

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBESLAGHROUR
KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES & DE LA
TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE
INDUSTRIEL



جامعة عباس لغرور خنشلة

كلية العلوم و التكنولوجيا

قسم: الهندسة الصناعية

No. Réf :/...../2021

Mémoire

Présenté par : LAASSISSE SANA & LAOUAR CHAIMA

Pour obtenir le diplôme de MASTER (LMD)

OPTION: Génie Des Procédés et L'environnement

Thème

**Modélisation moléculaire et évaluation de
l'activité antioxydante des extraits de
*L'Ephédra alata***

Devant le jury:

Mr.	MAKHLOUF.A	President	U.A.L.K
Mr.	MAKHLOUFI.A	Rapporteur	U.A.L.K
Mr.	DJEFFAL. K	Examineur	U.A.L.K

Année universitaire : 2020–2021



Remerciements

Au premier lieu, nous tenons à remercier Dieu qui nous a donné le courage et La volonté d'achever ce modeste travail.

Nous remercions chaleureusement notre cher encadreur et enseignant : Dr." MAKHLOUFI ABDESSLAM" de nous avoir encadrés et orientés tout au long de cette recherche.

Nous remercions les membres de jury qui nous font l'honneur de présider et d'examiner notre travail.

Nous remercions aussi l'ensemble des enseignants du département de génie procédés.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation tout au long de notre chemin d'étude.

Ge remercie chaleureusement mon frère " Chouki " de m'avoir aidé tout au long de mon parcours académique



Dédicace

A la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route, à mon cher père " AbdAlkader " je dédie ce modeste travail et je lui souhaite une longue belle vie.

A la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde les nuits pour que je me rendorme, à ma très chère mère " Fatma " je dédie ce modeste travail et je lui souhaite une longue belle vie.

A mes sœurs : " Karima ", " Alima ", " Chaïma", " Zina " et " Amina ".

A mes frères : " Saber ", " AbdElhak ", " Walid ", "Salim" et sa petite famille.

A mon binôme intime " Besma " et à tous les membres de sa famille sans exception.

A toute la famille " Laassisse ".

A mon encadreur : Mr. "Makhloufi. A ".

A mes amies : " Chaïma", " Oumnia " " Amal ", " Sabah " "Reyan" et " Somia ".

A mes collègues de la promotion de master " Génie des procédés ".

Je dédie ce modeste travaille.

Sana



Dédicace

*A ceux qui m'ont comblé d'affection et d'amour,
A ceux qui n'ont jamais cessé de se sacrifier pour mon avenir,
A ceux que je dois mon bonheur et mes joies,
A mes très chers parents.*

*Ames chers frères : A. MOUNAIM, AYOUB, à ma cher sœur
SOUNDOUS.*

*A tous mes enseignants durant tous mes années d'études
A mon encadreur : Mr. "Makhloufi. A".*

*A mes cher amies AYA, SANA, SABAH, AMEL, et OUMNIA, et
toutes mes collègues de la promotion 2021.*

*Pour leurs aides, leurs encouragements et leur présence à côté de
moi pendant toute la vie universitaire ;*

A tous les membres des familles LAOUAR et SEKKOUR.

*A tous qui m'ont aidé à apprendre même une seule chose dans ma
vie ;*

A tous ceux que j'aime et qui se reconnaissent ;

A vous tous, je dédie ce modeste travail avec Amour et Honneur.

Chaima



Liste des abréviations

MTC : Médecine Traditionnelle Chinoise.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

ROS : Espèces réactive de l'oxygène.

ADN : Acid Désoxyribo Nucléique.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

SOD : Super Oxyde Dismutase.

NOS : Oxyde Nitrique.

GPX : La glutathion peroxydase.

GSSG : Oxidized glutathione.

TR_x : Les thiorédoxines.

TR_xR : Lathiorédoxine réductase.

GP_x : Glutathion peroxydasse.

AGPI : Les acides gras polyinsaturés.

DPPH : 2,2-diphényl-1picrylhydrazyle.

Abs C : Absorbance du control.

Abs E : Absorbance d'échantillon.

ABTS : 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid.

PI : Pourcentage d'Inhibition.

PR : Pouvoir Réducteur.

EC50 : Efficient concentration médiane.

Aa : Absorbance de l'extrait.

Ab : Absorbance du blanc.

AA% : Le pourcentage de l'activité antioxydant.

Abs test : Absorbance en présence de l'extrait (test).

Abs BHT : Absorbance en présence du contrôle positif BHT.

QM : Les méthodes quantiques.

MD : La dynamique moléculaire.

MM : La mécanique moléculaire.

QSAR : Qualitative structure-activitérelationships.

QSPR : Qualitative structure-propreté relationships.

MOE: Molecular Operating Environment.

GOLD: Genetic Optimization for Ligand Docking.

PDB : Protein Data Bank.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

NCBI: Le National Center for Biotechnology Information.

MVD: Molegro Virtual Docker.

C₁₅ H₁₀ O₇: 3, 5, 7, 3', 4'; -Pentahydroxyflavone.

RMSD: Root Mean Square Deviation.

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.1: Les polyphénols, tels que la catéchine ci-dessus, sont présents dans le thé vert, le cacao et beaucoup d'autres végétaux.

Figure I.2: Structure de base des acides phénoliques.

Figure I.3: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallo tanin (1, 2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose).

Figure I.4: Squelette de base des flavonoïdes.

Figure I.5: Plante *éphédra*.

Figure I.6: *Ephédra alata*.

Figure I.7: Répartition géographique de l'*Ephédra* dans le monde.

Figure I.8: Structure chimique d'éphédrine.

Chapitre II

Figure II.1: Mécanisme montrant un stress oxydant au sein d'une cellule.

Figure II.2: Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène.

Figure II.3: Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.

Figure II.4: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.

Figure II.5: Production des ROS.

Figure II.6: Structure chimiques des vitamines E.

Figure II.7: Structure chimique de la vitamine C.

Figure II.8: Mécanisme d'action des antioxydants phénolique.

Figure II.9: Structure chimique de la β -carotène.

Figure II.10: Réseau de défense (*in vivo*) contre le stress oxydant selon Niki E., 2010.

Figure II.11: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).

Figure II.12: Réaction chimique d'ABTS.

Figure II.13: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).

Figure II.14: Blanchiment du β -carotène en présence et en absence d'antioxydant.

Chapitre III

Figure III.1: Représentation schématique du docking de deux molécules.

Figure III.2: Stimulation du docking et scoring.

Figure III.3: Étapes typiques d'un docking.

Figure III.4: Le docking ligand protéine.

Figure III.5: Le docking protéine- protéine.

Figure III.6: Comparaison des programmes de docking les plus cités.

Figure III.7: Interface de logiciel AutoDock.

Figure III.8: logiciel de MOE.

Figure III.9: Interface de logiciel glide.

Figure III.10: Interface de protéine Data Bank.

Figure III.11: Interface pour la recherche de sous-structure dans PubChem.

Chapitre IV

Figure IV.1: Interactions électrostatiques.

Figure IV.2: Liaison hydrogène.

Figure IV.3: Interaction hydrogène.

Figure IV.4: Interactions de Van Der Walls.

Figure IV.5: Interactions hydrophobes.

Figure IV.6: Structure de l'enzyme Code PBD (CDK2).

Figure IV.7: Ephedrine.

Figure IV.8: Le trolox .

Figure IV.9: Ligand Pocket.

Figure IV.10: Mode interaction Ephedrine-enzyme CDK2.

Figure IV.11: Mode interactions Torolox-enzyme CDK2.

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1: Les différentes classes des composés phénoliques.

Chapitre II

Tableau II.1: Les différents radicaux libres et leurs dérivés.

Chapitre III

Tableau III.1: Principaux programmes du docking moléculaire.

Chapitre IV

Tableau IV.1: Les énergies de cinq meilleures poses obtenues pour les interactions Ephédrine- enzyme CDK2.

Tableau IV.2: Les énergies de cinq meilleures poses obtenues pour les interactions Torolox-enzyme CDK2.

SOMMAIRE

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures	III
Liste des tableaux	VI
Introduction générale.....	1

Chapitre I : Plantes médicinales et *Ephédra Alata*

I.1.Plantes médicinales.....	3
I.1.1. Généralités.....	3
I.1.2. Phytothérapie	3
I.1.3. Plantes médicinales	3
I.1.3.1. Importance	4
I.1.3.2. Parties utilisées	4
I.1.3.3. Formes	5
I.1.3.4. Conditions optimales pour obtenir le meilleur des plantes	5
I.1.3.4.a. Récolte.....	5
I.1.3.4.b. Séchage	5
I.1.3.4.c. Conservation	6
I.1.3.5. Composition	6
I.1.3.5.a. Métabolites primaire	6
I.1.3.5.b. Métabolites secondaires	6
I.1.3.5. b.1. Phénols et polyphénols	6
I.1.3.5.b.1.a. Polyphénols simples (Acides phénoliques).....	8
I.1.3.5.b.1.b. Polyphénols complexes.....	8

a) Tannins	8
b) Flavonoïdes	9
I.1.3.5. b.2. Terpénoïdes et stéroïdes	9
a) Terpénoïdes	9
b) Stérols et stéroïdes	10
I.1.3.5. b.3. Alcaloïdes.....	10
I.2. Plantes médicinales en Algérie.....	10
I. 3. Plante étudié : <i>L'Ephédra alata</i>	11
I.3.1. Généralités sur les ephedraceae	11
I.3.2. <i>Ephédra alata</i>	11
I.3.3. Noms vernaculaire	12
I.3.4. Classification systématique	12
I.3.5. Description botanique.....	12
I.3.6. Distribution géographique.....	13
I.3.7. Composition chimique	14
I.3.8. Utilisation	14
I.3.8.1. Utilisation traditionnelle	15
I.3.8.2. Compléments alimentaires à base d' <i>éphédra alata</i>	16
I.3.8.3. L'éphédrine	16
I.3.9. Toxicologie	17

Chapitre II : Stress oxydatif et pouvoir antioxydant

II.1. La maladie du cancer.....	18
II.2. Les antioxydants et traitement du cancer	18

II.3. Activité antioxydant.....	19
II.3.1. Généralités	19
II.3.2. Pro-oxydant	19
II.3.3. Stress oxydatif.....	20
II.3.3.1. Origine	20
II.3.3.2. Conséquences	21
II.3.4. Les radicaux libres	21
II.3.4.1. Définition.....	21
II.3.4.2. Principaux radicaux libres	22
II.3.4.2.1. Espèces réactives de l’oxygène	22
II.3.4.2.2. Espèce libre non oxygénées	23
II.3.4.3. Sources	23
II.3.4.3.1. Sources exogènes	23
II.3.4.3.2. Sources endogènes.....	23
II.3.4.4. Production	24
II.3.4.5. Rôles biologiques	24
II.3.5. Les antioxydants.....	25
II.3.5.1. Définition.....	25
II.3.5.2. Antioxydants et systèmes de défense	25
II.3.5.2.1. Antioxydants enzymatiques (endogènes)	25
a) Les super oxydes dismutase (SOD)	25
b) La Catalase.....	26
c) La glutathion peroxydase (GPX).....	26

d) Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR).....	26
II.3.5.2.2. Antioxydants non enzymatiques (antioxydants naturels ou exogènes)..	26
a) Vitamine E.....	26
b) Vitamine C	27
c) Les polyphénols	27
d) Les oligoéléments.....	28
e) Les caroténoïdes.....	28
II.4. Mécanismes d'action des antioxydants.....	28
II.4.1. Les antioxydants de prévention.....	28
II.4.2. Les antioxydants scavenger.....	29
II.4.3. Les antioxydants de novo et de réparation	29
II.5. Tests expérimentaux de l'activité antioxydants.....	30
II .5.1. Le pouvoir antioxydant « test au DPPH° »	30
II .5.1.1. Principe	30
II .5.1.2. Mode opératoire	31
a) Préparation de la solution mère du DPPH°	31
b) Préparation des solutions mères d'extrait a testé.....	31
c) Méthodologie	31
II .5.1.3. Expression des résultats	31
a) La concentration efficace (EC50 « efficient concentration »)	32
II .5.2. Activité anti radicalaire ABTS	32
II .5.2.1. Principe	32
II .5.2.2. Mode opératoire	33

II .5.3. Pouvoir réducteur FRAP	34
II .5.3.1. Principe	34
II .5.3.2. Mode opératoire	34
II .5.3.3. Expression des résultats	35
II .5.4. Test du blanchissement de β -carotène	35
II .5.4.1. Principe	35
II .5.4.2. Mode opératoire.....	36

Chapitre III: Modélisation et docking moléculaire

III.1. Modélisation moléculaire.....	37
III.1.1. Définition	37
III.1.2. Méthodes	37
III.1.2.1. Méthodes QSAR, QSPR	37
III.1.2.2. Méthodes quantiques (QM).....	38
III.1.2.3. Dynamique moléculaire (MD).....	38
III.1.2.4. Mécanique moléculaire(MM)	38
III.1.3. Domaines	39
III.1.3.1. Biologie	39
III.1.3.2. Chimie physique.....	39
III.1.3.3. Science des matériaux	39
III.1.3.4. Polymères.....	39
III.2. Docking moléculaire	40
III.2.1. Définition et objectif.....	40
III.2.2. Principe	40

III.2.3. Etapes	41
III.2.4. Etapes typiques	42
III.2.5. Types	42
III.2.5.1. Docking rigide	42
III.2.5.2. Docking flexible	43
III.2.5.3. Docking semi-flexible.....	43
III.2.6. Outils	43
III.2.6.1. Ligand	43
III.2.6.2. Récepteur	43
III.2.7. Principaux problèmes	44
III.2.7.1. Docking Ligand- Protéine.....	44
III.2.7.2. Docking protéine- protéine.....	44
III.2.8. Utilisations	45
III.2.9. Logiciels.....	45
III.2.9.1. AutoDock.....	46
III.2.9.2. FlexX.....	47
III.2.9.3. MOE (Molecular Operating Environment)	48
III.2.9.4. GOLD (Genetic Optimization for Ligand Docking)	48
III.2.9.5. Glide.....	49
III.2.10. Banques de données	49
III.2.10.1. PDB (Protein Data Bank)	49
III.2.10.2. Pubchem	50

Chapitre IV : Evaluation de l'activité antioxydante par docking moléculaire

IV.1. Interaction ligand-récepteur.....	51
IV.1.1. Types d'interactions	51
IV.1.1.1. Interactions électrostatiques	51
IV.1.1.2. Interaction hydrogène	51
IV.1.1.3. Interactions de Van Der Walls	52
IV.1.1.4. Interactions hydrophobes.....	52
IV.2. Méthodologie des calculs	53
IV.2.1. Préparation de l'enzyme.....	53
IV.2.2. Préparation du ligand	54
IV.2.3. Choix de la zone de docking	54
IV.3. Résultats.....	55
IV.3.1. Interaction ligand sélectionné récepteur.....	55
IV.3.2. Interaction ligand de référence récepteur.....	57
IV.4. Discussion.....	58
IV 4.1. Validation du protocole de docking.....	58
Conclusion générale	60

Bibliographie



INTRODUCTION GENERALE



L'histoire de la phytothérapie remonte aux origines de l'humanité. Depuis longtemps, les hommes récoltent les plantes, non seulement pour se nourrir, mais aussi pour soulager leurs maux. De nos jours, les gens rejettent certains médicaments modernes à cause de leurs effets secondaires puissants, et ils les remplacent par la médecine traditionnelle par l'utilisation des plantes médicinales.

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en thérapeutique, parmi ces composés on retrouve, les acides phénoliques, les alcaloïdes, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes.

Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes. Ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et les maladies liées au stress oxydatif ; expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments.

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets néfastes dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces réactives oxygénées (ERO), elles sont impliquées dans plusieurs pathologies humaines, en plus de leur action directe en réagissant avec la plupart des macromolécules (glucides, protéines et lipides). Pour cela, il est très intéressant de rechercher et d'identifier des antioxydants naturels à partir de plantes.

L'éphédra est utilisée depuis plus de 5000 ans en médecine traditionnelle chinoise pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, le rhume, la toux, la fièvre..... Des études pharmacologiques ont prouvé que *l'éphédra* possédait des effets antioxydants antimicrobiens, antidiabétiques, hépatoprotecteurs et cardiovasculaires.

En Algérie elle est couramment utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter certain type du cancer. Cependant, la littérature fournit très peu d'information sur la chimie et les activités biologiques d'*Ephédra*.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est : la modélisation moléculaire et évaluation de l'activité antioxydants des extraits de *l'Ephédra alata*.

Après une introduction générale, le mémoire présenté serait de fait structuré en différentes parties et chapitres, à savoir :

Partie I, comportant :

- Un rappel sur la phytothérapie, les plantes médicinales, importance et composition ;
- Plantes médicinales en Algérie ;
- Définition, composition chimique et utilisation de la plante sélectionnée.

Partie II, s'intéresse aux :

- Antioxydants et traitement du cancer, l'activité antioxydants,
- Mécanisme ;
- Tests expérimentaux.

Partie III, relative aux :

- Modélisation moléculaire, méthodes et domaines ;
- Docking moléculaire, principe, utilisation et logiciels.

Partie IV, contient l'évaluation de quelques molécules qui possèdent une activité antioxydante:

- Interaction ligand-récepteur ;
- Méthodologie des calculs ;
- Résultats et discussion.



Chapitre I : *Plantes médicinales et Ephédra Alata*



Sommaire

- ◆ Plantes médicinales
- ◆ Plantes médicinales en Algérie
- ◆ Plante étudié : *L'Ephédra alata*



Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique contient un rappel sur les plantes médicinales, la phytothérapie, les plantes médicinales en Algérie, la plante *d'Ephédra alata* avec sa classification systémique, description botanique et géographique, ainsi que leur utilisation et composition.

I.1. Plantes médicinales

I.1.1. Généralités

Les produits naturels issus des plantes, des microorganismes et des animaux ont joué un rôle très important tout au long des 200 dernières années dans le traitement et la prévention des maladies, et continuent à servir de sources importantes dans la découverte de nouvelles molécules bioactives [1].

Les plantes produisent divers composés chimiques, qui comprennent plus de 200 000 métabolites. Les métabolites secondaires isolés des plantes médicinales ont été utilisés pour le traitement des maladies et le maintien de la santé de l'homme et des animaux. En Extrême-Orient, les plantes médicinales ont été utilisées comme sources de « médecine traditionnelle chinoise », ou « médicaments Kampo » au Japon, car elles ont des effets pharmacologiques en raison des divers métabolites biologiquement actifs qu'elles contiennent [2].

On peut distinguer deux types de plantes médicinales :

- En premier lieu se trouve l'allopathie dans laquelle les plantes ont une action importante et immédiate. Beaucoup des plantes utilisées dans ce mode de traitement peuvent s'avérer toxiques. En effet deux tiers des médicaments sur le marché sont d'origine naturelle, principalement végétale ;
- Puis on différencie les plantes dépourvues d'effet iatrogène mais ayant une activité faible. Elles sont utilisées en l'état ou dans des fractions réalisant le totum de la plante, soit la totalité des constituants [3].

I.1.2. Phytothérapie

Le terme de phytothérapie provient du grec phyto("plante") et thérapie ("traitement"). Elle se définit donc comme l'utilisation des plantes pour soigner les maladies [4].

Il est donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe [3].

I.1.3. Plantes médicinales

Une plante médicinale est un végétal doué d'un effet thérapeutique sur l'organisme sans être toxique à dose normale.

Des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques ou même telles qu'elles sont. Elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques [5].

Il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux [6].

I.1.3.1. Importance

Il est acquis que les plantes médicinales sont en mesure de soigner des maladies simples comme le rhume, ou d'en prévenir de plus importantes comme l'ulcère, la migraine, l'infarctus en plus de certaines allergies ou affections. Si l'on y ajoute leurs vertus réparatrices, tonifiantes, sédatives, revitalisantes ou immunologiques, on mesure mieux l'aide précieuse qu'elles sont susceptibles de nous apporter au quotidien.

I.1.3.2. Parties utilisées

En phytothérapie, on utilise la plante entière ou seulement une partie de la plante (la feuille, la fleur, la sommité fleurie). Chaque organe peut contenir des principes actifs spécifiques et donc avoir un effet particulier.

Les parties des plantes utilisées par ordre de croissances sont :

- Les feuilles ;
- La tige ;
- L'écorce ;
- Le bois ;
- Les bourgeons ;
- Les racines, les rhizomes, les bulbes ;
- Les fleurs ;
- Les sommités fleuries ;
- Les fruits (ex : jus), la queue des fruits ;
- Les graines.

I.1.3.3. Formes

Il existe plusieurs formes d'utilisation des plantes dont les plus connues sont :

- Les poudres ;
- Les pommades ;
- Les crèmes ;
- Les liniments ;
- Les extraits fluides ;
- Les gélules ;
- Les comprimés ;
- Les extraits fluides ;
- Les préparations Huileuses [5,7].

I.1.3.4. Conditions optimales pour obtenir le meilleur des plantes**I.1.3.4.a. Récolte**

Chaque partie de la plante concentre le maximum de principes actifs à une période précise de l'année, à laquelle il s'agit de faire la récolte. Le bon moment de cueillette peut varier selon l'altitude, particulièrement les périodes de floraison [8].

I.1.3.4.b. Séchage

Le séchage est un procédé qui sépare un liquide d'un solide, d'un semi-solide, voire d'un liquide par évaporation. Cette opération nécessite l'apport d'énergie thermique [5].

Il élimine la majeure partie de l'eau d'une plante, doit être commencé sitôt la récolte terminée et réalisé avec soin.

- Ne mélange pas l'espèce et les différents parties de la plante, commencez par faire sécher la plante quelques heures au soleil, avant de la mettre à l'abri dans un locale sec et bien aéré ;
- Lavez et brossez avec soin les racines, puis coupez-les, encore fraîches, en morceau ou en tronçons de 1 cm environ ;
- Brassez les plantes une fois par jour pour les aérer.

La durée de séchage varie de quelque jour à 3 semaines afin d'éviter tout dépôt de poussière sur les plantes. Ecorces et les racines sont les plus longues à sécher ; le bon degré de séchage est atteint lorsque les feuilles et les fleurs sont rigides, mais non cassantes ou touchées.

I.1.3.4.c. Conservation

Les plantes séchées sont coupées en petites morceaux et mises dans des boîtes hermétiques en fer blanc, des sacs en papier épais fermés par des bandes adhésives, ou dans des récipients en porcelaine, faïence ou verre teinté. Cette technique est nécessaire pour les plantes qui subissent des transformations chimiques sous l'influence des ultraviolets. Les plantes riches en produits volatils et qui s'oxydent rapidement sont conservées dans un milieu étanche [9].

Après l'inscription du nom et de la date de récolte sur chaque contenant. Celui-ci doit être conservé à l'abri de la lumière et au sec [4].

I.1.3.5 .Composition

I.1.3.5.a. Métabolites primaires

Représentent les composés qui existent dans toutes les cellules et jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction des cellules incluant les acides nucléiques, les acides aminés, les oses, et les lipides et connues sous le nom de métabolites primaires.

I.1.3.5.b. Métabolites secondaires

Ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante.

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes :

- Phénols et polyphénols ;
- Terpénoïdes et stéroïdes ;
- Alcaloïdes [1].

I.1.3.5. b.1. Phénols et polyphénols

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits [6].

Ils regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisés en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH.

Ils peuvent être divisés en différents groupes selon leur nombre de cycle phénol ainsi que des éléments structure qui lient leurs anneaux les uns aux autres [1].

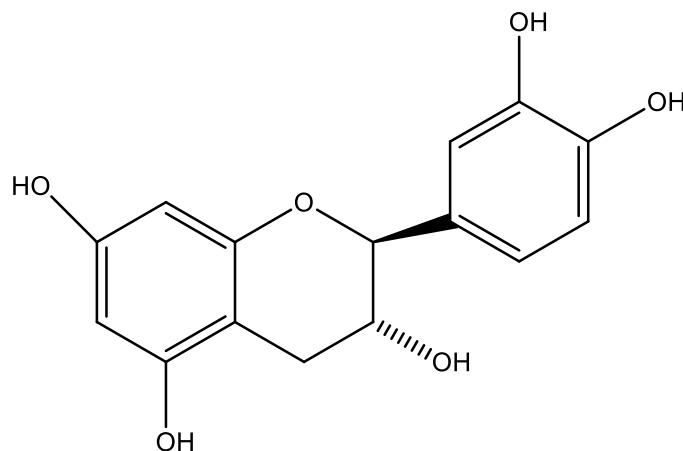


Figure I.1: Les polyphénols, tels que la catéchine ci-dessus, sont présents dans le thé vert, le cacao et beaucoup d'autres végétaux.

- Leur classification est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux [10].

Tableau I.1: Les différentes classes des composés phénoliques.

Squelette carboné	Classes de composés phénoliques
C_6	Phénols simples et benzoquinones
C_6-C_1 C_6-C_2	Acides phénoliques
C_6-C_3	Acétophénone et les acides phenylacétiques
C_6-C_4	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
$C_6-C_1-C_6$ $C_6-C_2-C_6$	Naphthoquinones
$C_6-C_3-C_6$	Xanthonnes
$(C_6-C_1)_2$ $(C_6-C_3)_2$	Stilbènes et anthraquinones
$(C_6-C_3-C_6)_2$	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
$(C_6-C_3)_n$	Tannins hydrolysables
$(C_6)_n$	Lignanes et néolignanes
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Biflavonoïdes
	Lignines
	Catéchols
	Tannins condensés.

➤ On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes [11].

I.1.3.5.b.1.a. Polyphénols simples (Acides phénoliques)

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique [12].

Tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles [13].

Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique [14].

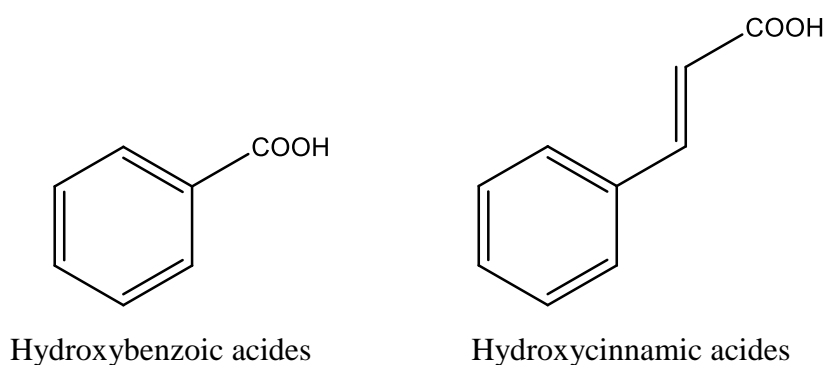


Figure I.2: Structure de base des acides phénoliques.

I.1.3.5.b.1.b. Polyphénols complexes

a) Tannins

Le mot tannin fait référence à un large groupe de composés (poly) phénoliques naturellement produits par les plantes [15]. Ils forment une vaste famille de molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés [16].

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Ils sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toute les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines [17].

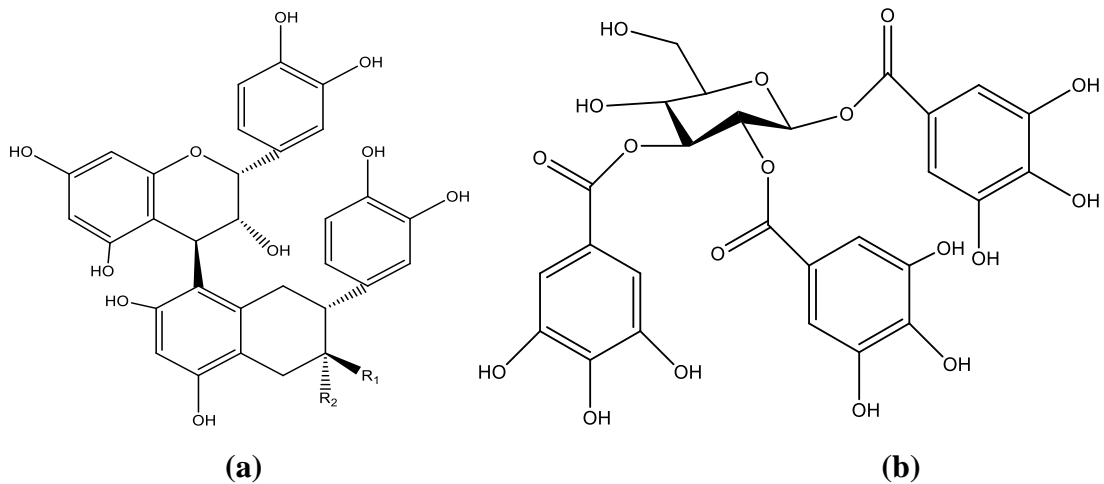


Figure I.3: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallo tanin (1, 2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose).

b) Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires [1].

Ils sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones, responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation [18].

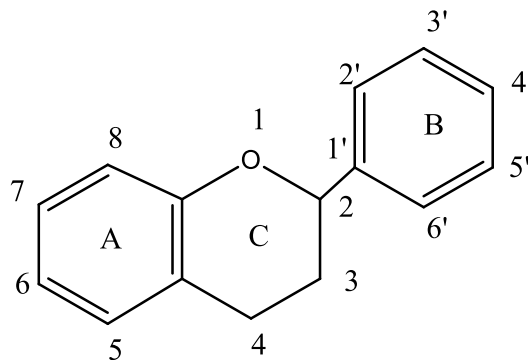


Figure I.4: Squelette de base des flavonoïdes.

I.1.3.5. b.2. Terpénoïdes et stéroïdes

a) Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule $(C_5H_8)_n$ selon la variation de nombre n , dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes [19].

b) Stérols et stéroïdes

Les stéroïdes résultent de l'estérification des acides gras par des stérols. Leur squelette est un carbure tétra cyclique.

Ils diffèrent les uns des autres par la nature et la position des différents groupements portés par le noyau et la présence éventuelle de doubles liaisons mais aussi par leurs actions biologiques spécifiques.

On répartit les stéroïdes naturels en quatre séries : les stérols, les acides et sels biliaires, les stéroïdes hormonaux, les vitamines D et autres dérivés [20].

I.1.3.5. b.3. Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose [21].

➤ On peut distinguer trois types d'alcaloïdes :

- Alcaloïdes vrais : d'après certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé ;
- Pseudo-alcaloïdes : ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés ;
- Proto-alcaloïdes : ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ils ont une réaction basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés [1].

I.2. Plantes médicinales en Algérie

Chaque culture a une histoire d'utilisation des plantes médicinales pour guérir les maladies.

En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de mille ans, les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été fait au IXème siècle par Ishâ-Ben- Amran et Abdallah-Ben-Lounès né à Oran, et qui décrit l'usage de beaucoup de plantes médicinales, mais la plus grande production de livres a été réalisée au dix-septième et au dix-huitième siècle [22].

Des chiffres recueillis auprès du centre national du registre de commerce, montrent qu'à la fin de 2009, l'Algérie comptait 1 .926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1.393 sédentaires et 533 ambulants (La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand

nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins [23].

I. 3. Plante étudié : *L'Ephédra alata*

I.3.1. Généralités sur les ephedraceae

La famille des ephedraceae comprend entre 50 et 65 espèces.

Elle est largement distribuée dans les régions tempérées d'Eurasie, Nord d'Afrique, et Sud-ouest du Nord Amérique. Elle est souvent abondante dans les zones sèches et des milieux ouverts tels que les déserts, les pentes rocheuses, les prairies et les zones maritimes au climat méditerranéen.

Il ya des plusieurs espèces du genre *Ephedra*, tels que : *E. alata*, *E. sinica*, , *E. distachya*, *E. major*, *E. sinica*, *E. foliata*, *E. fragilis* *E. Californica* *E. Nevadensis* *E. aphyll*, *E. viridis*, *E. altissima* et *E. foemina*.....etc [24].



Figure I.5: Plante éphédra.

I.3.2. *Ephédra alata*

Ephédra alata, le nom en arabe *alanda*, est un genre vivace d'herbe à graines non florissante appartenant aux Gnetales, le parent vivant le plus proche de [25]. Appartient à la famille des Ephedraceae .Elle est utilisée pour ses propriétés thérapeutiques.

Cependant, elle peut être facilement toxique si elle est mal dosée [26]. Ces plantes sont des arbustes gymnospermes vivaces et xérophytes, terrestre ou chamaephyte. On le trouve principalement dans les environnements désertiques secs. C'est un arbuste dioïque [27].

I.3.3 .Noms vernaculaire

Selon les herboristes et les personnes pratiquants la médecine traditionnelle *l'Ephédra alata* est appelée dans la région d'El Oued (Alegria) *alanda*. Mais selon Elhillali, (1988) les noms vernaculaires de la plante étudiée sont :

Nom arabe : *alanda*, adam, djachia, eladher ;

Nom français : *Ephédra* ;

Nom Anglais : *Ephédra* (Ma-Huang) [28].

I.3.4 .Classification systématique

Selon la Flore Medchekestet le catalogue de Dobignard et Chatelain, la position systématique *d'Ephédra alata-alanda* est la suivante :

- Embranchement : Spermaphytes ;
- Sous embranchement : Gymnospermes ;
- Classe : Gnetopsida ;
- Ordre : Ephédrales ;
- Famille :Ephedraceae ;
- Genre : *Ephédra* ;
- Espèce : *Ephédra alata* ;
- Sous espèce : *Ephédra alata alanda* [29] ;
- Odeur : Nulle ;
- Saveur : Astringente marquée ;
- Habitat et Biotope : Forme des peuplements importants dans le désert ;
- Récolte : Automne ;
- Parties à utiliser : Le principal constituant est un alcaloïde, l'éphédrine C₁₀ H₁₅ON [30].

I.3.5. Description botanique

Elle s'agit de l'un des rares arbustes des zones sahariennes est réputée pour sa tolérance élevée à la carence en eau dans les régions sahariennes [31].

- C'est un arbuste vivace, rigide, jaune-vert, densément ramifié [32] ;
- Court persistant et presque sans feuille [24] ;

- Un arbuste de 1 à 3 mètres de haut ;
- Rameaux articulés et très ramifiés d'une couleur vert-jaunâtre ;
- Portant au niveau des nœuds de petites feuilles opposées, alternant d'un nœud à l'autre ;
- Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents) ;
- Les fruits entourés de bractées largement membraneuses ;
- Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant ;
- Floraison : hiver, printemps [31] ;
- Les espèces de ce genre peuvent pousser dans des conditions semi-arides et désertiques, ce qui rend les six continents appropriés pour la croissance de ce genre. Ce dernier se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes sèches et des côtés secs de montagnes [33].



Figure I.6: *Ephédra alata*.

I.3.6. Distribution géographique

Ephédra est répartie dans les régions arides et semi arides, du nord Afrique, l'Asie, l'Europe et les Amériques elles poussent surtout dans la Chine, l'Inde, l'Égypte [28]. L'Iran, l'Algérie, l'Irak, le Tchad, la Palestine, le Liban, la Jordanie, l'Arabie saoudite, le Maroc, la République arabe syrienne, la Libye, la Mauritanie, Mali, Somalie et Tunisie [25]. En Algérie, on la trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert [34].

Cette plante se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes et des côtés sèches des montagnes [28].

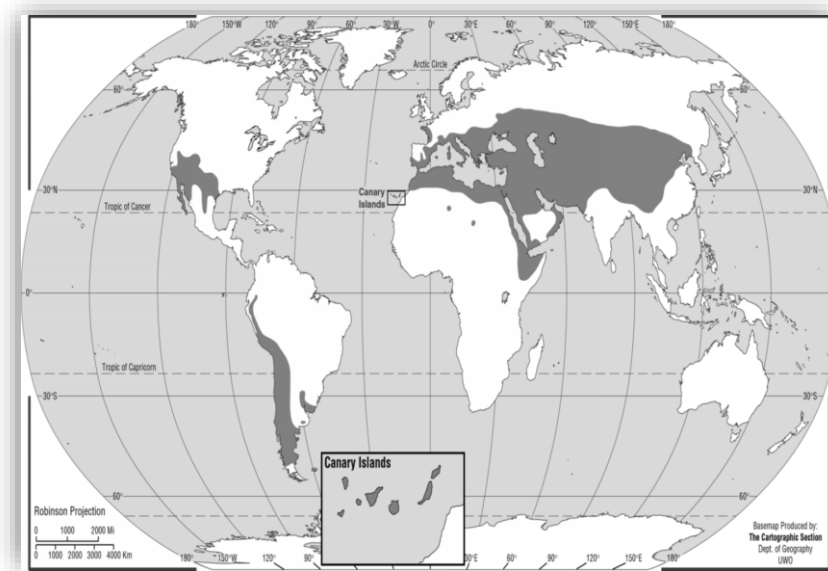


Figure I.7: Répartition géographique de l'*Ephédra* dans le monde.

I.3.7. Composition chimique

Les espèces du genre *Ephédra* contiennent les alcaloïdes éphédrine, pseudo éphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyle éphédrine et méthyle pseudo éphédrine[35].

Notons que l'éphédrine et la pseudo éphédrine sont généralement les plus abondantes, ils représentent environ 80% de la teneur en alcaloïdes dans la plante séchée [36].

Une source naturelle de nombreux phyto-constituants incluant des alcaloïdes, flavonoïdes, des tanins, des anthocyanes, des cardinolides, des terpènes et stérols, aussi que les huiles essentielles [33].

Des analyses ont indiqué la présence d'autres substances telles que : glycosides cardiaques, sucres réducteurs [35].

I.3.8. Utilisation

Les tiges séchées (de couleur verte) sont utilisées dans la médecine populaire comme la décoction comme un stimulant, un désobstruent, pour traiter les reins, les bronches, les troubles du système digestif et à l'asthme soulagement attaque ainsi qu'utiliser pour le traitement du cancer, des infections bactériennes et fongiques [31].

Plus récemment, l'usage de *l'éphédra* ou de l'éphédrine couplé à celui de la caféine pour favoriser la perte de poids a eu beaucoup de succès auprès des Nord-Américains touchés par une « épidémie » d'obésité. De plus, certains fabricants de boissons énergisantes, ou autres produits destinés aux sportifs et aux jeunes à la recherche de stimulants, ont mis en marché des produits qui ont été présentés comme une « solution de rechange naturelle aux drogues illégales » [37].

I.3.8.1. Utilisation traditionnelle

- *E. alata* est utilisé dans le traditionnelle médicament comme stimulant, antifongique et pour traiter les allergies, bronchiques asthme, frissons, rhumes, toux, œdème, fièvre, grippe et maux de tête [38] ;
- Les espèces *Ephédra* d'Asie ont été récemment utilisée dans la fabrication clandestine d'une drogue de rue, de la méthamphétamine [31]. Selon la MTC, elle est utile pour traiter les infections respiratoires, l'asthme, l'eczéma, la rhinite allergique (rhume des foins) et la narcolepsie ;
- La médecine Kemp (Japon) reprend systématiquement les usages médicaux et les formules de la MTC ;
- Quant à la médecine ayurvédique (Inde), elle reconnaît depuis longtemps l'utilité de l'éphédra pour traiter l'asthme, les spasmes, le rhume des foins et les allergies [37] ;
- En Algérie, on utilise la contre la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de gouttes nasales contre les rhumes elle est très appréciée par le dromadaire [31] ;
- En Egypte, elle est utilisée en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent ;
- En Arabie Saoudite, elle est l'une des plantes de parcours les plus répandues. Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux attirés par son arôme acceptable ;
- Au Maroc, elle est utilisée pour lutter contre le diabète ;
- En Russie elle est usées contre le trouble de système respiratoire et les rhumatismes ;
- Au États-Unis et au Sud-Ouest espagnols, elle est utilisée pour divers traitements surtout pour les maladies vénériennes [24].

Les organes utilisés dans la médecine traditionnelle sont les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud [39].

I.3.8.2. Compléments alimentaires à base d'*éphédra alata*

En dépit de sa longue histoire et sa promesse agronomique, l'utilisation de l'herbe a diminué au fil des ans, mais au début du vingtième siècle, l'importance de l'herbe a graduellement revécu comme il est démontré par son large utilisation aux Etats Unis dont beaucoup de produits contenant de l'*Ephédra* vendus sous des noms tels que "Herbal Ecstasy and Escalation" sont supposés être efficaces pour la perte de poids et l'amélioration des performances physiques [31].

I.3.8.3. L'éphédrine

L'éphédrine est un stimulant α sympathicomimétique du système nerveux central et du système cardiovasculaire [40], un alcaloïde dérivé de diverses plantes du genre *Ephédra* (famille des Ephedraceae) [41], isolée en 1885 par un pharmacien japonais Nagai Nagayoshi. Il la synthétise avec Kanao en 1920 [40].

Initialement utilisée dans la médecine chinoise contre les rhumes et l'asthme, puis dans les années 1920-1940 comme bronchodilatateur et décongestionnant nasal, l'éphédrine a été remplacée par la pseudo-éphédrine, qui occasionne moins d'effets secondaires [42].

Il est un analogue à l'adrénaline, elle est donc hypolipidémies, c'est-à-dire qu'elle diminue la concentration de lipides dans le sang. On la trouve encore parfois dans des produits populaires visant à la perte de poids et prise de masse musculaire, sous la forme d'éphédra [40].

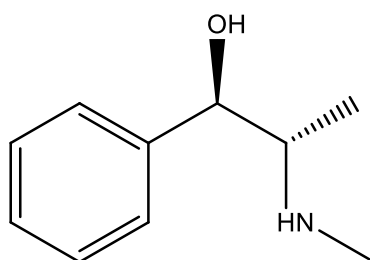


Figure I.8: Structure chimique d'éphédrine.

I.3.9. Toxicologie

Les espèces de l'*éphédra* ont des effets bénéfiques et néfastes. Cliniquement, il peut en résulter une tachycardie, une hypertension, une hypersudation, une broncho dilatation, une agitation et une mydriase. Leur utilisation est également connue pour être associée avec des manifestations gastro-intestinales et psychiatriques. Ces effets peuvent être les raisons pour lesquelles leur utilisation est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et contre-indiqué pour une utilisation à long terme [31].



Chapitre II : *Stress oxydatif et pouvoir antioxydant*



Sommaire

- ◆ La maladie du cancer
- ◆ Les antioxydants et traitement du cancer
- ◆ Activité antioxydant
- ◆ Mécanismes d'action des antioxydante.....
- ◆ Tests expérimentaux de l'activité antioxydante



Dans le deuxième chapitre de ce mémoire nous nous intéresserons la maladie du cancer et les antioxydante et leur traitement Puis nous nous présenterons l'activité antioxydante, le pro oxyde, le stress oxydatif et les radicaux libres, ainsi que le mécanisme d'action des antioxydante et les tests expérimentaux réalisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante.

II.1. La maladie du cancer

Le cancer figure parmi les maladies non transmissibles dont les statistiques mondiales sur la mortalité et la morbidité sont en constante augmentation. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès dus au cancer ont été enregistrés dans le monde en 2018 [43].

Les moyens thérapeutiques, disponibles pour le traitement du cancer, ont connu un essor important ces dernières années grâce aux progrès enregistrés sur la connaissance de la maladie. Ces moyens thérapeutiques sont la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'hormonothérapie ils sont le plus souvent associés en fonction des types de cancers.

Malheureusement le coût de ces thérapies est très onéreux. De plus, les médicaments anticancéreux disponibles, présentent de nombreux effets indésirables du fait de leur mécanisme d'action peu sélectif de nombreuses études ont montré l'intérêt des antioxydants dans la prévention de nombreux cancers.

Ce qui doit motiver la recherche et le développement de nouvelles molécules afin de proposer des thérapies beaucoup plus spécifiques des maladies cancéreuses [44].

II.2. Les antioxydante et traitement du cancer

Les cellules cancéreuses produisent plus de radicaux libres que les cellules saines. À un certain niveau, ces radicaux libres entraînent la mort des cellules. Mais les cellules cancéreuses témoignent de taux assez élevés pour dérégler le cycle cellulaire mais trop peu pour qu'elles se dégradent. C'est généralement le rôle de la chimiothérapie que d'augmenter ces taux afin d'induire la mort de ces cellules. Mais la chimiothérapie augmente aussi ces taux chez les cellules saines, là où les antioxydants pourraient protéger les cellules de l'apoptose et des effets secondaires majeurs des chimiothérapies. De plus, certaines tumeurs peuvent simplement entrer en état « d'hibernation » ou de résistance à la chimiothérapie quand les mécanismes cellulaires naturels de protection contre les radicaux libres s'activent. Lorsqu'elles sont dans de tels états, la prise d'antioxydante pourrait engendrer une renaissance de la tumeur en diminuant les taux de radicaux libres en son sein.

Par ailleurs, la chimiothérapie a des conséquences néfastes sur le système immunitaire, ce qui pourrait s'avérer être un frein aux nouvelles avancées en immunothérapie. Dans ce prisme curatif, les antioxydants pourraient avoir leur place, étant donné qu'ils ont la capacité d'améliorer l'activité du système immunitaire.

Les conclusions des essais cliniques chez l'homme sur l'intérêt de combiner chimiothérapie et antioxydante sont floues et peu concluantes quant aux bénéfices et risques apportés. Cela pourrait être dû, selon les chercheurs, au niveau d'antioxydante, à la composition des différents suppléments d'antioxydante, au niveau d'absorption par les cellules et à leur fonction dans la signalisation cellulaire.

En outre, autres chercheurs suggèrent que les études futures se concentrent sur les relations entre chaque antioxydant, chaque molécule curative, chaque type de cancer, leurs interactions, afin d'appréhender les meilleures combinaisons (si de telles combinaisons existent) pour la survie et la santé des patients [45].

II.3. Activité antioxydante

II.3.1. Généralités

L'oxygène est indispensable à la vie. En effet, c'est cette molécule qui permet l'apport d'énergie à l'être humain par son rôle d'accepteur final d'électron au sein de la mitochondrie. Pourtant, elle est fortement impliquée dans l'initiation du stress oxydant qui, bien qu'il soit utile à l'organisme, peut être délétère et entraîner des pathologies variées dans certaines situations [46].

Les radicaux libres, stress oxydant, espèces oxygénées activées, antioxydante sont devenus des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même le grand public.

Le milieu médical prend conscience qu'une augmentation de stress oxydant chez un individu est potentiellement une cause d'apparition de diverses pathologies comme les maladies cardio-vasculaires, le cancer ou le diabète sucré [47], l'inflammation, l'arthrite rhumatoïde En plus de leur action directe en réagissant avec la plupart des macromolécules (glucides, protéines et lipides) [48].

Lorsque les ROS sont générées en grandes quantités, elles deviennent pathologiques car elles interagissent avec les molécules biologiques (protéines, lipides, ADN) [49].

II.3.2. Pro-oxydant

Un pro-oxydant est une substance qui déclenche un stress oxydatif par l'augmentation des radicaux libres, des molécules réactives connues pour endommager les cellules [50].

II.3.3. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs.

Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induite soit par production excessive de radicaux libres ; soit par diminution de la capacité de défenses antioxydant [51], il n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologie [52].

Pour éviter les conséquences du stress oxydant, il est obligatoire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant de l'organisme dont les antioxydants sont des substances naturelles produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation qui retardent, empêchent ou réparent les dégâts oxydatifs [53].

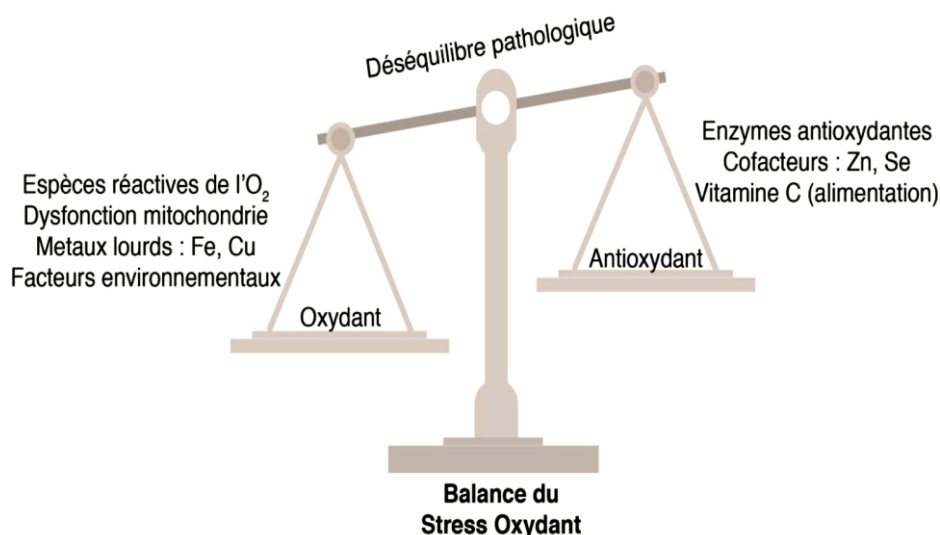


Figure II.1: Mécanisme montrant un stress oxydant au sein d'une cellule.

II.3.3.1. Origine

Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydante ou même une exposition environnementale a des facteurs pro oxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques [52]).

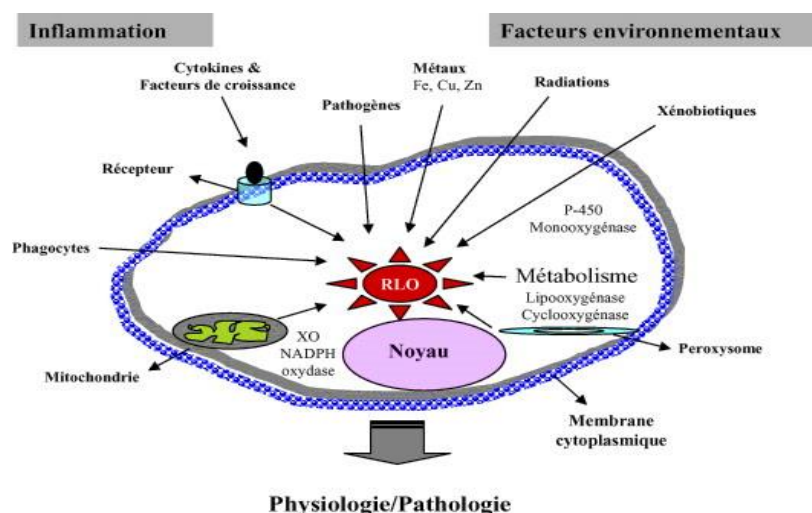


Figure II.2: Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène.

II.3.3.2. Conséquences

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des glucides. Mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides.

En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydatif est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes, allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires cardiovasculaires, neurodégénératives, le diabète [49], l'obésité, l'athérosclérose, le vieillissement, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire, Alzheimer, les rhumatismes... [54].

II.3.4. Les radicaux libres

II.3.4.1. Définition

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins [46].

Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule [55].

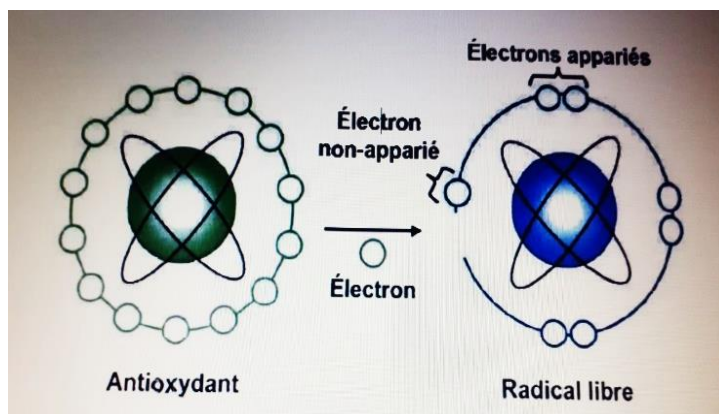


Figure II.3: Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.

II.3.4.2. Principaux radicaux libres

II.3.4.2.1. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie [56].

Ils incluent les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, radical peroxy... etc) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires (oxygène singulet, peroxyde d'hydrogène, hydroperoxyde (Tableau II.1) [51].

Tableau II.1: Les différents radicaux libres et leurs dérivés.

Nom	Symbole
Espèces radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}
Radical peroxye	ROO^{\cdot}
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Hydroperoxyde	$ROOH$
Oxygène singulet	O_2

II.3.4.2.2. Espèce libre non oxygénées

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO). Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs [56].

II.3.4.3. Sources

II.3.4.3.1. Sources exogènes

La production exogène des ERO résultent de l'exposition aux rayons ionisants (exposition importante au soleil, radio activité artificielle ou naturelle), ou à l'oxygène en quantité excessive, la pollution, la prise de certains médicaments (par exemple le paracétamol), le contact avec certains pesticides et solvant [57], polluants alimentaires (engrais, additifs), graisses saturées des aliments, excès de sucres, alcool, drogues [56], la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxication hépatique, notamment une perte de poids importante.

II.3.4.3.2. Sources endogènes

Le métabolisme aérobie de chaque organisme permet de produire des ERO d'une manière endogène, comme des sous-produits des chaînes de transport des électrons de la respiration cellulaire dans les mitochondries. Elles sont aussi produites dans différentes réactions enzymatiques [56].

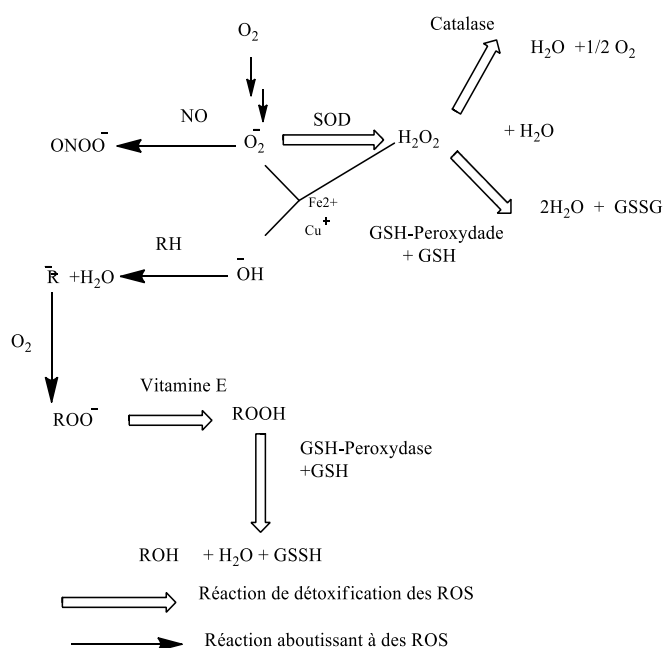


Figure II.4: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie.

II.3.4.4. Production

Pour passer de l' O_2 à l'eau il y a utilisation de 4 e⁻ venant de la chaîne respiratoire. Les formes radicalaires sont les intermédiaires dans cette transition. Les espèces réactionnelles de l' O_2 ne sont pas indépendantes les unes des autres, elles agissent en cascade [51].

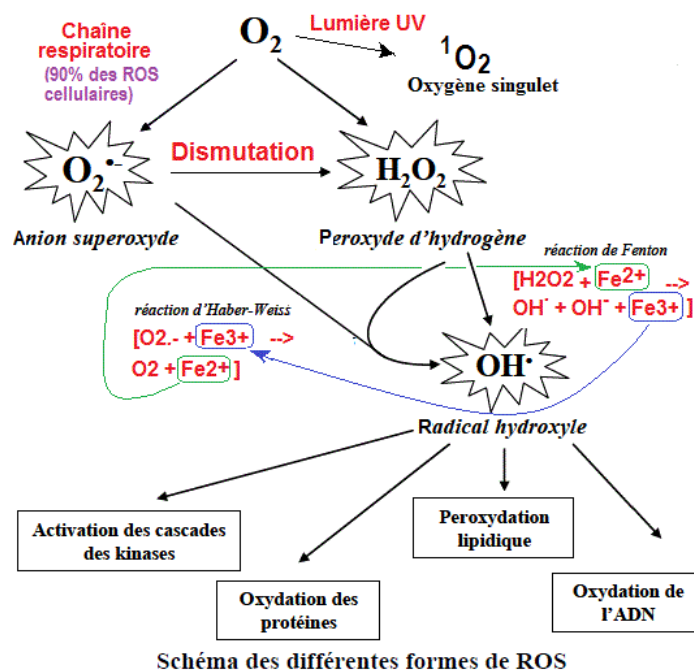


Figure II.5: Production des ROS.

II.3.4.5. Rôles biologiques

A faible concentration, ces radicaux libres sont impliqués dans de nombreuses fonctions physiologiques, comme la phagocytose ou la régulation de la croissance et des signaux cellulaires. Cependant, lorsqu'ils sont en quantité trop importante, ils peuvent devenir cytotoxiques pour les cellules et entraîner l'oxydation des protéines, des lipides membranaires et/ou l'ADN [58].

Les radicaux libres jouent des rôles essentiels dans le bon déroulement de la réaction immunitaire par l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydesdismutases (SOD) et la NO synthase (NOS) qui aboutissent à l' $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , HO^{\cdot} et autres radicaux libres.

Les radicaux libres peuvent aussi agir en tant que molécules de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire et participer à l'expression de certains gènes et à leur régulation [59].

II.3.5. Les antioxydantes

II.3.5.1. Définition

Pour contourner les dommages causés par les ROS, la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés antioxydante. Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ainsi, les antioxydante servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif [60].

II.3.5.2. Antioxydante et systèmes de défense

Les principaux systèmes de défense de l'organisme contre l'activité des ERO sont :

- Transformer les ERO en espèces moins toxiques ;
- Empêcher l'interaction entre espèces chimiques ;
- Prévenir ou réparer les lésions induites par les ERO ;
- Induire la synthèse des antioxydante [61].

Les cellules disposent de systèmes de défenses antioxydants classés en antioxydante enzymatiques et non-enzymatique [49].

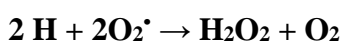
II.3.5.2.1. Antioxydantes enzymatiques (endogènes)

Pour faire face à ces attaques, les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydant qui visent :

- A éliminer les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation ;
- A induire la synthèse des antioxydante ;
- A augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées [62].

a) Les super oxydes dismutase (SOD)

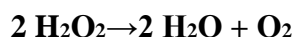
C'est une enzyme ubiquitaire appartenant à une famille de métallo enzymes, qui catalyse la dismutation des radicaux superoxydes en peroxyde d'hydrogène et d'oxygène moléculaire. L'enzyme SOD est considérée comme la première ligne de défense. Trois types de SOD ont été caractérisé sur la base de la nature du co-facteur métallique présent dans le site catalytique, il s'agit de : SOD à cuivre / zinc (Cu / ZnSOD), le fer (FeSOD) ou du manganèse (MnSOD) [63].



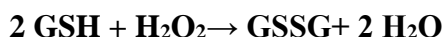
b) La Catalase

La catalase est une enzyme intracellulaire qui catalyse la réaction de détoxification du H₂O₂ (généralement produit par les SOD) [53].

La réaction de détoxification se déroule comme suit :

**c) La glutathion peroxydase (GPX)**

Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases a cofacteur fer et les glutathion peroxydases a cofacteur sélénium (Favier, 2003). La glutathion peroxydase (GPX) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H₂O₂ en H₂O et O₂. Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG) [52].

**d) Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR)**

Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elles jouent aussi un rôle important dans la régulation du système immunitaire. Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) qui est une enzyme possédant un groupement sélénocystéine dans son site actif.

La TRxR intervient aussi dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique [64].

II.3.5.2.2. Antioxydante non enzymatiques (antioxydante naturels ou exogènes)

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs des radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ROS, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire. Les piègeurs des ROS agissent en piégeant les radicaux libres et en captant les électrons célibataires, les transformant en molécules ou ion stables. Le piègeur va devenir un radical libre, puis soit détruit, soit régénéré par un autre système [60].

a) Vitamine E

La vitamine E (α -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique [53].

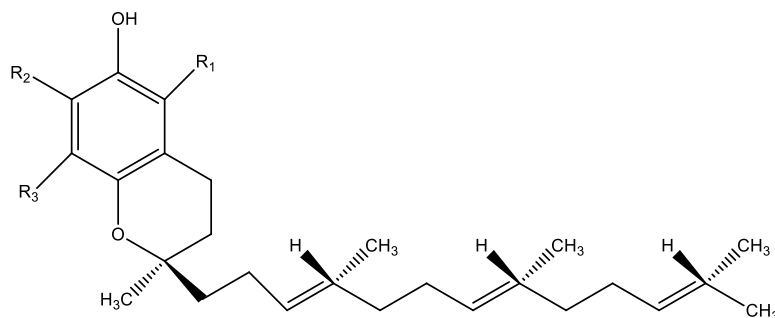


Figure II.6: Structure chimiques des vitamines E.

b) Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est hydrosoluble et considérée comme étant l'antioxydant naturel le plus puissant. Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer [50].

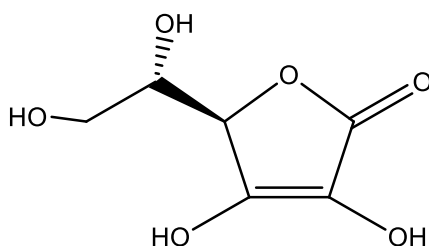


Figure II.7: Structure chimique de la vitamine C.

c) Les polyphénols

L'efficacité antioxydante des poly phénols est essentiellement due à la facilité avec laquelle un atome d'hydrogène d'un groupe hydroxyle aromatique est cédé à un radical libre [53].

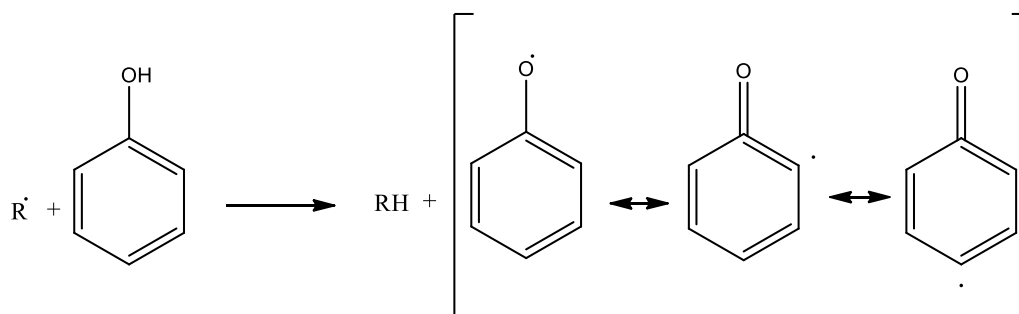


Figure II.8: Mécanisme d'action des antioxydants phénolique.

d) Les oligoéléments

Les oligoéléments (zinc, cuivre et sélénium) ne sont pas des antioxydants en tant que tels, car ils ne peuvent pas piéger les radicaux libres, mais ils jouent un rôle primordial comme cofacteur de nombreuses enzymes. Le zinc et le cuivre sont des cofacteurs de la SOD alors que le sélénium est un cofacteur de la GPx [50].

e) Les caroténoïdes

La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides gras polyinsaturés (AGPI). Parmi d'autres caroténoïdes intéressants pour leurs propriétés antioxydantes.

Il existe plusieurs membres dans le groupe des caroténoïdes, mais le caroténoïde le plus connu et étudié est le β -carotène, qui est un puissant antioxydant capable d'éteindre rapidement l'oxygène singulet [52].

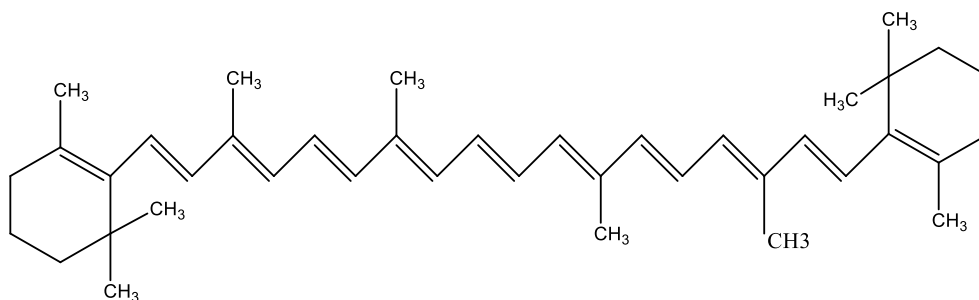


Figure II.9: Structure chimique de la β -carotène.

II.4. Mécanismes d'action des antioxydants

Du point de vue de leur fonction mécanistique, les antioxydants peuvent être classés en :

Antioxydant de prévention, antioxydant scavenger et antioxydant de novo et de réparation.

II.4.1. Les antioxydants de prévention

Ils agissent comme première ligne de défense dans la cellule (Figure 10), en évitant la formation des ROS et RNS comme, par exemple, réduisant le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques en eau et hydroxydes lipidiques respectivement. Outre, en séquestrant les ions métalliques comme le cuivre et le fer.

II.4.2. Les antioxydants scavenger

Les antioxydants scavenger éliminent rapidement les radicaux libres avant que ces derniers attaquent les molécules biologiques. La SOD convertit le superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Les composés phénoliques et les amines phénoliques agissent principalement comme des antioxydants scavenger des radicaux libres.

II.4.3. Les antioxydants de novo et de réparation

Ce sont principalement les enzymes qui agissent comme troisième ligne de défense, en réparant les dommages, nettoyant les déchets et reconstituant les fonctions perdues.

La quatrième ligne de défense est représentée par la fonction adaptative par laquelle des antioxydants appropriés sont générés au bon moment, et transférés à la bonne position avec des convenables concentrations.

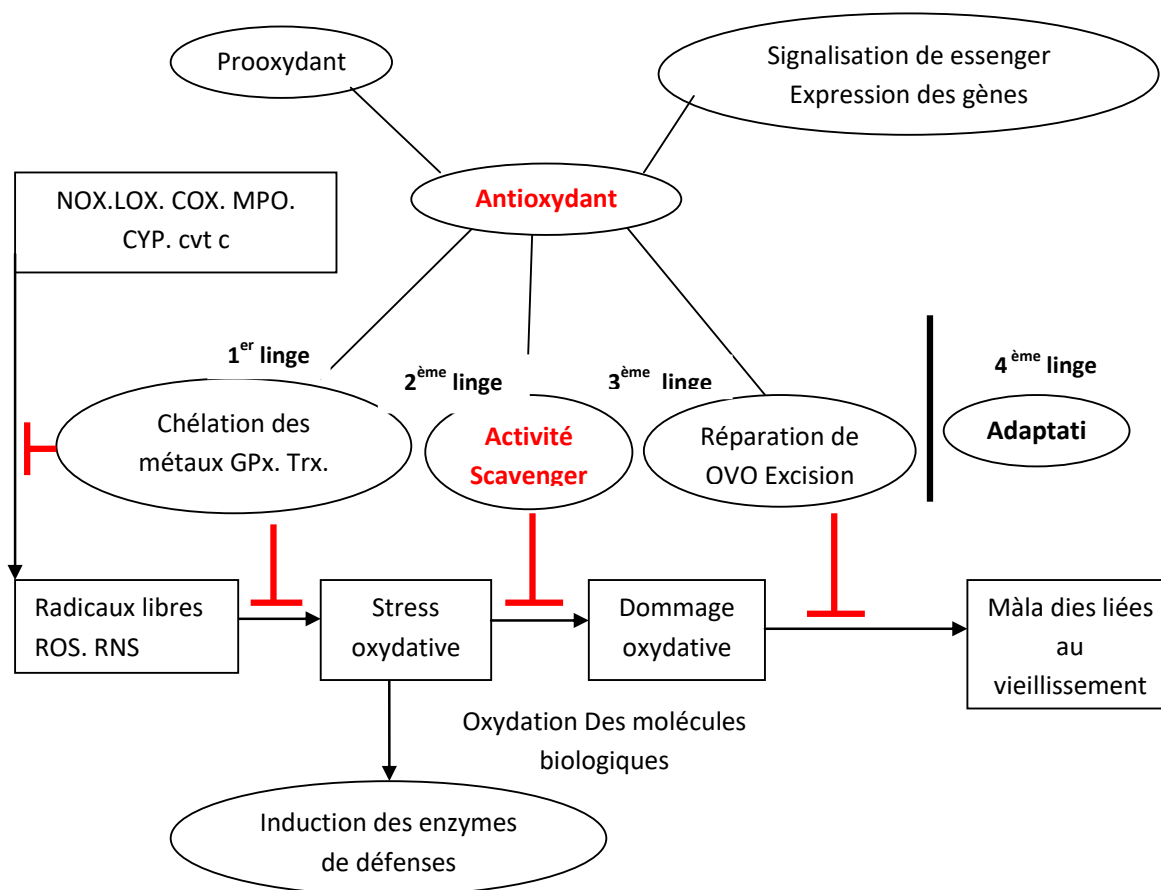


Figure II.10: Réseau de défense (*in vivo*) contre le stress oxydatif.

II.5. Tests expérimentaux de l'activité antioxydante

II .5.1. Le pouvoir antioxydant « test au DPPH° »

Le DPPH° (1,1-diphényl -2- picrylhydrazyle) ($C_{18}H_{12}N_5O_6$; M= 394,33g/mole) est un radical libre stable, de couleur violette, il est sensible à la lumière, à l'oxygène, au pH et à la nature du solvant utilisé [65]. Il permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante) [66]. Il est recommandé pour des composés contenant des groupes -SH, -NH et -OH. Il est un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède dans sa structure un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote [67].

II .5.1.1. Principe

La méthode de DPPH° a d'abord été décrite par Blois en 1958, et a ensuite été largement modifiée par de nombreux chercheurs [65].

La molécule de DPPH est définie comme un radical libre stable par la vertu de la délocalisation de l'électron disponible, qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption.

Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (DPPH2) avec la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle due à la présence de groupement picryl [68].

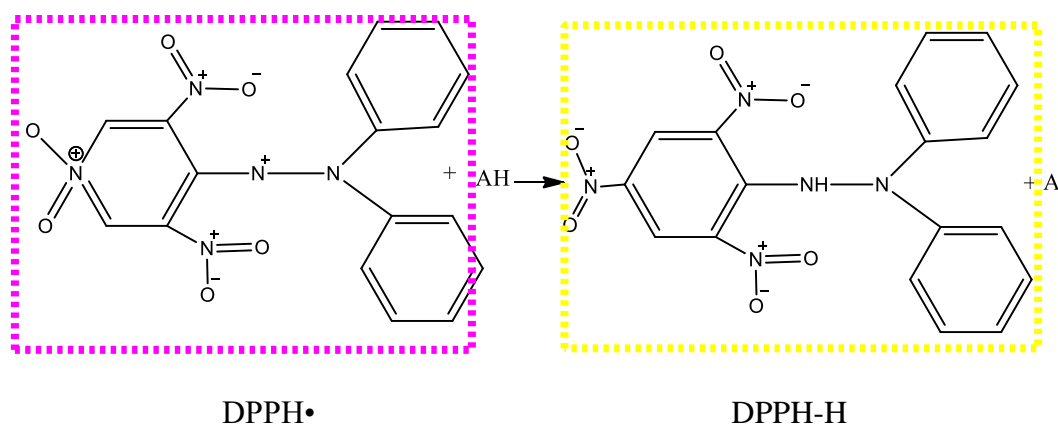
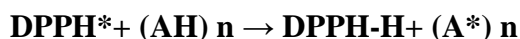


Figure II.11: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).

➤ On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où:

(AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphenyle picryl hydrazine (jaune).

II .5.1.2. Mode opératoire

a) Préparation de la solution mère du DPPH°

Le DPPH est solubilisé dans le méthanol absolu pour en avoir une solution de 0,1 millimolaire (mM).

b) Préparation des solutions mères d'extrait à testé

Chaque échantillon avec son extrait brut et ses quatre fractions (éther diéthylique, acétate d'éthyle, MEC et eau) ont été préparés dans l'éthanol à 70% de telle façon à obtenir une concentration de 1mg/ml.

Cette dernière a été choisie d'après des essais préliminaires. Chaque solution mère a ensuite subi une série de dilution pour obtenir une gamme de concentration allant de 0,5 à 0,0062 mg/ml.

c) Méthodologie

La méthode de Brand-Williams et al. (1995) a été suivie pour la réalisation de notre test.

- La méthode consiste à faire mélanger 0,1 ml de chaque extrait à testé avec 3,9 ml de la solution de DPPH° ;
- Le mélange est agité vigoureusement pendant quelques secondes. Celui-ci est laissé à l'obscurité pendant 30min ;
- La mesure d'absorbance a été effectuée à 515nm en utilisant un spectrophotomètre type SHIMADZU UV-Visible (1601) contre le blanc correspondant :

II .5.1.3. Expression des résultats

Plusieurs paramètres peuvent être pris en compte pour faire la détermination de l'activité anti-radicalaire entre autre est de calculer la concentration efficace (EC50)

Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\% = ((\text{Abs C} - \text{Abs E}) / \text{Abs C}) \times 100$$

D'ou :

Abs C: Absorbance du control ;

Abs E: Absorbance d'échantillon [69].

a) La concentration efficace (EC50 « efficient concentration »)

L'IC50 (inhibitory concentration 50% ; concentration inhibitrice à 50 %) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées en utilisant le logiciel SigmaPlot.

Pour obtenir la concentration efficace (EC50), les résultats sont exprimés en pourcentage (%) d'inhibition selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs } t=0 - \text{Abs } t=30}{\text{Abs } t=0} \times 100$$

Abs t=0 et Abs t=30min correspond à l'absorbance à 515nm du radical de DPPH° en absence et en présence de l'antioxydant respectivement [65].

II .5.2. Activité anti radicalaire ABTS

La méthode de radicale ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3 - éthylbenzothiazoline-6-sulfoniqueacide) [70].

II .5.2.1. Principe

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS•+ de coloration vert bleu en le transformant en ABTS incolore. Le radical préformé ABTS•+ est généré en présence des ions persulfates.



En présence d'un antioxydant, le passage du radical ABTS•+ à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de la coloration vert bleu intense qui peut être suivie par la mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 734 nm. Ce test est simple opérationnel, reproductible, et peut être utilisé dans différents milieux [14].

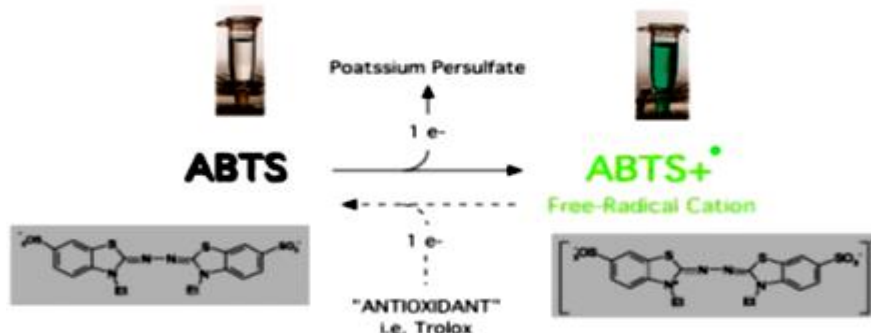


Figure II.12: Réaction chimique d'ABTS.

II .5.2.2. Mode opératoire

L'activité antiradicalaire a été également évaluée par le test de décoloration du radical cation ABTS+• selon la technique utilisée par Khan et al.

- L'ABTS a été dissous dans l'eau distillée à une concentration de 7nM ;
- La solution du radical cation ABTS+• a été obtenue en incubant pendant 12 à 16 h à l'obscurité et à la température ambiante un mélange à volumes égaux de la solution mère d'ABTS avec une solution de persulfate de potassium à 2,45nM ;
- La solution ABTS+• a été diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de $0,700 \pm 0,02$ à 734 nm avant l'utilisation ;
- Ensuite, 1,5 ml de la solution d'ABTS+• a été mélangé avec 50µl d'extrait ou de la référence (acide ascorbique) à différentes concentrations (250 - 125 - 62,5 - 31,25 - 15,62 - 7,81µg/ml) ;
- Les absorbances sont mesurées à 734 nm après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à la température ambiante ;
- Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé et les résultats exprimés en Pourcentage d'Inhibition (PI) et en CI50 comme précédemment décrits pour le test [71].

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$\% = ((\text{Abs C} - \text{Abs E}) / \text{Abs C}) \times 100$$

D'ou :

Abs C : Absorbance du control ;

Abs E : Absorbance d'échantillon [68].

Les résultats exprimés en pourcentage d'inhibition (PI) et en CI50 comme précédemment décrits pour le test DPPH [71].

II .5.3. Pouvoir réducteur FRAP

II .5.3.1. Principe

Beaucoup d'études ont indiqué la présence d'une relation directe entre les activités antioxydants et la puissance réductrice [68].

La méthode FRAP (FerricReducing Antioxydant Power) développée par Benzie et Strain (1996) correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ) 2] en un complexe tripyridyltriazineferreux [(Fe(II)-TPTZ) 2] par un antioxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer [14].

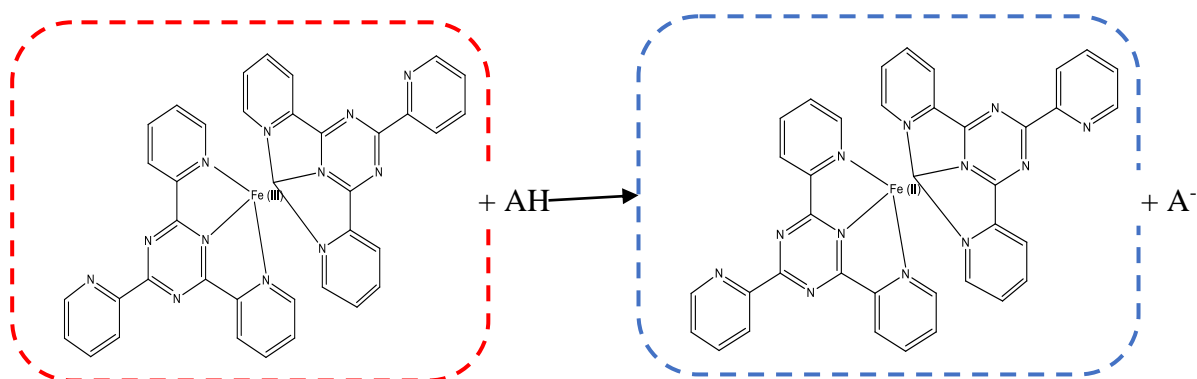


Figure II.13: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).

II .5.3.2. Mode opératoire

- 225µl d'extraits de différentes concentrations sont mélangés à 225µl de tampon phosphate (pH = 6,6) ;
- Par la suite l'ajout de 225µl de K3Fe avec agitation, le tout incubé au bain marie à 50°C pendant 20 min ;
- Après 20 min 225µl de TCA (10%) a été immédiatement ajouté et directement centrifugé pendant 10 min à 3000 TPM ;
- Un volume (375µl) a été prélevé du surnageant au quel est ajouté 375 µl d'eau distillée et 75µl de FeCl₃ ;
- La lecture des Absorbances est réalisée à 700 nm. Contre un blanc ou l'extrait est remplacé par le méthanol.

II .5.3.3. Expression des résultats

L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Pour chaque concentration, une absorbance est mesurée et les résultats sont représentés sous forme de graphique.

Les résultats sont obtenus en $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique et α -Tocophérol comme standards [55].

L'activité antioxydant liée au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en Pouvoir Réducteur (PR) à l'aide de la formule suivante :

$$\text{PR} = 100 (\text{Aa}-\text{Ab}) / \text{Aa}$$

D'où :

Aa : Absorbance de l'extrait ;

Ab : Absorbance du blanc [71].

II .5.4. Test du blanchissement de β -carotène

II .5.4.1. Principe

Dans cette méthode, l'activité antioxydant est déterminée en mesurant l'inhibition des composés organiques volatiles et des hydro peroxydes à doubles liaisons conjuguées qui apparaissent lors de l'oxydation de l'acide linoléique.

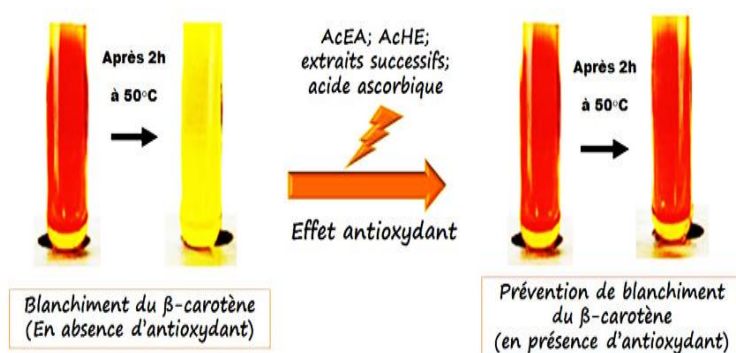


Figure II.14: Blanchiment du β -carotène en présence et en absence d'antioxydant.

II .5.4.2. Mode opératoire

Le test du blanchissement de β -carotène a été effectué selon la méthode d'Aslan ses collaborateurs.

- Un mélange en solution a été préparé comprenant 0,5mg de β -carotène (dissous dans 1 ml de chloroforme) ;
- 25 μ l d'acide linoléique et 200mg de tween 40. Le chloroforme de la solution a été évaporé dans une rotavapor à 40°C ;
- Ensuite 100 ml d'eau distillée saturée d'oxygène est ajouté avec une agitation vigoureuse de l'émulsion résultante ;
- 350 μ l d'extraits concentration constante de 2 g/l ont été ajouté à 2500 μ l de la solution, même procédure pour contrôles (2 g/l) ;
- Les absorbances ont été lue à 490 nm, après 0 heure, 1 h, 2h, 3h, 4h, 6h, 24h, et 48h d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité ;
- Le contrôle négatif est représenté par le méthanol et l'eau distillée ;
- Le contrôle positif est représenté par le BHT.

Le pourcentage d'inhibition des extraits antioxydant est mesuré comme suit :

$$\text{AA\%} = \text{Abs test} / \text{Abs BT} \times 100$$

D'où :

AA% : Le pourcentage de l'activité antioxydant ;

Abs test : Absorbance en présence de l'extrait (test) ;

Abs BHT : Absorbance en présence du contrôle positif BHT [72].



Chapitre III : *Modélisation et docking moléculaire*



Sommaire

- ♦ Modélisation moléculaire.....
- ♦ Méthodes et domaines de la modélisation moléculaire
- ♦ Principe, définition et objectif de docking moléculaire
- ♦ Etapes typiques, types et utilisation
- ♦ Logiciels de docking moléculaire



Ce troisième chapitre détaillera la modélisation moléculaire, leur méthodes et domaines, le docking moléculaire et leur principe, types et outils, avec leur utilisation et logiciel utilisés pour le docking et la modélisation moléculaire.

III.1. Modélisation moléculaire

III.1.1. Définition

La modélisation moléculaire est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules. La taille du système étudié peut aller d'une simple molécule diatomique jusqu'à des macromolécules biologiques de plusieurs dizaines de milliers d'atomes [73].

Elle a pour but de prédire la structure et certaines propriétés chimiques de molécules ou de systèmes de molécules. Elle permet, actuellement, non seulement l'élaboration des mécanismes de complexation et les profils énergétiques mais également de justifier et prédire les conformères les plus stables et les interactions ligands - substrats.

Plusieurs approches ont été élaborées pour réaliser la modélisation moléculaire [74]. Il englobe toutes les méthodes, théoriques et informatiques, utilisées pour modéliser ou imiter le comportement des molécules [75].

III.1.2. Méthodes

Les méthodes les plus répandues et les plus utilisées sont :

- Les méthodes QSAR, QSPR ;
- Les méthodes quantiques (QM) ;
- La dynamique moléculaire (MD) ;
- La mécanique moléculaire (MM) ;
- Le docking moléculaire [74].

III.1.2.1. Méthodes QSAR, QSPR

Une QSAR, QSPR (qualitative structure-activité relationships) / (qualitative structure-property relationships) est un modèle mathématique qui associe un ou plusieurs paramètres quantitatifs dérivés de la structure chimique, à une mesure quantitative d'une propriété ou d'une activité. [76], il est basé sur des méthodes informatiques, celles de modélisations, déjà exploitées dans différents domaines [77].

Leur élaboration mathématique permet de relier les propriétés physicochimiques et les activités biologiques à la structure moléculaire permet, d'une part, d'expliquer l'origine de ces activités/propriétés et, d'autre part, de les prédire pour des molécules pour lesquelles les données expérimentales ne sont pas disponibles [78].

III.1.2.2. Méthodes quantiques (QM)

La mécanique quantique décrit la matière comme un ensemble de noyaux atomiques autour des quels gravitent des électrons, eux-mêmes décrits explicitement par leur probabilité de présence en un point et représentés par des fonctions d'onde [79]. Leur objectif est de déterminer l'énergie et la distribution électronique [80].

En d'autres termes, en appliquant les lois de la mécanique ondulatoire aux électrons, elle permet de déterminer l'état électronique d'un système d'atomes, mais aussi l'ensemble de ses propriétés observables :

- Structurales : géométries, angles, longueurs...
- Energétiques : énergies de liaison, d'excitation...
- Spectroscopiques : fréquences de vibration, spectres UV-visible, IR et micro-onde...
- Electroniques, magnétiques et réactionnelles : barrières d'activation...) [79].

III.1.2.3. Dynamique moléculaire (MD)

La dynamique moléculaire est une méthode de simulation qui prend en compte les interactions entre les molécules et atomes à une température supérieure à 0 K à partir de l'intégration des équations de Newton ou de Hamilton [77]. Pendant une période de temps, permettant aussi une évaluation des mouvements atomiques [81].

Dans le milieu biologique, les protéines sont très flexibles et existent sous plusieurs conformations en équilibre entre elles. Contrairement à la majorité des docking où la protéine est fixe, la dynamique moléculaire permet de tenir compte de cette grande flexibilité de la protéine. Elle peut donc être utilisée pour valider ou affiner une position de docking (complexe ligand/protéine) [82].

III.1.2.4. Mécanique moléculaire (MM)

Est appelée parfois " calcul par champ de force empirique «, elle permet de minimiser l'énergie afin d'obtenir des conformations à basse énergie de notre système moléculaire et de réduire des forces initiales trop grandes qui aboutiront à une trajectoire aberrante [81].

Cette méthode décrit une molécule comme une série de sphères dures et non interpénétrables, reliées entre elles par des forces mécaniques généralement harmoniques : elle est basée sur les lois de la mécanique classique (newtonienne) et l'utilisation d'un champ de force empirique dont les constantes décrivent les interactions entre atomes liés et non liés, obtenues par étalonnage de résultats expérimentaux [77].

III.1.3. Domaines

Il englobe toutes les méthodes, théoriques et informatiques, utilisées pour modéliser ou imiter le comportement des molécules . Les méthodes sont utilisées dans les domaines de la chimie computationnelle , de la conception de médicaments , de la biologie computationnelle et de la science des matériaux .Ils sont et pour étudier la structure, la dynamique, les propriétés de surface et la thermodynamique des systèmes inorganiques, biologiques et polymères.

III.1.3.1. Biologie

Les types d'activité biologique qui ont été étudiés à l'aide de la modélisation moléculaire comprennent le repliement des protéines , la catalyse enzymatique , la stabilité des protéines, les changements de conformation associés à la fonction biomoléculaire et la reconnaissance moléculaire des protéines, de l' ADN et des complexes membranaires [75].

III.1.3.2. Chimie physique

La modélisation moléculaire permet aujourd'hui de simuler les matériaux ou les fluides à l'échelle du nanomètre, voire de l'angström, en s'appuyant sur les lois les plus fondamentales de la mécanique quantique ou de la mécanique statistique. Cette discipline de la chimie physique bénéficie des avancées importantes en matière de puissances de calcul à coût modéré, de l'amélioration des algorithmes, de para métrisations plus précises et de la disponibilité de logiciels simples d'utilisation. Elle répond au besoin de l'interprétation des phénomènes et des expériences à un niveau microscopique [83].

III.1.3.3. Science des matériaux

A science des matériaux la modélisation moléculaire donne un outil supplémentaire pour comprendre le comportement des matériaux. Elles décrivent les matériaux à l'échelle atomique en appliquant les équations de la mécanique newtonienne pour prédire le comportement macroscopique des matériaux à partir des interactions interatomiques. Selon leur degré de raffinement, ces modèles prédisent, entre autres, les phases cristallines, leur stabilité thermique et leur enthalpie de changement de phase ainsi que leur rhéologie (élasticité, déformation plastique) ou des mécanismes d'endommagement et de rupture ou des phénomènes de diffusion [84].

III.1.3.4. Polymères

La simulation moléculaire des polymères tient une place de plus en plus importante tant dans le secteur académique qu'au sein des grands centres industriels de recherche et de

développement. Elle tend ainsi à diminuer les essais-erreurs, fort coûteux aussi bien d'un point de vue financier que d'un point de vue temporel [85].

III.2. Docking moléculaire

III.2.1. Définition et objectif

Le docking (amarrage) moléculaire est une méthode empirique qui permet de prédire l'affinité entre deux molécules [82], et les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure d'une protéine, et optimiser aussi des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur [86].

Leur objectif étant de parvenir à déterminer comment ces molécules vont s'agencer les unes par rapport aux autres [87].

Il y a différents types de docking dont ligand-protéine, protéine-protéine.

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle très important dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques. Connaître la façon dont les protéines interagissent avec d'autres entités biochimiques est une étape essentielle pour comprendre les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées [88].

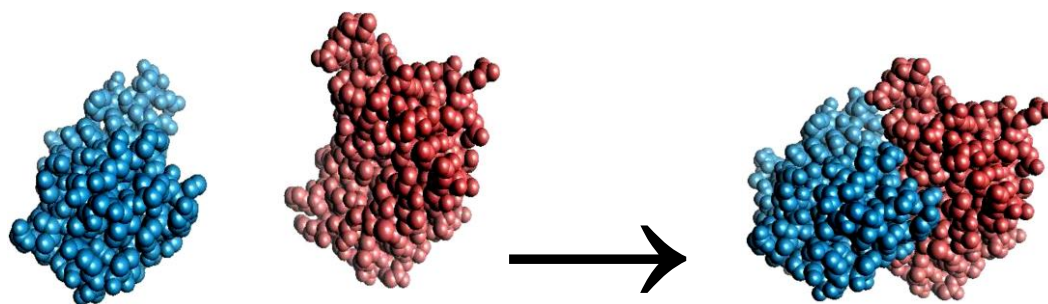


Figure III.1: Représentation schématique du docking de deux molécules.

III.2.2. Principe

Le principe général est, considérant une cible de géométrie donnée, d'essayer de placer le ligand en interaction avec la protéine de la façon la plus favorable possible. Lors du docking, la protéine cible est généralement figée alors qu'une certaine flexibilité est attribuée au ligand (angle de torsion).

Il existe de nombreux logiciels de docking, qu'on peut répartir en deux catégories selon la méthode utilisée : la simulation de trajectoire et l'ajustement de fragments.

- A partir d'une position initiale aléatoire, la simulation de trajectoire consiste à Explorer plusieurs positions (avec différentes conformations du ligand) par évaluation de l'énergie d'interaction ligand/protéine. La meilleure position est celle qui est la plus basse en énergie, donc correspond au complexe ligand/protéine le plus stable ;
- La seconde approche, ajustement de fragments, est basée sur la complémentarité des formes. Dans cette méthode, le ligand est décomposé en plusieurs fragments puis reconstruit dans le site actif, en essayant de faire correspondre les géométries et les fonctions chimiques ;
- Cette méthode est beaucoup plus rapide que la simulation de trajectoire et permet généralement le criblage rapide de vastes bibliothèques de molécules ;
- La méthode par simulation de trajectoire est plus lente mais prend mieux en compte la flexibilité du ligand et permet l'exploration de régions plus vastes [82].

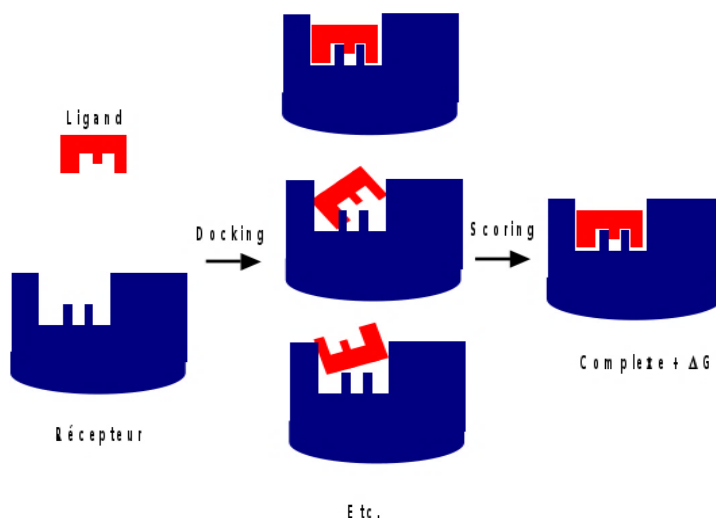


Figure III.2: Stimulation du docking et scoring.

III.2.3. Etapes

D'après Halperin et autres, le docking est un terme utilisé pour des schémas de calcul qui essaient de trouver le « meilleur » correspondance entre deux molécules : un récepteur et un ligand [89].

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring :

- Le docking (la première étape) : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables [80] ;
- Le scoring (la deuxième) : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [90].

III.2.4. Etapes typiques

Le processus de docking moléculaire consiste à faire interagir un ligand avec le récepteur (généralement de nature protéique). La technique de docking comprend quatre étapes principales [91].

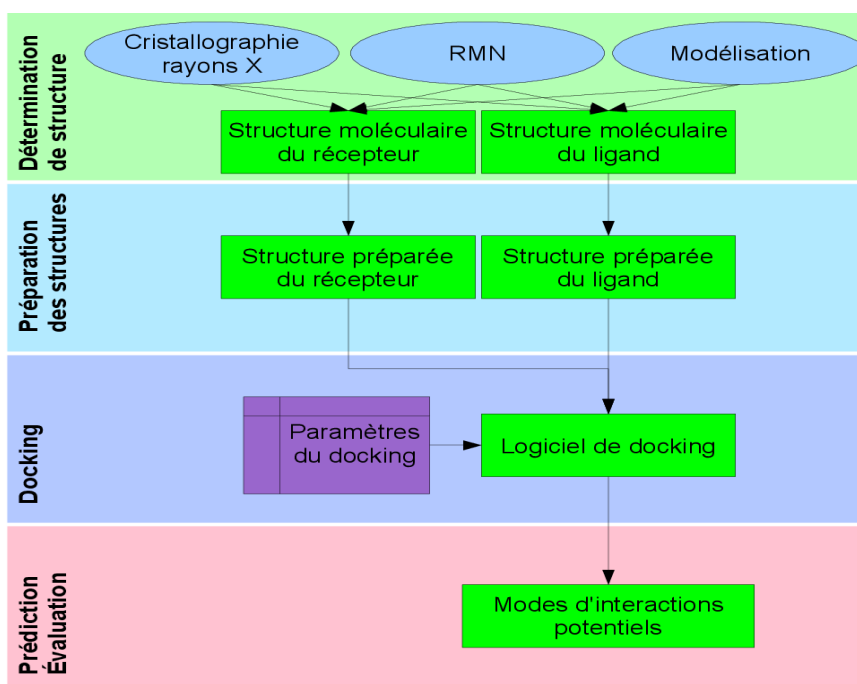


Figure III.3: Étapes typiques d'un docking.

III.2.5. Types

III.2.5.1. Docking rigide

La cible et le ligand sont considérés comme rigides [92].

Il consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte [73].

Dans le cas des méthodes de docking rigide, la recherche de la pose optimale se limite au positionnement [88].

III.2.5.2. Docking flexible

Le ligand est traité comme flexible et la cible est partiellement flexible [92].

Il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités [73].

Il existe plusieurs types d'algorithmes pour le traitement de la flexibilité du ligand : les méthodes systématiques (fragmentation/reconstruction), les méthodes aléatoires, et les méthodes de simulation (dynamique moléculaire) [88].

III.2.5.3. Docking semi-flexible

Dans ce cadre le ligand flexible et la cible est rigide [92]. La conformation du ligand est échantillonnée selon des techniques variées, incluant les algorithmes génétiques, les méthodes géométriques comme la construction incrémentale, les algorithmes d'auto-organisation et les simulations Monte Carlo [93].

III.2.6. Outils

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique (protéine).

III.2.6.1. Ligand

En biologie, un ligand (du latin *ligandum*, liant) est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions.

III.2.6.2. Récepteur

Est macromoléculaire étant le plus souvent une protéine ; pour l'obtention des récepteurs, on utilise les structures 3D des protéines qui sont accessibles gratuitement dans la banque de donnée PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN) [90].

III.2.7. Principaux problèmes

Dans la biologie moléculaire, il y a deux problèmes principaux dans le docking : Le docking ligand- protéine et le docking protéine- protéine.

III.2.7.1. Docking Ligand- Protéine

Ce problème nécessite une grande molécule (la protéine est aussi appelée « le récepteur ») et une petite molécule (le ligand) et il est très utile dans le développement de médicaments.

Ce problème ressemble à la situation de « la clé dans la serrure », quand le ligand est amarré dans la cavité de la protéine).

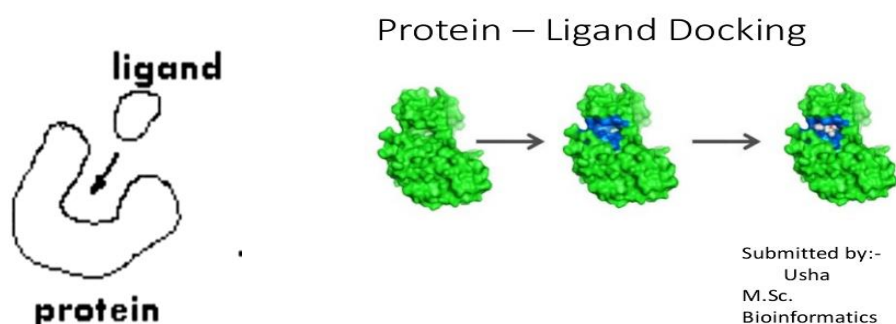


Figure III.4: Le docking ligand protéine.

III.2.7.2. Docking protéine- protéine

Ce problème nécessite deux protéines approximativement de même taille. Donc, souvent le site de fixation est une surface plus planaire que dans le docking ligand- protéine, et les cas où le docking se produit quand une des molécules est située à l'intérieur d'une cavité de l'autre molécule, sont très rare [87].

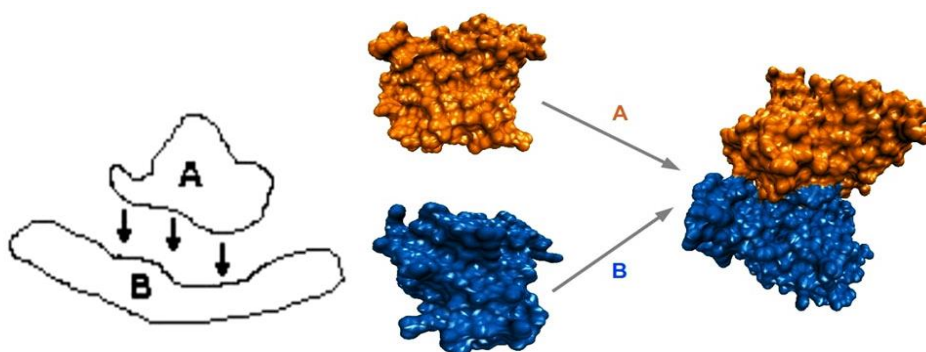


Figure III.5: Le docking protéine- protéine.

III.2.8. Utilisations

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [94].

Il y a deux principales applications au programme de docking. La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur [95].

Il est actuellement très sollicité dans la recherche de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux afin d'identifier une molécule pouvant avoir une forte activité sur une protéine cible ou au contraire d'identifier la cible d'une molécule ayant des activités biologiques intéressantes.

D'autres parts, lorsque la structure tridimensionnelle d'une protéine cible est définie, le docking permet de mettre en évidence les régions et les résidus à explorer pour optimiser l'affinité d'un ligand avec cette cible. Ainsi, il est également utilisé pour optimiser la sélectivité d'une molécule entre deux ou plusieurs protéines [82].

III.2.9. Logiciels

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles, Ils permettent notamment un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés. Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques (Algorithme génétique, Recuit Simulé...), leurs protocoles sont composés de 2 étapes essentielles Docking / Scoring [90].

L'application des programmes d'amarrage permet de conduire à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives. Parmi ces programmes d'amarrage moléculaire on peut trouver : comme DOCK, AutoDock, GOLD, MOE, Flex, ou bien UCSF Chimera, Molegro, Virtuel Docker (MVD)..... [96]. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM [90].

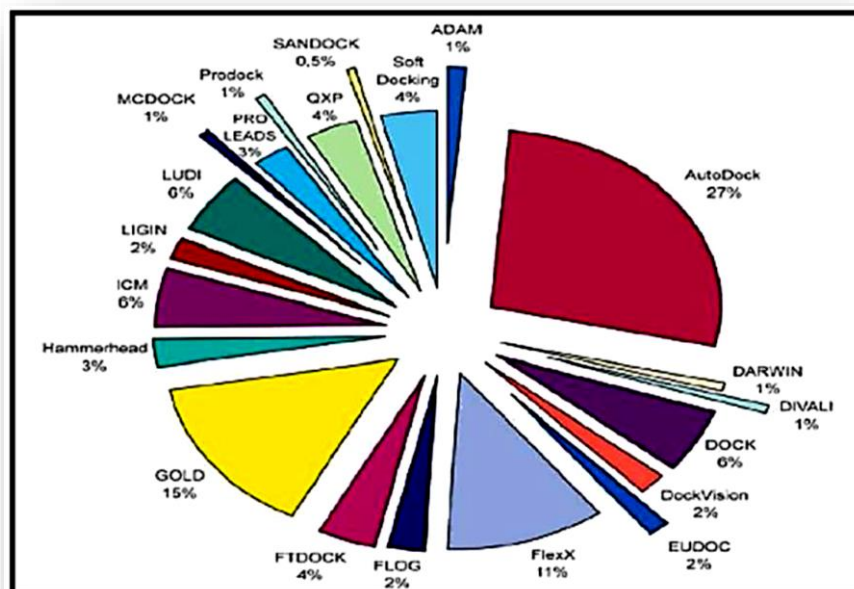


Figure III.6: Comparaison des programmes de docking les plus cités.

Tableau III.1: Principaux programmes du docking moléculaire.

Nom	Editeur	Site Internet
Auto Dock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide	Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.htm

III.2.9.1. AutoDock

Est un programme utilisé pour le docking protéine-ligand. Il s'agit d'un ensemble de procédures, dont le but de prédire l'interaction de petites molécules, telles que des médicaments candidats « ligand » ou des substrats à un récepteur dont la structure 3D est connue, [97] et la conformation la plus favorable d'un ligand au sien de son récepteur [98].

Leurs distributions actuelles se composent de deux générations de logiciels : AutoDock 4 et Auto Dock Vina [97].

Ce logiciel est distribué avec une suite d'outils graphiques pour préparer les expériences de criblage virtuel, ainsi que plusieurs tutoriels, améliorant ainsi son accessibilité [98].

Il a des pages Web plus instructives que ses concurrents en raison de sa licence académique gratuite [89].

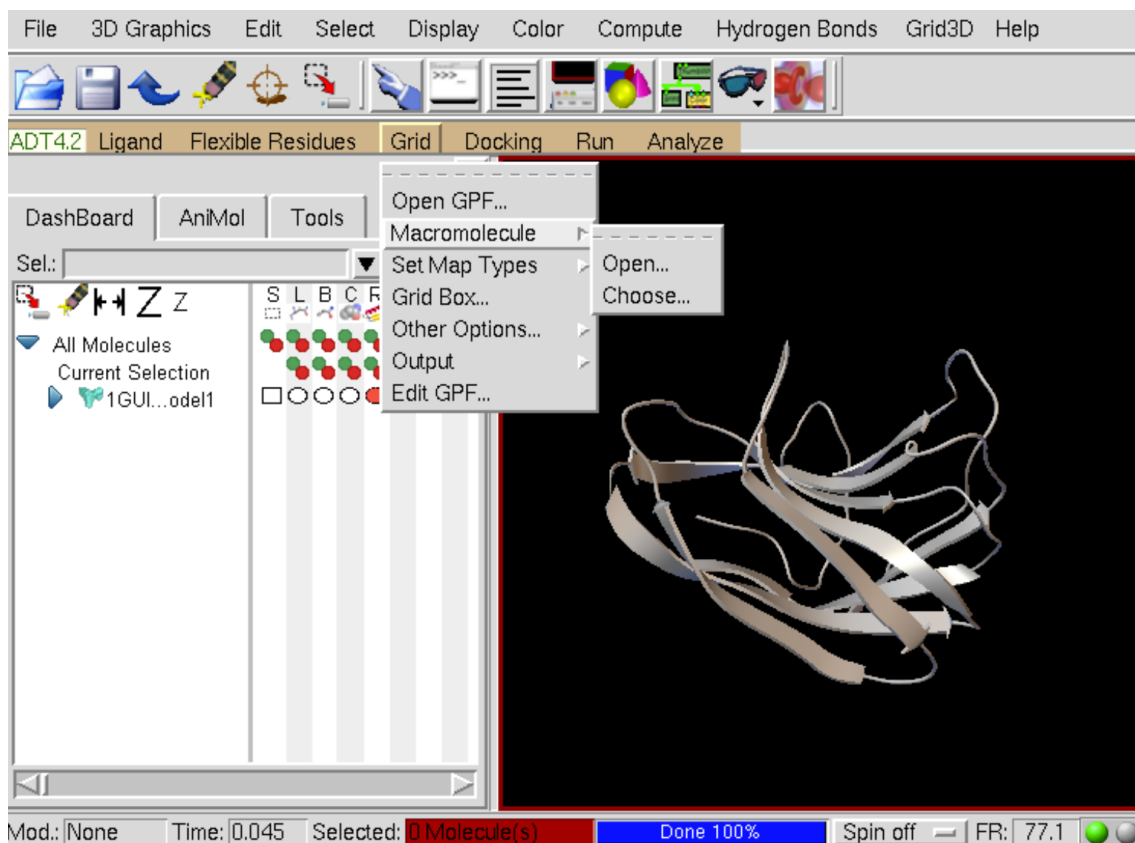


Figure III.7: Interface de logiciel AutoDock.

III.2.9.2. FlexX

Est un programme bio-informatique pour prédire l'affinité et le mode d'interaction protéine-ligand. Pour une cible protéique donnée et un ligand, FlexX estime la géométrie du complexe formé ainsi que la force de l'interaction.

Lors de docking, il tient compte de trois paramètres importants. La flexibilité conformationnelle du ligand, les types de liaisons ligand-récepteur et enfin la fonction de score [99].

III.2.9.3. MOE (Molecular Operating Environment)

Est un programme de modélisation moléculaire spécialement conçu pour traiter de grandes molécules biologiques, il est conçu pour utiliser plusieurs champs de force différents [100].

C'est est une plate-forme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation et les simulations, ainsi que le développement de méthodologies, dans un seul package.

Les principaux domaines d'application du MOE comprennent la conception basée sur la structure, la conception basée sur les fragments , les applications de chimie médicinale, les applications biologiques, la modélisation des protéines et des anticorps , la modélisation et les simulations moléculaires ... [101].

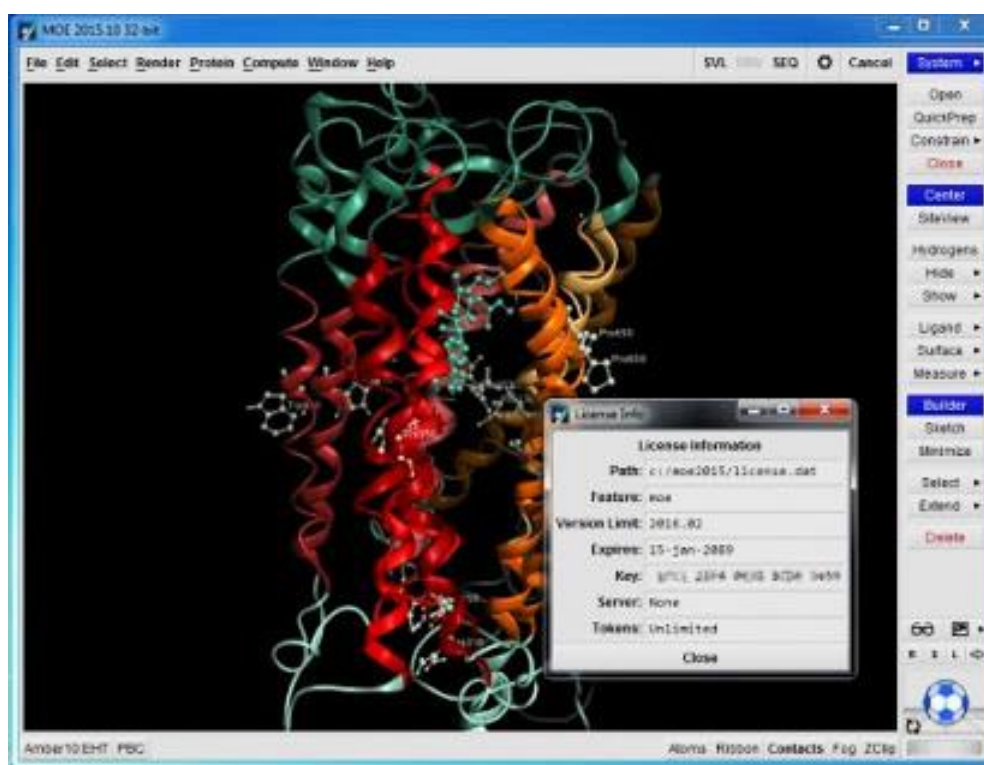


Figure III.8: logiciel de MOE.

III.2.9.4. GOLD (Genetic Optimization for Ligand Docking)

Le programme commercial de docking GOLD développé par “Cambridge Crystallographic Data Center” ([http : //www.ccdc.cam.ac.uk/](http://www.ccdc.cam.ac.uk/)) utilise un algorithme génétique [102].

Il est l'un des programmes de docking les plus réussis et largement utilisés [103], est un algorithme génétique pour l'amarrage flexible ligands en sites de liaison aux protéines.

Il a été largement testé et a montré d'excellentes performances pour la prédiction de pose et de bons résultats pour le dépistage virtuel [104].

Il est basé sur trois parties majeures : un algorithme génétique pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site actif et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison [103].

III.2.9.5. Glide

Le programme commercial de docking Glide développé par la société Schrödinger (www.schrodinger.com/Glide/) utilise un algorithme de docking ayant pour principe une élimination rapide de nombreuses conformations du ligand dont les interactions avec la protéine ne sont pas favorables [102].

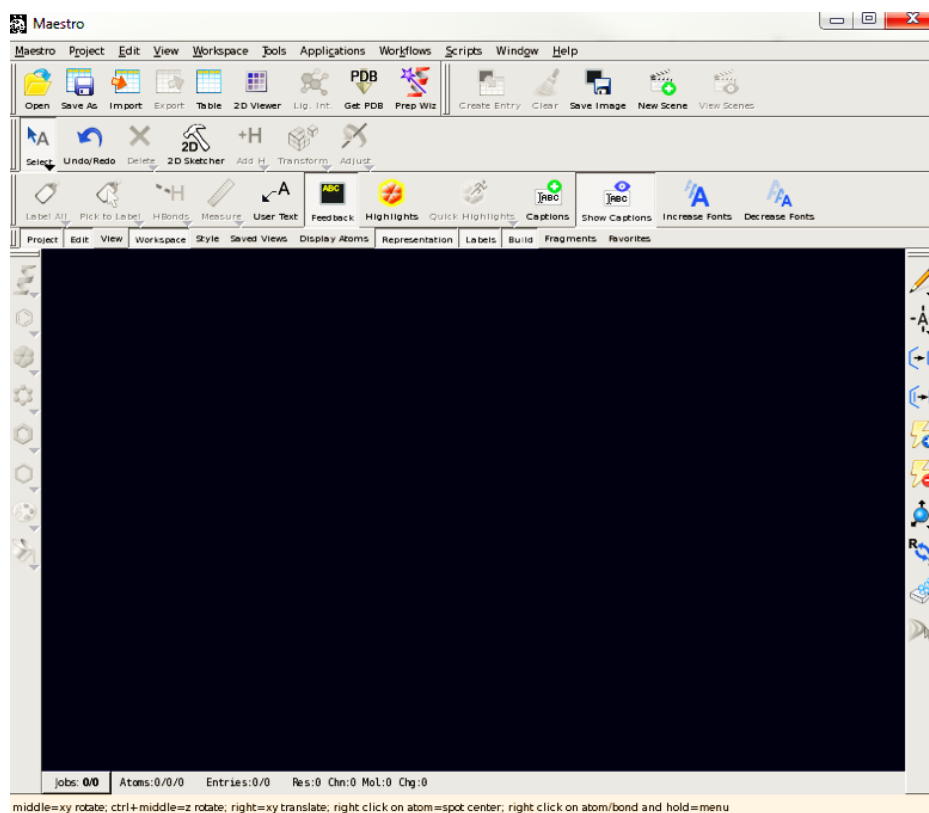


Figure III.9: Interface de logiciel glide.

III.2.10. Banques de données

III.2.10.1. PDB (Protein Data Bank)

Est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques : protéines essentiellement, et acides nucléiques [96]. Ces molécules proviennent de l'ensemble des règnes biologiques Les structures tridimensionnelles

sont issues principalement d'analyses par diffraction des rayons X, les autres par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou de modélisations moléculaires [89].

The screenshot shows the RCSB PDB website interface for protein 1FIQ. The top navigation bar includes links for Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, and More. The main header features the PDB logo and a search bar. Below the header, there are tabs for Structure Summary, 3D View, Annotations, Sequence, Sequence Similarity, Structure Similarity, Experiment, and Literature. The central content area displays the protein structure (Biological Assembly 1) and detailed information for 1FIQ, including its classification as an oxidoreductase, deposition and release dates, authors, and organism (Bos taurus). An experimental data snapshot indicates the method is X-ray diffraction with a resolution of 2.5 Å and an R-value free of 0.275. A wwPDB validation table shows metrics like Clashscore (19) and Ramachandran outliers (1.5%).

Figure III.10: Interface de protéine Data Bank.

III.2.10.2. Pubchem

C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (le National Center for Biotechnology Information). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux de notre ligand [90].

The screenshot shows the PubChem website interface. The top navigation bar includes the NIH National Library of Medicine logo and the PubChem logo. Below the header, there are links for About, Blog, Submit, and Contact. The main content area features a large search bar with the text "Explore Chemistry" and "Quickly find chemical information from authoritative sources". Below the search bar, there are suggestions for search terms: Try covid-19, aspirin, EGFR, C9H8O4, 57-27-2, C1=CC=C(C=C1)C=O, and InChI=1S/C3H6O/c1-3(2)/4/h1-2H3. A search button is located to the right of the search bar. Below the search bar, there are radio buttons for "Use Entrez", "Compounds", "Substances", and "BioAssays".

Figure III.11: Interface pour la recherche de sous-structure dans PubChem.



Chapitre IV : *Evaluation de l'activité antioxydante par docking moléculaire*



Sommaire

- ◆ Interaction ligand-récepteur
- ◆ Méthodologie des calculs
- ◆ Résultats
- ◆ Discussion



Dans ce chapitre on a présenté l'interaction ligand-récepteur, et ces différentes types des interaction et méthodologie des calculs ; la préparation de l'enzyme et du ligand et choix de la zone de docking, et finalement les résultats et la discussion.

IV.1. Interaction ligand-récepteur

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre les molécules. De même, la découverte de nouvelles molécules activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective.

IV.1.1. Types d'interactions

IV.1.1.1. Interactions électrostatiques

Certains acides aminés peuvent être chargés positivement ou négativement, ce qui donne lieu à des interactions électrostatiques.

Ces interactions électrostatiques agissent à "longues" distances (autour de 10 Å), entre des groupes d'atomes électriquement chargés.

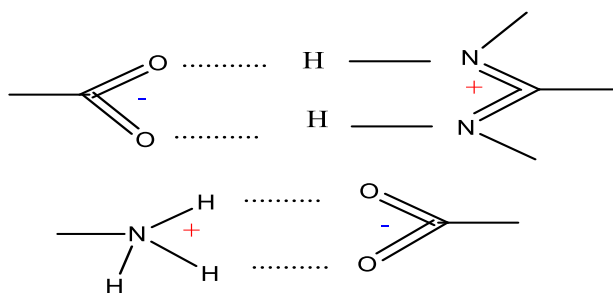


Figure IV.1: Interactions électrostatiques.

IV.1.1.2. Interaction hydrogène

La liaison hydrogène est une liaison chimique non covalente de type dipôle-dipôle entre deux molécules ou entre deux groupements d'une molécule. Elle consiste essentiellement dans l'interaction entre deux molécules dont l'une possède un atome donneur d'électrons (O, N, F) et l'autre possède un atome H accepteur d'électrons (OH, NH₂). Ce type de liaison résulte d'un transfert partiel d'un électron célibataire sur le groupement H. Les liaisons hydrogène peuvent être intramoléculaires ou intermoléculaires⁵¹. Cette liaison est illustrée ci-dessous par des exemples.

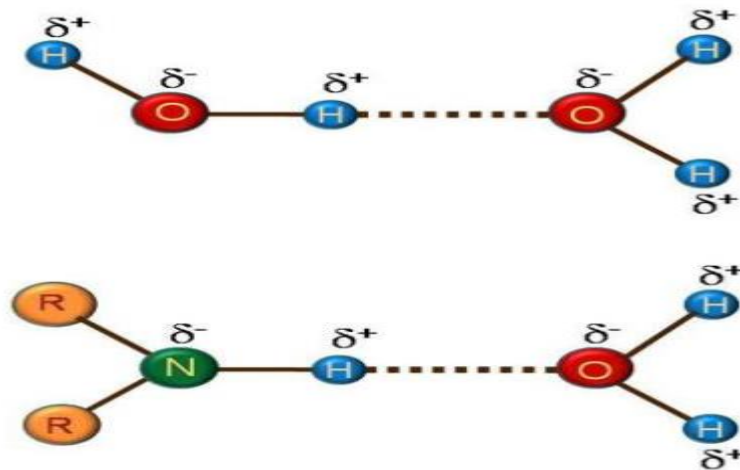


Figure IV.3: Interaction hydrogène.

IV.1.1.3. Interactions de Van Der Walls

Ce sont des interactions entre atomes, molécules, ou entre une molécule et un cristal. Ces interactions Van Der Walls s'appliquent à très courte distance et ne concernent donc que les atomes de surface. Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice.

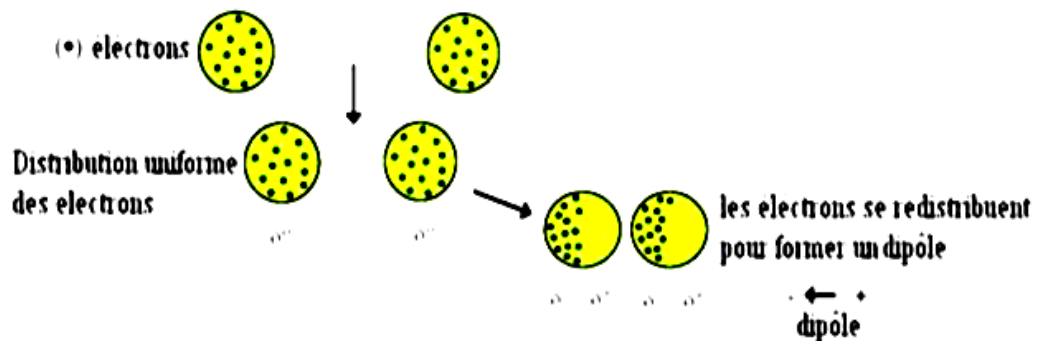


Figure IV.4: Interactions de Van Der Walls.

IV.1.1.4. Interactions hydrophobes

Les acides aminés dont le radical est hydrophobe et apolaire ont la propriété d'empêcher la formation des liaisons hydrogène entre les molécules d'eau. Ils forment dans la structure des protéines des zones hydrophobes où les molécules d'eau ne peuvent échanger aucune liaison avec les radicaux d'acides aminés.

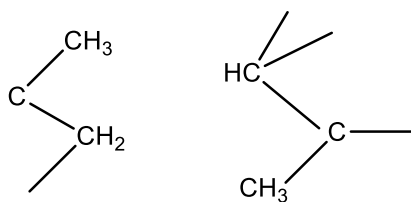


Figure IV.5: Interactions hydrophobes.

IV.2. Méthodologie des calculs

Notre étude portera sur l'interaction entre le site actif de l'enzyme 2HCK et les inhibiteurs pour former un complexe stable est réalisée à l'aide du logiciel "MOE".

IV.2.1. Préparation de l'enzyme

Le téléchargement de l'enzyme CDK2 a été fait à partir de la base de données Book haven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb) avec le code d'accès (2HCK). La structure tridimensionnelle (structure 3D) de L'enzyme essentiellement déterminées par diffraction en rayon X avec une résolution 32 Å. Ce récepteur est un monomère de protéine avec 281 résidus et 2250 atomes, il est cocrystallisée a avec l'inhibiteur 3, 5, 7,3',4'-pentahydroxyflavone (C₁₅ H₁₀ O₇). On a éliminé les molécules d'eau et les cofacteurs pour obtenir un modèle simple de l'enzyme.

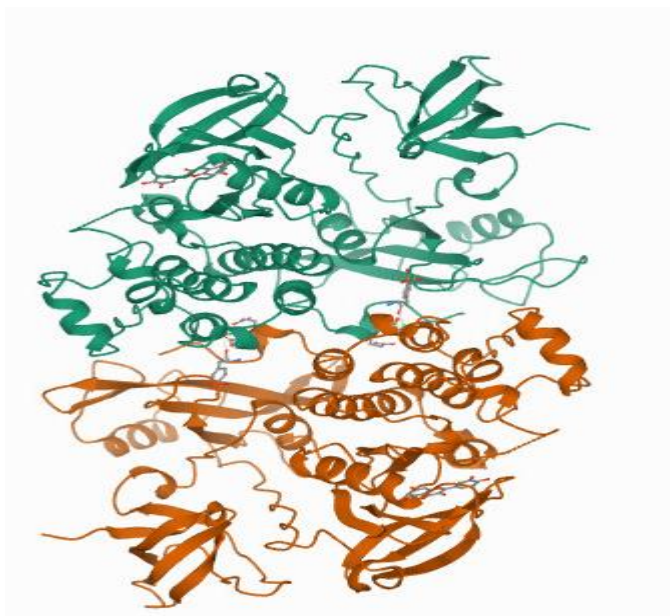


Figure IV.6: Structure de l'enzyme Code PDB (CDK2).

IV.2.2. Préparation du ligand

Les molécules utilisées dans ce travail est l'éphédrine. Leurs structures sont représentées dans la figure IV.7 à l'aide de logiciel Chem draw ultra (12.0), Les molécules ainsi obtenues sont enregistrées au format mol, en utilisant la mécanique moléculaire (MM+) ou le champ de force. Le modèle MM+ est basé sur une approche semi-empirique, dont l'objectif est d'optimiser la géométrie de la molécule et de déterminer l'énergie et la distribution électronique.

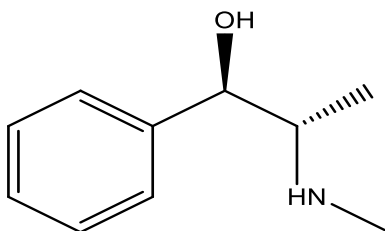


Figure IV.7: L'Ephédrine.

La molécule de référence pour comparer les résultats calculés est le Trolox :

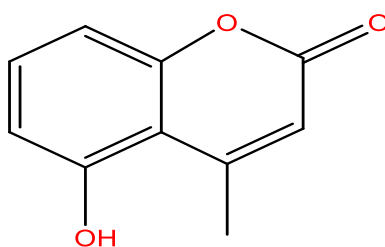


Figure IV.8: Le trolox.

IV.2.3. Choix de la zone de docking

Les simulations de fixation du ligand sur le récepteur ont été faites sur le Ligand Pocket.

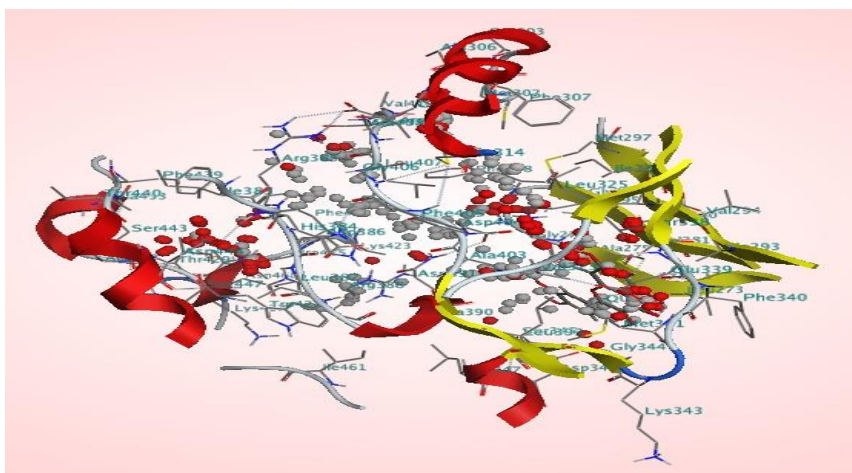


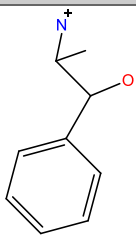
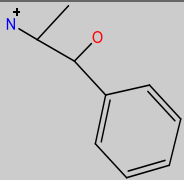
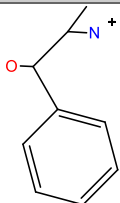
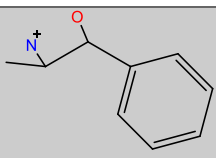
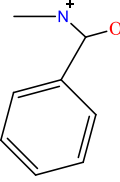
Figure IV.9: Ligand Pocket.

IV.3. Résultats

IV.3.1. Interaction ligand sélectionné récepteur

Les cinq premières interactions Ephédrine-enzyme CDK2 sont comme suit :

Tableau IV.1: Les énergies de cinq meilleures poses obtenues pour les interactions Ephédrine- enzyme CDK2.

	Mol	E	RMSD
1		-4.9598	0.3192
2		-4.6111	2.6167
3		-4.4617	1.1521
4		-4.3301	1.8161
5		-4.2445	1.9395

Le mode interaction Ephedrine- enzyme CDK2 est illustrés dans la suivante figure.

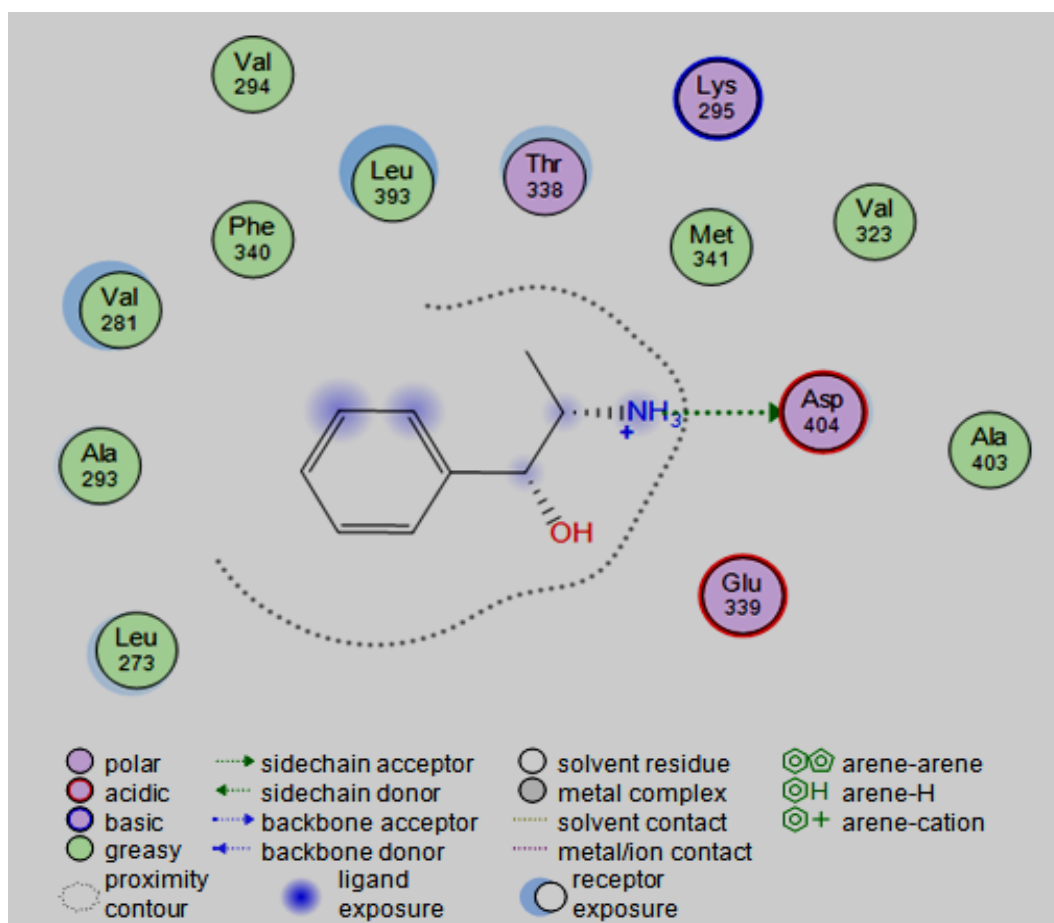
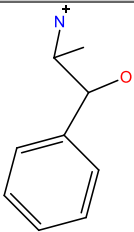
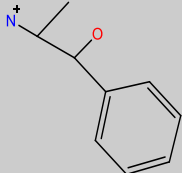
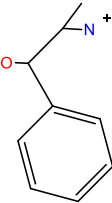
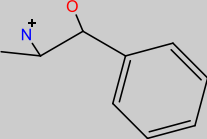
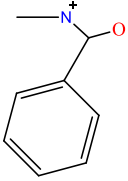


Figure IV. 10 : Mode interaction Ephedrine-enzyme CDK2.

IV.3.2. Interaction ligand de référence récepteur

Les cinq premières interactions Torolox-enzyme CDK2 sont comme suit :

Tableau IV.2: Les énergies de cinq meilleures poses obtenues pour les interactions Torolox-enzyme CDK2.

	Mol	E	RMSD
1		-5.6779	1.3415
2		-5.5028	1.7878
3		-5.1621	1.8144
4		-5.0393	3.6532
5		-4.9958	2.1621

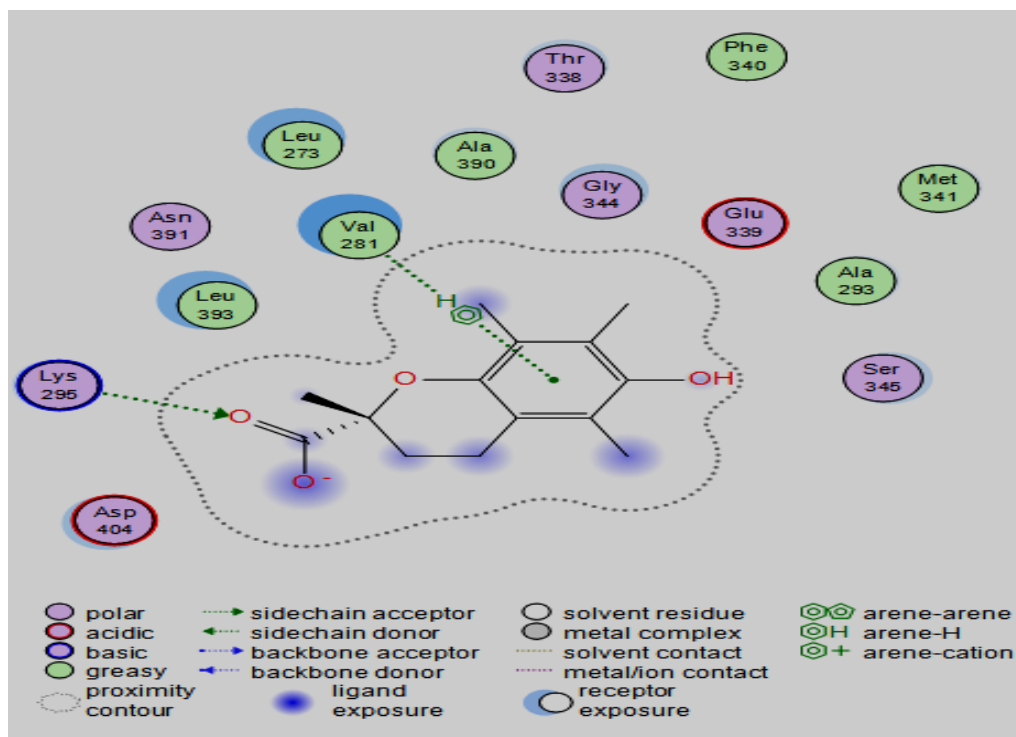


Figure IV.11: Mode interactions Torolox-enzyme CDK2.

IV.4. Discussion

IV 4.1. Validation du protocole de docking

Nous avons évalués la précision de positionnement de la meilleure pose (top-scoring) du ligand éphédrine. La meilleure est choisie selon l'énergie totale d'interaction (MolDock Score), la plus basse a une valeur très acceptable de -4.95 Kcal /mol par rapport au ligand de référence qui présente une valeur de 5.76 Kcal /mol.

Pour valider notre protocole du docking, nous avons verifié le « RMSD » l'écart quadratique moyen « RMSD » (RootMean Square Deviation), qui est une mesure géométrique de la distance entre les positions atomiques du ligand de référence co-cristallisé expérimentalement avec les coordonnées et celles de la structure prédite ligand (pose) repositionnée après application du protocole du docking dans le site d'interaction. L'écart RMSD est donné par l'équation suivante :

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_{cristal_i} - x_{pose_i})^2 + (y_{cristal_i} - y_{pose_i})^2 + (z_{cristal_i} - z_{pose_i})^2}$$

Avec :

n: Le nombre totale d'atomes lourds.

($x(\text{cristal } i)$, $y(\text{cristal } i)$, $z(\text{cristal } i)$) ; ($x(\text{pose } i)$, $y(\text{pose } i)$, $z(\text{pose } i)$)): sont respectivement les coordonnées cartésiennes des atomes identiques de la structure expérimentale et de la structure prédite.

Il est considéré que les meilleurs protocoles du docking génèrent des valeurs RMSD inférieure à 2,0Å, cette valeur est un seuil au-dessus duquel la précision du positionnement est jugée mauvaise, entraînant l'invalidation du protocole.

La simulation du docking a généré un RMSD équivalent à 1.34 Å, inférieur au seuil, ce qui indique que notre protocole a réussi et qu'il est applicable pour cette étude.

En inspectant visuellement le site d'interaction du complexe cristallographique CDK2, le miglitol montre une bonne affinité avec les résidus du site actif et notamment les résidus catalytiques. Cette affinité qui est à l'origine de son potentiel inhibiteur, se traduit par la formation de liaisons hydrogène intéressantes avec les résidus Asp404.



CONCLUSION GENERALE



Ces dernières années, de nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes, qui sont considérés comme de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit.

Les plantes médicinales ou les extraits des plantes sont utilisées dans le traitement de nombreuses maladies, sont aussi utilisées dans les préparations pharmaceutiques.

Le développement de nouvelles molécules antioxydants dans le domaine de la santé est tributaire de l'avancée des connaissances sur le rôle du stress oxydant dans la physiopathologie de certaines maladies telles que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson. Tous les domaines scientifiques sont concernés et doivent travailler conjointement, afin de prédire une efficacité maximum mais également anticiper les effets secondaires. La recherche en nouveaux antioxydants est donc plus que jamais un problème d'actualité

Notre travail est consacré à une modélisation moléculaire et à l'étude de l'activité antioxydant des extraits d'*Ephédra alata*, une herbe appartenant à la famille des Ephedraceae contient spécialement l'éphédrine et le pseudo éphédrine et utilisée pour traiter les reins, œdème, fièvre, grippe, maux de tête, les bronches, le diabète et le cancer... , et une source naturelle de nombreux phyto-constituants et des polyphénols qui prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle antioxydant naturel suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement de plusieurs maladies.

On a utilisé dans ce travail l'un des programmes de docking et de la modélisation moléculaire : le MOE qui est utilisé en chimie médicinale et comprennent la conception basée sur la structure, les applications biologiques, la modélisation des protéines

Le teste de fiabilité de notre docking a été réalisé par le RMSD, ce dernier montre de valeurs de : 0.3192- 1.3415.

La structure entre le ligand sélectionné (éphédrine) et l'enzyme CDK2 possède un niveau énergétique acceptable de -4.9598 Kcal / mol, en comparaison au Trolox (référence) qui a une valeur de -5.6779.



BIBLIOGRAPHIE



- [1] - **Mezouar. D**, « Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques : antioxydants, antitumorales, antimicrobiennes et antiparasitaires de *Berberis vulgaris* » Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd –Tlemcen, 2016.
- [2] -**Okada. T, Mikag E. M, Sekita. S**, « Molecular characterization of the phenylalanine Ammonia-lyase from *Ephedra sinica* », Biol. Pharm., Vol. 31, No. 12, 2008.
- [3]- **Chabrier. J**, « Plantes Médicinales Et Formes D'utilisation En Phytothérapie Tothérapie » Thèse de doctorat, Université Henri Poincare - Nancy 1, 2010.
- [4]- **Bennacef. R, Brahimi. T**, « Dosage des composés phénoliques dans les extraits de *Peganum harmala* », Mémoire de master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahim - B.B.A, 2019.
- [5]- **Zbala .H, Belarbi. Y**, « Effet de séchage des plantes médicinales de la famille des Lamiacées (Romarin) sur l'activité antibactérienne », Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 2018.
- [6]- **Larfi. F, Khiri. A**, « Optimisation des conditions d'extraction de polyphénols du thé vert utilisé comme agent antibactérien », Mémoire de master, Université A. M. Oulhadj – Bouira, 2015.
- [7] - **Limonier. A**, « La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie », Thèse de doctorat, Université Aix Marseille, 2018.
- [8] - **Bouziane. Z**, « Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales de la région d'Azail (Tlemcen –Algérie), Mémoire de master, Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen, 2017.
- [9] - **Adouane. S**, « Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès », mémoire de magistère, Université Mohamed Khider – Biskra, 2015.
- [10] - **Rahou .H**, « Estimation quantitative des polyphénols totaux et évaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de *Lavandula* de la région de Tlemcen », Mémoire de master en biologie, Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen, 2017.
- [11] - **Bellebcir. L**, « Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales », Mémoire de master, Université Mentouri -

Constantine,2007.

[12] - **Talbi. M**, « Dosage des polyphénols de la plante d'Artemisia Campestris. L par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l'activité biologique », Mémoire de magistère, Université d'Oran 1 Ahmed Benbella, 2015.

[13] - **Bouchouka. E**, « Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes » Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar –Annaba, 2016.

[14] - **Achat.S**, « Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques », Thèse de doctorat, Université A. Mira-Bejaia, 2013.

[15] - **Rira. M**, « Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins », Mémoire de magister en : biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri –Constantine, 2006.

[16]- **Rira.M**, « Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical », Thèse de doctorat, Université Clermont Auvergne, 2019.

[17]- **Boudjemai. W**, « Contribution à l'étude phytochimique des métabolites secondaires (tanin, flavonoïdes et alcaloïdes) des racines de *Carlina acaulis* L. (Tafgha) de la région de Tlemcen », Mémoire de master, Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, 2015/2016.

[18] - **Nouioua.W**, « Ecologie, chorologie et phytochimie et activité biologique d'une Paeoniaceae endémique algérienne *Paeonia mascula* (L.) Mill. », Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1,2017.

[19] - **Laifaoui. A, Aissaoui .M**, « Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région sud de la wilaya de Bouira (Sour Elghozlane et Bordj Oukhriss) », Mémoire de magistère, Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira, 2019.

[20] - **Nonviho.G**, « Valorisation chimique de la biomasse oléagineuse d'origine béninoise : *Siphonolobus lanceolatus* et *Carapaprocera* » Thèse de doctorat, Université d'Abomey Calavi Université de Lorraine, 2015.

- [21] - **Donatien. K**, « enquête ethnobotanique de six plantes Médicinales maliennes extraction, Identification d'alcaloïdes - Caractérisation, quantification de Polyphénols : etude de leur activité antioxydante », Thèse de doctorat, Université de Bamako, 2008.
- [22] - **Belbache. H**, « Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de centaureaparvifloradesf », Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine.
- [23] - **Zitouni .M,Bendiaf .A**, «Etude ethnobotanique sur l'utilisation de cinq plantes toxiques dans la région de ,Bordj Bou Arréridj », Mémoire de master , Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A, 2019.
- [24] - **Belgacemi .M, DOU. A**, « Etude des effets secondaires au cours d'un traitement ethnobotanique par Ephedraalata DC », Mémoire de mastère, Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued ,2018
- [25] - **Guaham. I, Guaham. N**, « Enquête ethno pharmacologique des plantes médicinales utilisées par les patients atteints du cancer dans l'Est algérien couplée à une étude phytochimique de la plante Ephédra alata », Mémoire de master Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel, 2017.
- [26] - **Boubekria.A ,Ababou.M, Kartit.N, Doghmi.Net al**, « Intoxication à l'*Ephédra alata* (à propos d'un cas) », PAMJ Clinical Medicine,2020.
- [27]- *Ephédra alta*, https://en.wikipedia.org/wiki/Ephedra_alata,consulté le : 17/06/21.
- [28] - **Gouasmia.S, Zoubiri .F**, « Étude de l'effet antioxydant de l'espèce Ephédra Alataalenda de la région d'El Oued chez les rats wistar albinos exposés à la deltaméthrine », Mémoire de master, Univerité Echahid Hamma Lakhdar -El Oued, 2017.
- [29] - **Yahaioui. A,Silat L**, « Contribution à l'étude des extraits de l'espèce Ephédra alataAlanda de la région de Sigus », Mémoire de master , Université Larbi Ben Mhidi Oum El -Bouaghi,2017
- [30]- *Ephédra alata*, « <https://www.vitamedz.com/fr/Algerie/ephedra-alata-309997-Articles-0-198-1.html> »,consulté le 07/06/2021.

[31] - **Boulberhane. S, Nabti. H**, « Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antifongique des deux plantes : *Artemisia compestris* L. et *Ephedra alata alenda* Staph », Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine, 2017.

[32] - **HADJADJ.K, Belkacem.B , GUERINE.D,Guerine.L** «Importance thérapeutique de la plante *ephedra alata subsp. alenda* dans la médecine traditionnelle pour la population de la région de guettara (Djelfa, Algérie)», *Lejeunia, Revue de Botanique*, N° 201 ,2020.

[33] - **Houba. Z, Himeur. H**, « Contribution à l'étude phytochimique et biochimique (In vitro et In vivo) des cônes femelles d'*Ephedra alata* DC, de la région d'Oued Souf », Mémoire de master, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED ,2018.

[34] - **Atatra. A, Bouhdiche. L**, « Etude phytochimique et Evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'une plante médicinale : *Ephedra alata alenda* », Mémoire de master Université 8 Mai 1945 Guelma, 2018.

[35]- Importance thérapeutique de la plante *éphedra alata subsp alenda* dans la médecine traditionnelle pour la population de la région deguettara (djelfa, algérie), « <https://popups.uliege.be/0457-4184/index.php?id=2026> » ,consultéle 10/04/2021.

[36] - **Digheche .s,khalfallah .m**, « Evaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits et des alcaloïdes totaux de l'*Ephedra alata alanda* de la région de Oued Souf », Mémoire de master,Université Mohamed Khider de Biskra , 2019.

[37] -

Ephedra, « https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=ephedra_ps », consulté le 08/05/2021.

[38]- **Bourgou. S, Ezzine .Y, Ben Mansour .R, Dakhlaoui .S et al**,« Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian *Ephedra* species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*», *South African Journal of Botany*,2020.

[39] - **Barkate. A, Derdouri. R**, « Etude de l'activité antioxydant in vitro et les propriétés immunitaires des lectines extraites des plantes d'origine Algérien » Mémoire de masterUniversité des Frères Mentouri Constantine, 2016.

- [40]- Ephédrine, « <https://fr.wikipedia.org/wiki/%C3%89ph%C3%A9drine> », Consulter le : 19/05/2021.
- [41] - **Sénéchaud .C**, « Ephédrine », BulletinSmur, N° : 04,04/2008.
- [42] - **Assouly .M, Dally. S**, « Le ma-huang », Le Courier de Addictions, N°15.
- [43] - **Dianzitoukoulou M, Nsonde N, Vannier Be, Muller. J et al**, « Activités antiproliférative et antiradicalaire d'extraits Aqueux de quatre plantes médicinales Congolaises »,European Scientific Journal, Vol.15, No.30,2019.
- [44] - **Mohamed. Y**, « Etude des propriétés antiradicalaire et Antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de salvadorapersica l. (salvadoraceae) » Thèse de doctorat, Université De Ouagadougou, 2011.
- [45] - **H. Benboubker, S. Philippot1, G. Kirsch1, L. Aarab et al**, « Activités antioxydantes et cytoprotectrices de substances naturelles : application en chimiothérapie », Poster 243, Laboratoire d'ingénierie moléculaire et biochimie pharmacologique, Université Paul Verlaine, CNRS 2843, UFR SciFA, Campus Bridoux, 57070 Metz – 2 Laboratoire de Molécules Bioactives, Faculté de Sciences et Techniques, BP 2202, Route d'Immouzer, Fès, Maroc
- [46] - **Guillouty. A**, « Plantes médicinales et antioxydants », Mémoire de master Université Toulouse Iii Paul Sabatier ,2016.
- [47] - **Benikhlef. K**, « contribution à l'étude phytochimique et activité biologique des extraits des graines de Coffeacanephora », Mémoire de master, Université Abou BekrBelkaid Tlemcen, 2017.
- [48] - **M. Cheurfa, R. Allem**, « Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'Aloysiatriphylla (L'Hérit.) d'Algérie in vitro », Phytothérapie, 2016.
- [49] - **Boulaouad. A,Bouhafs .Y, Maadadi. A**, « Etude de l'activité antioxydante des extraits de la plante médicinale Atriplexhalimusssp. Schweinfurthii ». Mémoire de master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A, 2017.

[50] - **Hamraoui .C, Benkherouf. K**, « Stress oxydant et oligoéléments : validation d'une méthode de dosage du zinc par SAA selon SFSTP2006 », Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou ,2018.

[51] - **Ait Braham. K, MessaoudI. S**, « Etude de l'activité antioxydante des polyphénols des graines de *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugrec) », Mémoire de master, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa,2012.

[52] - **Hocine F, Gorine. M**, « Evaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydant/anti oxydant chez les ouvriers exposés aux fumées de soudage », Mémoire de master, Université Abou BekrBelkaid – Tlemcen, 2017.

[53] - **Benourad. D**, « Influence de différentes méthodes d'extraction sur le rendement, la composition chimique et l'activité antioxydante des extraits de zingiber officinale (Formes fraîche & sèche) », Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 2018.

[54] - **Mohammedi.z**, « Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie », Mémoire de master, Université Abou BekrBelkaid – Tlemcen, 2012.

[55] - **Digheche.D, Khalfallah.M**, « Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits et des alcaloïdes totaux de l'*Ephedra alata alenda* de la région d'Oued Souf », Mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra, 2019.

[56] - **Moussous. W, Zemit. F**, « Activité antioxydante et antiulcéreuse de *carthamus caeruleus* L », Mémoire de master, Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira , 2020

[57] - **Assia Djouadi, Touhami .L**, « Evaluation de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de deux variétés de *Solanum melongena* L. de la région d'El-Oued par voltampérométrie cyclique et ondes carrées », ResearchGate, 2014.

[58] - **Joris. V**, « Effets potentiels et mécanismes d'action antioxydante et anti-inflammatoire d'un apport nutritionnel de spirulines enrichies en silicium », Thèse de doctorat, Université Montpellier, 2015.

- [59]- **Benkaddour. S, Ben AbdAllah .S**, « Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de MalvasylvestrisL», Mémoire de master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A, 2019.
- [60]- **Rahali .O**, « Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des polyphénols des grains de fenouil sauvage mémoire de Master Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.
- [61]- **Mehessem. S**, « Evaluation du profil antioxydant chez la population masculine atteinte de cancer colorectal dans la wilaya de Tlemcen. étude cas-témoins », Mémoire de master, Université de Tlemcen.
- [62]- **Boubekri.C**, « Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques », Thèse de doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra, 2014.
- [63]- **Berrahil.I**, « Balance oxydante antioxydante et paramètres nutritionnels chez la population masculine âgée de la wilaya de Tlemcen. Étude cas-témoins », Mémoire de master Université de Tlemcen, 2016.
- [64]- **Boughern .B**, « Conception et synthèse de dérivé phénolique autement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose) », Thèse de doctorat, Université Toulouse III-Paul –Sabatier, 2012.
- [65]- **Khelfallah .A**, « Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires », Mémoire de magistère université Constantine 1, 2012.
- [66]- Détermination de l'activité d'un antioxydant par le test DDPH°, « <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/mode-operatoire> », consulté le : 27/05/2021.
- [67]- **Desmier.T**, « Les antioxydants de nos jours : définition et applications », Thèse de doctorat, Université de Limoges, 2016.
- [68]- **Galoul .A, Touahria. M**, « Dosage des antioxydants et l'évaluation de l'activité antioxydante du pollen », Mémoire de master, Université A. MIRA – Bejaia, 2018.

[69]- **N. Bentabet, Z. Boucherit-Otmani, K. Boucherit**, « Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredoliaaretioides* de la région de Béchar en Algérie », *Pharmacognosie*, 2014.

[70]- **Medjoughda .O**, « Méthodes d'études d'activité des antioxydants des plantes médicinales, Mémoire de licence , Université d'Agadir , 2012.

[71]- **Dieng.S, Dior Fall.A, Diatta-Badji.K, Sarr.A et al**, « Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. », *Int. J. Biol. Chem. Sci.*,2017.

[72]- **Ziane. N**, « Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémisante des extraits de *Pistaciaatlantica* Desf de la réserve nationale d'El-Mergueb (M'sila) –Algérie », *ResearchGate* ,2015.

[73]- **Teniou.S**, « Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses », *Mémoire de magistère, Université Mentouri Constantine*,2011.

[74]- **Lazreg.A**, « Calculs théoriques de quelques acides aminés et étude de l'interaction entre un cation et ces biomolécules » , *Thèse de doctorat , Université Djillali Liabes* , 2018.

[75]- **Molecular modelling**, « https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_modelling », consulté le : 02/06/2021.

[76]- **Chtita.S**, « Modélisation de molécules organiques hétérocycliques biologiquement actives par des méthodes QSAR/QSPR. Recherche de nouveaux médicaments » , *Thèse de doctorat , Université Moulai Ismail* , 2017.

[77]- **Essalih.M**,« L'étude des indices topologiques, leurs applications en QSAR/QSPR et leurs corrélations aux représentations moléculaires «Plerograph» et «Kenograph» », *Thèse de doctorat, Université Mohammed V-Agdel*, 2013.

[78]- **Chtita. S, Ghamali.M, Bouachrine.M, Lakhlifi.T et al** , « Méthodologie générale d'une étude RQSA/RQSP », *Revue Interdisciplinaire*, vol1, N°1 ,2016.

[79]- **Brut .M**, « Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : Les Modes Statiques » *Thèse de doctorat, Université Toulouse III - Paul Sabatier*, 2009.

- [80]- **El Hadj Said.K** , « Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire », Mémoire de master , Université de Tlemcen , 2016.
- [81]- **Nedjari.S**, « Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules : cas de l'insuline/récepteur de l'insuline et le sélénium », Mémoire de master, Université Abou-BekrBelkaid – Tlemcen, 2017.
- [82]- **Traore.M** , « Synthèse et études de modélisation moléculaire dans l'optimisation de la sélectivité de nouveaux agents antiparasitaires inspirés de produits naturels », Thèse de doctorat , Université Grenoble Alpes , 2016.
- [83]- **Biscay.F, Chizallet.C, Creton.B, Fecant.A, Et Al**, « La modélisation moléculaire s'invite dans l'industrie », l'actualité chimique, N° 353-354,2011.
- [84]- **Bouزيد.L**, « Modélisation moléculaire des copolymères PMMA –PS » , Mémoire de mastère , Université D'Oran Mohamed Boudiaf, 2011.
- [85]- **Soldera.A**, « Modélisation et simulation moléculaires de polymères » , « <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/sciences-fondamentales-th8/chimie-organique-et-minerale-42108210/modelisation-et-simulation-moleculaires-de-polymeres-af6042/> » , consulté le : 09/06/2021.
- [86]- **Laribi. A,Rabahi. K**, « Etude in-silico de l'inhibition de la Xanthine oxydase », Mémoire de master Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira, 2017.
- [87]- **Attaf .D**, « Résolution du Docking Moléculaire: Le prototype API-Dock » Mémoire de magistère, Université Mohamed Boudiaf USTO, Algérie.
- [88]- **Makhloufi. K, Lazreg. I**, « Conception in silico de nouveaux composés anticancéreux », Mémoire de mastère Université Mohamed Khider De Biskra Mercredi, 2019.
- [89]- **Mahdjoub.Y**, « Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini « Application docking moléculaire » » , Mémoire de magister , Université des Science et des Technologies d'Oran.
- [90]- **Dekkiche. Z, Benaïche .S**, « Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique

impliquée dans les pathologies du sang » , Mémoire de master , Université Frères Mentouri Constantine1, 2018.

[91]- Bouchagra.S, « Modelisation des interactions proteine-petites molecules:etude de la relation structure – fonction dans le cas des lipases », Thèse de doctorat , UniversiteBadji Mokhtar- Annaba, 2018.

[92]- Hoffer. L, Chira. CH, Gilles .M, Varnek.A et al , « S4MPLE—Sampler for Multiple Protein-Ligand Entities:Methodology and Rigid-Site Docking Benchmarking», molecule ,vol.20, 2015.

[93]- Hoffer.L, Renaud .J, «Développement et validation du logiciel S4MPLE. Application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du Fragment-Based Drug Design » Thèse de doctorat, Université De Strasbourg, 2013.

[94]- Grosdidier.A, « Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. », Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, 2007.

[95]- Chikh.A, « Calculs et modelisations des interactions peptide deformylase – substances antibacteriennes a l'aide de techniques de ‘docking’ (arrimage) moleculaire », Thèse de doctorat, UniversiteMentouri- Constantine,2007.

[96]- Daissa .F, « Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions : Inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BChE) / par une nouvelle classe des dérivées. », Mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra, 2019.

[97]- ZerdaouiS ,Bounasla. S, « Docking moléculaire de deux flavonesnaturelscontre l'a.cétylcholinestérase et le butylcholinestérase » , Mémoire de masrère , Université Mohamed Boudiaf – M'sila,2019.

[98]- Larib.I,RabahiK, « Etude in-silico de l'inhibition de la Xanthine oxydase »,Mémoire de mastère , UniversiteAkli Mohand Oulhadj – Bouira,2017.

[99]- Amina. M, « Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition de la peptide déformylase », Thèse de doctorat Universite Des FreresMentouri - Constantine 1, 2018.

[100]- Molecular Operating Environment,
«https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_Operating_Environment », consulté le: 12/06/2021.

[101]- François .M, « Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques », These de doctorat, Université Paris Sud, 2015.

[102]- Thomas W. Shattuck, « Colby College Molecular Mechanics Exercises MOE (Molecular Operating Environment) Tutorial », Chemical Computing Group, September 2009.

[103]- Boucherite .H A. Chikhi¹, A. Bensegueni¹, A. Merzoug¹, Et Al, « L'amarrage moléculaire : une nouvelle approche pour lutter contre le développement de la tuberculose », Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 7, N°2, p: 133-149, 2013.

[104]- https://www.ccdc.cam.ac.uk/support-and-resources/ccdcresources/GOLD_User_Guide.pdf, « GOLD User Guide A Component of the CSD-Discovery Suite », Cambridge Crystallographic Data Centre Registered Charity , N°800579, 2019.

ملخص :

في الجزائر و كما في البلدان الأخرى تستخدم النباتات الطبية على نطاق واسع لعلاج مختلف الأمراض . فالمكونات الكيميائية لأنواع الإيفيدرا/ ولدت الإهتمام بالبحث فيها منذ عقود وهذا بسبب إحتوائها على قويدات من نوع الإيفيدرين و خصائصه العلاجية وكذلك تركيبها الكيميائي أيضا كالمشتقات الفيلونية و التربينويدات .

الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للأكسدة *Ephédra alata* من أجل إيجاد مصادر محتملة لمضادات الأكسدة الجديدة وإدراجها في التركيبات الغذائية والصيدلانية .

يتم فحص المركبات النشطة لهذا النبات من خلال دراسة الإلتحام الجزيئي ويتم تنفيذ محاكات الإلتحام باستخدام برنامج MOE.

كلمات المفتاح: الأعشاب الطبية، *Ephédra alata* ، النشاط المضاد للأكسدة، Doking moléculaire.

Abstract:

In Algeria and in other countries, medicinal plants are widely used for the treatment of various diseases. The chemical constituents of *Ephedra* species have been of research interest for decades due to their contents of ephedrine-type alkaloids and its pharmacological properties, and their chemical composition such as phenolic and terpenoids.

The aim of our work is to study the antioxidant activity of *ephedra alata* in order to find possible sources for future new antioxidants in food and pharmaceutical formulations, the active compounds of this plant are further investigated through molecular docking studies and the docking simulation is performed using MOE software.

Keywords : Medicinal plants, *ephedra alata*, antioxidant activity, molecular docking.

Résumé

En l'Algérie et comme dans les autres pays, les plantes médicinales sont très utilisées pour le traitement des maladies diverses. Les constituants chimiques des espèces *d'éphédra* suscitent l'intérêt de la recherche depuis des décennies en raison de leur teneur en alcaloïdes de type éphédrine et de ses propriétés pharmacologiques, et leur composition chimique tels que les dérivés phénoliques et les terpénoïdes.

Le but de notre travail est d'étudier l'activité antioxydante d'*éphédra alata* afin de trouver des sources possibles pour de futurs nouveaux antioxydants dans les formulations alimentaires et pharmaceutiques, les composés actifs de cette plante sont tester grâce à des études de docking moléculaire, la simulation de docking est réalisée à l'aide du logiciel MOE.

Mots clés : Plantes médicinales, *éphédra alata*, activité antioxydante, docking moléculaire.