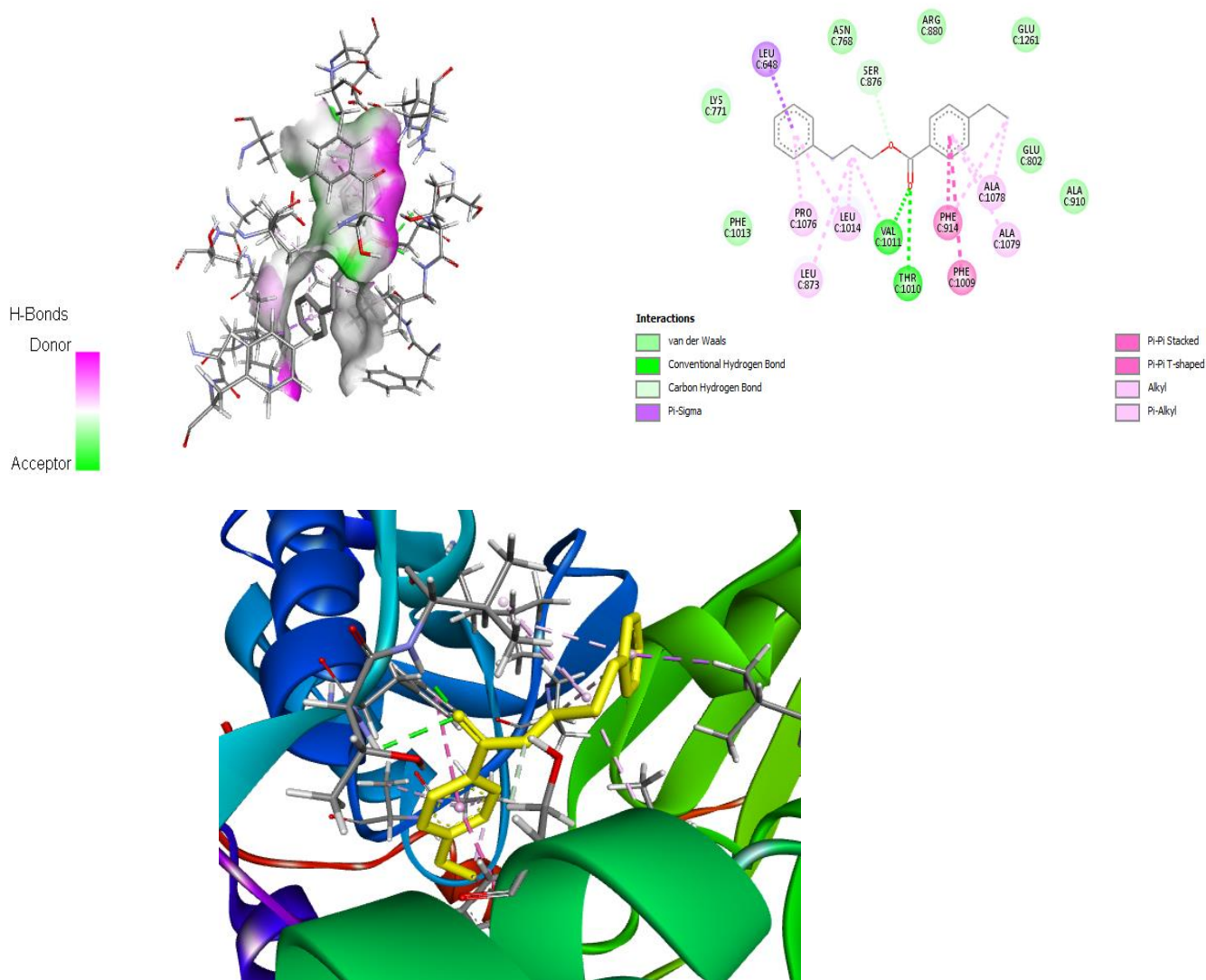


Figure 14 : Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 28 ; 4-Ethylbenzoic acid, 3-phenylpropyl ester et la xanthine oxydase (PDB ID : 3NRZ)

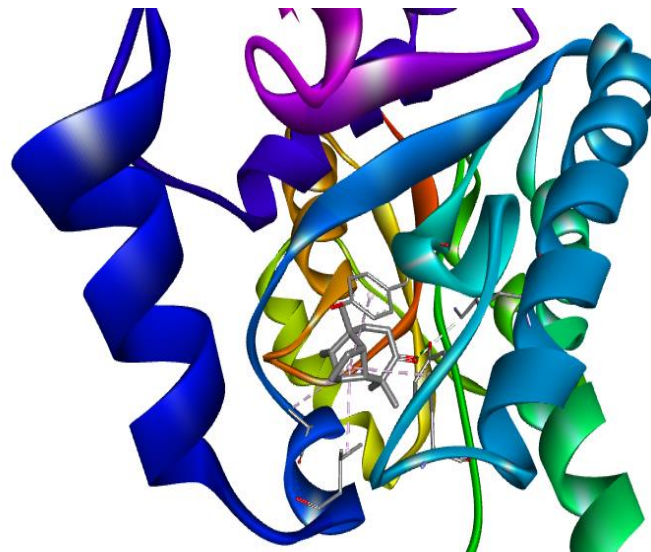
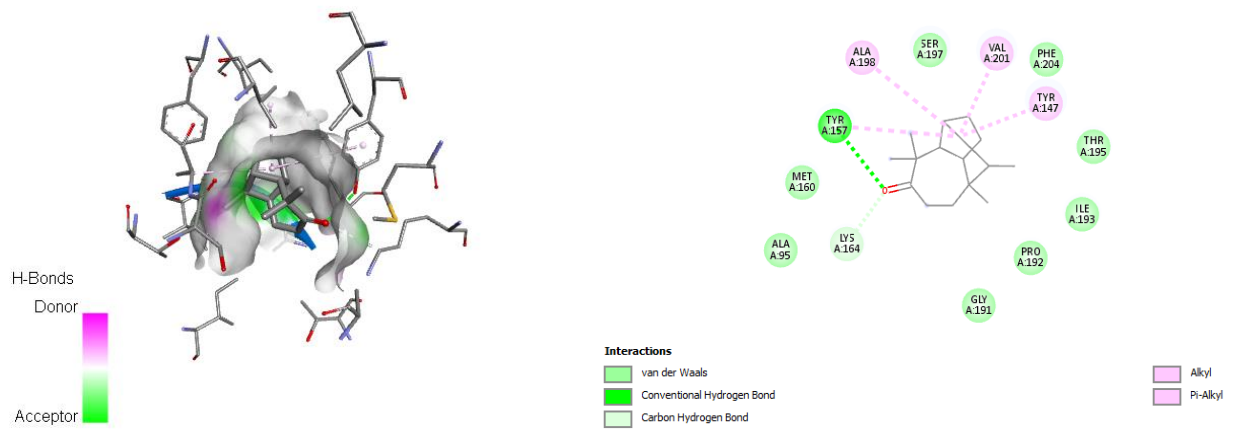


Figure 15 : Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 41 ; 1,4-Methanoazulen-7(1H)-one, octahydro-4,8,8,9-tetramethyl et l'énoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [nadph] (PDB ID:4ALL)

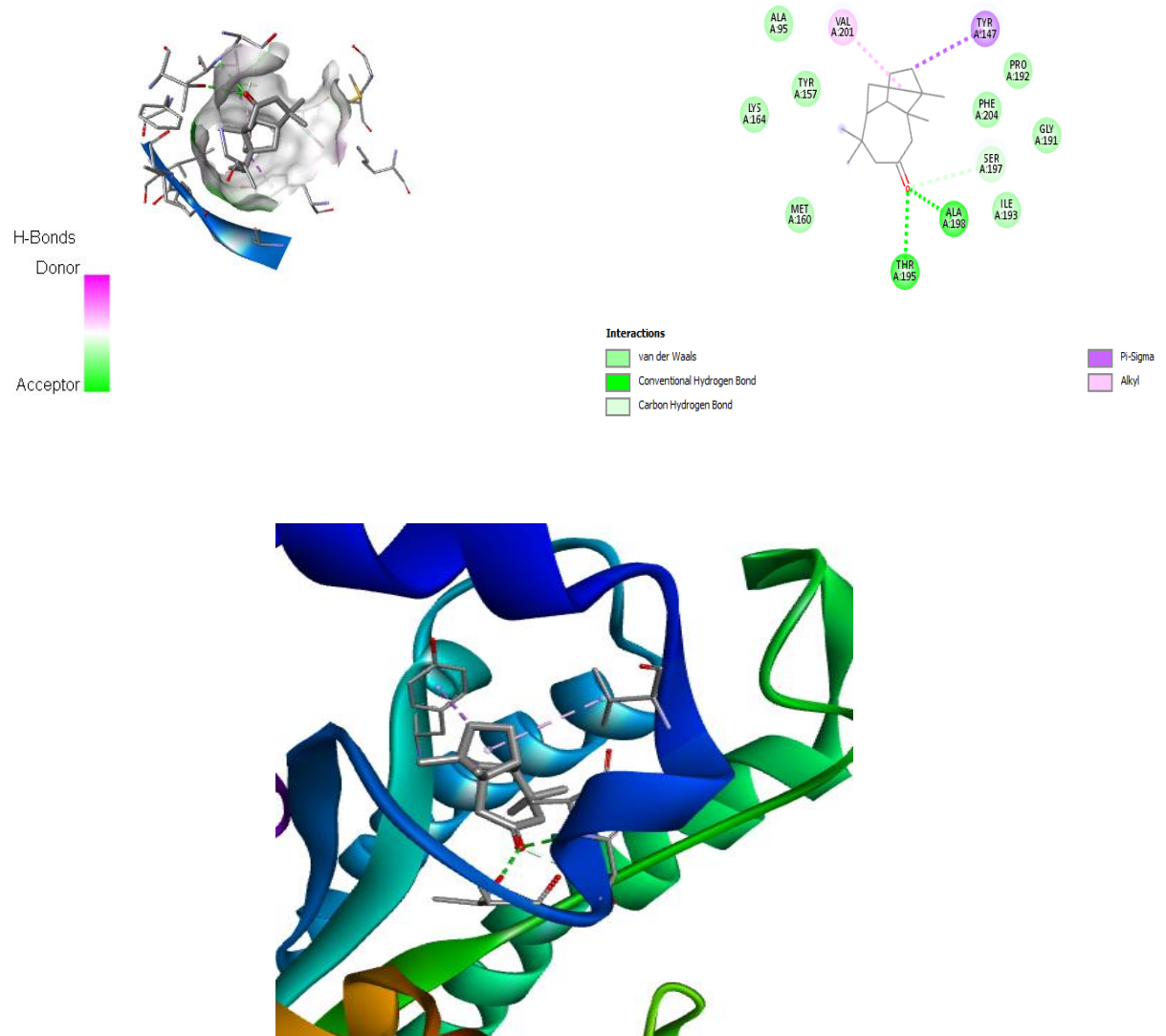


Figure 16 : Contact intermoléculaire 2D et 3D entre le composé 36 ; 1,4-methanoazulen-7(1h)-one, octahydro-1,5,5,8a-tetramethyl et l'énoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [nadph] (PDB ID:4ALL)

III.6. Comparaison croisée des résultats *in vitro* et *in silico*

Les résultats obtenus *in vitro* ont mis en évidence une activité antioxydante significative des huiles essentielles de *Nepeta nepetella subsp. Amethystina* et *Satureja Candidissima*.

Les tests DPPH et FRAP ont montré que l'huile essentielle de *Nepeta nepetella subsp. Amethystina (Poir.) Briq* présente une meilleure activité antioxydante que celle de *Satureja Candidissima Munby Brik*. En revanche, pour la capacité antioxydante totale (CAT), les résultats révèlent que l'huile de *Satureja Candidissima Munby Brik* est plus efficace.

Les résultats *in silico* de l'activité antioxydante des deux huiles ont été comparés en fonction de l'affinité de liaison, du nombre de composants interagissant avec la xanthine oxydase, du nombre de liaisons et de leurs types (liaisons hydrogène, interactions Pi, interactions alkyles, et forces de van der Waals). Ces interactions sont illustrées dans le tableau 14.

Pour *Nepeta nepetella*, le ligand 28 présente une affinité de -9,2 kcal/mol, ce qui indique une meilleure affinité par rapport au ligand 17 de *Satureja Candidissima*, qui montre une affinité de -7,0 kcal/mol. Quatre composants de *Nepeta nepetella subsp.* interagissent avec la cible, un nombre bien inférieur par rapport aux 12 liaisons observées pour *Satureja Candidissima*.

L'huile essentielle de *Nepeta nepetella* forme 11 liaisons, en plus des interactions van der Waals. En comparaison, *Satureja Candidissima* montre davantage de liaisons, avec 8 interactions van der Waals supplémentaires.

On observe que les deux huiles essentielles sont actives contre toutes les souches testées, car elles présentent des diamètres de zones d'inhibition supérieurs à 0.8 cm. En comparant les diamètres d'inhibition, on constate que *Satureja candidissima* est plus efficace que *Nepeta nepetella* contre *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche, *Nepeta nepetella* montre une meilleure efficacité que *Satureja candidissima* contre *Bacillus licheniformis* et *Listeria monocytogenes*.

En précisant l'inhibition *in vitro* de la souche *Staphylococcus aureus*, le diamètre de la zone d'inhibition de *Satureja candidissima* (2.9 cm) est significativement plus grand par rapport à celui de *Nepeta nepetella* (1.6 cm). L'huile essentielle de *Satureja candidissima* est extrêmement active (+++) contre *S. aureus*, ce qui est en accord avec les résultats de la recherche d'Attou et al (2021). De son côté, l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* montre une activité significative (++) contre *S. aureus*.

Les résultats *in silico* de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Nepeta nepetella* et *Satureja candidissima* ont été comparés en fonction de l'affinité de liaison, du nombre de composants interagissant avec la xanthine oxydase, du nombre de liaisons, et de leurs types (liaisons hydrogène, interactions Pi, interactions alkyles, et forces de van der Waals). Ces interactions sont illustrées dans le tableau 14.

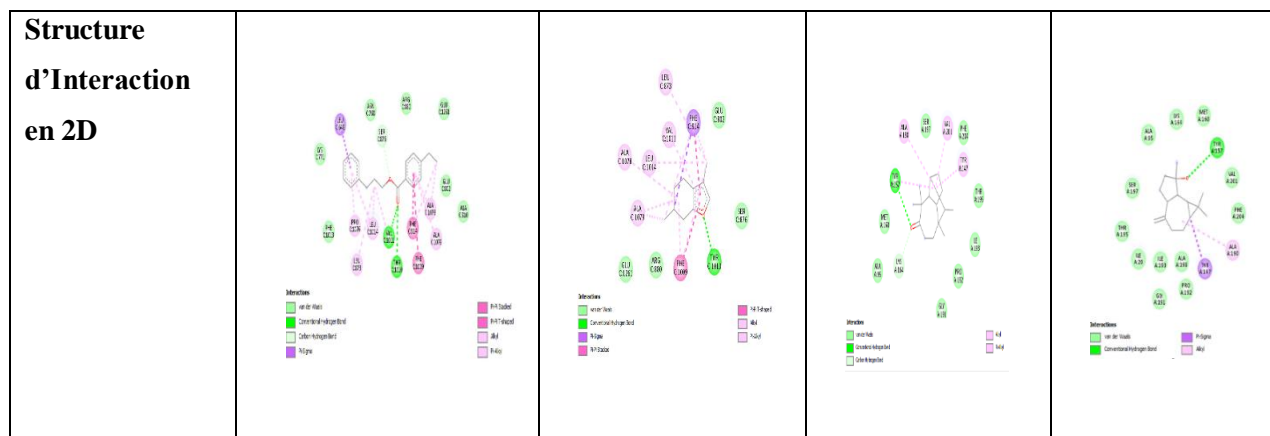
Pour *Nepeta nepetella*, le ligand 41 présente une affinité de -8,5 kcal/mol, indiquant une meilleure affinité par rapport au ligand 51 de *Satureja candidissima*, qui a une affinité de -8 kcal/mol. Le nombre de composants capables d'interagir avec la protéine est presque le même pour les deux huiles essentielles, avec 8 composants pour *Nepeta nepetella* et 7 pour *Satureja candidissima*.

En ce qui concerne les liaisons, l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* forme 5 liaisons hydrogène, en plus des interactions van der Waals, tandis que *Satureja candidissima* forme 3 liaisons hydrogène, également accompagnées d'interactions van der Waals.

Les résultats *in vitro* et *in silico* des deux huiles nous permettent de conclure que les deux huiles essentielles étudiées possèdent un pouvoir antibactérien significatif contre *S. aureus*, probablement par l'inhibition de l'enoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [NADPH]

Tableau n° 14 : Interactions moléculaires des ligands avec les cibles ATX et ATB : Comparaison entre Ligands de *Nepeta nepetella subsp. Amethystina (Poir.) Briq (Npeo)* et de *Satureja Candidissima Munby Brik (Sceo)*

	Interaction avec ATX		Interaction avec ATB	
	Lig28 (Npeo)	Lig17 (Sceo)	Lig41 (Npeo)	Lig51 (Sceo)
Hydrogen bond	Thr1010, Van1011	Thr1010	Tyr157	Tyr157
π-interaction (π sigma, π-π stacked, π-π shaped)	Leu648, Phe914, Phe1009	Phe914, Phe1009	/	Tyr147
Interaction alkyl et π alkyl	Leu873, Leu1014, Pro1076, Ala1078, Ala1079	Leu873, Val1011, Leu1014, Pro1076, Ala1078, Ala1079	Tyr147, Ala198, Val201	Ala190
Carbon HB	Ser876	/	Lys164	/
Van der waals	Asn768, Lys771, Glu802, Arg880, Ala910, Phe1013, Glu1261	Ser876, Glu802, Glu1261, Arg880	Ala95, Met160, Ser197, Phe204, Thr195, Ile193, Pro192, Gly191	Phe204, Val201, Met160, Lys164, Ala95, Ser197, Thr195, Ile200, Ile193, Gly191, Ala198, Pro192
Interaction multiple	Leu1014(Hb+Alkyl), Val1010(Hb+Alkyl), Phe914(π - π Interaction+ Alkyl Interaction), Ala1078(Alkyl),	Phe1009(π - π Interaction +Alkyl), Ala1079(Alkyl), Phe (π Sigma+ π - π Interaction+Alkyl)	Tyr157(Hb+ Alkyl)	/



Le tableau 14 présente les différents types d'interactions moléculaires entre quatre ligands issus des huiles essentielles (*Nepeta nepetella* et *Satureja candidissima*) et deux cibles protéiques ATX (3NRZ) et ATB (4ALL). Il met en évidence la diversité des interactions non covalentes telles que les liaisons hydrogène, les interactions Pi, les interactions alkyle/ π -alkyle, les interactions hydrophobes (Van der Waals), ainsi que les liaisons carbonées hydrogène. La stabilité des complexes ligand-protéine est grandement influencée par ces types d'interactions, qui ont un impact sur l'affinité des ligands envers leurs cibles respectives (Jeffrey, 1997).

Les ligands de *Nepeta nepetella* (Lig28 et Lig41) forment des liaisons hydrogène avec Thr1010 et Tyr157 respectivement, tandis que Lig17 de *Satureja candidissima* se lie également avec Thr1010 et Lig51 se lie à Tyr157.

Les interactions π sont majoritairement présentes dans Lig28 et Lig17, avec des résidus comme Leu648, Phe914, et Phe1009, qui montrent des interactions Pi-stacking ou Pi-sigma. La stabilité de la liaison du ligand est souvent assurée par ces interactions en positionnant les cycles aromatiques afin de favoriser une interaction pi favorable (Gallivan et Dougherty, 1999).

Les interactions hydrophobes (Alkyle/ π Alkyle) impliquent des résidus comme Leu1014, Val201, et Ala198 dans plusieurs ligands, ce qui renforce l'affinité du ligand via des interactions van der Waals (Bissantz, Kuhn, et Stahl., 2010).

Seuls quelques ligands notamment Lig28 et Lig41, présentent des liaisons carbonées hydrogène. Ce type d'interaction (Ser876, Lys164), suggérant une participation plus modeste à la stabilité du complexe pour ces ligands (Derewenda, 2023).

Les ligands Lig28 et Lig17 montrent de nombreuses interactions van der Waals avec plusieurs

résidus, comme Asn768, Ser876, Ala910, et Glu1261. Ces interactions contribuent fortement à la stabilité hydrophobe des complexes (**Bissantz, Kuhn, et Stahl., 2010**).

Les ligands présentent des interactions complexes et variées, combinant les forces hydrophobes avec des liaisons π et des liaisons hydrogène. Par exemple, le ligand 28 interagit avec l'acide aminé Leu1014 par des liaisons (hydrogène + alkyle), Val1010 également par des liaisons (hydrogène + alkyle), et Phe914 grâce à des interactions π - π et alkyles. De plus, Lig28 interagit avec Ala1078 par des liaisons alkyles. Ces multiples interactions peuvent augmenter le potentiel de liaison efficace du ligand avec ses cibles et renforcer la stabilité globale de la liaison entre le ligand et la protéine. Chaque type d'interaction contribue à la force de liaison, ce qui permet au ligand d'obtenir une affinité plus forte pour son site cible (**Shinada, 2019**).

III.7. ADMET

Tableau 15 : Évaluation ADME des composés de l'huile essentielle de *Satureja Candidissima*

	Lig29	Lig15	Lig35	Lig46	Lig17	Lig31	Lig32	Lig43	Lig46	Lig49	Lig30	Lig34	Lig40	Lig50	Lig51
TPSA (Å ²)	17.07	17.07	20.23	17.07	13.14	17.07	9.23	17.07	17.07	20.23	0	0	0	20.23	20.23
Consensus Log Po/w	2.62	2.61	0.38	2.41	2.73	0.50	2.78	2.35	2.41	2.63	4.26	4.30	4.49	3.54	3.26
Poids moléculaire (g mol ⁻¹)	152.23	154.25	154.25	150.22	150.22	150.22	148.20	150.22	150.22	148.20	204.35	204.35	204.35	222.37	220.35
nRB	0	1	0	0	0	2	3	1	0	2	0	1	0	1	0
nOHA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1
nOHD	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
WLOGP	2.71	2.65	2.19	2.63	2.71	2.63	2.42	2.49	2.63	2.43	5.04	4.89	4.42	4.09	3.39
Solubilité dans l'eau	soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble

Chapitre III : Résultats et Discussion

Absorption gastro-intestinale	Haut	Haut	Haut	Haut	Haut	Haut	Haut	Haut	Haut	Haut	Haut	Bas	Bas	Bas	Haut	Haut
Présence dans la BHE (BBB)	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Non	Oui	Oui
Substrat de la P-gp	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibiteur du CYP1A2	Non	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibiteur du CYP2C19	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui
Inhibiteur du CYP2C9	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non
Inhibiteur du CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Yes	No	Non	Non	No	No	No	No	No	Non	Non	Non
Inhibiteur du CYP3A4	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Log Kp (cm/s) (Perméation cutanée)	-5.04	-5.08	-5.31	-5.63	-5.07	-5.37	-4.81	-5.60	-5.63	-5.07	-4.32	-4.18	-4	-4.98	-5.44	

Chapitre III : Résultats et Discussion

Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Violation de Lipinski	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
Score de biodisponibilité	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55

Tableau 16 : Évaluation ADME des composés de l'huile essentielle de *Nepeta Nepetella*

	Lig42	Lig37	Lig57	Lig16	Lig26	Lig28	Lig34	Lig51	Lig15	Lig17	Lig22	Lig41	Lig47	Lig50
TPSA (Å ²)	26.30	26.30	0	17.07	0	26.30	40.13	20.23	0	0	0	17.07	20.23	20.23
Consensus Log Po/w	2.06	2.06	4.41	2.37	5.10	4.35	2.08	3.79	4.30	4.04	4.24	3.50	3.42	3.44
Poids moléculaire (g mol ⁻¹)	166.22	166.22	166.30	152.23	206.37	268.35	177.22	222.37	204.35	178.31	204.35	220.35	222.37	222.37
nRB	0	0	0	0	7	7	4	4	1	1	0	0	1	1
nOHA	2	2	0	1	0	2	2	1	0	0	0	1	1	1
nOHD	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
WLOGP	2.11	2.11	4.29	2.40	5.43	4.04	1.01	4.23	4.27	3.71	4.73	3.67	3.78	3.78
Solubilité dans l'eau	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Modérément soluble	Faiblement soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Absorption gastro-intestinale	Haut	Haut	Bas	Haut	Bas	Haut	Haut	Haut	Bas	Bas	Bas	Haut	Haut	Haut
Présence dans la BHE (BBB)	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Oui

Chapitre III : Résultats et Discussion

Substrat de la P-gp	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibiteur du CYP1A2	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibiteur du CYP2C19 **	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
Inhibiteur du CYP2C9	Non	Non	Oui	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non
Inhibiteur du CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibiteur du CYP3A4	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Log Kp (cm/s) (Perméation cutanée)	-5.96	-5.96	-3.16	-5.67	-3.15	-4.47	-5.53	-4.97	-4.37	-3.93	-4.44	-4.93	-5.29	-5.29
Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Violation de Lipinski	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0
Score de biodisponibilité	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.85	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55

III.7.1. Analyse des Données ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion)

Sur la base de la recherche actuelle (tableaux 15 et 16), la majorité des composés respectent la règle de Lipinski, ce qui suggère une bonne absorption orale potentielle garantissant un bon potentiel pharmacologique.

Selon la règle de Lipinski, un composé est considéré comme ayant une bonne absorption orale s'il ne viole pas plus d'un de ses critères ; poids moléculaire (MW) < 500, surface topologique (TPSA) < 140, nombre d'accepteurs de liaisons H (nOHA) ≤ 5 , nombre de donneurs de liaisons H (nOHD) ≤ 5 , coefficient de partage de l'eau (WLOGP) $\leq 5,88$, nombre de liaisons rotatives (nRB) ≤ 10 (Lipinski et al., 2001).

Tous les composés examinés avaient un score de biodisponibilité de 0,55, ce qui indique un niveau élevé de bioactivité dans la molécule.

Les valeurs moyennes de TPSA des composés sont inférieures à 30,2 Å², ce qui suggère une bonne perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique ainsi qu'une lipophilie favorable. Par ailleurs, le Log Po/w consensuel varie entre 2,06 et 5,43, indiquant une hydrophobicité modérée à élevée, ce qui pourrait influencer leur distribution et interaction avec les membranes biologiques (Janicka et al., 2024).

De plus, l'absence de substrat pour la glycoprotéine P (P-gp) suggère une excellente absorption intestinale des composés sélectionnés, renforçant leur potentiel pour une administration orale efficace.

Cependant, certains composés, notamment Lig9, Lig30 et Lig34 (*Satureja*) ainsi que Lig26 (*Nepeta*), présentent une absorption gastro-intestinale faible, ce qui pourrait limiter leur biodisponibilité et nécessiter des stratégies d'optimisation, comme l'encapsulation. (Vivekanandhan et al., 2016).

La perméabilité à la barrière hémato-encéphalique (BBB) est élevée pour la majorité des molécules, ce qui peut être un avantage pour une action sur le système nerveux central (ex. antioxydants neuroprotecteurs). Cependant, Lig30, Lig34 et Lig40 de *Satureja* n'ont pas cette capacité, ce qui pourrait limiter leur action sur le cerveau.

Concernant le métabolisme, peu de composés inhibent les cytochromes P450 (CYPs), ce qui réduit les risques d'interactions médicamenteuses, bien que Lig30 et Lig34 (*Satureja*) ainsi que

Lig57 et Lig22 (*Nepeta*) inhibent CYP2C9, ce qui pourrait affecter l'élimination de certains médicaments.

La perméabilité cutanée est généralement faible ($\text{Log } K_p < -3.0 \text{ cm/s}$), ce qui indique que l'application transdermique de ces composés pourrait être inefficace. Cela pourrait limiter leur utilisation sous forme de crèmes ou patches transdermiques.

Ces résultats suggèrent que les molécules étudiées sont principalement adaptées à une administration orale, avec un faible risque de toxicité métabolique et un bon passage dans le système nerveux central. Toutefois, une attention particulière devrait être portée aux composés ayant une faible absorption gastro-intestinale ou une inhibition enzymatique, qui pourraient nécessiter une reformulation ou des études supplémentaires pour garantir leur efficacité et leur innocuité.

III.7.2. Prédiction de la toxicité des composés majeurs et de certains composés mineurs par ProTox-3.0

Le tableau 17 illustre les prédictions de toxicité pour différents composés dérivés des huiles essentielles de *Satureja candidissima* et *Nepeta nepetella*. On évalue divers paramètres tels que l'hépatotoxicité, la cancérogénicité, la cytotoxicité, l'immunotoxicité et la mutagénicité, et la dose létale 50 (DL50) et la classe de toxicité.

Concernant l'hépatotoxicité et la cytotoxicité, tous les composés semblent être inactifs, indiquant une absence de toxicité hépatique significative et une faible toxicité générale vis-à-vis des cellules.

En ce qui concerne la cancérogénicité, certains ligands, tels que Lig8 (0.64), Lig32 (0.51), Lig57 (0.54) et Lig28 (0.54), montrent une activité potentielle dans les prédictions. Ces valeurs étant proches de 0.5, elles suggèrent un risque faible, mais nécessitent une validation expérimentale.

Pour la mutagénicité, seul le ligand (Lig15 de *Satureja candidissima*, 0.64) est actif, ce qui pourrait indiquer un risque potentiel d'altérations génétiques.

Quant à l'immunotoxicité, seuls Lig22 (0.54) et Lig47 (0.69) de *Nepeta nepetella* sont considérés comme actifs. Cela pourrait signaler un impact potentiel sur le système immunitaire.

Selon la classification GHS (Système Généralement Harmonisé), les ligands sont répartis en plusieurs catégories en fonction de leur toxicité aiguë par ingestion. Les substances de classe 1 et 2 sont mortelles si ingérées ($LD50 \leq 50$ mg/kg), celles de classe 3 sont toxiques ($50 < LD50 \leq 300$ mg/kg), tandis que celles de classe 4 sont considérées comme nocives ($300 < LD50 \leq 2000$ mg/kg). Les composés de classe 5 peuvent être nocifs ($2000 < LD50 \leq 5000$ mg/kg), et ceux de classe 6 sont jugés non toxiques ($LD50 > 5000$ mg/kg). Parmi les ligands étudiés, plusieurs présentent une toxicité modérée (classe 4), notamment Lig8, Lig17, Lig32, Lig38, Lig43, Lig46 et Lig49. D'autres, comme Lig9, Lig30, Lig34, Lig37, Lig40, Lig50 et Lig51, sont classés dans la catégorie de faible toxicité (classe 5).

Tableau 17 : Toxicité des composés (SCEO) et (NPEO), prédite par l'outil PROTOX 3.0

		Hépatotoxicité		Cancérogénicité		Cytotoxicité		Immunotoxicité		Mutagénicité		DL50 prévue (mg kg-1)	Classe de toxicité
		Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb		
<i>Satureja Candidissima</i>													
Composants majeurs	Lig29	Inactif	0.70	Inactif	0.82	Inactif	0.85	Inactif	0.99	Inactif	0.84	470mg/kg	4
	Lig15	Inactif	0.72	Inactif	0.79	Inactif	0.67	Inactif	0.95	Actif	0.64	500mg/kg	4
	Lig35	Inactif	0.77	Inactif	0.78	Inactif	0.88	Inactif	0.99	Inactif	0.98	500mg/kg	4
	Lig46	Inactif	0.64	Inactif	0.79	Inactif	0.87	Inactif	0.95	Inactif	0.93	1870mg/kg	4
Composants ayant un pouvoir antioxydant	Lig8	Inactif	0.87	Actif	0.64	Inactif	0.86	Inactif	0.99	Inactif	0.82	1370mg/kg	4
	Lig9	Inactif	0.82	Inactif	0.77	Inactif	0.82	Inactif	0.98	Inactif	0.87	4390mg/kg	5
	Lig17	Inactif	0.82	Inactif	0.52	Inactif	0.79	Inactif	0.99	Inactif	0.91	590mg/kg	4
	Lig31	Inactif	0.62	Inactif	0.74	Inactif	0.80	Inactif	0.99	Inactif	0.81	2920mg/kg	5

Chapitre III : Résultats et Discussion

	Lig32	Inactif	0.72	Actif	0.51	Inactif	0.93	Inactif	0.97	Inactif	0.97	1230mg/kg	4
	Lig43	Inactif	0.60	Inactif	0.73	Inactif	0.85	Inactif	0.96	Inactif	0.91	1640mg/kg	4
	Lig46	Inactif	0.64	Inactif	0.79	Inactif	0.87	Inactif	0.95	Inactif	0.93	1870mg/kg	4
	Lig49	Inactif	0.73	Inactif	0.70	Inactif	0.87	Inactif	0.88	Inactif	0.91	650mg/kg	4
Composants ayant un pouvoir antibactérien	Lig30	Inactif	0.82	Inactif	0.76	Inactif	0.79	Inactif	0.99	Inactif	0.87	3650mg/kg	5
	Lig34	Inactif	0.80	Inactif	0.73	Inactif	0.83	Actif	0.80	Inactif	0.87	5300mg/kg	5
	Lig40	Inactif	0.83	Inactif	0.68	Inactif	0.71	Inactif	0.62	Inactif	0.86	5000mg/kg	5
	Lig50	Inactif	0.81	Inactif	0.67	Inactif	0.94	Inactif	0.66	Inactif	0.87	3000mg/kg	5
	Lig51	Inactif	0.86	Inactif	0.61	Inactif	0.91	Inactif	0.52	Inactif	0.73	3900mg/kg	5
<i>Nepeta Nepetella</i>	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	Pb	Pr	DL50 prévue (mg kg-1)	Classe de toxicité
Composants majeurs	Lig42	Inactif	0.59	Inactif	0.53	Inactif	0.78	Inactif	0.93	Inactif	0.75	4290mg/kg	5
	Lig37	Inactif	0.59	Inactif	0.53	Inactif	0.78	Inactif	0.93	Inactif	0.75	4290mg/kg	5
	Lig57	Inactif	0.84	Actif	0.54	Inactif	0.79	Inactif	0.99	Inactif	0.87	15380mg/kg	6
	Lig16	Inactif	0.72	Inactif	0.68	Inactif	0.61	Inactif	0.96	Inactif	0.94	775mg/kg	4
Composants ayant un pouvoir antioxydant	Lig26	Inactif	0.76	Inactif	0.72	Inactif	0.78	Inactif	0.98	Inactif	0.98	5000mg/kg	5

Chapitre III : Résultats et Discussion

	Lig28	Inactif	0.62	Actif	0.54	Inactif	0.90	Inactif	0.99	Inactif	0.77	3200mg/kg	5
	Lig34	Inactif	0.61	Inactif	0.52	Inactif	0.84	Inactif	0.99	Inactif	0.88	2200mg/kg	5
	Lig51	Inactif	0.78	Inactif	0.70	Inactif	0.75	Inactif	0.97	Inactif	0.83	2830mg/kg	5
Composants ayant un pouvoir antibactérien	Lig15	Inactif	0.85	Inactif	0.77	Inactif	0.69	Inactif	0.68	Inactif	0.88	3700mg/kg	5
	Lig17	Inactif	0.80	Inactif	0.64	Inactif	0.76	Inactif	0.99	Inactif	0.73	4100mg/kg	5
	Lig22	Inactif	0.80	Inactif	0.70	Inactif	0.75	Actif	0.54	Inactif	0.95	5300mg/kg	5
	Lig41	Inactif	0.71	Inactif	0.67	Inactif	0.65	Inactif	0.96	Inactif	0.87	5000mg/kg	5
	Lig47	Inactif	0.82	Inactif	0.66	Inactif	0.87	Actif	0.69	Inactif	0.91	2830mg/kg	5
	Lig50	Inactif	0.82	Inactif	0.66	Inactif	0.87	Actif	0.69	Inactif	0.91	2830mg/kg	5

Conclusion

Nepeta nepetella et *Satureja candidissima* sont des plantes médicinales et aromatiques reconnues dans la médecine traditionnelle algérienne, bien que leur exploitation soit restreinte en dépit de leurs nombreux effets biologiques potentiels.

Cette thèse s'inscrit dans une démarche de recherche visant à identifier des substances naturelles aux propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, utilisables dans la conservation des aliments et le domaine médical. L'étude s'est concentrée sur les parties aériennes de *Nepeta nepetella* et de *Satureja candidissima*, récoltées respectivement dans les régions de Naama et Ain Temouchent, dans le but de déterminer la composition complexe de leurs huiles essentielles par analyse GC-MS, d'évaluer leur potentiel en tant qu'antioxydants et leurs propriétés antibactériennes à travers des tests *in vitro*, et de caractériser leurs interactions avec des cibles biologiques via des approches *in silico*.

L'analyse GC-MS a permis d'identifier 57 composés dans l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* (représentant 90,98 % de la composition totale) et 54 composés dans celle de *Satureja candidissima* (91,01 % de la composition totale). Les composés majoritaires de *Nepeta nepetella* incluent la népétalactone 4 α , 7 α , 7 β (58,98 %), la népétalactone 4 α , 7 α , 7 α (10,23 %), le spiro (5.6) dodécane (5,45 %) et le camphre (4,98 %), tandis que les composants principaux de *Satureja candidissima* sont le pulégone (53,26 %), le (+)-menthone (11,02 %), le bornéol (4,43 %), la 2-cyclohexén-1-one, 3-méthyl-6-(1-méthyléthylidène) (2,50 %) et le 3-octanol (2,09 %).

Sur le plan biologique, les résultats montrent que l'huile essentielle de *Satureja candidissima* est plus efficace que l'huile essentielle de *Nepeta nepetella* contre *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Inversement, *Nepeta nepetella* affiche une efficacité supérieure contre *Bacillus licheniformis* et *Listeria monocytogenes*.

Les tests DPPH et FRAP ont mis en évidence une activité antioxydante intéressante de l'huile essentielle de *Nepeta nepetella*, comparée à celle de *Satureja candidissima*. Toutefois, en ce qui concerne la capacité antioxydante totale (CAT), *Satureja candidissima* s'est révélée plus efficace.

Les études *in silico* sur l'activité antioxydante ont comparé les deux huiles en fonction de l'affinité de liaison, du nombre de composants interagissant avec la xanthine oxydase, et du type de liaisons (liaisons hydrogène, interactions π , interactions alkyles et forces de van der Waals). Le ligand 28 de *Nepeta nepetella* présente une affinité de -9,2 kcal/mol, supérieure à celle du ligand 17 de *Satureja candidissima*, qui affiche une affinité de -7,0 kcal/mol. Par ailleurs, quatre composants de *Nepeta nepetella* interagissent avec la cible, contre douze interactions observées pour *Satureja candidissima*.

Concernant l'activité antibactérienne, les résultats *in silico* des deux huiles ont été comparés selon leur affinité de liaison et leur capacité d'interaction avec la protéine cible, indiquant une affinité de -8,5 kcal/mol pour le ligand 41 de *Nepeta nepetella* et de -8 kcal/mol pour le ligand 51 de *Satureja candidissima*. Les deux huiles essentielles ont montré un nombre similaire de composants interagissant avec la cible antibactérienne, avec huit composants pour *Nepeta nepetella* et sept pour *Satureja candidissima*.

Concernant les analyses ADMET, les huiles essentielles étudiées semblent présenter une toxicité relativement faible, avec peu de composés identifiés comme mutagènes ou immunotoxiques. Néanmoins, *Satureja candidissima* se distingue par une toxicité plus élevée que *Nepeta nepetella*, en raison de la présence de plusieurs composés classés en catégorie 4.

Les résultats *in vitro* et *in silico* confirment une activité significative des deux huiles contre *Staphylococcus aureus*, en particulier via une expérience de docking ciblant l'enzyme enoyl-[acyl-carrier-protein] réductase [NADPH] (PDB 4all). Cette interaction suggère un pouvoir antibactérien significatif contre *S. aureus*, potentiellement dû à l'inhibition de cette enzyme.

En conclusion, les huiles essentielles de *Nepeta nepetella* et *Satureja candidissima* étudiées se révèlent prometteuses, ouvrant de nouvelles perspectives dans les applications naturelles. Elles représentent une alternative potentielle aux additifs chimiques, notamment dans les domaines de la santé et de la conservation alimentaire. Toutefois, des études complémentaires sur des matrices alimentaires sont nécessaires pour valider leur efficacité et leur innocuité. Les résultats obtenus dans cette thèse contribuent ainsi à enrichir les connaissances scientifiques sur leurs applications potentielles en santé et en recherche avancée.

References

A

Abdelshafeek, Khaled Abdelhady, Abeer Fouad Osman, Samar Mohamed Mouneir, Ahmed Abdelmonem Elhenawy, et Walid Elsayed Abdallah. 2023. « Phytochemical profile, comparative evaluation of *Satureja montana* alcoholic extract for antioxidants, anti-inflammatory and molecular docking studies ». *BMC Complementary Medicine and Therapies* 23(1): 108. doi:10.1186/s12906-023-03913-0.

Acquaviva, Alessandra, Simonetta Cristina Di Simone, Nilofar, Abdelhakim Bouyahya, Gokhan Zengin, Lucia Recinella, Sheila Leone, et al. 2023. « Screening for Chemical Characterization and Pharmacological Properties of Different Extracts from *Nepeta Italica* ». *Plants* 12(15): 2785. doi:10.3390/plants12152785.

AFRIK 21. 2022. « ALGÉRIE : 17 réservoirs pour améliorer l’approvisionnement en eau à Aïn Témouchent ». *Afrik 21*. <https://www.afrik21.africa/algerie-17-reservoirs-pour-ameliorer-lapprovisionnement-en-eau-a-ain-temouchent>.

Ahuja, Sahil, Pragya Deep, . Shravani, Saranya Nair, Sneha Sambhyal, Deependra Mishra, Chetan Pandey, et al. 2022. « Molecular Docking; Future of Medicinal Research ». *Ecology, Environment and Conservation* 28(01s): 18-18. doi:10.53550/EEC.2022.v28i01s.018.

Ailli, Atika, Nadia Handaq, Hanane Touijer, Aman Allah Gourich, Aziz Drioiche, Khalid Zibouh, Brahim Eddamsyry, et al. 2023. « Phytochemistry and Biological Activities of Essential Oils from Six Aromatic Medicinal Plants with Cosmetic Properties ». *Antibiotics* 12(4): 721. doi:10.3390/antibiotics12040721.

Aires, Andreia, António Salvador Barreto, et Teresa Semedo-Lemsaddek. 2021. « Antimicrobial Effects of Essential Oils on Oral Microbiota Biofilms: The Toothbrush In Vitro Model ». *Antibiotics* 10(1): 21. doi:10.3390/antibiotics10010021.

Ali, Syed Saqib, Haseeb Ahsan, Mohammad Khalid Zia, Tooba Siddiqui, et Fahim Halim Khan. 2020. « Understanding Oxidants and Antioxidants: Classical Team with New Players ». *Journal of Food Biochemistry* 44(3): e13145. doi:10.1111/jfbc.13145.

Alimi, Dhouha, Azhar Hajri, Slimen Selmi, et Hichem Sebai. 2023. « Essential Oils from Medicinal Plants: Extraction Techniques, Biochemical Characterization, and Technical Analysis ».

In *Medicinal Plants - Chemical, Biochemical, and Pharmacological Approaches [Working Title]*, IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.111428.

Al-Khayri, Jameel M., Sakshi Dubey, Gopishankar Thirumoorthy, Praveen Nagella, Adel Abdel-Sabour Rezk, et Wael Fathi Shehata. 2023. « In Silico Identification of 1-DTP Inhibitors of Corynebacterium Diphtheriae Using Phytochemicals from Andrographis Paniculata ». *Molecules* 28(2): 909. doi:10.3390/molecules28020909.

Alves, Maria José, Hugo J. C. Froufe, Ana F. T. Costa, Anabela F. Santos, Liliana G. Oliveira, Sara R. M. Osório, Rui M. V. Abreu, Manuela Pintado, et Isabel C. F. R. Ferreira. 2014. « Docking Studies in Target Proteins Involved in Antibacterial Action Mechanisms: Extending the Knowledge on Standard Antibiotics to Antimicrobial Mushroom Compounds ». *Molecules* 19(2): 1672-84. doi:10.3390/molecules19021672.

Alves-Silva, Jorge M., Mónica Zuzarte, Henrique Girão, et Lígia Salgueiro. 2021. « The Role of Essential Oils and Their Main Compounds in the Management of Cardiovascular Disease Risk Factors ». *Molecules* 26(12): 3506. doi:10.3390/molecules26123506.

Antoñanzas, F., et H. Goossens. 2019. « The Economics of Antibiotic Resistance: A Claim for Personalised Treatments ». *The European Journal of Health Economics* 20(4): 483-85. doi:10.1007/s10198-018-1021-z.

Aouf, Abdelhakim, Sarah Bouaouina, Mohamed A. Abdelgawad, Mohammed A. S. Abourehab, et Amr Farouk. 2022. « In Silico Study for Algerian Essential Oils as Antimicrobial Agents against Multidrug-Resistant Bacteria Isolated from Pus Samples ». *Antibiotics* 11(10): 1317. doi:10.3390/antibiotics11101317.

Arya, Namrata, et Dr. Arminster Kaur. 2022. « Molecular Docking: A Review Paper ». *International Journal of Innovative Research in Engineering & Management*: 140-46. doi:10.55524/ijirem.2022.9.1.25.

Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food Poisoning and Staphylococcus aureus Enterotoxins. *Toxins*, 2(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/toxins2071751>.

Assaggaf, Hamza M., Hanae Naceiri Mrabti, Bodour S. Rajab, Ammar A. Attar, Munerah Hamed, Ryan A. Sheikh, Nasreddine El Omari, et al. 2022. « Singular and Combined Effects of Essential Oil and Honey of Eucalyptus Globulus on Anti-Inflammatory, Antioxidant, Dermatoprotective, and Antimicrobial Properties: In Vitro and In Vivo Findings ». *Molecules* 27(16): 5121. doi:10.3390/molecules27165121.

Astuto, Maria Chiara, Matteo R. Di Nicola, José V. Tarazona, A. Rortais, Yann Devos, A. K. Djien Liem, George E. N. Kass, et al. 2022. « In Silico Methods for Environmental Risk Assessment: Principles, Tiered Approaches, Applications, and Future Perspectives ». In *In Silico Methods for Predicting Drug Toxicity*, éd. Emilio Benfenati. New York, NY: Springer US, 589-636. doi:10.1007/978-1-0716-1960-5_23.

Attou, A., Davenne, D., Benmansour, A., Lazouni, H. A., & Amara, M. (2021). First on the chemical characterization and antimicrobial activity of the essential oil from *Satureja candidissima* (Munby) Briq. native plant from west Algeria. *International Journal of Natural Resources and Environment*, 3(2), 1-7.

Attou, A. (2017). *Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne*

B

Bahr, Tyler, Gavin Butler, Christian Rock, Kyle Welburn, Kathryn Allred, et Damian Rodriguez. 2021. « Cholesterol-lowering Activity of Natural Mono- and Sesquiterpenoid Compounds in Essential Oils: A Review and Investigation of Mechanisms Using in Silico Protein–Ligand Docking ». *Phytotherapy Research* 35(8): 4215-45. doi:10.1002/ptr.7083.

Bai, Jingwen, Jianqiang Li, Zhiyuan Chen, Xuedong Bai, Zhenyuan Yang, Zitong Wang, et Yu Yang. 2023. « Antibacterial activity and mechanism of clove essential oil against foodborne pathogens ». *LWT* 173: 114249. doi:10.1016/j.lwt.2022.114249.

Bakheit, Ahmed H., Tanveer A. Wani, Abdulrahman A. Al-Majed, Hamad M. Alkahtani, Manal M. Alanazi, Fahad Rubayyi Alqahtani, et Seema Zargar. 2024. « Theoretical Study of the Antioxidant Mechanism and Structure-Activity Relationships of 1,3,4-Oxadiazol-2-Ylthieno[2,3-d]Pyrimidin-4-Amine Derivatives: A Computational Approach ». *Frontiers in Chemistry* 12. doi:10.3389/fchem.2024.1443718.

Bălașoiu (Jigău), Roxana Aurelia C., Diana Obistioiu, Anca Hulea, Mukhtar Adeiza Suleiman, Iuliana Popescu, Doris Floares (Oarga), Ilinca Merima Imbrea, et al. 2024. « Analysing the Antibacterial Synergistic Interactions of Romanian Lavender Essential Oils via Gas Chromatography–Mass Spectrometry: In Vitro and In Silico Approaches ». *Plants* 13(15): 2136. doi:10.3390/plants13152136.

Band, Victor I., et David S. Weiss. 2019. « Heteroresistance: A Cause of Unexplained Antibiotic Treatment Failure» *PLOS Pathogens* 15(6): e1007726. doi:10.1371/journal.ppat.1007726.

Baran, Aleksandra, Aleksandra Kwiatkowska, et Leszek Potocki. 2023. « Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race ». *International Journal of Molecular Sciences* 24(6): 5777. doi:10.3390/ijms24065777.

Barbosa Silva Cavalcanti, Andreza, Renata Priscila Costa Barros, Vicente Carlos de Oliveira Costa, Marcelo Sobral da Silva, Josean Fechine Tavares, Luciana Scotti, et Marcus Tullius Scotti. 2019. « Computer-Aided Chemotaxonomy and Bioprospecting Study of Diterpenes of the Lamiaceae Family ». *Molecules* 24(21): 3908. doi:10.3390/molecules24213908.

Barnes V, Lucien, Douglas M. Heithoff, Scott P. Mahan, John K. House, et Michael J. Mahan. 2023. « Antimicrobial susceptibility testing to evaluate minimum inhibitory concentration values of clinically relevant antibiotics ». *STAR Protocols* 4(3): 102512. doi:10.1016/j.xpro.2023.102512.

Battelli, Maria Giulia, Letizia Polito, Massimo Bortolotti, et Andrea Bolognesi. 2016. « Xanthine Oxidoreductase-Derived Reactive Species: Physiological and Pathological Effects ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016: 3527579. doi:10.1155/2016/3527579.

Banerjee P., Kemmler E., Dunkel M., Preissner R.: ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals *Nucleic Acids Res* (Web server issue 2024).

Bellahsene, Chafika, Mourad Bendahou, Abdelmounaïm Khadir, Fatima Zenati, Fethi Benbelaïd, Nadia Aissaoui, Alain Muselli, et Jean Costa. 2015. « Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil and hydrosol extract of *Nepeta nepetella* subsp. *amethystina* (Poir.) Briq. from Algeria ». *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 5,(9): 021-025. doi:10.7324/JAPS.2015.50904.

Bertagnolio, Silvia, Amitabh Bipin Suthar, Olga Tosas, et Kitty Van Weezenbeek. 2023. « Antimicrobial Resistance: Strengthening Surveillance for Public Health Action ». *PLOS Medicine* 20(7): e1004265. doi:10.1371/journal.pmed.1004265.

Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety—Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants*, 9(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>

Biquand, Ariane. 2017. « Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* et leurs traitements en 2017 ». <https://www.semanticscholar.org/paper/Les-infections-%C3%A0-Pseudomonas-aeruginosa-et-leurs-en-Biquand/036cb020fb3b90623c3ef3d98272c7aebbaabf41>.

Bismarck, Doris, Jens Becker, Elisabeth Müller, Vera Becher, Lisa Nau, et Philipp Mayer. 2022. « Screening of Antimicrobial Activity of Essential Oils against Bovine Respiratory Pathogens – Focusing on *Pasteurella Multocida* ». *Planta Medica* 88: 274-81. doi:10.1055/a-1726-9291.

Bissantz, Caterina, Bernd Kuhn, et Martin Stahl. 2010. « A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions ». *Journal of Medicinal Chemistry* 53(14): 5061-84. doi:10.1021/jm100112j.

Blagov, Alexander V., Volha I. Summerhill, Vasily N. Sukhorukov, Elena B. Zhigmitova, Anton Y. Postnov, et Alexander N. Orekhov. 2024. « Potential Use of Antioxidants for the Treatment of Chronic Inflammatory Diseases ». *Frontiers in Pharmacology* 15. doi:10.3389/fphar.2024.1378335.

Bogdanovic, Aleksandra, et Dejan Skala. 2024. « Application of Plant Essential Oils in Pharma and Aroma Industries ». In *Plant Essential Oils: From Traditional to Modern-Day Application*, éd. Bhanu Prakash, Nawal Kishore Dubey, et Jackline Freitas Brillhante de São José. Singapore: Springer Nature, 177-203. doi:10.1007/978-981-99-4370-8_8.

Bolouri, Parisa, Robab Salami, Shaghayegh Kouhi, Masoumeh Kordi, Behnam Asgari Lajayer, Javad Hadian, et Tess Astatkie. 2022. « Applications of Essential Oils and Plant Extracts in Different Industries ». *Molecules* 27(24): 8999. doi:10.3390/molecules27248999.

Boudechicha, Amel, Abdelhakim Aouf, Hatem Ali, Tawfiq Alsulami, Ahmed Noah Badr, Zhaojun Ban, et Amr Farouk. 2024. « Effect of Microfluidization on the Volatiles and Antibacterial, Antifungal, and Cytotoxic Activities of Algerian *Satureja hortensis* L. Oil-Loaded Nanoemulsions: In Vitro and In Silico Study ». *ACS Omega* 9(25): 27030-46. doi:10.1021/acsomega.4c00315.

Bouriah, N. (2023). *Ethnobotanical study and valorization of bioactive compounds of food interest of some native Lamiaceae of western Algeria: case of *Calamintha candidissima* (Munby) Benth. and *Micromeria inodora* (Desf.) Benth.*

Bouhdid S, Skali S.N., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Amensour M. et Abrini J. 2008: Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (10), pp. 1563-1570.

Božović, Mijat, Milan Mladenović, et Rino Ragno. 2023. « Editorial: Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils ». *Frontiers in Pharmacology* 14. doi:10.3389/fphar.2023.1120756.

Brożyna, Malwina, Justyna Paleczny, Weronika Kozłowska, Daria Ciecholewska-Juśko, Adam Parfińczyk, Grzegorz Chodaczek, et Adam Junka. 2022. « Chemical Composition and Antibacterial Activity of Liquid and Volatile Phase of Essential Oils against Planktonic and Biofilm-Forming Cells of *Pseudomonas Aeruginosa* ». *Molecules* 27(13): 4096. doi:10.3390/molecules27134096.

Bultum, Lemessa Etana, Gemechu Bekele Tolossa, Gwangmin Kim, Ohhyeon Kwon, et Doheon Lee. 2022. « In Silico Activity and ADMET Profiling of Phytochemicals from Ethiopian Indigenous Aloes Using Pharmacophore Models ». *Scientific Reports* 12(1): 22221. doi:10.1038/s41598-022-26446-x.

Bunse, Marek, Rolf Daniels, Carsten Gründemann, Jörg Heilmann, Dietmar R. Kammerer, Michael Keusgen, Ulrike Lindequist, et al. 2022. « Essential Oils as Multicomponent Mixtures and Their Potential for Human Health and Well-Being ». *Frontiers in Pharmacology* 13. doi:10.3389/fphar.2022.956541.

Burle, Sushil S., Krishna R. Gupta, Swati N. Lade, Shyam W. Rangari, Milind J. Umekar, Sushil S. Burle, Krishna R. Gupta, et al. 2023. « Antioxidants Obtained from the Natural Sources: Importance in Human Health ». In *Recent Developments in Antioxidants from Natural Sources*, IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.109440.

Kye-Hwan Byun , Sang Ha Han , Min Woo Choi , Byoung-Hu Kim , Sang-Do Ha. 2023. « Control of *Listeria monocytogenes* in food industry by a combination treatment of natural aromatic compound with *Listeria*-specific bacteriophage cocktail» . *Food Research International* <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113859>.

Chakraborty, Aratirika, Pratibha Ramani, Herald Justin Sherlin, Priya Premkumar, et Anuja Natesan. 2014. « Antioxidant and Pro-Oxidant Activity of Vitamin C in Oral Environment ». *Indian Journal of Dental Research* 25(4): 499. doi:10.4103/0970-9290.142547.

Chakravarty, Ipsita, Vijay Mukesh Parmar, et Sachin A. Mandavgane. 2023. « Current Trends in Essential Oil (EO) Production ». *Biomass Conversion and Biorefinery* 13(17): 15311-34. doi:10.1007/s13399-021-01963-3.

Chand, Duni. 2023. « An In-Silico Approach for the Determination of the Hepatoprotective Properties of Phytoconstituents from *Thalictrum Foliolosum* – A Traditionally Used Himalayan Medicinal Plant ». *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* 52(2): 43476-90. doi:10.26717/BJSTR.2023.52.008215.

Chaves, Natividad, Antonio Santiago, et Juan Carlos Alías. 2020. « Quantification of the Antioxidant Activity of Plant Extracts: Analysis of Sensitivity and Hierarchization Based on the Method Used ». *Antioxidants* 9(1): 76. doi:10.3390/antiox9010076.

Chebbac, Khalid, Hazem K. Ghneim, Abdelfattah El Moussaoui, Mohammed Bourhia, Azeddin El Barnossi, Zineb Benziane Ouaritini, Ahmad Mohammad Salamatullah, et al. 2022. « Antioxidant and Antimicrobial Activities of Chemically-Characterized Essential Oil from *Artemisia Aragonensis* Lam. against Drug-Resistant Microbes ». *Molecules* 27(3): 1136. doi:10.3390/molecules27031136.

Chevallier A, Larousse P. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparations, soins

Chrysargyris, Antonios. 2024. « It Runs in the Family: The Importance of the Lamiaceae Family Species ». *Agronomy* 14(6): 1274. doi:10.3390/agronomy14061274.

Corrêa, Eduardo José Azevedo, Frederico Chaves Carvalho, Júlia Assunção de Castro Oliveira, Suzan Kelly Vilela Bertolucci, Marcus Tullius Scotti, Carlos Henrique Silveira, Fabiana Costa Guedes, et al. 2023. « Elucidating the Molecular Mechanisms of Essential Oils' Insecticidal Action Using a Novel Cheminformatics Protocol ». *Scientific Reports* 13(1): 4598. doi:10.1038/s41598-023-29981-3.

D

Dallakyan, Sargis, et Arthur J. Olson. 2015. « Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx ». In *Chemical Biology, Methods in Molecular Biology*, éd. Jonathan E. Hempel, Charles H. Williams, et Charles C. Hong. New York, NY: Springer New York, 243-50. doi:10.1007/978-1-4939-2269-7_19.

Daniel, Ricardo G. Martinez. 2024. « In Silico Methods for the Study of the Interactions between Drugs and Their Protein Targets ». *Mexican Journal of Medical Research ICSA* 12(24): 67-71. doi:10.29057/mjmr.v12i24.12393.

D'Aquila, Patrizia, Ersilia Paparazzo, Michele Crudo, Sonia Bonacci, Antonio Procopio, Giuseppe Passarino, et Dina Bellizzi. 2022. « Antibacterial Activity and Epigenetic Remodeling of Essential Oils from Calabrian Aromatic Plants ». *Nutrients* 14(2): 391. doi:10.3390/nu14020391.

Davidovich, N. V., Давидович Наталия Валерьевна, N. V. Solovieva, Соловьева Наталия Владиславовна, E. N. Bashilova, Башилова Елена Николаевна, T. A. Vazhukova, et Бажукова Татьяна Александровна. 2020. « endoecological aspects of antibiotic resistance: a literature review ». *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)* 27(5): 31-36. Doi:10.33396/1728-0869-2020-5-31-36.

Davis, Charles C., et Patrick Choisy. 2024. « Medicinal Plants Meet Modern Biodiversity Science ». *Current Biology* 34(4): R158-73. doi:10.1016/j.cub.2023.12.038.

Daniyan, m. O., ogunyemi, t. H., olawuni, i. J., asiyanbola, i. D., adelodun, s. T., opoggen, t. S., & oyemitan, i. A. (2023). Toxicity profiling of the co-administration of the essential oil of piper guineense and quinine in rats. *Universal journal of pharmaceutical research*. <https://doi.org/10.22270/ujpr.v8i6.1037>

Da silva, i. I., da silva, n. P. C., marrs, j. A., & cadena, p. G. (2023). Essential oils produce developmental toxicity in zebrafish embryos and cause behavior changes in zebrafish larvae. *Biomedicines*, 11(10), article 10. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11102821>

Derewenda, Zygmunt Stanislaw. 2023. « C-H Groups as Donors in Hydrogen Bonds: A Historical Overview and Occurrence in Proteins and Nucleic Acids ». *International Journal of Molecular Sciences* 24(17): 13165. doi:10.3390/ijms241713165.

Deshpande, Sanjay H., Zabin K. Bagewadi, T. M. Yunus Khan, Mater H. Mahnashi, Ibrahim Ahmed Shaikh, Sultan Alshehery, Aejaz A. Khan, Vishal S. Patil, et Subarna Roy. 2023. « Exploring the Potential of Phytocompounds for Targeting Epigenetic Mechanisms in

Rheumatoid Arthritis: An In Silico Study Using Similarity Indexing ». *Molecules* 28(6): 2430. doi:10.3390/molecules28062430.

Dhingra, Ashwani K., et Bhawna Chopra. 2023. « Pulegone: An Emerging Oxygenated Cyclic Monoterpene Ketone Scaffold Delineating Synthesis, Chemical Reactivity, and Biological Potential ». *Recent Advances in Anti-Infective Drug Discovery* 18(1): 16-28. doi:10.2174/2772434418666221018090507.

Duan, Xuejuan, Dongying Qin, Hongming Li, Tong Zhang, Yali Han, Yu qiang Huang, Dong He, et al. 2022. « Study of Antimicrobial Activity and Mechanism of Vapor-Phase Cinnamaldehyde for Killing Escherichia Coli Based on Fumigation Method ». *Frontiers in Nutrition* 9. doi:10.3389/fnut.2022.1040152.

Dunkić, V., et N. Bezić. 2008. « Comparison of Essential Oils of Endemic Satureja Visianii Šilić with Other Satureja Species of Croatia ». *Planta Medica* 74: PI20. doi:10.1055/s-0028-1084928.

Dweh & Rayanoothala, 2023. <https://www.actabotanica.org/understanding-the-molecular-mechanisms-of-antibiotic-resistance-through-horizontal-gene-transfer-in-pseudomonas-aeruginosa/>

E

Ebani, Valentina Virginia, Ylenia Pieracci, Giulia Cagnoli, Fabrizio Bertelloni, Chiara Munafò, Simona Nardoni, Luisa Pistelli, et Francesca Mancianti. 2023. « In Vitro Antimicrobial Activity of Thymus Vulgaris, Origanum Vulgare, Satureja Montana and Their Mixture against Clinical Isolates Responsible for Canine Otitis Externa ». *Veterinary Sciences* 10(1): 30. doi:10.3390/vetsci10010030.

Ebbensgaard, Anna, Hanne Mordhorst, Frank M. Aarestrup, et Egon B. Hansen. 2018. « The Role of Outer Membrane Proteins and Lipopolysaccharides for the Sensitivity of Escherichia Coli to Antimicrobial Peptides ». *Frontiers in Microbiology* 9. doi:10.3389/fmicb.2018.02153.

Elshafie, Hazem S. 2022. « Plant Essential Oil with Biological Activity ». *Plants* 11(7): 980. doi:10.3390/plants11070980.

Ersanli, Caglar, Athina Tzora, Ioannis Skoufos, Konstantina Fotou, Eleni Maloupa, Katerina Grigoriadou, Chrysoula (Chrysa) Voidarou, et Dimitrios I. Zeugolis. 2023. « The Assessment of Antimicrobial and Anti-Biofilm Activity of Essential Oils against Staphylococcus Aureus Strains ». *Antibiotics* 12(2): 384. doi:10.3390/antibiotics12020384.

Ezaouine, Abdelkarim, Mohamed Rida Salam, Badreddine Nouadi, Oumaima Anachad, Mariame El Messal, Fatima Chegdani, et Faïza Bennis. 2022. « In Silico Prediction of the Bioactive Profile and Metabolites of Satureja nepeta in Diseases Related to the Excessive Production of Interleukin-6 ». *Bioinformatics and Biology Insights* 16: 11779322221115665. doi:10.1177/11779322221115665.

Engler, W. & Wild, W. (1897). Ober die sogenannte 'Aktivierung' des Sauerstoffs und fiber die Superoxydbildung. Ber. Deutsch. Chem. Ges., 30, 1669-81.

F

Fadaka, Adewale Oluwaseun, Basiru Olaitan Ajiboye, Ifanikin Adewale, Oluwafemi Adeleke Ojo, Babatunji Emmanuel Oyinloye, et Mary Abiola Okesola. 2019. « Significance of Antioxidants in the Treatment and Prevention of Neurodegenerative Diseases ». *The Journal of Phytopharmacology* 8(2): 75-83. doi:10.31254/phyto.2019.8210.

Ferreira, Leonardo, Ricardo Dos Santos, Glaucius Oliva, et Adriano Andricopulo. 2015. « Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies ». *Molecules* 20(7): 13384-421. doi:10.3390/molecules200713384.

Ferreira, Gleison Gonçalves, Ana Carolina Sousa Quaresma, Dayse Lúcia do Nascimento Brandão, Andrey Moacir do Rosario Marinho, José Edson de Sousa Siqueira, Kamila Leal Correa, José Otávio Carréra Silva-Júnior, Sandro Percario, et Maria Fâni Dolabela. 2023. « Evaluation of Genotoxicity and Toxicity of Annona Muricata L. Seeds and In Silico Studies ». *Molecules* 28(1): 231. doi:10.3390/molecules28010231.

Fimbres-García, Jorge O., Marcela Flores-Sauceda, Elsa Daniela Othon-Díaz, Alfonso García-Galaz, Melvin R. Tapia-Rodríguez, Brenda A. Silva-Espinoza, et Jesus F. Ayala-Zavala. 2022. « Facing Resistant Bacteria with Plant Essential Oils: Reviewing the Oregano Case ». *Antibiotics* 11(12): 1777. doi:10.3390/antibiotics11121777.

FINDRUG: Identification of Potent Inhibitors of COVID-19 Main Protease by Using PyRx Virtual Screening. 2020. doi:10.6084/m9.figshare.12032745.v28.

Franco, Rafael, Gemma Navarro, et Eva Martínez-Pinilla. 2019. « Hormetic and Mitochondria-Related Mechanisms of Antioxidant Action of Phytochemicals ». *Antioxidants* 8(9): 373. doi:10.3390/antiox8090373.

G

Gallivan, Justin P., et Dennis A. Dougherty. 1999. « Cation- π interactions in structural biology ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96(17): 9459-64. doi:10.1073/pnas.96.17.9459.

Gęgotek, Agnieszka, et Elżbieta Skrzydlewska. 2022. « Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid ». *Antioxidants* 11(10): 1993. doi:10.3390/antiox11101993.

Gemechu, Feyera Gobena. 2020. « Embracing nutritional qualities, biological activities and technological properties of coffee byproducts in functional food formulation ». *Trends in Food Science & Technology* 104: 235-61. doi:10.1016/j.tifs.2020.08.005.

Giuseppe, Andolfo, et Ercolano Maria Raffaella. 2023. « The First Genome-Wide Mildew Locus O Genes Characterization in the Lamiaceae Plant Family ». *International Journal of Molecular Sciences* 24(17): 13627. doi:10.3390/ijms241713627.

Gozali & Tjampakasari, 2023. « Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and its resistance to beta-lactam antibiotics ». *Damianus Journal of Medicine*.

Gulcin, İlhami. 2020. « Antioxidants and Antioxidant Methods: An Updated Overview ». *Archives of Toxicology* 94(3): 651-715. doi:10.1007/s00204-020-02689-3.

H

Halliwell B, Gutteridge JMC (1989) Free radicals in biology and medicine, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford.

Halliwell B (1995) Antioxidant characterization; methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol* 49:1341–1348.

Halliwell B (1997) Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nut* 16:33–50.

Hamadouche, Salima, Hafida Merouani, Abd Alghani May, Nadia Ouddai, Manawwer Alam, Luca Micoli, Alessandro Erto, et Yacine Benguerba. 2024. « Theoretical Exploration of

Enhanced Antioxidant Activity in Copper Complexes of Tetrahydroxystilbenes: Insights into Mechanisms and Molecular Interactions ». *ACS Omega* 9(8): 9076-89. doi:10.1021/acsomega.3c07885.

Hanif, Aqsa, Ahmad H. Ibrahim, Sidra Ismail, Sawsan S. Al-Rawi, Jam Nazeer Ahmad, Mansoor Hameed, Ghulam Mustufa, et Samina Tanwir. 2023. « Cytotoxicity against A549 Human Lung Cancer Cell Line via the Mitochondrial Membrane Potential and Nuclear Condensation Effects of *Nepeta Paulsenii* Briq., a Perennial Herb ». *Molecules* 28(6): 2812. doi:10.3390/molecules28062812.

Hieu, Truong Van, Budi Guntoro, Nguyen Hoang Qui, Nguyen Thi Kim Quyen, et Farid Akbar Al Hafiz. 2022. « The Application of Ascorbic Acid as a Therapeutic Feed Additive to Boost Immunity and Antioxidant Activity of Poultry in Heat Stress Environment ». *Veterinary World*: 685-93. doi:10.14202/vetworld.2022.685-693.

Hsieh, Carl, et Vani Rajashekaraiyah. 2021. « Ferric Reducing Ability of Plasma: A Potential Oxidative Stress Marker in Stored Plasma ». *Acta Haematologica Polonica* 52(1): 61-67. doi:10.5603/AHP.2021.0009.

Hu, Yi, Peiyi Liang, Zhuxian Wang, CuiPing Jiang, Yinglin Guo, Hongkai Chen, Chunyan Shen, et al. 2023. « Exploring the Molecular Mechanism of the Antioxidant Activity of Medicine and Food Homology Licorice Flavonoids Based on Pharmacophore Theory and Quantum Calculations ». *Journal of Food Biochemistry* 2023(1): 2801318. doi:10.1155/2023/2801318.

Huang, Sheng-You, et Xiaoqin Zou. 2010. « Advances and Challenges in Protein-Ligand Docking ». *International Journal of Molecular Sciences* 11(8): 3016-34. doi:10.3390/ijms11083016.

Hunyadi, Attila. 2019. « The Mechanism(s) of Action of Antioxidants: From Scavenging Reactive Oxygen/Nitrogen Species to Redox Signaling and the Generation of Bioactive Secondary Metabolites ». *Medicinal Research Reviews* 39(6): 2505-33. doi:10.1002/med.21592.

I

Iwata, Hiroaki. 2023. « Application of in Silico Technologies for Drug Target Discovery and Pharmacokinetic Analysis ». *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 71(6): 398-405. doi:10.1248/cpb.c22-00638.

Iserin, P., (2001). Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparation, soin. Ed. Larousse. 267p.

J

Jeddi, Mohamed, Naoufal El Hachlafi, Mohamed El Fadili, Nesrine Benkhaira, Samiah Hamad Al-Mijalli, Fahd Kandsi, Emad M. Abdallah, et al. 2023. « Antimicrobial, antioxidant, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of a chemically characterized essential oil from *Lavandula angustifolia* Mill.: *in vitro* and *in silico* investigations ». *Biochemical Systematics and Ecology* 111: 104731. doi:10.1016/j.bse.2023.104731.

Jeffrey, George A. 1997. *An Introduction to Hydrogen Bonding*. Oxford, New York: Oxford University Press.

Jessberger, N., Dietrich, R., Granum, P. E., & Märtilbauer, E. (2020). The *Bacillus cereus* Food Infection as Multifactorial Process. *Toxins*, 12(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/toxins12110701>.

Johansen, Bianca, Raphaël E. Duval, et Jean-Christophe Sergere. 2022. « First Evidence of a Combination of Terpinen-4-Ol and α -Terpineol as a Promising Tool against ESKAPE Pathogens ». *Molecules* 27(21): 7472. doi:10.3390/molecules27217472.

Janicka, M., Sztanke, M., & Sztanke, K. (2024). *Modeling the Blood-Brain Barrier Permeability of Potential Heterocyclic Drugs via Biomimetic IAM Chromatography Technique Combined with QSAR Methodology*. *Molecules*, 29(2), 287. DOI:10.3390/molecules29020287

K

Kannabiran, Mani Abiramiand Krishnan. 2016. « Antibacterial Property of Marine Streptomyces Derived 2-Hydroxy Benzoic Acid Screening through In-Silico Molecular Docking Studies with Bacterial Drug Target Proteins ».

Kawai, Yoshikazu, Maki Kawai, Eilidh Sohini Mackenzie, Yousef Dashti, Bernhard Kepplinger, Kevin John Waldron, et Jeff Errington. 2023. « On the Mechanisms of Lysis Triggered by Perturbations of Bacterial Cell Wall Biosynthesis ». *Nature Communications* 14(1): 4123. doi:10.1038/s41467-023-39723-8.

Kesraoui, Sabrina, Maria Fe Andrés, Marta Berrocal-Lobo, Serine Soudani, et Azucena Gonzalez-Coloma. 2022. « Direct and Indirect Effects of Essential Oils for Sustainable Crop Protection ». *Plants* 11(16): 2144. doi:10.3390/plants11162144.

Khameneh, Bahman, N. A. Michael Eskin, Milad Iranshahy, et Bibi Sedigheh Fazly Bazzaz. 2021. « Phytochemicals: A Promising Weapon in the Arsenal against Antibiotic-Resistant Bacteria ». *Antibiotics* 10(9): 1044. doi:10.3390/antibiotics10091044.

Kondapuram, Sree Karani, Sailu Sarvagalla, et Mohane Selvaraj Coumar. 2021. « Chapter 22 - Docking-Based Virtual Screening Using PyRx Tool: Autophagy Target Vps34 as a Case Study ». In *Molecular Docking for Computer-Aided Drug Design*, éd. Mohane S. Coumar. Academic Press, 463-77. doi:10.1016/B978-0-12-822312-3.00019-9.

Kong, Amanda Shen-Yee, Sathiya Maran, Polly Soo-Xi Yap, Swee-Hua Erin Lim, Shun-Kai Yang, Wan-Hee Cheng, Yong-Hui Tan, et Kok-Song Lai. 2022. « Anti- and Pro-Oxidant Properties of Essential Oils against Antimicrobial Resistance ». *Antioxidants* 11(9): 1819. doi:10.3390/antiox11091819.

Korona-Glowniak, Izabela, Anna Glowniak-Lipa, Agnieszka Ludwiczuk, Tomasz Baj, et Anna Malm. 2020. « The In Vitro Activity of Essential Oils against Helicobacter Pylori Growth and Urease Activity ». *Molecules* 25(3): 586. doi:10.3390/molecules25030586.

Lenka Kouřimská , Diana Chrpová , Pavel Nový and Jan Pánek et al 2013. « The Effect of Concentration on the Antioxidant Activity of Selected Culinary Herbs ».

Kumar, Ashwani, Nirmal P, Mukul Kumar, Anina Jose, Vidisha Tomer, Emel Oz, Charalampos Proestos, et al. 2023. « Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Method ». *Molecules* 28(2): 887. doi:10.3390/molecules28020887.

L

Lafraxo, Soufyane, Azeddin El Barnossi, Abdelfattah El Moussaoui, Mohammed Bourhia, Ahmad Mohammad Salamatullah, Abdulhakeem Alzahrani, Aziz Ait Akka, et al. 2022. « Essential Oils from Leaves of Juniperus Thurifera L., Exhibiting Antioxidant, Antifungal and Antibacterial Activities against Antibiotic-Resistant Microbes ». *Horticulturae* 8(4): 321. doi:10.3390/horticulturae8040321.

Lavor de , Érica Martins, Antônio Wilton Cavalcante Fernandes, Roxana Braga de Andrade Teles, Ana Ediléia Barbosa Pereira Leal, Raimundo Gonçalves de Oliveira Júnior, Mariana Gama e Silva, Ana Paula de Oliveira, et al. 2018. « Essential Oils and Their Major Compounds in the Treatment of Chronic Inflammation: A Review of Antioxidant Potential

in Preclinical Studies and Molecular Mechanisms ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018(1): 6468593. doi:10.1155/2018/6468593.

Lalita A & Oviya Nilaa M K. (2024). Dietary antioxidants : An overview. *IP Journal of Nutrition, Metabolism and Health Science*, 7(4), 156-158. <https://doi.org/10.18231/j.ijnmhs.2024.029>.

Li, Bo, Philip D. Cantino, Richard G. Olmstead, Gemma L. C. Bramley, Chun-Lei Xiang, Zhong-Hui Ma, Yun-Hong Tan, et Dian-Xiang Zhang. 2016. « A Large-Scale Chloroplast Phylogeny of the Lamiaceae Sheds New Light on Its Subfamilial Classification ». *Scientific Reports* 6(1): 34343. doi:10.1038/srep34343.

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1–3), 3–26. DOI:10.1016/S0169-409X(00)00129-0

M

Manzoor, Muhammad, Mushtaq Ahmad, Muhammad Zafar, Sheikh Marifatul Haq, Hamayun Shaheen, Muhammad Waheed, Syed Waseem Gillani, Shazia Sultana, et Trobjon Makhkamov. 2023. « Unveiling the Indigenous Ethnomedicinal Knowledge of Genus *Nepeta* from Division Muzaffarabad, Azad Jammu & Kashmir, Pakistan ». *Ethnobotany Research and Applications* 26: 1-15.

Masyita, Ayu, Reka Mustika Sari, Ayun Dwi Astuti, Budiman Yasir, Nur Rahma Rumata, Talha Bin Emran, Firzan Nainu, et Jesus Simal-Gandara. 2022. « Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives ». *Food Chemistry: X* 13: 100217. doi:10.1016/j.fochx.2022.100217.

Matera, Riccardo, Elena Lucchi, et Luca Valgimigli. 2023. « Plant Essential Oils as Healthy Functional Ingredients of Nutraceuticals and Diet Supplements: A Review ». *Molecules* 28(2): 901. doi:10.3390/molecules28020901.

Mathur, Neha, Siva Sai Chandragiri, Sarita, Shristhi Shandily, Krupa Mukeshbhai Santoki, Nandini Navinchandra Vadhavana, Sejal Shah, et al. 2024. *In Silico Docking:*

Protocols for Computational Exploration of Molecular Interactions. IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.1005527.

May, Kerrie L., et Marcin Grabowicz. 2018. « The Bacterial Outer Membrane Is an Evolving Antibiotic Barrier ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115(36): 8852-54. doi:10.1073/pnas.1812779115.

Mahboub, F., Dakir, M., Aloui, K., Soumaya, R., & Bouhmadi, K. E. (2024). Chemical composition and toxicity of Moroccan mentha spicata and Artemisia absinthium essential oils against *Pthorimaea operculella*, the potato moth. *Natural Product Research*. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2024.2320740>

Monteiro dos Santos, P. É., Cavalcanti de Barros, M., Vieira de Barros, A., Araújo, R. M., de Oliveira Marinho, A., Arnaldo da Silva, A., Melo de Oliveira, M. B., Giselly dos Santos Souza, T., Chagas, C. A., de Albuquerque Lima, T., Leite de Siqueira Patriota, L., Silva de Oliveira, A. P., Napoleão, T. H., & Guedes Paiva, P. M. (2024). Acute oral toxicity and genotoxicity assessment of the essential oil from *Croton pulegioidorus* Baill (Euphorbiaceae) leaves in mice. *Toxicon*, 251, 108147. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2024.108147>

Michaelakis, Antonios, Spiridon A. Theotokatos, Georgios Koliopoulos, et Nikos G. Chorianopoulos. 2007. « Essential Oils of Satureja Species: Insecticidal Effect on Culex Pipiens Larvae (Diptera: Culicidae) ». *Molecules* 12(12): 2567-78. doi:10.3390/12122567.

Mlynarska, Ewelina, Joanna Hajdys, Witold Czarnik, Piotr Fularski, Klaudia Leszto, Gabriela Majchrowicz, Wiktoria Lisińska, Jacek Rysz, et Beata Franczyk. 2024. « The Role of Antioxidants in the Therapy of Cardiovascular Diseases—A Literature Review ». *Nutrients* 16(16): 2587. doi:10.3390/nu16162587.

Mohamed Abdoul-Latif, Fatouma, Ayoub Ainane, Ibrahim Houmed Aboubaker, Jalludin Mohamed, et Tarik Ainane. 2023. « Exploring the Potent Anticancer Activity of Essential Oils and Their Bioactive Compounds: Mechanisms and Prospects for Future Cancer Therapy ». *Pharmaceuticals* 16(8): 1086. doi:10.3390/ph16081086.

Mollea, Chiara, Francesca Bosco, et Davide Fissore. 2022. « Agar Plate Methods for Assessing the Antibacterial Activity of Thyme and Oregano Essential Oils against *S. Epidermidis* and *E. Coli* ». *Antibiotics* 11(12): 1809. doi:10.3390/antibiotics11121809.

Mollova, Silviya, Anatoli Dzhurmanski, Hafize Fidan, Dimitar Bojilov, Stanimir Manolov, Ivayla Dincheva, Stanko Stankov, et al. 2023. « Chemical Composition of Essential Oils from *Nepeta transcaucasica* Grossh. and *Nepeta cataria* L. Cultivated in Bulgaria and Their Antimicrobial and Antioxidant Activity ». *ACS Omega* 8(17): 15441-49. doi:10.1021/acsomega.3c00704.

Mourabiti, Fatima, Reda Derdak, Abdelaziz El Amrani, Ghizlane Momen, Mohammed Timinouni, Abdelaziz Soukri, Bouchra El Khalfi, et Yassine Zouheir. 2024. « The antimicrobial effectiveness of *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia officinalis* essential oils against *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in silico ». *South African Journal of Botany* 168: 112-23. doi:10.1016/j.sajb.2024.03.015.

Munteanu, Irina Georgiana, et Constantin Apetrei. 2021. « Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review ». *International Journal of Molecular Sciences* 22(7): 3380. doi:10.3390/ijms22073380.

Mursal, Mohd, Mohammad Ahmad, Sahil Hussain, Mohemmed Faraz Khan, Mohd Mursal, Mohammad Ahmad, Sahil Hussain, et Mohemmed Faraz Khan. 2024. *Navigating the Computational Seas: A Comprehensive Overview of Molecular Docking Software in Drug Discovery*. IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.1004802.

Myhrstad, M. C. W., & Wolk, A. (2023). Antioxidants and phytochemicals – a scoping review for Nordic Nutrition Recommendations 2023. *Food & Nutrition Research*. <https://doi.org/10.29219/fnr.v67.10324>

N

Niki, E. 1991. « Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 54(6): 1119S-1124S. doi:10.1093/ajcn/54.6.1119s.

Novitasari, Diana. 2021. « Pelatihan Pemanfaatan Software ChemDraw Sebagai Media Pembelajaran Materi Hidrokarbon Bagi Guru Di SMK N 1 BP. BR OKU Timur ». *Jurnal Indonesia Mengabdi* 3(1): 10-15. doi:10.30599/jimi.v3i1.1575.

Nwachukwu, Ifeanyi D., Roghayeh Amini Sarteshnizi, Chibuike C. Udenigwe, et Rotimi E. Aluko. 2021. « A Concise Review of Current In Vitro Chemical and Cell-Based Antioxidant Assay Methods ». *Molecules* 26(16): 4865. doi:10.3390/molecules26164865.

O

O'Boyle, Noel M., Michael Banck, Craig A. James, Chris Morley, Tim Vandermeersch, et Geoffrey R. Hutchison. 2011. « Open Babel: An Open Chemical Toolbox ». *Journal of Cheminformatics* 3(1): 33. doi:10.1186/1758-2946-3-33.

Olascuaga-Castillo, Karyn Alicia, Olga Castillo-Medina, Marleni Villacorta-Zavaleta, Jorge Diaz-Ortega, Cyntia Blanco-Olano, Dan Altamirano-Sarmiento, et Juan Valdiviezo-Campos. 2024. « Extraction of Essential Oils by Hydrodistillation of Four Aromatic Species: Conditioning, Extraction Conditions, Yield and Chemical Composition ». *Scientia Agropecuaria* 15(3): 385-408. doi:10.17268/sci.agropecu.2024.029.

Oleinik, Giovanna, Priscila Paola Dario, Katiane de Moraes Gasperin, Dalila Moter Benvegnú, Fernanda Oliveira Lima, Letiére Cabreira Soares, et André Lazarin Gallina. 2022. « In Vitro Antioxidant Extracts Evaluation from the Residue of the Hevea Brasiliensis Seed ». *Scientific Reports* 12(1): 480. doi:10.1038/s41598-021-04017-w.

Oliva, Alessandra, Silvia Costantini, Massimiliano De Angelis, Stefania Garzoli, Mijat Božović, Maria Teresa Mascellino, Vincenzo Vullo, et Rino Ragno. 2018. « High Potency of Melaleuca Alternifolia Essential Oil against Multi-Drug Resistant Gram-Negative Bacteria and Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus ». *Molecules* 23(10): 2584. doi:10.3390/molecules23102584.

Oliveira, M. A. de, Arruda, M. G. M., Silva, N. F. da, Cruz, R. C. D. da, Barros, S. C. L. de, Souza da Silva, M., Souza, T. G. dos S., Barros de Oliveira, E., Chagas, C. A., Aguiar, J. dos S., Oliveira, A. M. de, Jorge, R. J. B., & Souza, I. A. de. (2024). Cytotoxic, acute oral toxicity, genotoxic and mutagenic assessment of the essential oil from fresh leaves of *Croton argyrophyllus* (Kunth.). *Journal of Ethnopharmacology*, 330, 118206. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118206>

Osaili, Tareq M., Dinesh Kumar Dhanasekaran, Falak Zeb, MoezAllIslam E. Faris, Farah Naja, Hadia Radwan, Leila Cheikh Ismail, et al. 2023. « A Status Review on Health-Promoting Properties and Global Regulation of Essential Oils ». *Molecules* 28(4): 1809. doi:10.3390/molecules28041809.

P

Panagiotidou, Christina, Luisa D. Burgers, Christina Tsadila, Chara Almpani, Nikos Krigas, Dimitris Mossialos, Michail Christou Rallis, Robert Fürst, et Anastasia Karioti. 2023. « HPLC- and NMR-Based Chemical Profiling, Wound-Healing Potential, Anti-Inflammatory and Antibacterial Activities of *Satureja Pilosa* (Lamiaceae), a Neglected Medicinal–Aromatic Herb ». *Plants* 12(24): 4114. doi:10.3390/plants12244114.

Papa, Rosanna, Stefania Garzoli, Gianluca Vrenna, Manuela Sabatino, Filippo Sapienza, Michela Relucenti, Orlando Donfrancesco, et al. 2020. « Essential Oils Biofilm Modulation Activity, Chemical and Machine Learning Analysis—Application on *Staphylococcus Aureus* Isolates from Cystic Fibrosis Patients ». *International Journal of Molecular Sciences* 21(23): 9258. doi:10.3390/ijms21239258.

Pasqualetti, Valentina, Vittoria Locato, Chiara Fanali, Nadia Mulinacci, Sara Cimini, Anna Maria Morgia, Gabriella Pasqua, et Laura De Gara. 2021. « Comparison between In Vitro Chemical and Ex Vivo Biological Assays to Evaluate Antioxidant Capacity of Botanical Extracts ». *Antioxidants* 10(7): 1136. doi:10.3390/antiox10071136.

Patterson, Jan E, M.L McElmeel, et Nathan P Wiederhold. 2017. « In vitro Susceptibility Testing of Essential Oils against Gram-positive and Gram-negative Clinical Isolates, including Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) ». *Open Forum Infectious Diseases* 4(suppl_1): S370. doi:10.1093/ofid/ofx163.907.

Quézel, P. Santa, S. (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS.Paris, 1170p.

R

Radulović, Niko, Polina D. Blagojević, Kevin Rabbitt, et Fabio de Sousa Menezes. 2011. « Essential Oil of *Nepeta X Faassenii* Bergmans Ex Stearn (N. *Mussinii* Spreng. x N. *Nepetella* L.): A Comparison Study ». *Natural Product Communications* 6(7): 1934578X1100600724. doi:10.1177/1934578X1100600724.

Rafiq, Aasima, Bushra Manzoor, Mariya Nayeem, Abida Jabeen, et Quraazah A. Amin. 2024. « Chapter Ten - Extraction of essential oils ». In *Extraction Processes in the Food Industry, Unit Operation and Processing Equipment in the Food Industry*, éd. Seid Mahdi Jafari et Sahar Akhavan-Mahdavi. Woodhead Publishing, 279-98. doi:10.1016/B978-0-12-819516-1.00005-3.

Rahaman, Md. Mizanur, Rajib Hossain, Jesús Herrera-Bravo, Mohammad Torequl Islam, Olubunmi Atolani, Oluyomi Stephen Adeyemi, Olubukola Abibat Owolodun, et al. 2023. « Natural Antioxidants from Some Fruits, Seeds, Foods, Natural Products, and Associated Health Benefits: An Update ». *Food Science & Nutrition* 11(4): 1657-70. doi:10.1002/fsn3.3217.

Rahim, Muhammad Abdul, Hudda Ayub, Aqeela Sehrish, Saadia Ambreen, Faima Atta Khan, Nizwa Itrat, Anum Nazir, et al. 2023. « Essential Components from Plant Source Oils: A Review on Extraction, Detection, Identification, and Quantification ». *Molecules* 28(19): 6881. doi:10.3390/molecules28196881.

Rai, Divya, Satyajit Khatua, Tanmoy Kumar Paul, et Srabani Taraphder. 2023. « Chapter 9 - In silico approaches to biomacromolecules through conformational dynamics and catalysis ». In *In silico Approaches to Macromolecular Chemistry*, éd. Minu Elizabeth Thomas, Jince Thomas, Sabu Thomas, et Haya Kornweitz. Elsevier, 265-312. doi:10.1016/B978-0-323-90995-2.00016-3.

Ramak, Parvin, Behrouz Ezatpour, Gholam Reza Talei, et Behnam Ashrafi. 2019. « Biological Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Nepeta Cataria* L. ». *Journal of Research in Pharmacy* 23(2): 336-43. doi:10.12991/jrp.2019.141.

Ramamurthy, Thandavarayan, Amit Ghosh, Goutam Chowdhury, Asish K. Mukhopadhyay, Shanta Dutta, et Shin-inchi Miyoshi. 2022. « Deciphering the Genetic Network and Programmed Regulation of Antimicrobial Resistance in Bacterial Pathogens ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 12. doi:10.3389/fcimb.2022.952491.

Ramirez-Velasquez, Iliana María, Ederley Velez, Alvaro Bedoya-Calle, et Francisco Jose Caro-Lopera. 2022. « Mechanism of Antioxidant Activity of Betanin, Betanidin and Respective C15-Epimers via Shape Theory, Molecular Dynamics, Density Functional Theory and Infrared Spectroscopy ». *Molecules* 27(6): 2003. doi:10.3390/molecules27062003.

Razavi, Seyed Mehdi, Ali Asghar Ghaffari, et Mahmoud Bidarlord. 2018. « Pollen morphology of some *Nepeta* L. species in NW Iran ». *Botany Letters* 165(2): 286-91. doi:10.1080/23818107.2017.1411830.

Richardson, Lauren A. 2017. « Understanding and Overcoming Antibiotic Resistance ». *PLOS Biology* 15(8): e2003775. doi:10.1371/journal.pbio.2003775.

Rodríguez, Ana Buades. 1990. « continuación del estudio químico de los aceites esenciales de nepetas ibéricas: *nepeta nepetella* l. y *jv. amethystina* poiret ».

Roney, Miah, et Mohd Fadhlizil Fasihi Mohd Aluwi. 2024. « The importance of in-silico studies in drug discovery ». *Intelligent Pharmacy* 2(4): 578-79. doi:10.1016/j.ipha.2024.01.010.

Roy, Anupom, Hee-Juhn Park, Qudeer Ahmed Abdul, Hyun Ah Jung, et Jae Sue Choi. 2018. « KoreaMed Synapse ». *Natural Product Sciences* 24(1): 28-35. doi:10.20307/nps.2018.24.1.28.

Rozman, Kati, An Ghysels, Bogdan Zavalnij, Tanja Kunej, Urban Bren, Dušanka Janežič, et Janez Konc. 2024. « Enhanced molecular docking: Novel algorithm for identifying highest weight k-cliques in weighted general and protein-ligand graphs ». *Journal of Molecular Structure* 1304: 137639. doi:10.1016/j.molstruc.2024.137639.

S

Sabuncuoğlu, Suna, Ahmet Yalcinkaya, Suna Sabuncuoğlu, et Ahmet Yalcinkaya. 2023. *Importance of Oxidative Stress and Antioxidant System in Health and Disease*. doi:10.5772/intechopen.100949.

Sai Ramesh, A., S. Adarshan, Hamad Lohedan, T. Naveen Kumar, M. R. Thasleema Nasrin, G. Aarthi Sree, Yuvaraj Dinakarkumar, Jothi Ramalingam Rajabathar, et Muthusamy Karnan. 2023. « Computational analysis of the phytocompounds of *Mimusops elengi* against spike protein of SARS CoV2 – An Insilico model ». *International Journal of Biological Macromolecules* 245: 125553. doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.125553.

Saidi Ainayat Ellah, Nebia Bouzidi, Mohammed Ziane, Mohammed Gherib, Chaimaa Rahila, et Marius Mioc. 2024. « *In Silico* and *in Vitro* Studies: Investigating the Chemical Composition, DFT, Molecular Docking, and Dynamic Simulation of *Satureja Candidissima* (*Munby*) *Briq* Essential Oil as a Potential Antibacterial Agent ». *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*: 1-20. doi:10.1080/07391102.2024.2301742.

Salehi, Bahare, Marco Valussi, Arun Kumar Jugran, Miquel Martorell, Karina Ramírez-Alarcón, Zorica Z. Stojanović-Radić, Hubert Antolak, et al. 2018. « *Nepeta* species: From farm to food applications and phytotherapy ». *Trends in Food Science & Technology* 80: 104-22. doi:10.1016/j.tifs.2018.07.030.

Santana de Oliveira, Mozaniel, Oliviu Vostinaru, Daniela Rigano, et Eloisa Helena de Aguiar Andrade. 2023. « Editorial: Bioactive Compounds Present in Essential Oils: Advances and Pharmacological Applications ». *Frontiers in Pharmacology* 14. doi:10.3389/fphar.2023.1130097.

Santos-Sánchez, Norma Francenia, Raúl Salas-Coronado, Claudia Villanueva-Cañongo, Beatriz Hernández-Carlos, Norma Francenia Santos-Sánchez, Raúl Salas-Coronado, Claudia Villanueva-Cañongo, et Beatriz Hernández-Carlos. 2019. « Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism ». In *Antioxidants*, IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.85270.

Sankar, m., balasubramanium, l., chandrasekaran, k., & thirunavukkarasu, s. (2024). The evaluation of toxicity effects of synthetic volatile compounds and essential oils on callosbruchus maculatus l. And its biology. *Uttar pradesh journal of zoology*, 45(14), 102-107. <https://doi.org/10.56557/upjz/2024/v45i144183>

Schäfer, Julia, Vincent Julius Klösger, Ejlal A. Omer, Onat Kadioglu, Armelle T. Mbaveng, Victor Kuete, Andreas Hildebrandt, et Thomas Efferth. 2023. « In Silico and In Vitro Identification of P-Glycoprotein Inhibitors from a Library of 375 Phytochemicals ». *International Journal of Molecular Sciences* 24(12): 10240. doi:10.3390/ijms241210240.

Schoch, C. L., Ciuffo, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D. Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy : A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020, baaa062. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>

Schwartz, B., Klamer, K., Zimmerman, J., Kale-Pradhan, P. B., & Bhargava, A. (2024). Multidrug Resistant Pseudomonas aeruginosa in Clinical Settings : A Review of Resistance Mechanisms and Treatment Strategies. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 13(11), 975. <https://doi.org/10.3390/pathogens13110975>

Silva, A., Silva, V., Gomes, J. P., Coelho, A., Batista, R., Saraiva, C., Esteves, A., Martins, Â., Contente, D., Diaz-Formoso, L., Cintas, L. M., Igrejas, G., Borges, V., & Poeta, P. (2024). Listeria monocytogenes from Food Products and Food Associated Environments : Antimicrobial Resistance, Genetic Clustering and Biofilm Insights. *Antibiotics*, 13(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13050447>

Sefidkon, Fatemeh, et Zohreh Emami Bistgani. 2021. « Integrative review on ethnobotany, essential oil, phytochemical, agronomy, molecular and pharmacological properties of Satureja species ». *Journal of Essential Oil Research* 33(2): 114-32. doi:10.1080/10412905.2021.1885512.

Sekaran, Karthik, Ashwini Karthik, Rinku Polachirakkal Varghese, P. Sathiyarajeswaran, M. S. Shree Devi, R. Siva, et C. George Priya Doss. 2024. « In silico network pharmacology study on *Glycyrrhiza glabra*: Analyzing the immune-boosting phytochemical properties of Siddha medicinal plant against COVID-19 ». In *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, Functional Proteomics*, éd. Rossen Donev. Academic Press, 233-55. doi:10.1016/bs.apcsb.2023.04.003.

Seladji, Meryem, Chahrazed Bekhechi, Fawzia Beddou, Hanane Dib, et Nassima Bendimerad. 2014. « Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of *Nepeta Nepetella* Aqueous and Methanolic Extracts from Algeria ». *Journal of Applied Pharmaceutical Science*: 12-16. doi:10.7324/JAPS.2014.40203.

« SELADJI.pdf ».

Sharma, Eshita, Manju Tewari, Priyanka Sati, Isha Sharma, Dharam Chand Attri, Supriyanka Rana, Afaf Ahmed Aldahish, et al. 2024. « Serving up Health: How Phytochemicals Transform Food into Medicine in the Battle against Cancer ». *Food Frontiers* 5(5): 1866-1908. doi:10.1002/fft2.439.

Sim, Lee Yen, Nur Zahirah Abd Rani, et Khairana Husain. 2019. « Lamiaceae: An Insight on Their Anti-Allergic Potential and Its Mechanisms of Action ». *Frontiers in Pharmacology* 10. doi:10.3389/fphar.2019.00677.

Singh, Munmun Kumar, Swati Singh, Suyashi Mishra, Uma Shankar, Aransha Maurya, et Ram Swaroop Verma. 2024. « Recent Advances in Extraction, Analysis, Value Addition, and Applications of Essential Oils ». In *Medicinal and Aromatic Plants: Current Research Status, Value-Addition to Their Waste, and Agro-Industrial Potential (Vol I)*, éd. Lakhan Kumar, Navneeta Bharadvaja, Ram Singh, et Raksha Anand. Cham: Springer Nature Switzerland, 75-96. doi:10.1007/978-3-031-60117-0_7.

Sies H (1993) Strategies of antioxidant defence. *Eur J Biochem* 215:213–219.

de Sousa, Damião P., Renan Oliveira S. Damasceno, Riccardo Amorati, Hatem A. Elshabrawy, Ricardo D. de Castro, Daniel P. Bezerra, Vitória Regina V. Nunes, Rebeca C. Gomes, et Tamires C. Lima. 2023. « Essential Oils: Chemistry and Pharmacological Activities ». *Biomolecules* 13(7): 1144. doi:10.3390/biom13071144.

Srivastava, Abhilasha, Soni Gupta, Swati Singh, Ram Swaroop Verma, Ramesh Kumar Srivastava, Anil Kumar Gupta, et Raj Kishori Lal. 2021. « Genetic Variability and Elite Line

Selection for High Essential Oil and Nepetalactone Content in Catmint *Nepeta Cataria* L. ». *American Journal of Plant Sciences* 12(07): 1135-54. doi:10.4236/ajps.2021.127079.

Stefanakis, Michalis K., Charikleia Papaioannou, Vaia Lianopoulou, Eleni Philotheou-Panou, Anastasia E. Giannakoula, et Diamanto M. Lazari. 2022. « Seasonal Variation of Aromatic Plants under Cultivation Conditions ». *Plants* 11(16): 2083. doi:10.3390/plants11162083.

Suganya, Thangaiyan, Issac Abraham Sybiya Vasantha Packiavathy, G. Smilin Bell Aseervatham, Areanna Carmona, Vijayaragavan Rashmi, Subramanian Mariappan, Navaneethan Renuga Devi, et Devanesan Arul Ananth. 2022. « Tackling Multiple-Drug-Resistant Bacteria With Conventional and Complex Phytochemicals ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 12. doi:10.3389/fcimb.2022.883839.

Swebocki, Tomasz, Alexandre Barras, Aleksandra Maria Kocot, magdalena.plotka, et rabah.boukherroub. 2023. « Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Assays Using Broth Micr... »

Fatima Benyoucef¹, Mohammed El Amine Dib^{2*}, Boufeldja Tabti², Arrar Zoheir¹, Jean Costa³ and Alain Muselli 2019. « Synergistic Effects of Essential Oils of *Ammoides verticillata* and *Satureja candidissima* Against Many Pathogenic Microorganisms ». *Anti-Infective Agents*.

T

Tavga A. Aziz.,2011. «Concentration-Dependant Antioxidant Activity of Pentoxifylline in Nitrite-induced Hemoglobin Oxidation Model». *Iraqi J Pharm Sci*, Vol.20(1)

Tepe, Bektas, et Mustafa Cilkiz. 2016. « A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja* ». *Pharmaceutical Biology* 54(3): 375-412. doi:10.3109/13880209.2015.1043560.

Tibaldi, Giorgio, Emanuela Fontana, et Silvana Nicola. 2013. « Postharvest Management Affects Spearmint and Calamint Essential Oils ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93(3): 580-86. doi:10.1002/jsfa.5836.

Tkachenko, Halyna, Maryna Opryshko, Oleksandr Gyrenko, Myroslava Maryniuk, Lyudmyla Buyun, et Natalia Kurhaluk. 2022. « Antibacterial Properties of Commercial Lavender Essential Oil against Some Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria ». *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality* 6(2). <https://agrobiodiversity.uniag.sk/scientificpapers/article/view/455>.

Tourabi, Meryem, Asmae Baghouz, Khaoula Faiz, Asmae El Ghouizi, Mohamed Chebaibi, Latifa Zbadi, Najoua Soulo, et al. 2024. « Unveiling the Molecular Composition and Biological Properties of Essential Oil Derived from the Leaves of Wild *Mentha Aquatica* L.: A Comprehensive in Vitro and in Silico Exploration ». *Open Chemistry* 22(1). doi:10.1515/chem-2024-0057.

Tyagi, D. N., Ismail, D. M. V., & Sharma, D. M. K. (2022). An Antioxidant : An Overview. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 142-147. <https://doi.org/10.53555/sfs.v8i3.1363>

U

Urban-Chmiel, Renata, Agnieszka Marek, Dagmara Stępień-Pyśniak, Kinga Wieczorek, Marta Dec, Anna Nowaczek, et Jacek Osek. 2022. « Antibiotic Resistance in Bacteria—A Review ». *Antibiotics* 11(8): 1079. doi:10.3390/antibiotics11081079.

V

Vandana, et Anindita Barua. 2024. « Extraction and Chemotypic Standardization of Plant Essential Oils with Special Reference to Phytochemical Genomics ». In *Plant Essential Oils: From Traditional to Modern-Day Application*, éd. Bhanu Prakash, Nawal Kishore Dubey, et Jackline Freitas Brilhante de São José. Singapore: Springer Nature, 27-58. doi:10.1007/978-981-99-4370-8_2.

Vasiliev, P. M., A. V. Golubeva, A. R. Koroleva, M. A. Perfiliev, et A. N. Kochetkov. 2023. « In silico prediction of toxicological and pharmacokinetic characteristics of drug compounds ». *Safety and Risk of Pharmacotherapy* 11(4) : 390-408. doi:10.30895/2312-7821-2023-11-4-390-408.

Vella, Filomena Monica, Roberto Calandrelli, Domenico Cautela, Immacolata Fiume, Gabriella Pocsfalvi, et Bruna Laratta. 2020. « Chemometric Screening of Fourteen Essential Oils for Their Composition and Biological Properties ». *Molecules* 25(21): 5126. doi:10.3390/molecules25215126.

Vellur, Senthilkumar, Parasuraman Pavadai, Ewa Babkiewicz, Sureshbabu Ram Kumar Pandian, Piotr Maszczyk, et Selvaraj Kunjiappan. 2023. « An In Silico Molecular Modelling-Based Prediction of Potential Keap1 Inhibitors from *Hemidesmus Indicus* (L.) R.Br.

against Oxidative-Stress-Induced Diseases ». *Molecules* 28(11): 4541. doi:10.3390/molecules28114541.

Vijayalakshmi, Maruthamuthu, et Kandasamy Ruckmani. 2016. « Ferric Reducing Anti-Oxidant Power Assay in Plant Extract ». *Bangladesh Journal of Pharmacology* 11(3): 570-72. doi:10.3329/bjp.v11i3.27663.

Vlachou, Georgia, Maria Papafotiou, Dimitra J. Daferera, et Petros A. Tarantilis. 2023. « Yield and Composition of the Essential Oil of *Clinopodium Nepeta* Subsp. *Spruneri* as Affected by Harvest Season and Cultivation Method, i.e., Outdoor, Greenhouse and In Vitro Culture ». *Plants* 12(24): 4098. doi:10.3390/plants12244098.

Vivekanandhan, D. K., Verma, P. R. P., & Singh, S. K. (2016). Emerging technologies for improving bioavailability of polyphenols. *Current Nutrition & Food Science*, 12(1), 12-22. <https://doi.org/10.2174/1573401311666151015213704>.

W

Wang, Haoran, Yulu Li, Zhuo Li, Run Ma, Xiangyang Bai, Xiangjun Zhan, Kunyao Luo, et al. 2022. « Inhibition of *Cronobacter Sakazakii* by *Litsea Cubeba* Essential Oil and the Antibacterial Mechanism ». *Foods* 11(23): 3900. doi:10.3390/foods11233900.

Wang, Jiangli, Bowen Song, Minran Yang, Fubo Hu, Huilong Qi, Huizhe Zhang, Yuelong Jia, et al. 2024. « Deciphering recursive polyploidization in Lamiales and reconstructing their chromosome evolutionary trajectories ». *Plant Physiology* 195(3): 2143-57. doi:10.1093/plphys/kiae151.

White, Allison, et James M. Hughes. 2019. « Critical Importance of a One Health Approach to Antimicrobial Resistance ». *EcoHealth* 16(3): 404-9. doi:10.1007/s10393-019-01415-5.

Wojtunik-Kulesza, Karolina A., Kamila Kasprzak, Tomasz Oniszczyk, et Anna Oniszczyk. 2019. « Natural Monoterpenes: Much More than Only a Scent ». *Chemistry & Biodiversity* 16(12): e1900434. doi:10.1002/cbdv.201900434.

Y

Yu, Yutian, Jie Dong, Yanlu Wang, et Xi Gong. 2021. « RNA-Seq Analysis of Antibacterial Mechanism of *Cinnamomum Camphora* Essential Oil against *Escherichia Coli* ». *PeerJ* 9: e11081. doi:10.7717/peerj.11081.

Z

Zăgrean-Tuza, Cezara, Alina Matei, et Radu Silaghi-Dumitrescu. 2024. « A biomimetic assay for antioxidant reactivity, based on liposomes and myoglobin ». *Journal of Inorganic Biochemistry* 258: 112613. doi:10.1016/j.jinorgbio.2024.112613.

Zhang, Lianhua, Fei Gao, Junwei Ge, Hui Li, Fei Xia, Hongtong Bai, Xiangshu Piao, et Lei Shi. 2022. « Potential of Aromatic Plant-Derived Essential Oils for the Control of Foodborne Bacteria and Antibiotic Resistance in Animal Production: A Review ». *Antibiotics* 11(11): 1673. doi:10.3390/antibiotics11111673.

Zhao, Fei, Ya-Ping Chen, Yasaman Salmaki, Bryan T. Drew, Trevor C. Wilson, Anne-Cathrine Scheen, Ferhat Celep, et al. 2021. « An updated tribal classification of Lamiaceae based on plastome phylogenomics ». *BMC Biology* 19(1): 2. doi:10.1186/s12915-020-00931-z.

Zhao, Wenming, Chengwei Yang, Ning Zhang, Yuanyuan Peng, Ying Ma, Keru Gu, Xia Liu, et al. 2023. « Menthone Exerts Its Antimicrobial Activity Against Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* by Affecting Cell Membrane Properties and Lipid Profile ». *Drug Design, Development and Therapy* 17: 219-36. doi:10.2147/DDDT.S384716.

Zhou, Shufeng, Hwee-Ling Koh, Yihuai Gao, Zhi-yuan Gong, et Edmund Jon Deon Lee. 2004. « Herbal bioactivation: The good, the bad and the ugly ». *Life Sciences* 74(8): 935-68. doi:10.1016/j.lfs.2003.09.035.

Zielińska-Blajet, Mariola, et Joanna Feder-Kubis. 2020. « Monoterpenes and Their Derivatives—Recent Development in Biological and Medical Applications ». *International Journal of Molecular Sciences* 21(19): 7078. doi:10.3390/ijms21197078.

Annexes

Annexe 1 :

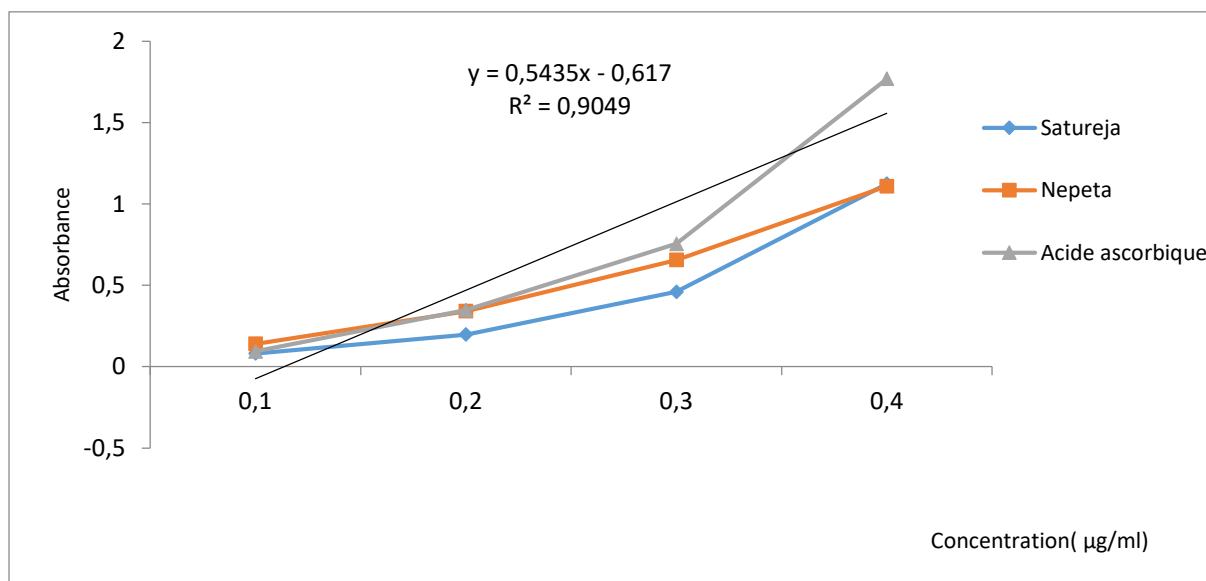


Figure 17 : Courbe d'étalonnage FRAP

Annexe 2 :

Tableau 18 : Analyse statistique des résultats du test DPPH

Concen	15,5	62,5	120	250
a, Asc	23,99	96,81	97,36	97,5
N,nepet	8,26	67,01	69,89	72,37
S, candid	11,13	36,7	52,5	72,78

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	F1%	5%
Lignes	2660,26132	2	1330,13066	11,0211036	0,00979529	10,9247665	5,14325285
Colonnes	8181,4191	3	2727,1397	22,5963435	0,00113959	9,77953824	4,75706266
Erreur	724,13655	6	120,689425				
Total	11565,817	11					

Annexe 3 :

Tableau 19 : Analyse statistique des résultats du test FRAP

	0,1	0,2	0,3	0,4
Satureja	0,081	0,197	0,46	1,124
Nepeta	0,14	0,341	0,656	1,109
Acide ascorbique	0,094	0,348	0,755	1,77

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	F1%	F5%
Lignes	0,15736017	2	0,07868008	2,49788836	0,16247106	10,9247665	5,14325285
Colonnes	2,63165492	3	0,87721831	27,8494035	0,00064125	9,77953824	4,75706266
Erreur	0,18899183	6	0,03149864				
Total	2,97800692	11					

Annexe 4 :

Tableau 20 : Analyse statistique des résultats du test CAT

Concentration	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
Satureja	3,54	3,89	4,44	4,71	4,91
Nepeta	2,94	3,41	3,69	4,09	4,26

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F calculé	Probabilité	F1%	F5%
Lignes	0,961	1	0,961	203,386243	0,00014041	21,1976896	7,70864742
Colonnes	2,41166	4	0,602915	127,601058	0,00018046	15,9770249	6,38823291
Erreur	0,0189	4	0,004725				
Total	3,39156	9					

In silico and *in vitro* studies: investigating the chemical composition, DFT, molecular docking, and dynamic simulation of *Satureja candidissima* (Munby) Briq essential oil as a potential antibacterial agent

Ainayat ullah Saidi, Nebia Bouzidi, Mohammed Ziane, Mohammed Gherib, Chaimaa Rahila & Marius Mioc

To cite this article: Ainayat ullah Saidi, Nebia Bouzidi, Mohammed Ziane, Mohammed Gherib, Chaimaa Rahila & Marius Mioc (10 Jan 2024): *In silico* and *in vitro* studies: investigating the chemical composition, DFT, molecular docking, and dynamic simulation of *Satureja candidissima* (Munby) Briq essential oil as a potential antibacterial agent, Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, DOI: [10.1080/07391102.2024.2301742](https://doi.org/10.1080/07391102.2024.2301742)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/07391102.2024.2301742>



Published online: 10 Jan 2024.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 11



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



In silico and *in vitro* studies: investigating the chemical composition, DFT, molecular docking, and dynamic simulation of *Satureja candidissima* (Munby) Briq essential oil as a potential antibacterial agent

Ainayat ellah Saidi^a, Nebia Bouzidi^b, Mohammed Ziane^{a,c}, Mohammed Gherib^d, Chaimaa Rahila^a and Marius Mioc^e

^aLaboratory of Applied Hydrology and Environment, University of Ain Témouchent, Ain Témouchent, Algeria; ^bLaboratory of physical chemistry of macromolecules and biological interfaces, departement of biology sciences, faculty of sciences of nature and life, university Mustapha stambouli of mascara, mascara, Algeria; ^cLaboratory of Microbiology Applied to Food, Biomedical and the Environment (LAMAABE), Faculty of SNV/STU, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria; ^dLaboratory Sustainable Management of Natural Resources in Arid and Semi-Arid Zones, Department of SNV, Institute of Science and Technology, University Center Salhi Ahmed, Nâama, Algeria; ^eFaculty of Pharmacy, "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania

Communicated by Ramaswamy H. Sarma

ABSTRACT

This study aimed to investigate the chemical composition and antibacterial properties of the essential oil (EO) derived from the aerial parts of *Satureja candidissima* (Munby) Briq (SC), as well as the mechanisms of interaction between SCEO chemical components and target proteins related to antibacterial activity mechanisms using a molecular docking approach, and for more accuracy molecular dynamic simulation and DFT calculations were carried out. The GC-MS technique was used to analyze the chemical composition of SCEO. The results showed that SCEO contained various chemical compounds, with pulegone being identified as the major component (53.26%). The results also indicated the presence of (+)-menthone (11.02%), borneol (4.43%), 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene) (2.50%), and 3-octanol (2.09%). The study revealed that the SCEO displayed antibacterial activity against all tested gram-positive bacteria. To further understand the mechanism behind its antibacterial activity, *in silico* molecular docking studies were performed. The results indicated that the antibacterial effect of SCEO compounds could be due to the combination with enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) in a variety of ways. The molecular dynamics simulation analysis yielded favorable outcomes for the docked complex involving 1*H*-cycloprop[*e*]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene, and 1,4,7-tetramethyldecahydro-1*H*-cyclopropa[*e*]azulen-4-ol with enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH]. Geometry optimization, coupled with Density Functional Theory (DFT), can be employed to assess the importance of quantum chemical descriptors in elucidating potential antibacterial activity. Quantum descriptors were computed based on E_{HOMO} and E_{LUMO} . The results of this study provide important insights into the potential use of *Satureja candidissima* (Munby) Briq EO as antibacterial agent.

ARTICLE HISTORY

Received 25 July 2023
Accepted 28 December 2023

KEYWORDS

Essential oil; *Satureja candidissima* (Munby) Briq; antibacterial properties; molecular docking; dynamics simulation study

1. Introduction

The most significant obstacle in the food industry is the presence of foodborne strains and spoilage microorganisms (Gutiérrez-Larraínzar et al., 2012; Shin et al., 2007). *Bacillus cereus* groups and *Staphylococcus aureus* are among the bacterial strains that can cause illness in humans through contamination of various food products, including meat, dairy, vegetables, and homemade items. It is worth noting that these bacteria have been identified in numerous instances of foodborne illness outbreaks in Algeria (Ziane & Membré, 2022). To prolong the shelf life of food, a synthetic additive is usually added. While this synthetic chemical is beneficial in some instances, it can be detrimental to human health. The connection between synthetic additives, such as parabens and breast cancer, as well as the fact that nitrites are

responsible for causing cancers in organs, such as the lung, stomach, and liver, has prompted researchers to seek safer alternatives (Guimarães et al., 2019). In recent years, there has been a growing trend toward the consumption of minimally processed and additive-free foods. As a result, there is an increasing demand for the food industry to replace existing preservation technologies with new ones (Jianu et al., 2021). Essential oils (EOs) are regarded as a possible source of natural, non-toxic antimicrobial compounds with improved safety profiles. Medicinal phytochemicals, including EO, are now increasingly being acknowledged as a feasible alternative for restraining the proliferation of pathogenic bacteria (Mansuri & Lokhande, 2020).

Various *Satureja* species have been studied for their diverse biological properties, which could be useful in future disease management. These properties include antioxidant,

antifungal, antibacterial, antiparasitic, antiviral, anti-inflammatory, antidiabetic, hepatoprotective, anticancer, and cytotoxic effects (Sefidkon & Bistgani, 2021).

Satureja candidissima (Munby) Briq. (SC) is a member of the *Lamiaceae* family and has a pleasant aroma, making it a popular medicinal plant. It is typically covered, with a thick, whitish velvety tomentum and ovoid leaves, only revealing its pinkish flowers measuring 8–12 mm during inflorescence. This plant is used locally as a culinary spice as well as to treat ailments, such as flu, fever, and intestinal worms. It is locally named 'Nabta beda' or 'Zaater cheleuh' and is also known as *Melissa candidissima* (Munby) and *Calamintha candidissima* (Munby) Benth. var. *laxiflora* (mnhn.fr/fr) (Attou & Davenne, 2021).

Thus, this research focused on three primary objectives. Firstly, it aimed to characterize the chemical composition of the essential oil (EO) extracted from the aerial parts of *Satureja candidissima* (Munby) Briq through the application of GC-MS analysis. The second objective involved assessing the EO's antibacterial properties. Lastly, a molecular docking approach was employed to scrutinize the interaction mechanisms between the chemical constituents of SCEO and target proteins associated with antibacterial activity, further confirmed through molecular dynamics (MD) simulations.

The overarching aim of this study was to unveil the potential utility of SCEO as a natural and environmentally friendly preservative within the realms of both the food and pharmaceutical industries.

2. Materials and methods

2.1. Essential oil extraction

During the flowering season in October 2021, Aerial parts of *Satureja candidissima* (Munby) Briq (SC) were collected from the Ain Temouchent region of Algeria at coordinates 35°17'50.96" N –1°08'25.33" W. The botanical identification was conducted by a skilled herbalist from Ain Temouchent and also at the Department of Biology (University of Mascara, Algeria). The collection was dried at room temperature for two weeks.

The essential oil was obtained *via* hydrodistillation using a Clevenger apparatus for a duration of 4 h, following the protocol outlined in the European Pharmacopoeia. The resulting oil was subsequently dried over anhydrous sodium sulfate and stored in darkness at 4 °C until needed (Alaoui Ismaili & El Arouji, 2015).

2.2. Gas chromatography–mass spectrometry

A Shimadzu capillary gas chromatograph directly coupled to a mass spectrometer system, specifically the GC-2010 plus and GCMS-TQ8030 models from Shimadzu (Shimadzu Scientific Instruments), was used to carry out the analyses. A capillary column measuring 30 m in length with an inner diameter of 0.31 mm and a film thickness of 0.25 µm was employed, and the following conditions were applied: the column oven temperature was set to 60.0 °C, injection

temperature to 230 °C, injection mode to split, pressure to 100 kPa, total flow to 7.3 mL/min, column flow to 4.33 S mL/min, linear velocity to 75.9 cm/s, purge flow to 3.0 mL/min, and split ratio to –1.0. The column temperature was programmed to increase from 60.0 to 230.0 °C at a rate of 2.00 °C/min. For the mass spectrometer (MS), the ion source temperature was 200.00 °C, interface temperature was 230.00 °C, solvent cut time was 3.00 min, and detector gain was set to 0.80 kV.

2.3. Antibacterial activity assay

2.3.1. Bacterial strains

The antibacterial efficacy of SCEO was assessed against a range of gram-positive bacteria, including *B. cereus* ATCC 25921, *B. cereus* group IV as characterized by Ziane et al. (2014), *B. cereus* group III as identified by Ziane et al. (2016), and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. These particular microbial strains have been recognized as the primary culprits behind foodborne outbreaks, as reported in the EFSA One Health 2019 Zoonoses Report (EFSA & ECDC, 2021). The selected strains were revitalized by subculturing a loop of each bacterial strain in brain heart infusion broth (BHI) and then incubated at 37 °C for 24 h. Following incubation, the purity of the strains was assessed through macroscopic observation of colony appearance and microscopic observation of cells after gram staining.

The authentication of the tested strains was confirmed using two tests: microscopic observation after gram staining and the catalase test.

2.3.2. Evaluation of bacterial activity

Two methods, the well diffusion method on Mueller-Hinton agar medium and the microdilution method on a microplate, were used to evaluate the bacterial activity. The first method consists of determining the susceptibility profile of the tested strains, while the second method consists of determining the level of resistance (minimum inhibitory concentrations: MICs). Additionally, the minimum bactericidal concentrations (MBCs) were then estimated based on the determined MICs.

2.3.3. Agar diffusion method (diffusion in wells)

The procedure involves the preparation of an overnight culture of the tested bacterial strains on a nutrient agar medium (Jennie & Jenny, 2003). Then, the standard inoculum of 0.5 McFarland standard was prepared by suspension of colonies in physiological water. Afterward, the suspension was distributed using a swab on a Petri dish containing 14 mL of Mueller Hinton agar medium (Balouiri et al., 2016). After culture drying, a well of approximately 6 mm is then formed using a sterile Durham tube. Into this well, a volume of 10 µL of the tested essential oils, as well as activity controls, such as DMSO and thymol, was introduced. The culture dish was incubated at 37 °C for 24 h. The results were obtained by measuring the zones of inhibition (millimeters) surrounding each well. The inhibition zone, which is the area devoid of bacterial growth surrounding the well, reflects the

antimicrobial activity of the tested product (essential oil, DMSO, and thymol). The susceptibility profile (sensitive, resistant, or intermediate) was expressed as established by Ponce et al. (2003). A strain that is not sensitive to the essential oil will have a diameter of the inhibition zone ≤ 8 mm, a sensitive strain will have a diameter between 9 and 14 mm, while very sensitive strains will have a diameter in the ranges of 15–19 mm and extremely sensitive strain will have a diameter ≥ 20 mm, respectively (Ponce et al., 2003).

2.3.4. Determination of MIC and MBC

To determine the MICs, a volume of 40 μL of essential oil was first diluted in 200 μL of BHI broth from the initial well of the titration microplate with a final volume of 100 μL (Chikezie, 2017). The tested dilutions were performed to prepare a final concentration ranging from 20 to 0.156 $\mu\text{L}/\text{ml}$. In addition, the activity of DMSO and thymol was tested through similar dilutions.

All the wells were then inoculated with a volume of 10 μL from a microbial culture of $\sim 10^6$ UFC/mL and incubated for 24 h at $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Two wells served as negative controls: the first contained only the culture medium, and the other contained only the inoculum. The MIC is defined as the lowest concentration that can inhibit any visible growth of the microorganism. The MIC is assigned with a bacteriostatic effect. The turbidity of each well was visually assessed by a pellet in the bottom in daylight.

To verify the revivification of the bacteria in the well without microbial pellets, a 5 μL culture was plated 'in spots' on Muller-Hinton agar. The plates were incubated at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24 h, and the MBC of the essential oil was deduced from the first plate of the first dilution without bacteria. In fact, the MBC corresponds to the lowest concentration that can kill more than 99.9% of the initial microbial inoculum (i.e. $< 0.01\%$ survivors) and reflects the bactericidal effect of a given sample.

2.4. In silico molecular docking

The 3D structures of the protein targets, listed in Table 1, were acquired from the RCSB protein data bank <https://www.rcsb.org/> (Berman et al., 2000). Protein structure visualization was achieved using, Discovery Studio Visualizer (BIOVIA Discovery Studio 2021 Client).

Protein structures were prepared as suitable docking targets using Autodock Tools (version 1.5.6, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA) and BIOVIA Discovery Studio 2021 Client. The protein structures underwent preprocessing by removing water molecules, hetero atoms (hetatm), undesired protein chains, and cocrystallized ligands. This was followed by the addition of polar hydrogen atoms and Gasteiger charges, and the resulting structures were converted into pdbqt format for subsequent analysis.

All 54 SCEO compounds were represented by their respective 3D structures, which were drawn using ChemDraw Professional 15.0 software (PerkinElmer, USA) and then subjected to structural energy minimization using Chem3D 15.0

software (PerkinElmer, USA). The ligands were then processed using the Python Prescription Virtual Screening tool software (PyRx) (Trott & Olson, 2010), where their SDF files were converted to pdbqt formats using OpenBabel software (O'Boyle et al., 2011).

Docking of the compounds was carried out with the GUI software PyRx using the scoring function of AutoDock Vina (Allouche, 2012). After selecting the protein and ligand molecules for docking within the vina wizard control, a grid box was superimposed over the protein structure. The grid size was subject to modification based on the active site residues that were chosen before launching the AutoDock Vina program to conclude the docking process. The search space was confined by the grid box, which was sized and located based on coordinates to accurately align with the active binding site (Table 1).

Data results for docked molecules as free binding energy values (ΔG , kcal/mol) were documented and the analysis of ligand-protein binding features was conducted using BIOVIA Discovery Studio 2021 Client.

A useful way to validate molecular docking involves separating the protein's crystallized ligand and running a new docking analysis in the same area where the ligand was previously located (Al Khodairy & Kalim, 2013; Shivanika et al., 2022). This process allows us to determine if the docked ligand overlaps with the crystallized ligand by checking the RMSD parameter value using software, such as PyMOL.

2.5. Molecular dynamics simulation

NAMD 3.0.0. software was used for performing MD simulations (Phillips et al., 2005; Ribeiro et al., 2018). This software applies the Charmm-36 force field. Protein systems were built using the QwikMD toolkit of the VMD software (Humphrey et al., 1996; Ribeiro et al., 2018) where the protein structure was checked for any missing hydrogens, the protonation states of the amino acid residues were set ($\text{pH} = 7.4$), and the co-crystallized water molecules were removed. Thereafter, the whole structure was embedded in an orthorhombic box of TIP3P water together with 0.15 M Na^+ and Cl^- ions in 20 \AA solvent buffer.

Afterward, each system was first energy minimized using the steepest descent and conjugate gradient methods. Then it was gradually heated with the Langevin thermostat (Liu et al., 2016) to 310 K over 30 ps at constant volume using 1-fs time steps.

Initial velocities were sampled from the Boltzmann distribution while keeping weak restraints on the solute and the ligand. Each system was then equilibrated in the isothermal-isobaric ensemble (NPT), at 310 K, using a constant pressure periodic boundary with an average pressure of 1 atm. Isotropic position scaling was used to maintain the pressure with a relaxation time of 2 ps. Non-bonded interactions were cut off at 8.0 \AA , and long-range electrostatic interactions were computed using the particle mesh Ewald (PME) (Phillips et al., 2005).

The Secure Hash Algorithm Keccak SHAKE algorithm (Kräutler et al., 2001) was used to keep bonds involving H

Table 1. Molecular docking parameters and protein targets.

Protein	PDB ID	Native ligand	Grid box center coordinates	Grid box size
Isoleucyl-tRNA synthetase	1JZQ	<i>N</i> -[isoleucinyl]- <i>n'</i> -[adenosyl]-diaminosufone (ILA)	center_x = -27.9244 center_y = 6.7316 center_z = -28.9219	size_x = 16.5063 size_y = 12.1031 size_z = 6.7610
DNA gyrase	1KZN	Clorobiocin (CBN)	center_x = 19.1535 center_y = 30.3937 center_z = 34.7436	size_x = 13.6159 size_y = 15.6881 size_z = 19.3188
Dihydropteroate synthase	2VEG	Pterin-6-yl-methyl-monophosphate (PMM)	center_x = 31.1645 center_y = 48.2070 center_z = 0.0389	size_x = 9.0647 size_y = 12.2710 size_z = 8.8451
Type IV topoisomerase	3RAE	Levofloxacin (LFX)	center_x = -32.7469 center_y = 68.1871 center_z = -23.6987	size_x = 14.8885 size_y = 9.1672 size_z = 4.1677
Dihydrofolate reductase	3SRW	7-(2-ethoxynaphthalen-1-yl)-6-methylquinazoline2,4-diamine (Q27)	center_x = -5.1462 center_y = -32.1218 center_z = 6.0652	size_x = 9.0414 size_y = 12.7914 size_z = 7.2857
DNA gyrase subunit B	3TTZ	2-[(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-[[[3,4-dichloro-5-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-2-yl)carbonyl]amino]-3-fluoropiperidin-1-yl]-1,3-thiazole-5-carboxylic acid (O7N)	center_x = 16.0885 center_y = -18.9871 center_z = 6.7818	size_x = 21.7448 size_y = 14.4702 size_z = 12.0405
Penicillin-binding protein 1a PBP1a	3UDI	Penicillin G-open form (PNM)	center_x = 34.0974 center_y = -0.6934 center_z = 12.5146	size_x = 8.2053 size_y = 9.8831 size_z = 10.5326
Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH]	4ALL	Triclosan (TLC)	center_x = 0.8499 center_y = -21.5459 center_z = -23.3818	size_x = 6.8737 size_y = 6.4816 size_z = 9.8664

atoms at their equilibrium length. For the integration of *Newton's equations*, a 2-fs time step was utilized.

The parameters and topologies of the compounds were calculated by using the VMD plugin Force Field Toolkit (ffTK). Afterward, the generated parameters and topology files were loaded to VMD to readily read the protein–ligand complexes without errors and then conduct the simulation steps. The analysis of the resulting trajectories was carried out using VMD. The analysis of the FEL was carried out using the Pymol plugin Geo_measures (Kagami et al., 2020).

2.5.1. Binding free energy calculations

Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area (MM-PBSA) embedded in the MMPBSA.py module of AMBER18 was utilized to calculate the binding free energy of the docked complex (Miller et al., 2012) 100 frames were processed from the trajectories in total, and the system's net energy was estimated using the following equation:

$$\Delta G_{\text{Binding}} = \Delta G_{\text{Complex}} - \Delta G_{\text{Receptor}} - \Delta G_{\text{Inhibitor}}$$

Each of the aforementioned terms requires the calculation of multiple energy components, including van der Waals energy, electrostatic energy, internal energy from molecular mechanics, and polar contribution to solvation energy.

2.6. DFT studies

2.6.1. Quantum chemical analysis

Density functional theory (DFT), a widely adopted computational method in recent years, has gained popularity in molecular studies due to its ability to produce results that closely align with experimental values (Demirpolat et al., 2022).

The current study employs DFT analysis to highlight the electronic features of the phytochemicals. The geometry optimizations of the selected compounds 39 and 51 were

carried out using the B3LYP density functional theory (DFT) method with the def2-TZVP basis set and the def2/J auxiliary basis set in the recent version ORCA 5.0.4 (Neese, 2012), with Avogadro 1.2 as Graphical user interface GUI. Based on the optimized structures electronic characteristics, such as HOMO–LUMO energies were computed. As well as global reactivity descriptors were further investigated for the selected compounds. The following descriptors;

- The energy gap; $\Delta E_{\text{gap}} = (E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}})$
- Ionization potential; $(I = -E_{\text{HOMO}})$
- Electron affinity; $(A = -E_{\text{LUMO}})$
- The electronegativity; $(\chi = (I + A)/2)$
- Chemical potential; $(\mu = -\chi)$
- Global hardness; $(\eta = (I - A)/2)$
- Softness; $(S = 1/\eta)$
- Global electrophilicity index; $(\omega = \mu^2/2\eta)$
- Maximum charge transfer index; $(\Delta N_{\text{max}} = -\mu/\eta)$
- Nucleophilicity index; $(N = 1/\omega)$

Can be calculated based on the energy of the HOMO and the LUMO (Doğan et al., 2020).

2.6.2. Molecular docking and molecular dynamic simulation after DFT geometry optimization

To enhance the accuracy of the results. We performed additional molecular docking and MD simulation after the geometry optimization DFT for compounds 39 and 51 with the target protein enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL). To calculate the binding energy profiles, the protein-ligand complexes were docked using Vina integrated with the PyRx software following the same protocol as previously. The grid box coordinates were slightly changed this time. The new center coordinates are (Center XYZ = 0.8482, -21.5462, and -23.3818), (Dimensions XYZ = 8.2631, 7.4380, and 13.1324), respectively.

The MD Simulation for both complex (enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI—compound 39) and complex (enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI—compound 51) were re_performed this time using the GROMACS (Version 2023.2) (Abraham et al., 2023). Gromacs was installed on ASUS TUF A15 equipped with an AMD RYZEN 7 6000 Series CPU for performing the computational tasks with Compute Unified Device Architecture (CUDA) for GPU acceleration using a NVIDIA GeForce RTX 3050 Ti and Random Access Memory (RAM) of 16GB DDR5.

CHARMM27 force field and transferable intermolecular potential 3P (tip3p) water model were applied to conduct MD simulation of both complexes (Bjelkmar et al., 2010). SwissParam was used to generate force field parameters for the phytochemicals (<http://www.swissparam.ch/>). Na and Cl ions were used to balance complex charges. The Berendsen temperature and Parrinello-Rahman pressure coupling methods were used to set the equilibrated system at 300K and 1 bar pressure with a time constant of 0.1 ps. MD simulations were drawn from the Maxwell velocity distributions at 300K. The length of all covalent bonds was constrained using the LINCS algorithm (B. Hess et al., 1997). The long-range electrostatic interactions were treated using the particle mesh Ewald method with a grid spacing of 1.2Å (Darden et al., 1993). The Lennard Jones potential was used for treating the van der Waals interatomic interactions. The cut-off for van der Waals and Coulomb's interactions was set to 1.2 nm. MD was performed for 100 ns (50,000,000 steps) with an integration time step of 0.002 ps (2 fs). Finally, root mean square deviation, root mean square fluctuations, radius of gyration, and hydrogen bond occupancy are some of the post-MD analyses that were carried out. Utilizing the XMGrace program v.5.1.25, the entire plot was created (<https://plasmagate.weizmann.ac.il/Grace/>).

3. Results and discussion

3.1. SCEO chemical composition

Hydrodistillation was used to isolate essential oil from the dried aerial parts of *Satureja candidissima* (Munby) Briq, which yielded (1.6%) a fresh scented, slightly yellow colored oil.

This indicates that the plant sample from Ain Temouchent is abundant in essential oil, with higher yields than those found in Tlemcen (1.3%) and West Algeria (0.90%) according to Attou and Davenne (2021) and Benyoucef and Dib (2019), respectively.

Rădulescu et al. (2021) mentioned that the essential oil content is greatly influenced by biotic and abiotic factors, as well as variations in harvesting years and genetic traits of the genotypes (Rădulescu et al., 2021). The chemical composition is shown in Figure 1 and Table 2.

In this study, the *Satureja candidissima* (Munby) Briq EO sample was analyzed by GC (RI) and GC (MS) (Table 1). Fifty-four components were identified, accounting for 90.98% of the whole composition, and were dominated by monoterpenes. The oxygenated monoterpene was mostly represented by pulegone (53.26%), (+)-menthone (11.02%), borneol (4.43%), 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylthylidene) (2.50%), and 3-octanol (2.09%).

A previous study conducted in Tlemcen City of Algeria also reported pulegone (70.4%) and menthol (5.2%) as the major compounds of SCEO (Rădulescu et al., 2021). On the other hand, Attou and Davenne (2021) reported pulegone (47.62%), menthone (24.50%) and terpinen-4-ol (11.63%) as the main components of SCEO (Attou & Davenne, 2021).

The variations in the composition of essential oils can be attributed to a range of factors, including the time at which the plants are harvested, the methods used for storage and extraction, and the environmental and physiological conditions under which the plants are grown. These conditions may include the season, geographical location, soil composition, and climate. All of these factors can have a significant impact on the final composition of the essential oils (Müller-Riebau et al., 1997; Zouari et al., 2012).

3.2. Evaluation of the antibacterial activity

All the tested strains were viable and pure with specific genus characteristics (Table 3). Thymol displayed the highest activity against the bacterial strains (gram-positive), with inhibition diameters >23 mm As shown in Table 4, except

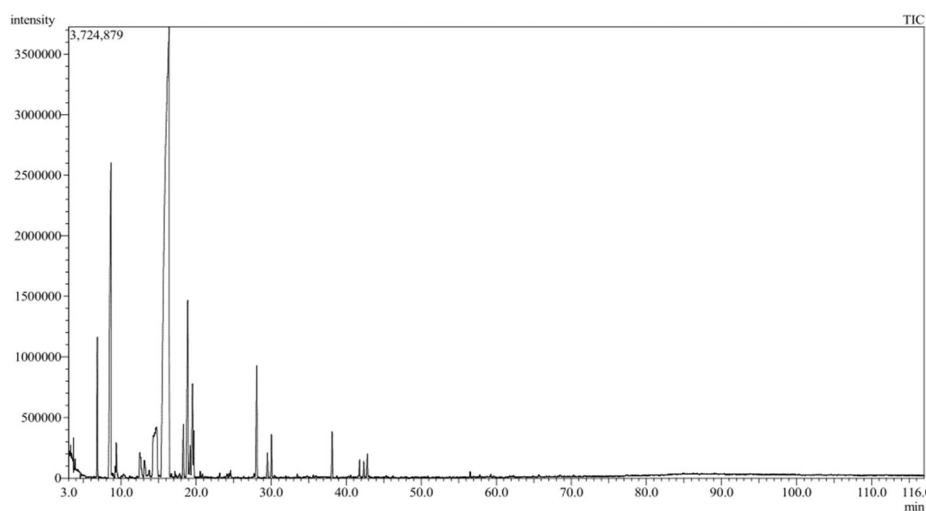

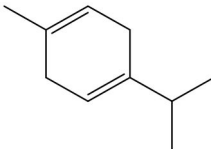
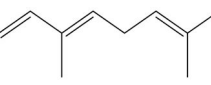
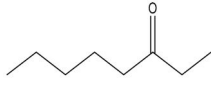
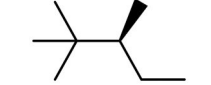
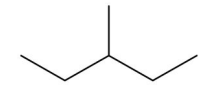
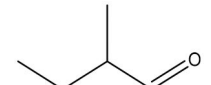
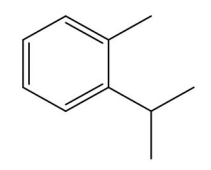
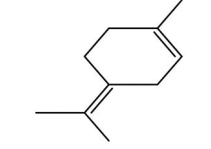

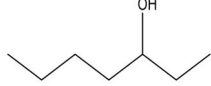
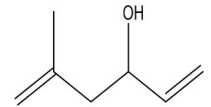
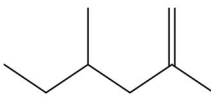
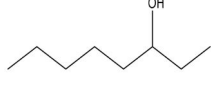


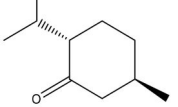
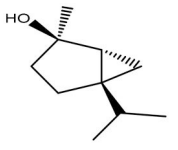
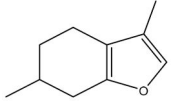
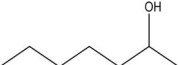
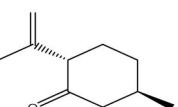
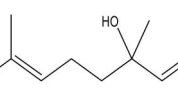
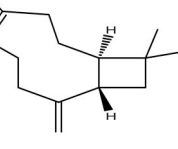
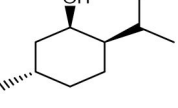
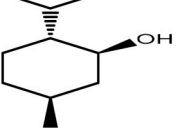
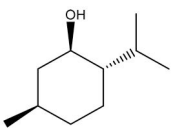
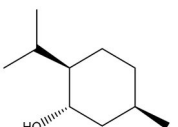
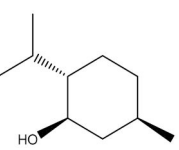
Figure 1. Volatile chromatogram of SCEO as determined by GC–MS.

Table 2. Components of essential oil (EO) from *Satureja Candidissima* (Munby) Briq.

N	Compound name	Retention time (min)	Area%	2D structure
1	Hexane	3.019	0.31	
2	1,4-cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	3.265	0.42	
3	Ocimene<(e)-, beta->	3.405	0.15	
4	3-octanone	3.450	0.14	
5	Pentane, 2,2,3-trimethyl	3.495	0.15	
6	Pentane, 3-methyl	3.570	0.05	
7	Butanal, 2-methyl	3.594	0.07	
8	Benzene, methyl(1-methylethyl)	3.685	0.24	
9	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)	3.876	0.18	
10	Octanal	4.068	0.05	
11	3-heptanol	4.228	0.09	
12	5-methyl-1,5-hexadien-3-ol	4.341	0.09	
13	1-hexene, 2,4 dimethyl	4.697	0.08	
14	3-octanol	6.840	2.09	

(continued)

Table 2. Continued.

N	Compound name	Retention time (min)	Area%	2D structure
15	(+)- menthone	8.658	11.02	
16	4-thujanol	8.968	0.07	
17	Benzofuran, 4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl	9.221	0.17	
18	3-nonanol	10.337	0.10	
19	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, trans	12.500	0.65	
20	1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl	12.614	0.52	
21	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, (z)-(1r,9s)-(-)	13.740	0.13	
22	Neomenthol	14.307	0.95	
23	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	14.343	0.26	
24	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)	14.385	0.25	
25	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.beta.)	14.460	0.57	
26	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1r-(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]	14.485	0.23	

(continued)

Table 2. Continued.

N	Compound name	Retention time (min)	Area%	2D structure
27	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)	14.630	1.35	
28	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	14.730	1.25	
29	Pulegone	16.423	53.26	
30	1,4,8-cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (e,e,e)	16.662	0.06	
31	2-cyclohexen-1-one, 2-(2-methyl-2-propenyl)	17.184	0.12	
32	Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	17.349	0.05	
33	Verbenol	17.824	0.09	
34	1,6-cyclodecadiene, 1-methyl-5-18.309 methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(e,e)]	18.309	1.28	
35	Borneol	18.887	4.43	
36	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)	19.219	0.70	
37	Bicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tetramethyl-, (1r*,2z,6e,10r*)-(.-.-)	19.524	2.28	

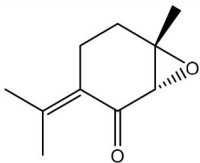
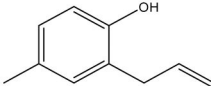
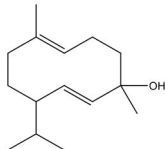
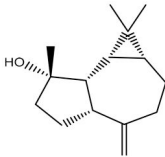
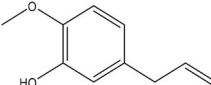
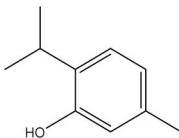
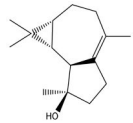
(continued)

Table 2. Continued.

N	Compound name	Retention time (min)	Area%	2D structure
38	2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)	19.708	0.98	
39	1,1,4,7-tetramethyldecahydro-1h-cyclopropa[e]azulen-4-ol	20.560	0.14	
40	Cedrene	20.866	0.08	
41	Myrtenol	23.162	0.10	
42	7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethylidene)	24.146	0.09	
43	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethenyl)-, (+)	24.433	0.07	
44	Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	24.593	0.12	
45	Bicyclo[3.2.0]heptan-2-one, 5-formylmethyl-6-hydroxy-3,3-dimethyl-6-vinyl	27.763	0.10	
46	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)	28.093	2.50	
47	2-cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2-pentenyl)-, (z)	29.508	0.52	

(continued)

Table 2. Continued.

N	Compound name	Retention time (min)	Area%	2D structure
48	Piperitenone oxide	30.051	0.44	
49	2-allyl-4-methylphenol	33.483	0.07	
50	1-hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene	34.789	0.05	
51	1h-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene	38.130	0.91	
52	3-allyl-6-methoxyphenol	40.600	0.05	
53	Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	41.791	0.36	
54	Isospathulenol	42.823	0.50	

for *Staphylococcus aureus* ATCC and *Bacillus licheniformis*, where SCEO exhibits higher activity than the positive control thymol. However, the effect of the essential oil varied depending on the strain tested. The highest antibacterial activity of SCEO was recorded for *B. cereus* ATCC 25921 followed up closely by *B. cereus* group IV identified from cous-cous semolina by Ziane et al. (2014) and *Bacillus licheniformis*. This difference in activity may be attributed to the mechanism of action of the essential oil, which is influenced by its composition. Satureja's effectiveness, for example, may be attributed to its high content of terpenes, a major component, that may alter the function of druggable key bacterial proteins. Considering previous reports of antimicrobial activities of essential oils containing comparable quantities of pulegone, it is evident that this compound is highly antibacterial. Pulegone was previously reported as exhibiting synergistic antimicrobial effects against *Staphylococcus aureus* when combined with nisin and 1,8-

cineol (Farhanghi et al., 2022). However, the pulegone-rich essential oils of two *Mentha* species exhibited no antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. This would indicate that the anti-*Staphylococcus aureus* activity is the result of other minor components (Mkaddem et al., 2009).

The disk method was used to verify the existence of antimicrobial activity, and the liquid microdilution method was performed on strains with a significant zone of inhibition (>9 mm). The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined as the lowest concentration that inhibits the visual growth of the bacteria. The negative control, water, had no effect on the growth of the tested bacteria. However, the minimum inhibitory concentration was determined for dimethyl sulfoxide (DMSO). The essential oil MICs were determined only on the DMSO concentrations where bacterial growth occurred, excluding the concentrations in the wells that corresponded to the inhibitory concentration of DMSO. Based on the results, *Satureja candidissima* essential oil exhibited growth inhibition at concentrations not exceeding 6.25 µl/ml.

3.3. Evaluation of molecular docking

3.3.1. Protocol validation

Figure 2 provides information on validation protocols for molecular docking, indicating that the RMSD values, which represent the correlation between the calculated and crystallographic ligand, should be <2.0 Å according to Cole et al. (2005). The molecular docking results revealed a low RMSD value for the overlapping of crystallographic poses (gray) and calculated poses (red), indicating favorable outcomes based on literature standards (see Figure 2). These results confirm that the protocols employed can be applied in molecular docking analyses between the receptors of anti-bacterial activity and ligands.

3.3.2. In silico prediction of the mechanism by molecular docking analysis

Molecular docking is a potent technique frequently utilized to obtain valuable insights into the potential molecular mechanisms of pharmacologically active compounds (Schleinkofer & Wang, 2006). In this study, molecular docking was used to identify a plausible mechanism of action associated with the documented antimicrobial effects of components found in SCEO. Specifically, this approach was employed to assess the binding affinity of 54 compounds from the essential oil to various target proteins commonly linked to bactericidal/bacteriostatic effects, such as isoleucyl-tRNA synthetase **1JZQ**, DNA gyrase **1KZN**, dihydropteroate synthase **2VEG**, type IV topoisomerase **3RAE**, dihydrofolate reductase **3SRW**, DNA gyrase subunit B **3TTZ**, PBP1a **3UDI**, and enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] **4ALL**.

To display the docking scores, we utilized a two-color heatmap table (Table 5) in which green and yellow colors represent low and high binding affinities, respectively. This method adapted to our current conditions from the studies reported by Jianu et al. (2021) and Rădulescu et al. (2021).

enables the easy identification of compounds that may act as potential inhibitors for a specific protein. For each protein target, the color range was set based on the energy value of the native ligand. This approach is particularly suitable for groups of compounds with similar structural features. In our study, the majority of the 54 EO-tested components were composed of terpenes/terpene derivatives.

The enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI was initially identified in neutrophils and other phagocytes and was believed to be utilized solely for host defense mechanisms. This enzyme is highly conserved across numerous pathogens, with *S. aureus* enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase being the sole known FabI with a clear preference for NADPH. The clinical trial of FabI inhibitors, such as isoniazid, a first-line tuberculosis prodrug, and several compounds currently in phase I clinical trials confirms this enzyme as a desirable drug target (Bai et al., 2023).

Seven of the docked compounds demonstrated affinity for the enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI that was similar to the cocrystallized ligand triclosan (−7.1 kcal/mol). However, 1*H*-cycloprop[*e*]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene- (−8 kcal/mol), 1,1,4,7-tetramethyldecahydro-1*H*-cyclopropa[*e*]azulen-4-ol (−7.9 kcal/mol), cedrene (−7.8 kcal/mol), 1,6-cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, (−7.6 kcal/mol), 1,4,8-cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (−7.5 kcal/mol), bicyclo [8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tetramethyl-, (1*r**,2*z*,6*e*,10*r**) and 1-hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene (−7.4 kcal/mol) displayed lower binding energies than the cocrystallized ligand, suggesting that they may have a higher affinity for the target protein.

These results provide further evidence that the antibacterial properties of SCEO are primarily associated with its minor constituents. Our data indicate that despite being the most abundant compound, pulegone (the principal component) (−5.9 kcal/mol) was not included among the seven active compounds discussed earlier.

Table 3. Main confirmatory traits for authentication of strains tested in this study.

Strains	Code	Catalase	Gram	Forms
<i>Bacillus cereus</i>	S2	+	+	Bacillus
<i>Staphylococcus</i>	Sh	+	+	Cocci
<i>Bacillus cereus</i> group IV	B11	+	+	Bacillus
<i>Bacillus licheniformis</i>	B1	+	+	Bacillus
<i>Bacillus cereus</i> group IV	Small t10	+	+	Bacillus
<i>Bacillus cereus</i> group III	Lc1	+	+	Bacillus
<i>Bacillus cereus</i> group III	Lc3	+	+	Bacillus

Table 4. Diameters of the zone of inhibition of the antibacterial activity of SCEO in millimeter.

Genus species	Origin	Strains	DMSO	Thymol	SCEO
<i>Bacillus cereus</i> ATCC	ATCC Collection	1	35	54	37
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	ATCC Collection	5	/	25	29
<i>Bacillus cereus</i> group IV	Couscous Semolina	2	35	38	35
<i>Bacillus licheniformis</i>	Couscous Semolina	3	5	29	33
<i>Bacillus cereus</i> group IV	Couscous Semolina	4	07	5	07
<i>Bacillus cereus</i> group III	Chamel milk	9	/	4	22
<i>Bacillus cereus</i> group III	Chamel milk	6	/	23	18

The compound with the best docking score was compound 51; 1*H*-cycloprop[*e*]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene; −8 kcal/mol. The binding analysis indicated that it had a good fit within the protein-binding site, forming a hydrogen bond with Tyr157 and interacting with the alkyl Ala190 and π sigma Tyr147. Similarly, compound 39; 1,1,4,7-tetramethyldecahydro-1*H*-cyclopropa[*e*]azulen-4-ol at −7.9 kcal/mol showed good interaction with the protein, forming a conventional hydrogen bond with Tyr157 and interacting with the alkyl group (Tyr157, Ala198, Val201) and π sigma Tyr147. As depicted in Figures 3 and 4.

These results suggest that SCEO has a strong affinity for enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase, forming a stable complex that catalyzes NADPH to produce a large amount of ROS in bacterial cells, leading to their death. This antibacterial effect may be due to SCEO binding to the FabI/NAD⁺ complex through multiple pathways, similar to the *cl*-functionalized catechol studied, which demonstrated broad-spectrum antibacterial activity against multiple multidrug resistance bacteria, including methicillin resistant *S. aureus* (Liu et al., 2021).

SCEO'S ability to bind to the enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI through multiple pathways may explain its antibacterial effect against *S. aureus*. Targeting the FabI enzyme has been shown to be crucial for the activity of antimicrobial agents, suggesting that SCEO has the potential to be an effective antibacterial agent against *S. aureus* (Bai et al., 2023).

3.4. Molecular dynamics simulation

The accuracy of the docking orientations of compounds 39 and 51 was confirmed through an extensive 200 ns molecular dynamics (MD) simulation. Throughout the simulation period, both compounds exhibited robust and sustained stability within the binding site of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] (PDB code: 4ALL), as depicted in Figure 5(A). Their average root mean square deviations (RMSD) were recorded at 2.41 and 2.82 Å, respectively.

Concerning the impact of the binding of either compound 39 or 51 on the conformational dynamics of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH], an examination of the RMSD profiles (see Figure 5(B)) elucidated that the overall structure of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] exhibited minimal variation following the binding of either compound. In fact, the RMSD profiles for the protein in its apo state and in its ligand-bound states were nearly indistinguishable.

Furthermore, an analysis of the root mean square fluctuation (RMSF) profiles (see Figure 6) for enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] in its apo state and its ligand-bound states indicated a consistent lack of discernible alterations in global stability. This suggests that both compounds, namely 39 and 51, did not induce significant perturbations in the overall structural stability of the protein.

In the context of the molecular dynamics (MD) simulation of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH], the application of principal component analysis (PCA) to assess the conformational changes of ligands (specifically, ligands 39 and 51) unveiled noteworthy patterns. During the initial 100 ns of the MD simulation, both ligand structures exhibited a substantial degree of

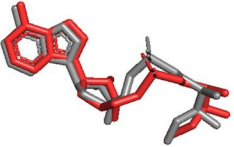
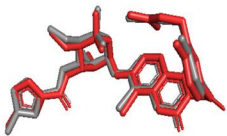
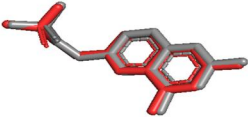
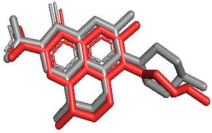
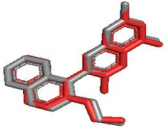
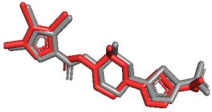
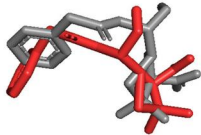

 <p>ILA PDB code 1JZQ Resolution : 3.00 Å Affinity binding = -8.4 kcal mol⁻¹ RMSD : 0.870Å</p>	 <p>CBN PDB code 1KZN Resolution: 2.30 Å Affinity binding = -9.3 kcal mol⁻¹ RMSD : 0.371Å</p>
 <p>PMM PDB code 2VEG Resolution: 2.40 Å Affinity binding = -6.9 kcal mol⁻¹ RMSD : 0.359Å</p>	
 <p>3RAE PDB code 3RAE Resolution: 2.90 Å Affinity binding = -10.1 kcal mol⁻¹ RMSD : 0.444Å</p>	 <p>Q27 PDB code 3SRW Resolution: 1.70 Å Affinity binding = -9.8 kcal mol⁻¹ RMSD : 0.356Å</p>
 <p>07N PDB code 3TTZ Resolution: 1.63 Å Affinity binding = -8.3 kcal mol⁻¹ RMSD : 0.491Å</p>	 <p>PNM PDB code 3UDI Resolution: 2.60 Å Affinity binding = -7.4 kcal mol⁻¹ RMSD : 1.117Å</p>
 <p>TCL PDB code 4ALL Resolution: 2.80 Å Affinity binding = -7.1 kcal mol⁻¹ RMSD : 0.560Å</p>	

Figure 2. Data obtained in the validation of the molecular docking protocols for the receptors isoleucyl-tRNA synthetase **1JZQ**, DNA gyrase **1KZN**, dihydropteroate synthase **2VEG**, type IV topoisomerase **3RAE**, dihydrofolate reductase **3SRW**, DNA gyrase subunit B **3TTZ**, PBP1a **3UDI**, enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] **4ALL**.

Table 5. Heatmap of recorded docking scores (binding free energy—kcal/mol) of the *Satureja Candidissima* (Munby) Briq essential oil components.

	1JZQ	1KZN	2VEG	3RAE	3SRW	3TTZ	3UDI	4ALL
Native ligand	-8.4	-9.3	-6.9	-10.1	-9.8	-8.3	-7.4	-7.1
1 Hexane	-3.4	-3.6	-3.2	-3.3	-3.7	-3.7	-2.8	-4
2 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	-4.9	-5.8	-4.5	-5.7	-5.6	-5.8	-4.6	-6.2
3 Ocimene<(E)-, beta->	-4.9	-5.5	-4.5	-5.4	-5.4	-5.6	-4.2	-5.3
4 3-octanone	-4.1	-4.5	-4.2	-4.8	-4.3	-4.7	-3.8	-4.6
5 Pentane, 2,2,3-trimethyl	-4	-3.9	-3.1	-4.2	-4.2	-4.1	-3.6	-4.9
6 Pentane, 3-methyl-	-3.7	-3.9	-3.2	-3.5	-3.7	-3.9	-2.9	-4.3
7 Butanal, 2-methyl-	-3.5	-3.7	-3.4	-3.8	-3.5	-3.8	-3.2	-4
8 Benzene, methyl(1-methylethyl)-	-5	-5.6	-4	-5.7	-5.6	-5.4	-4.7	-5.9
9 Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)	-5.1	-5.7	-4.4	-5.8	-5.5	-5.8	-4.9	-6.2
10 Octanal	-3.7	-4.5	-3.7	-4.3	-4.1	-4.6	-3.8	-4.6
11 3-heptanol	-4	-4.3	-3.9	-4.6	-4.4	-4.4	-3.7	-4.3
12 5-Methyl-1,5-hexadien-3-ol	-4.2	-4.7	-3.8	-4.5	-4.3	-4.8	-3.7	-4.4
13 1-hexene, 2,4 dimethyl	-4.1	-4.7	-3.5	-4.2	-4.5	-4.3	-3.6	-4.7
14 3-octanol	-4	-4.6	-4.2	-4.8	-4.7	-4.6	-3.9	-4.5
15 Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, trans	-4.8	-5.5	-3.7	-5.5	-5.7	-5	-4.9	-6.1
16 4-thujanol	-5.1	-6.1	-4	-5.7	-5.7	-5.2	-4.8	-5.8
17 Benzofuran, 4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl	-5.3	-6.3	-5	-6.4	-5.9	-6	-5	-6.5
18 3-nonanol	-4.3	-4.8	-4.2	-4.7	-4.7	-4.9	-4	-4.8
19 Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, trans	-5.1	-5.6	-3.8	-5.5	-5.7	-5.2	-4.8	-6.2
20 1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	-5	-5.6	-4.5	-5.2	-5.3	-5.5	-4.5	-5.3
21 Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, (z)-(1r,9s)-(-)	-6.2	-6.2	-4.2	-4.7	-7.7	-6.2	-5.5	-7
22 Neomenthol	-5.3	-6.2	-4	-6	-5.6	-5.5	-4.9	-6
23 Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	-5.3	-6.2	-4	-6	-5.6	-5.5	-4.9	-6
24 Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)	-4.9	-5.3	-3.7	-5.7	-5.7	-5.1	-4.6	-5.9
25 Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.beta.)	-5	-5.5	-3.8	-5.8	-5.6	-5.5	-4.9	-5.7
26 Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1r-(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]	-5.3	-5	-3.7	-5.3	-5.5	-5.2	-4.7	-5.8
27 Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.beta.)	-4.9	-5.3	-3.7	-5.7	-5.7	-5.2	-4.7	-6
28 Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-	-5.1	-6.2	-4	-6	-5.5	-5.5	-4.9	-5.9
29 Pulegone	-5.1	-5.7	-4.3	-5.9	-5.5	-5.5	-4.7	-5.9
30 1,4,8-cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (e,e,e)	-6	-5.6	-4.2	-3.9	-7	-5.9	-5.3	-7.5
31 2-cyclohexen-1-one, 2-(2-methyl-2-propenyl)	-4.9	-5.6	-4.2	-5.9	-5.7	-5.5	-4.5	-6.1
32 Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	-4.9	-5.5	-4.5	-5.7	-5.3	-5.5	-4.7	-5.4
33 Verbenol	-4.8	-4.9	-3.9	-4.7	-5.8	-5.1	-5.3	-6.5
34 1,6-cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(e,e)]	-6.1	-6.3	-5.5	-6.7	-7.4	-7.1	-6.4	-7.6
35 Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)	-4.6	-4.6	-4.1	-4.4	-5.6	-4.9	-5	-6
36 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)	-5.2	-5.8	-4.8	-6	-5.6	-5.5	-4.9	-6.1
37 Bicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tetramethyl-, (1r*,2z,6e,10r*)-(.-+.-)	-6.4	-6.1	-4.3	-5	-7.3	-6.5	-5.9	-7.4
38 2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)	-5.3	-6	-4.6	-6.3	-5.5	-5.8	-5	-6.3
39 1,1,4,7-tetramethyldecahydro-1 h-cyclopropa[e]azulen-4-ol	-6.2	-5.8	-4.4	-4.6	-7.5	-6.2	-6.6	-7.9
40 Cedrene	-6.3	-6.5	-4.7	-4.9	-7.3	-6.6	-6.1	-7.8
41 Myrtenol	-4.8	-4.8	-4.1	-4.7	-6	-5.3	-5.2	-6.2
42 7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethylidene)	-5.7	-6.2	-4.9	-6.8	-6.1	-6.2	-5.4	-6.4
43 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethenyl)-, (+)	-5.2	-5.6	-4.1	-5.7	-5.7	-5.3	-4.8	-6.1
44 Benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl)-	-4.9	-5.6	-4.5	-5.7	-5.4	-5.5	-4.7	-5.3
45 Bicyclo[3.2.0]heptan-2-one, 5-formylmethyl-6-hydroxy-3,3-dimethyl-6-vinyl	-5.7	-5.6	-4.1	-5	-6.1	-5.7	-5.3	-6.5
46 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)	-5.4	-6.4	-5.1	-6.4	-6.1	-6.3	-5	-6.4
47 2-cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2-pentenyl)-, (z)	-5.6	-5.9	-4.5	-5.9	-5.9	-6.2	-5.1	-6
48 Piperitenone oxide	-5.6	-5.9	-5.6	-6.8	-6.1	-6.2	-6	-6.3
49 2-Allyl-4-methylphenol	-5.2	-5.8	-5.1	-5.9	-5.5	-5.8	-5	-6.2
50 1-Hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl-2,7-cyclodecadiene	-6.3	-6.1	-4.5	-5.9	-7.3	-6.3	-5.7	-7.4
51 1 h-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene	-6.2	-6.1	-4.4	-5.1	-7.3	-6.7	-6	-8
52 3-Allyl-6-methoxyphenol	-5.2	-5.8	-5.2	-6.2	-5.7	-5.9	-5.2	-5.6
53 Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	-5.3	-6.2	-4.5	-6.3	-5.7	-5.8	-5	-6.3
54 Isospathulenol	-6.5	-6.3	-4.7	-4.4	-7.7	-7.3	-5.9	-6.7

The color scale varies from green to yellow (lowest recorded binding free energy to highest).

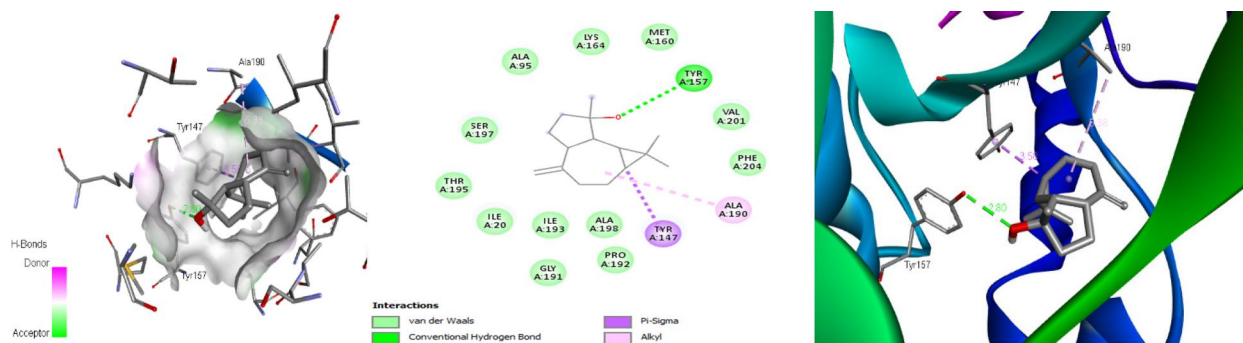


Figure 3. 2D and 3D intermolecular contact between compound 51; 1H-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene- and eno[yl]-acyl-carrier-protein reductase [NADPH] (PDB ID:4ALL).

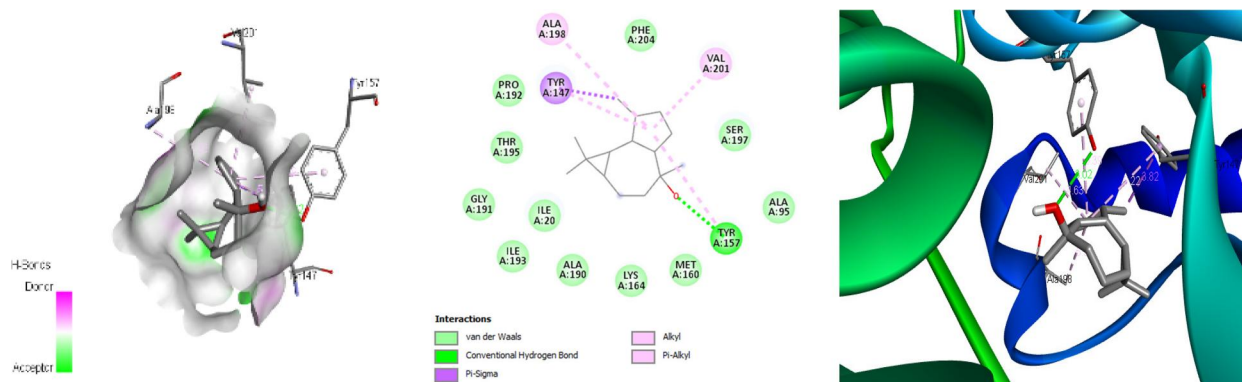


Figure 4. The 2D and 3D intermolecular contact between compound 39; 1,1,4,7-tetramethyldecahydro-1*H*-cyclopropa[*e*]azulen-4-*O*l and enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] (PDB ID:4ALL).

positional variability. However, as the simulation progressed to the subsequent 100 ns, these structures underwent a transition toward increased stability, characterized by a marked reduction in positional fluctuations, as illustrated in Figure 7.

A protein's free-energy landscape (FEL) is a graphical representation of the Gibbs free energy computed from a molecular dynamics simulation. FEL represents two variables that both quantify conformational variability and reflect system-specific properties. To further visualize the energy of the enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] different conformations in both unliganded and liganded states, we explored the free-energy landscape (FEL) of the compound 39-protein and compound 51-protein complexes in addition to the apo-protein. The FEL graphs were built as a function of the radius of gyration (R_g) and the root-mean-square deviation (RMSD) as the two reaction coordinates. As a result of these calculations, Figure 8 shows a range of 0 to

4.8 kcal/mol for the liganded enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] complexes and the unliganded ones. Additionally, the FEL of all enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] states were almost identical indicating a similar conformational change for all studied states of the protein.

The stability of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] complex systems is represented by the size and form of the minimal energy area (shown in pale-yellow). A more compact and central pale-yellow region indicates a more stable complex inside the cluster. All enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] complexes showed a similar local energy minimum, demonstrating that the binding of either 39 or 51 did not affect the stability of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH]. Hence, the representative enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] structures extracted from each local minimum were perfectly aligned (Figure 8(D)).

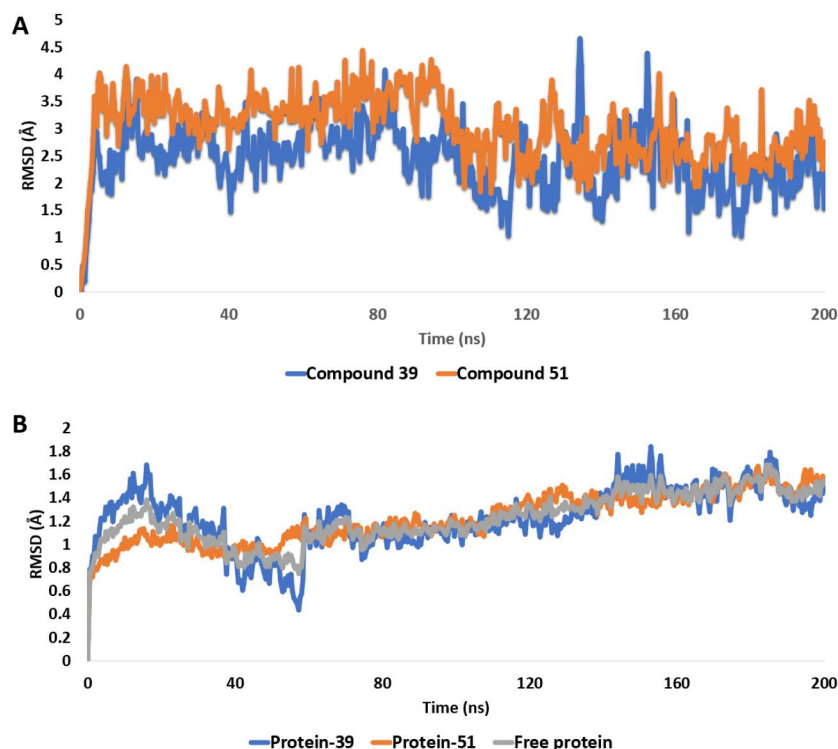


Figure 5. (A) RMSDs of compounds 39 and 51 inside the active site of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) over the course of 200 ns-long MD simulation. (B) RMSDs profile of the protein (i.e. enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI) in its unliganded form (i.e. apo protein) or in its liganded states with either 39 or 51 over the course of 200 ns-long MD simulation.

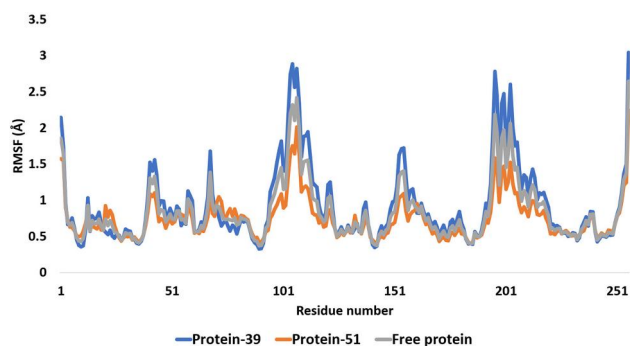


Figure 6. RMSF profiles of the protein (i.e. enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI) in its unliganded form (i.e. apo protein) or in its liganded states with either 39 or 51 over the course of 200 ns-long MD simulation.

Regarding the computed interaction energies within the active site of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] for ligands 39 and 51, the overall interaction energies for these compounds, namely, 39 and 51, exhibited mean values of approximately -13.85 and -12.32 kcal/mol, respectively, as illustrated in Figure 9. Furthermore, the calculated binding free energies ($\Delta G_{\text{binding}}$) using the MM-PBSA method indicated values of -5.1 and -4.8 kcal/mol for ligands 39 and 51, respectively, signifying intermediate affinities towards the active site of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH], as detailed in Table 6.

Moreover, both ligands exhibited a consistent and stable hydrogen bonding profile, with an average of approximately one hydrogen bond formed by each compound throughout the entire simulation period, as depicted in Figure 10.

In summary, based on these observations, ligands 39 and 51 demonstrated commendable binding stability and affinity within

the active site of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH]. These findings suggest a potential inhibitory activity of these compounds against this enzyme.

3.5. Geometry optimization of organic molecules using density functional theory (DFT)

The optimized structures of compounds 39 and 51 obtained at B3LYP/def2-TZVP level are given in Figure 11, the total energy of compounds 39 and 51 computed at the same basis set are -1930.350 and -1889.636 Hartree, respectively. A molecule's dipole moment is a three-dimensional vector that depicts the molecular charge distribution. As a result, it can be used as a descriptor to characterize the charge flow within a molecule. The DFT/B3LYP/def2-TZVP computations showed that compound 39 and compound 51 possessed a dipole moment value of 1.32796 and 1.03580 Debye, respectively.

3.5.1. Molecular docking with optimized ligands geometry

Following DFT optimization of the molecular organic geometry for Compound 39, the updated binding affinity score is now -8.4 kcal/mol, in contrast to the previous -7.9 kcal/mol. The -0.5 kcal/mol difference underscores the significance of DFT in improving affinity results. Conversely, Compound 51 maintains a consistent score before and after DFT (-8 kcal/mol), suggesting that slight adjustments in the grid box may not significantly impact the score.

The amino acid interactions for both complexes are illustrated in Figure 12. Compound 39 demonstrated favorable interactions with the enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase

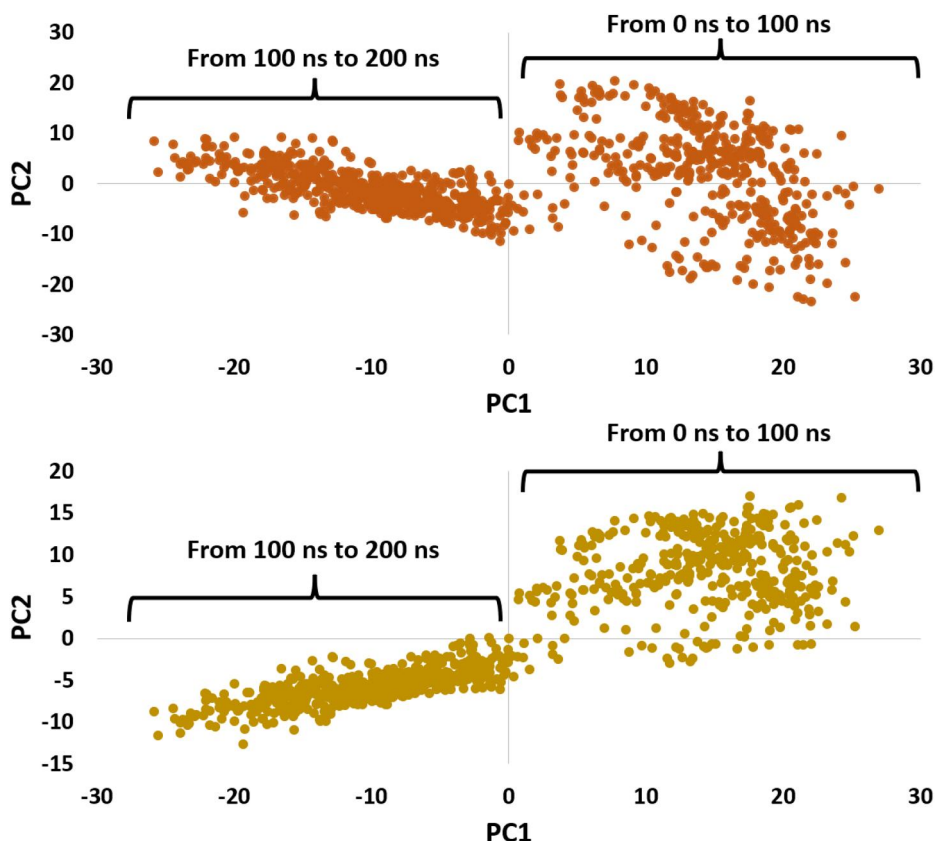


Figure 7. Two-dimensional principal component analysis (PCA) projections of the MD simulation trajectories of both 39 or 51 (A and B, respectively).

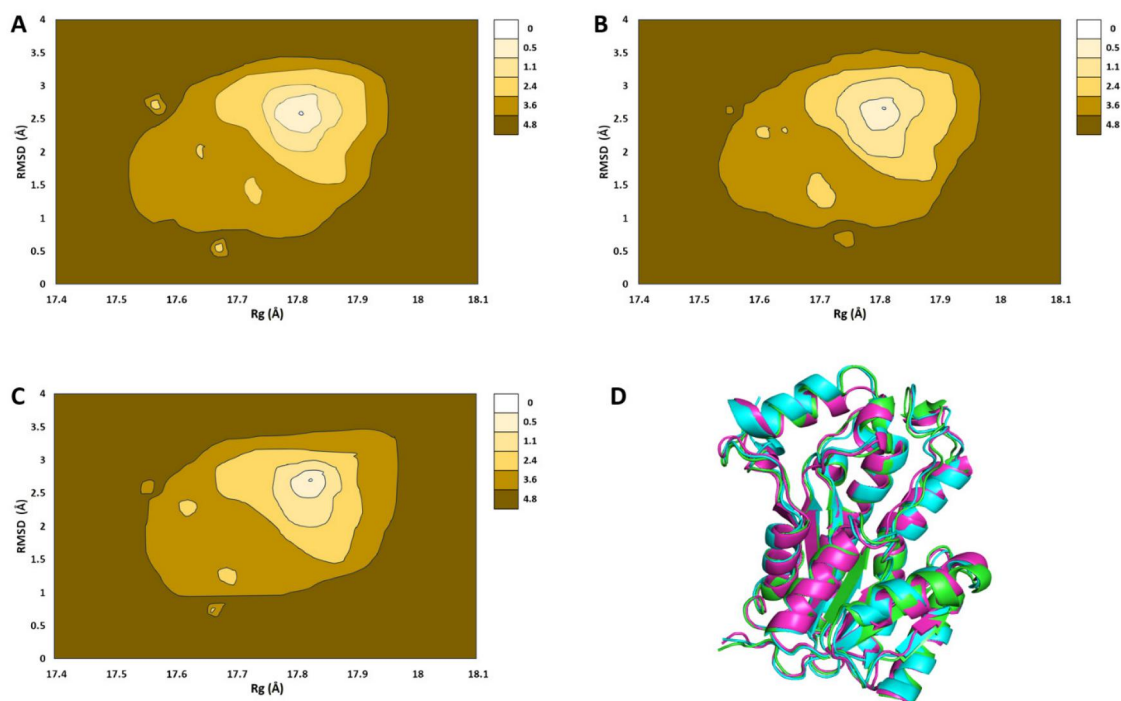


Figure 8. Free energy landscape (FEL) built with $C\alpha$ -atom RMSD (Å) and R_g (Å). Figures from (A) to (C) represent the FEL of the protein (i.e. enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH]) in its unliganded form (i.e. apo protein) or in its liganded states with either 39 or 51, respectively over the course of 200 ns-long MD simulation. The free energy is given in kcal/mol and indicated by colored contours. (D) Alignment of different conformations of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] protein that represents the protein cluster of the highest stability (i.e. protein clusters of the local minima in each Figure) in its unliganded form (i.e. apo protein; green structure) and in its liganded states with either 39 or 51 (pink and cyan structures, respectively).

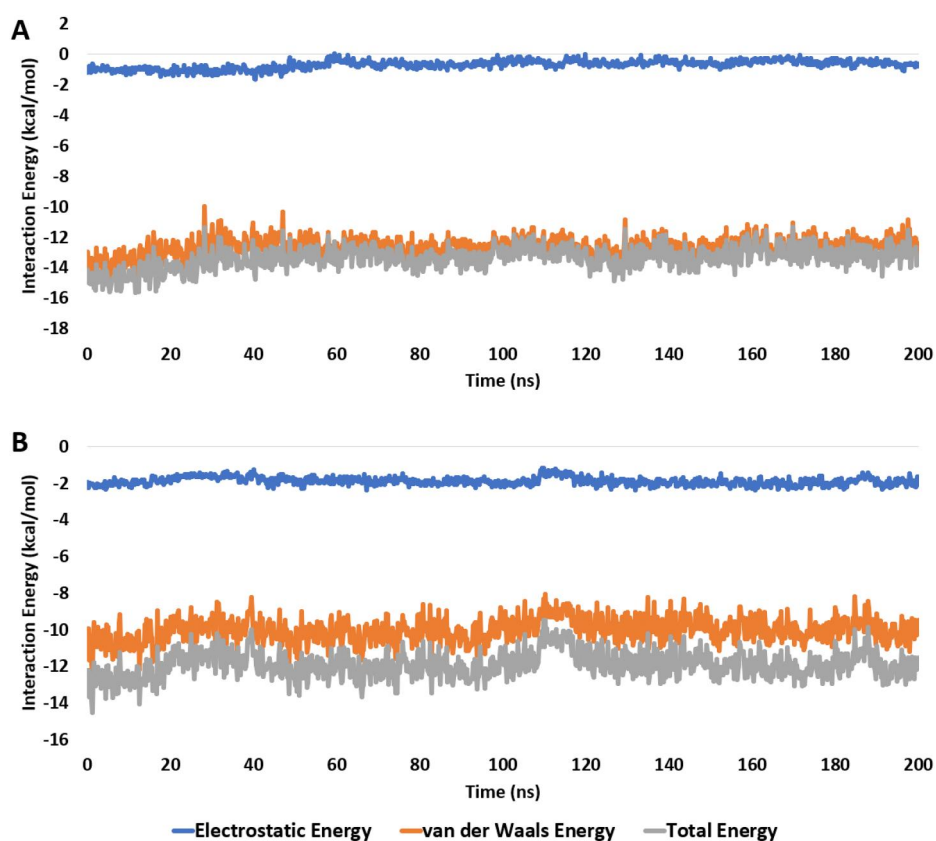


Figure 9. Interaction energies (i.e. electrostatic and van der Waals interaction energies) of compounds 39 and 51 (A and B, respectively) inside the active site of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) over the course of 200 ns-long MD simulation.

[NADPH] FabI, establishing a liaison with π sigma Tyr147 and engaging with the alkyl group (Thr157, Ala198, Val201) along with ten van der Waals bonds. In contrast, Compound 51 interacted with the protein by forming liaisons with the alkyl groups of Tyr157 and Met160, as well as Ala198, Val201, and π sigma Tyr147, involving seven van der Waals interactions, which are in agreement with our findings in DFT calculation.

3.5.2. Molecular dynamic simulation with optimized ligand geometry

To enhance the accuracy of the structure and interaction dynamics of the enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI with compounds 39 and compound 51 complex, we reconducted this time a series of 100 ns MD simulations using GROMACS 2023.2 software (Abraham et al., 2023). The MD analysis encompassed the assessment of deviations in the protein-ligand complex's backbone from its initial conformation, including root-mean-square deviations (RMSD), root-mean-square fluctuations (RMSF), radius of gyration (Rg), and intermolecular hydrogen bonding analysis.

Table 6. Binding free energies ($\Delta G_{\text{binding}}$) of compounds 39 and 51 in complex enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] (PDB code: 4ALL) calculated in kcal/mol.

Energy component	39	51
ΔG_{gas}	-16.66	-14.56
ΔG_{solv}	11.56	9.76
ΔG_{Total}	-5.1	-4.8

The RMSD, which measures deviations in the backbone atoms of proteins from the initial conformation to the end of simulations was employed in this study. The structural variances in the enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB. 4All) with compounds 39 and 51 were determined by calculating the RMSD over 100 ns MD simulations. The resulting RMSD plots for the 4all-compound 39 complex (Figure 13) showed equilibration around ~ 35 ns (black) on the y-axis. In contrast, the 4all-compound 51 complex exhibited intermittent deviations between 10–20, 35–40, and 75–100 ns. Consequently, based on the RMSD findings, it can be inferred that our proposed compound 39 establishes a stable structure with the protein by reducing the RMSD compared to the 4all-compound51 complex.

Fluctuations in the movement of residues after the binding of compounds 39 and 51 to the protein were analyzed by calculating the root mean square fluctuation (RMSF) of the residues (Figure 14). High random mobility of residues in the complexes was observed. RMSF plots showed larger values. Residues This shows that the binding of both compounds 39 and 51 to the protein increases the flexibility of the residues which further affirms changes in the protein structure as observed from the RMSD graphs.

The radius of gyration (Rg) characterizes the distribution of atoms along the axis of a protein and indicates the compactness of a molecule at its center of mass. The Rg values for both ligands 39 and 51 were observed to be below 1.84 nm for both (Figure 15). The calculation of hydrogen bonds between the protein and ligands was performed for

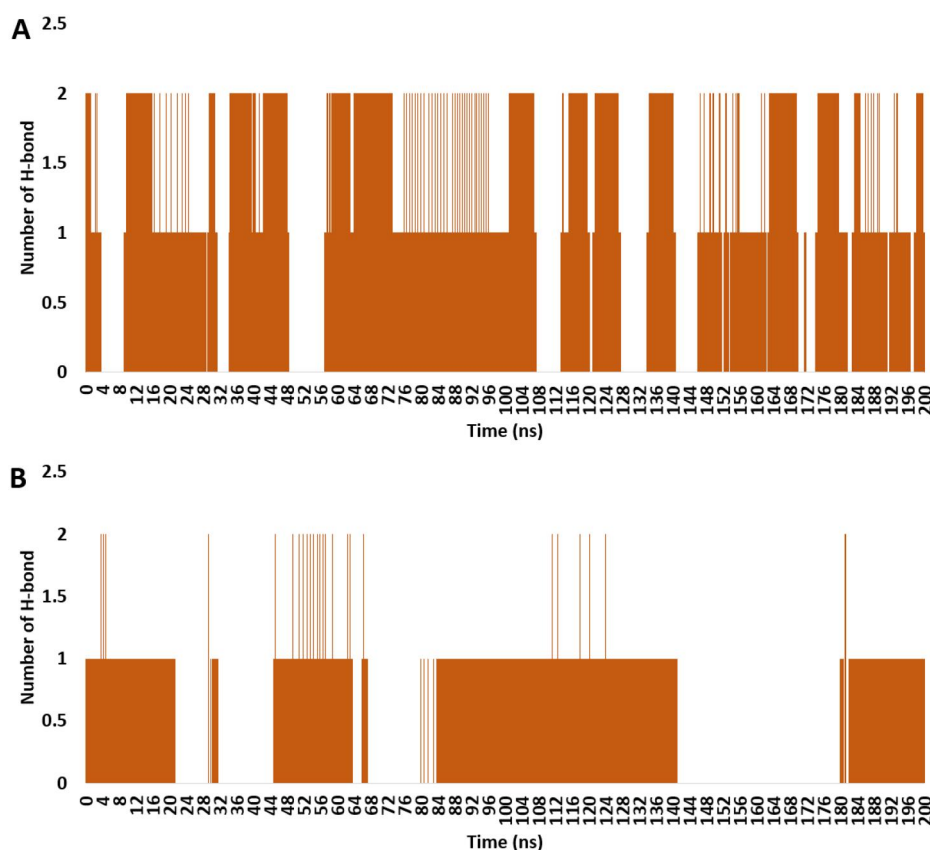


Figure 10. Number of H-bonds detected for compounds 39 and 51 (A and B, respectively) inside the active site of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) over the course of 200 ns-long MD simulation. The cut-off distance for H-bonds was set to be 2.5 Å.

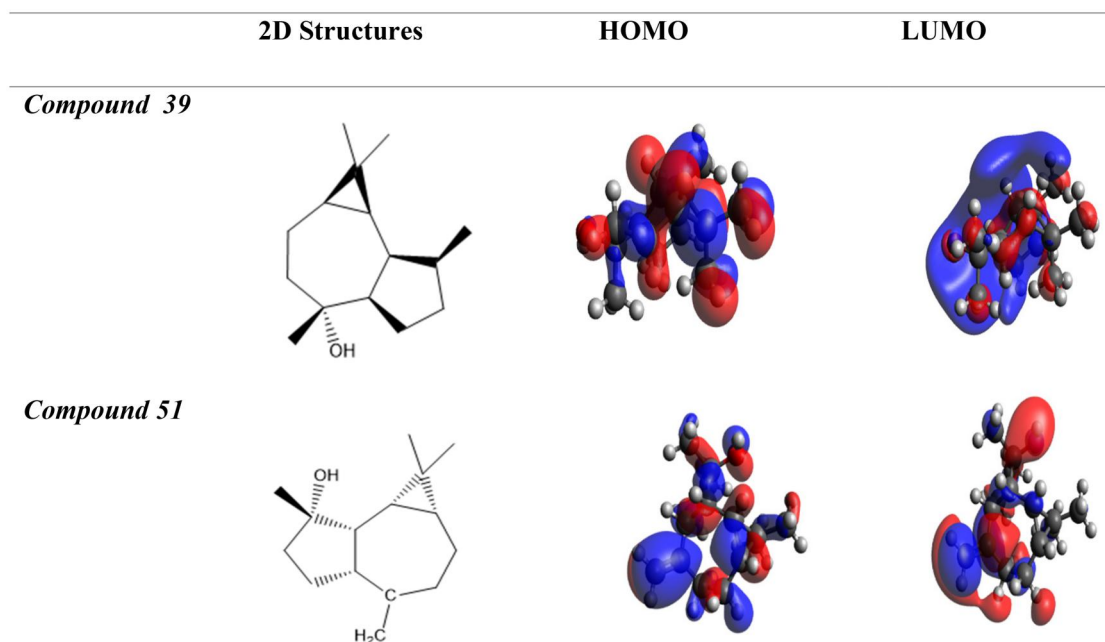


Figure 11. Presents the 2D optimized geometric structures and visualization of HOMO and LUMO frontier molecular orbitals for compound 39 and compound 51, utilizing Orca v5.0.4 and Avogadro.

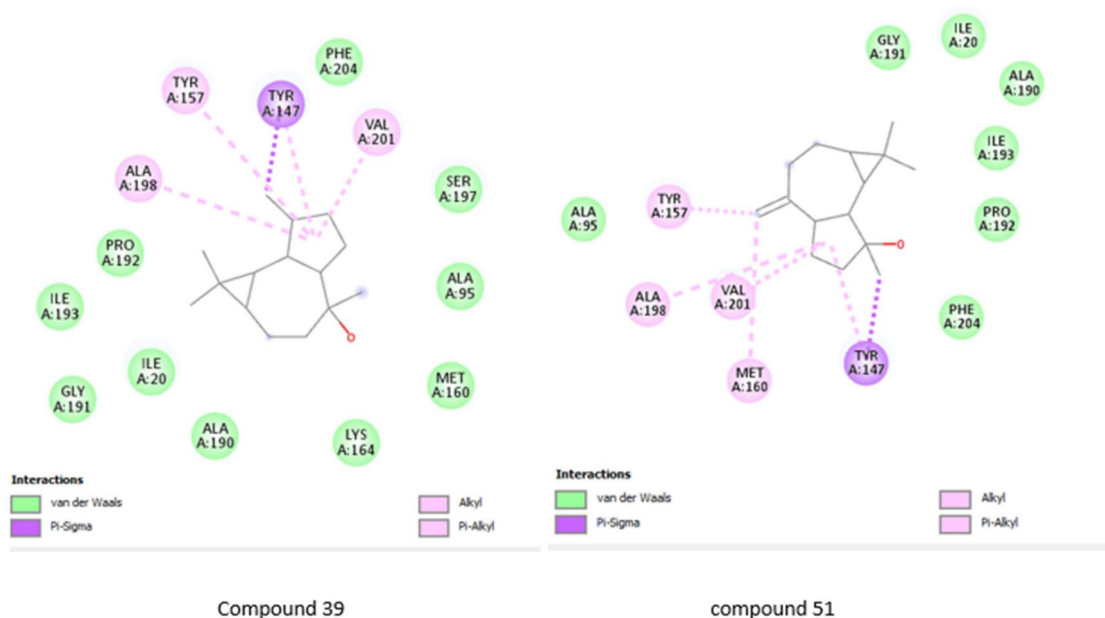


Figure 12. Molecular docking binding interactions employing optimized molecular geometry through DFT optimization for the complex of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) residue with compound 39 and compound 51, interactions were generated using BIOVIA discovery studio.

each frame of the simulation. In the protein-lig39 complex, the maximum number of hydrogen bonds was three, and most of the time frames oscillated between 1 and 2 bonds (Figure 16). This resonance in conformation contributed to the notable stability of this complex throughout the 100 ns MD simulation. In the protein-compound51 complex, a maximum of two hydrogen bonds were identified in the complex, with the majority of time frames resonating with one hydrogen bond.

3.6. Electronic properties of organic molecules

3.6.1. Frontier molecular orbital analysis

A molecule's capacity to give and receive electrons can be calculated using the values of its lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) and highest occupied molecular orbital (HOMO). Frontier molecular orbital (FMO) theory can be summarized by a simple rule that states that the largest positive overlap between the LUMO (empty state) and HOMO (full

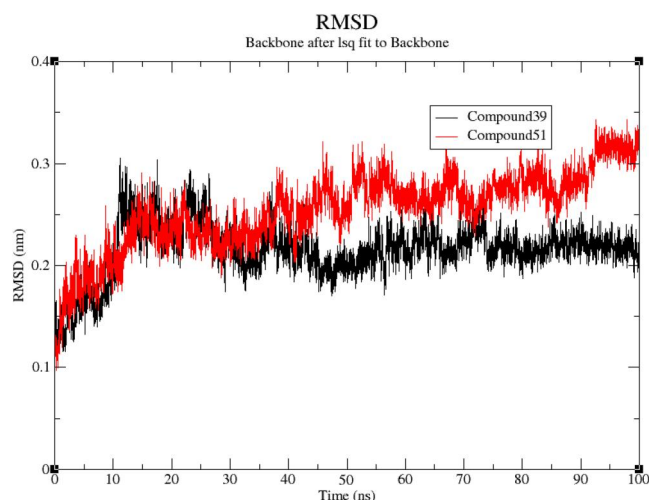


Figure 13. The root-mean-square deviations (RMSD) plot depicts enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) with compound 39 (black) and 51 (red) after geometry optimization at 300 K over a simulation time of 100 ns. The X-axis represents time in ns, while the Y-axis represents RMSD (nm). This graph was generated using the XMGrace program version 5.1.25.

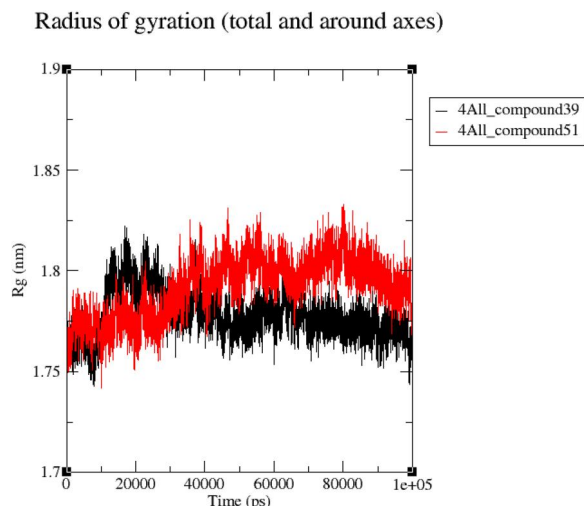


Figure 15. Radius of gyration of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) with compound 39 (black) and 51 (red) after geometry optimization at 300 K over a simulation time of 100 ns. The X-axis represents time (ps), while the Y-axis represents Rg (nm). This graph was generated using the XMGrace program version 5.1.25.

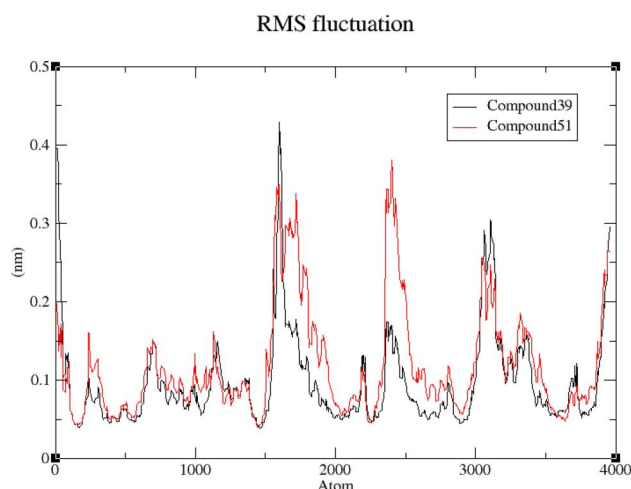


Figure 14. The root mean square fluctuation (RMSF) plot depicts enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) with compound 39 (black) and 51 (red) after geometry optimization at 300 K over a simulation time of 100 ns. The X-axis represents atoms, while the Y-axis represents RMSF (nm). This graph was generated using the XMGrace program version 5.1.25.

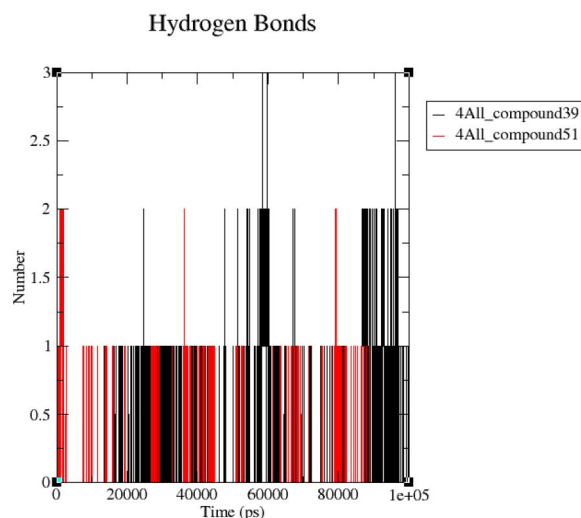


Figure 16. Hydrogen bonding (HB) plot for the interacted residue of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI (PDB ID: 4ALL) with compound 39 (black) and 51 (red) after geometry optimization at 300 K over a simulation time of 100 ns. The X-axis represents time (ps), while the Y-axis represents the number of HB. This graph was generated using the XMGrace program version 5.1.25.

state) orbitals is necessary for a simple reaction. The relationship between the highest occupied molecular orbital (HOMO) and ionization potential and the lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) and electron affinity (Zarrouk et al., 2013). The stability of the structure is maintained by the energy gap of the frontier molecular orbitals, or FMO. FMOs also reveal details on the chemical reactivity and kinetic stability of a molecule. The HOMO and LUMO energy levels were shown to have the biggest effects on the bioactivities of tiny structural medications by the FMOs theory. It is the HOMOs that supply the electrons, and it is the LUMOs that receive them. Moreover, the FMOs help forecast which part of a molecule will be most reactive (Öeren et al., 2021).

Figure 11 shows that the negative phase is represented by the color red, whereas the positive phase is represented by the color blue.

The energy of HOMO and the energy of LUMO are markers that can be utilized to predict a molecule's electron affinity ($A = -E_{\text{LUMO}}$) and ionization potential ($I = -E_{\text{HOMO}}$). The frontier molecular orbitals are used to estimate other chemical reactivity descriptors, which are displayed in Table 1, and include electronegativity (χ), chemical potential (μ), hardness (η), softness (S), and electrophilicity index (ω), the maximum Fukui function (ΔN_{max}), and the nucleophilicity index (N).

As indicated in Table 7, the electronegativity ($\chi = (I + A)/2$) value predicts the molecule's ability to attract electrons, i.e. Lewis acid, whereas lower values of χ indicate a suitable base. The χ value is found to be 3.195 and 3.186 for compound 39 and compound 51, respectively. The global hardness ($\eta = (I - A)/2$) is a measure of their charge transfer

Table 7. Energy of the highest occupied molecular orbital.

	(eV)											
	E_{HOMO}	E_{LUMO}	ΔE_{Gap}	I	A	χ	μ	η	$S \text{ (eV)}^{-1}$	ω	ΔN_{max}	N
LIG 39	-6.895	0.505	7.4	6.895	-0.505	3.195	-3.195	3.7	0.135	1.379	0.86	0.725
LIG 51	-6.541	0.169	6.71	6.541	-0.169	3.186	-3.186	3.35	0.149	1.512	0.95	0.661

E_{HOMO} : the energy of the lowest unoccupied molecular orbital; E_{LUMO} , the energy gap; ΔE , ionization potential; I : electron affinity; A : absolute electronegativity; χ : chemical potential; μ : global hardness; η : global softness; S : electrophilicity index (ω); ΔN_{max} : the maximum Fukui function; N : the nucleophilicity index.

prohibition, while the global softness ($S = 1/2\eta$) characterizes a molecule's ability to accept electrons. Because they may easily transmit electrons to acceptors, soft molecules have a smaller energy gap between frontier molecular orbitals and are more reactive than harder molecules. The hardness of compound 39 (3.7 eV) was higher than that of compound 51 (3.35 eV) whereas the softness of compound 39 (0.135 eV) was higher than that of compound 51 (0.149 eV). The electrophilicity index ($\omega = \mu^2/2\eta$) determined for lig39 and lig51 is 1.379 and 1.512 eV, respectively. The chemical potential ($\mu = -\chi$) is found to be -3.195 eV for compound 39 and -3.186 eV for compound 51.

4. Conclusion

Our research findings indicate that SCEO contains a high amount of monoterpene and monoterpene derivative compounds, namely, pulegone, (+)-menthone, borneol, 2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene), and 3-octanol. SCEO exhibits antibacterial properties, potentially due to its inhibition of enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADPH] FabI, as shown by molecular docking studies and confirmed by molecular dynamics simulation. Despite being minor components, these active compounds may work together to produce a cumulative effect. Based on our findings, SCEO could serve as a natural antibacterial source of preservatives that have potential applications in the food and pharmaceutical industries.

Acknowledgment

A.E. SAIDI extends gratitude to Dr. Ahmed M. Sayed, Dr. Hafiz Muzzammel Rehman, and Dr. Vijay Kumar Vishvakarma for their invaluable guidance, significantly enhancing the quality of the study.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

The author(s) reported there is no funding associated with the work featured in this article.

Author contributions

A.e.S. contributed to sample collection, M.G. and N.B. handled the extraction of the essential oil, and N.B. performed GC-MS analysis. M.Z. and C.R. contributed to the *in vitro* antibacterial study. A.e.S. was involved in data interpretation, analysis, manuscript draft preparation, *in silico*

molecular dynamic simulation, and DFT. Both A.e.S. and M.M. conducted molecular docking. M.M., M.Z., and N.B. supervised the work.

Data availability statement

Publicly available datasets and tools were employed for this study.

References

- Abraham, M., Alekseenko, A., Bergh, C., Blau, C., Briand, E., Doijade, M., Fleischmann, S., Gapsys, V., Gaurav, G., Gorelov, S., Gouillardet, G., Gray, A., Eric Irrgang, M., Jalalypour, F., Jordan, J., Junghans, C., Prashanth, K., Keller, S., Kutzner, C., ... Lindahl, E. (2023). *GROMACS 2023.2 Manual (2023.2)*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8134388>
- Al Khodairy, F. M., & Kalim, M. (2013). *In silico* prediction of mechanism of erysolin-induced apoptosis in human breast cancer cell lines. *American Journal of Bioinformatics Research*, 3, 62–71.
- Alaoui Ismaili, K., & El Arouji, S. (2015). Electrochemical and gravimetric studies of the corrosion inhibition of mild steel in HCl medium by *Cymbopogon nardus* essential oil. *Der Pharma Chemica*, 7(10), 34–44.
- Allouche, A. (2012). Software news and updates Gabedit A graphical user interface for computational chemistry softwares. *Journal of Computational Chemistry*, 32(1), 174–182. <https://doi.org/10.1002/jcc.21600>
- Attou, A., & Davenne, D. (2021). First on the chemical characterization and antimicrobial activity of the essential oil from *Satureja candidissima* (Munby) Briq native plant from West Algeria. *International Journal of Natural Resources and Environment*, 2(1), 14–20.
- Bai, J., Li, J., Chen, Z., Bai, X., Yang, Z., Wang, Z., & Yang, Y. (2023). Antibacterial activity and mechanism of clove essential oil against foodborne pathogens. *LWT*, 173, 114249. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114249>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Benyoucef, F., & Dib, M. E. A. (2019). Synergistic effects of essential oils of *Ammoides verticillata* and *Satureja candidissima* against many pathogenic microorganisms. *Anti-Infective Agents*, 18(1), 72–78.
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- Bjelkmar, P., Larsson, P., Cuendet, M. A., Hess, B., & Lindahl, E. (2010). Implementation of the CHARMM force field in GROMACS: Analysis of protein stability effects from correction maps, virtual interaction sites, and water models. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 6(2), 459–466. <https://doi.org/10.1021/ct900549r>
- Chikezie, I. O. (2017). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *African Journal of Microbiology Research*, 11(23), 977–980. <https://doi.org/10.5897/AJMR2017.8545>
- Cole, J. C., Murray, C. W., Nissink, J. W. M., Taylor, R. D., & Taylor, R. (2005). Comparing protein-ligand docking programs is difficult. *Proteins*, 60(3), 325–332. <https://doi.org/10.1002/prot.20497>
- Darden, T., York, D., & Pedersen, L. (1993). Particle mesh Ewald: An N-Log(N) method for Ewald sums in large systems. *The Journal of*

- Chemical Physics*, 98(12), 10089–10092. <https://doi.org/10.1063/1.464397>
- Demirpolat, A., Akman, F., & Kazachenko, A. S. (2022). An experimental and theoretical study on essential oil of *Aethionema sancakense*: Characterization, molecular properties and RDG analysis. *Molecules*, 27(18), 6129. <https://doi.org/10.3390/molecules27186129>
- Doğan, H., Bahar, M. R., Çalıřkan, E., Tekin, S., Uslu, H., Akman, F., Koran, K., Sandal, S., & Görgülü, A. O. (2020). Synthesis and spectroscopic characterizations of hexakis[(1-(4'-oxyphenyl)-3-(substitutedphenyl)-prop-2-en-1-one)]cyclotriphosphazenes: Their *in vitro* cytotoxic activity, theoretical analysis and molecular docking studies. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 40(7), 3258–3272. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1846621>
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (2021). The European Union One Health 2019 zoonoses report. *EFSA Journal*, 19(2), 6406.
- Farhanghi, A., Aliakbarlu, J., Tajik, H., Mortazavi, N., Manafi, L., & Jalilzadeh-Amin, G. (2022). Antibacterial interactions of pulegone and 1,8-cineole with monolaurin ornisin against *Staphylococcus aureus*. *Food Science & Nutrition*, 10(8), 2659–2666. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2870>
- Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M. C. C., Endringer, D. C., Fronza, M., & Scherer, R. (2019). Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*, 24(13), 2471. <https://doi.org/10.3390/molecules24132471>
- Gutiérrez-Larraínzar, M., Rúa, J., Caro, I., de Castro, C., de Arriaga, D., García-Armesto, M. R., & del Valle, P. (2012). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of natural phenolic compounds against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Food Control*, 26(2), 555–563. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.025>
- Hess, B., Bekker, H., Berendsen, H. J. C., & Fraaije, J. G. E. M. (1997). *LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations*. John Wiley & Sons, Inc.
- Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, 14(1), 33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
- Jennie, R. H., & Jenny, M. (2003). Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research. *Journal of Essential Oil Research*, 15(6), 428–433.
- Jianu, C., Stoin, D., Cocan, I., David, I., Pop, G., Lukinich-Gruia, A. T., Mioc, M., Mioc, A., Őoica, C., Muntean, D., Rusu, L.-C., Goleř, I., & Horhat, D. I. (2021). *In silico* and *in vitro* evaluation of the antimicrobial and antioxidant potential of *Mentha × smithiana* R. GRAHAM essential oil from Western Romania. *Foods*, 10(4), 10–815. <https://doi.org/10.3390/foods10040815>
- Kagami, L. P., das Neves, G. M., Timmers, L. F. S. M., Caceres, R. A., & Eifler-Lima, V. L. (2020). Geo-Measures: A PyMOL plugin for protein structure ensembles analysis. *Computational Biology and Chemistry*, 87, 107322. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107322>
- Kräutler, V., van Gunsteren, W. F., & Hünenberger, P. H. (2001). A fast SHAKE algorithm to solve distance constraint equations for small molecules in molecular dynamics simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 22(5), 501–508. [https://doi.org/10.1002/1096-987X\(20010415\)22:5<501::AID-JCC1021>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1096-987X(20010415)22:5<501::AID-JCC1021>3.0.CO;2-V)
- Liu, B., Zhou, C., Zhang, Z., Roland, J. D., & Lee, B. P. (2021). Antimicrobial property of halogenated catechols. *Chemical Engineering Journal*, 403, 126340. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126340>
- Liu, J., Li, D., & Liu, X. (2016). A simple and accurate algorithm for path integral molecular dynamics with the Langevin thermostat. *The Journal of Chemical Physics*, 145(2), 024103. <https://doi.org/10.1063/1.4954990>
- Mansuri, A., & Lokhande, K. (2020). Antioxidant, anti-quorum sensing, biofilm inhibitory activities and chemical composition of Patchouli essential oil: *In vitro* and *in silico* approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40, 1–12.
- Miller, B. R. III, McGee, T. D. Jr., Swails, J. M., Homeyer, N., Gohlke, H., & Roitberg, A. E. (2012). MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 8(9), 3314–3321. <https://doi.org/10.1021/ct300418h>
- Mkaddem, M., Bouajila, J., Ennajar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., & Romdhane, M. (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha (longifolia* L. and *viridis*) essential oils. *Journal of Food Science*, 74(7), M358–M363. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01272.x>
- Müller-Riebau, F. J., Berger, B. M., Yegen, O., & Cakir, C. (1997). Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(12), 4821–4825. <https://doi.org/10.1021/jf970110y>
- Neese, F. (2012). The ORCA program system. *WIREs Computational Molecular Science*, 2(1), 73–78. <https://doi.org/10.1002/wcms.81>
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(33), 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
- Öeren, M., Walton, P. J., Hunt, P. A., Ponting, D. J., & Segall, M. D. (2021). Predicting reactivity to drug metabolism: Beyond P450s—modelling FMOs and UGTs. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 35(4), 541–555. <https://doi.org/10.1007/s10822-020-00321-1>
- Phillips, J. C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skeel, R. D., Kalé, L., & Schulten, K. (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry*, 26(16), 1781–1802. <https://doi.org/10.1002/jcc.20289>
- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)
- Rădulescu, M., Jianu, C., Lukinich-Gruia, A. T., Mioc, M., Mioc, A., Őoica, C., & Stana, L. G. (2021). Chemical composition, *in vitro* and *in silico* antioxidant potential of *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* essential oil. *Antioxidants*, 10(7), 1081. <https://doi.org/10.3390/antiox10071081>
- Ribeiro, J. V., Bernardi, R. C., Rudack, T., Schulten, K., & Tajkhorshid, E. (2018). QwikMD-gateway for easy simulation with VMD and NAMD. *Biophysical Journal*, 114(3), 673a–674a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.11.3632>
- Schleinkofer, K., & Wang, T. (2006). Molecular docking. In *Encyclopedic reference of genomics and proteomics in molecular medicine* (Vol. 443, pp. 1149–1153). Springer.
- Sefidkon, F., & Bistgani, Z. E. (2021). Integrative review on ethnobotany, essential oil, phytochemical, agronomy, molecular and pharmacological properties of *Satureja* species. *Journal of Essential Oil Research*, 33(2), 114–132. <https://doi.org/10.1080/10412905.2021.1885512>
- Shin, S. Y., Bajpai, V. K., Kim, H. R., & Kang, S. C. (2007). Antibacterial activity of eicosapentaenoic acid (EPA) against foodborne and food spoilage microorganisms. *LWT-Food Science and Technology*, 40(9), 1515–1519. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.12.005>
- Shivanika, C., Deepak Kumar, S., Ragunathan, V., Tiwari, P., Sumitha, A., & Brindha Devi, P. (2022). Molecular docking, validation, dynamics simulations, and pharmacokinetic prediction of natural compounds against the SARS-CoV-2 main-protease. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 40(2), 585–611. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1815584>
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Zarrouk, A., El Ouali, I., Bouachrine, M., Hammouti, B., Ramli, Y., Essassi, E. M., Warad, I., Aouniti, A., & Salghi, R. (2013). Theoretical approach to the corrosion inhibition efficiency of some quinoxaline derivatives of steel in acid media using the DFT method. *Research on Chemical Intermediates*, 39(3), 1125–1133. <https://doi.org/10.1007/s11164-012-0671-1>
- Ziane, M., & Membré, J. M. (2022). A second-order Monte Carlo simulation model to describe coagulase-positive *Staphylococci* growth in mayonnaise served in Algerian pizzerias. *Microbial Risk Analysis*, 20, 100187. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2021.100187>
- Ziane, M., Couvert, O., Le Chevalier, P., Moussa-Boudjemaa, B., & Leguerinel, I. (2016). Identification and characterization of aerobic spore forming bacteria isolated from commercial camel's milk in south of Algeria. *Small Ruminant Research*, 137, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.03.004>

Ziane, M., Desriac, N., Le Chevalier, P., Couvert, O., Moussa-Boudjemaa, B., & Leguerinel, I. (2014). Identification, heat resistance and growth potential of mesophilic spore-forming bacteria isolated from Algerian retail packaged couscous. *Food Control*, 45, 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.04.003>

Zouari, N., Ayadi, I., Fakhfakh, N., Rebai, A., & Zouari, S. (2012). Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic species. *Lipids in Health and Disease*, 11(1), 28. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-28>