

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR
KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES & DE
LA TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE
INDUSTRIEL



جامعة عباس لغرور خنشلة

كلية العلوم و التكنولوجيا

قسم الهندسة الصناعية

No. Réf. :/...../2023

Mémoire

Présenté par : TAGHRIST LOUBNA & SELLAMI AIDA

Pour obtenir le diplôme de MASTER (LMD)

OPTION : Génie Des Procédés et L'environnement

Thème

**Évaluation in silico du pouvoir
antioxydant de quelques polyphénols de la
plante éphédra alata sur le stress oxydatif**

Devant le jury :

Mr. BAHLOULI .S
Mr. MAKHLOUFI. A
Melle. KIHHEL .R

Président U.A.L.K
Rapporteur U.A.L.K
Examineur U.A.L.K

Année universitaire : 2022 – 2023



Dédicace

*Toutes les lettres ne sauraient trouver
les mots qu'il faut...*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
l'amour, le respect et la reconnaissance...*

*Aussi, c'est tout simplement que
Je dédie cette mémoire à ...*

A ma grand-mère que Dieu la garde : **Feriha**

À mon très cher père : **Mostefa**
À ma très chère mère : **Ghezala**

À mes très chères Frères : **Hamza, Salem**
Et sœurs : **Meriem, Kenza et Souhila**

À neveux et nièces :
Abderrazak, Kawthar, Hadjer

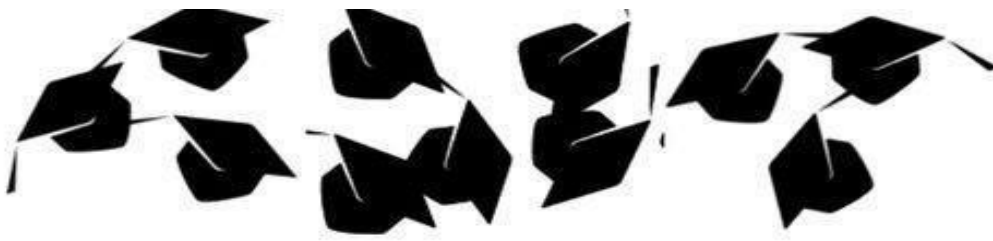
À mon fiancé : **Nacer eddine**

À toute la famille : **Taghrist**

*À toute ma promo 2023 Master 2 Génie Des Procédés et L'environnement
que j'ai passé avec des moments inoubliables
malgré la courte durée que je les ai rencontré.
À tous ceux qui m'aiment*

TAGHRIST LOUBNA





Dédicace

*Je dédié ce modestes travail
À mon très cher père
À mon rein très cher mère
Les plus douces
et les plus merveilleux de tous les parents*

*À mes frères et sœurs
qui ont joué un rôle majeur dans mon accès à ce succès*

À mon fiancé et à mon énergie positive

*À mon amie **Loubna** qui m'a aidé à terminer mon mémoire de fin d'études*

*À mes amis **Abla** et **Rayan, Hakima ,Hayet ,Lamia***

*À toute la famille : **SELLAMI***

*À toute ma promo 2023 Master 2 Génie Des Procédés et L'environnement
que j'ai passé avec des moments inoubliables
malgré la courte duré que je les ai rencontré.*

À tous ceux qui m'aiment

SELLAMI AIDA



Remerciement

Au Dieu le tout puissant, qui nous a aidés à compléter ce modeste travail.

Nous adressons tout d'abord nos remerciements à l'ensemble du corps professoral de l'Université Abbes Laghrour à Khenchela, notamment du Département de Génie industriel, pour les années de préparation de mémoire de master qui ont été riches en connaissances et en expériences,

Nous tenons à remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail :

*Nous remercions également «**Dr. MAKHLOUFI ABDESSLAM**» pour la qualité du sujet, son support et les orientations durant toute la réalisation de ce mémoire par ses conseils qui nous ont appris la patience.*

*À «**Mr. BAHLOULI .S**» de bien vouloir présider ce jury et d'examiner ce travail.*

*À «**Melle. KIHHEL .R**» d'avoir accepté examiner et juger ce travail.*

Loubna & Aida

Liste des figures

Chapitre I

Figure I-01 : Infusion de tiges fleuries.....
Figure I-02 : Décoction des tiges et feuilles
Figure I-03 : Macération des feuilles et des tiges
Figure I-04 : Sentiers de biosynthèse des polyphénols.....
Figure I-04 : Sentiers de biosynthèse des polyphénols.....
Figure I-05 : Squelette de base des flavonoïdes
Figure I-06 : Structure chimique des tanins
Figure I-07 : Extraction par macération.....
Figure I-08 : Extraction liquide-liquide
Figure I-09 : Schéma de l'extracteur Soxhlet
Figure I-10 : Des huiles essentielles biologiques.....
Figure I-11 : Provenance des huiles essentielles.....
Figure I-12 : Structure chimique de l'Isoprène
Figure I-13 : Structure chimique de certains monoterpènes
Figure I-14 : Structure chimique de certains sesquiterpènes
Figure I-15 : L'hydrodistillation.....
Figure I-16 : Montage de l'expression à froid
Figure I-17 : Procédé d'extraction au CO ₂ supercritique
Figure I-18 : Schéma de l'extracteur par fluide pressurisé.....

Chapitre II

Figure II-01 : Le stress oxydant.....
Figure II-02 : La formation d'un radical libre
Figure II-03 : Schéma de la chaîne respiratoire mitochondriale.....
Figure II-04 : Sources exogènes des radicaux libres
Figure II-05 : Processus de la peroxydation lipidique
Figure II-06 : Oxydation de la chaîne polypeptidique.....
Figure II-07 : Altération de l'ADN.....
Figure II-08 : Système principal de défense antioxydant enzymatique.....
Figure II-09 : Structure chimiques des vitamines E.....

Figure II-10 : Structure chimique de la vitamine C

Figure II-11 : Relation entre le stress oxydant et le cancer.....

Chapitre III

Figure III-01 : Éléments dans l'amarrage moléculaire.....

Figure III-02 : Etapes du processus de docking

Figure III-03 : Comparaison des programmes de docking les plus cités

Figure III-04 : Interface graphique du logiciel Auto Dock.....

Figure III-05 : Docking par Gold

Figure III-06 : Page d'accueil de la base de données RCSB

Figure III-07 : Page d'accueil de la base des données PubChem

Figure III-08 : Interface du logiciel MOE

Figure III-09 : Structure de l'enzyme Code PBD (2CDU).....

Figure III-10 : Mode interaction molécules -enzyme NADPH oxydase

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I-01 : Structure de l'acide hydroxybenzoïques et ses principaux dérivés.....

Tableau I-02 : Structure de l'acide hydroxycinnamique et ses principaux dérivés

Tableau I-03:Structures de différentes classes des flavonoïdes

Chapitre II

Tableau II-01 : Espèces réactives importantes dans le système biologique

Chapitre III

Tableau III-01 : Principaux programmes du docking moléculaire

Tableau III-02 : Les ΔG binding pour les interactions molécule- enzyme CDK2

Liste des abréviations

OMS	Organisation mondiale de la santé
HE	Huiles Essentielles
EFS	Extraction par fluide supercritique
EFP	Extraction par fluide pressurisé
RP	Résonance paramagnétique électronique
ADN	Acide désoxyribonucléique
UV	Ultra-violet
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
ERN	Espèces réactives de l'azote
LDL	Lipoprotéines de faible densité
MDA	Malonedialdéhyde
HNE	Hydroxynonéal
GPx	Glutathion peroxydase
SOD	Superoxyde dismutase
CAT	Catalase
GR	Glutathion réductase
ATP	Adénosine Tri-Phosphate
OM	Orbitales moléculaires
MM	Modélisation moléculaire
DM	Dynamique moléculaire
PDB	Banque de données protéiques
ARN	Acide ribonucléique
MOE	Molecular Operating Environment
NCBI	National Center for Biotechnology Information
2D	Deux dimension
3D	Trois dimensions
RCSB	Page d'accueil de la base de données

Sommaire

Liste des Figures.....	I
Liste des Tableaux.....	II
Liste des Abréviations.....	III
Introduction générale.....	1

Chapitre I : Plantes médicinales et phytothérapie

I.1. Définition de la phytothérapie	4
I.2. Types	4
I.2.1. Médecine traditionnelle.....	4
I.2.2. Médecine moderne	4
I.3. Avantages.....	4
I.4. Les modes traditionnels de préparation des plantes	5
I.5. Les composés phénoliques	6
I.5.1. Définition	6
I.5.2. Biosynthèse	7
I.5.3. Classification.....	8
I.5.3.1. Les acides phénoliques	8
I.5.3.2. Les Flavonoïdes	9
I.5.3.3. Les tanins	10
I.6. Extraction des composés phénoliques	11
I.6.1. Extraction solide-liquide	12
I.6.2. Extraction liquide-liquide	12
I.6.3. Extraction au Soxhlet.....	13
I.6.4. Extraction assistée par ultrasons	13
I.7. Les huiles essentielles	14
I.7.1. Définition	14
I.7.2. Répartition dans la plante.....	14
I.7.3. Composition chimique	15
I.7.3.1. Composés terpéniques	15

I.7.3.1.1. Monoterpènes.....	16
I.7.3.1.2. Sesquiterpènes.....	16
I.7.4. Techniques d'extraction à partir de plante.....	16
I.7.4.1. Techniques d'extractions classiques.....	17
I.7.4.1.1. L'hydrodistillation.....	17
I.7.4.1.2. Extraction par expression à froid.....	17
I.7.4.2. Techniques d'extractions modernes.....	18
I.7.4.2.1. Extraction par fluide supercritique (EFS).....	18
I.7.4.2.2. Extraction par fluide pressurisé (EFP).....	19

Chapitre II : Stress et dommages oxydatifs

II.1. Aperçu historique sur le stress oxydant.....	21
II.2. Définition.....	21
II.3. Mécanisme.....	22
II.3.1. Définition.....	22
II.3.2. Différentes formes des radicaux libres.....	22
II.4. Sources.....	23
II.4.1. Endogènes.....	23
II.4.1.1. Chaîne respiratoire mitochondriale.....	23
II.4.1.2. NAD (P) H oxydase.....	24
II.4.1.3. Xanthine oxydase.....	24
II.4.1.4. Enzymes des réticulums endoplasmiques.....	25
II.4.2. Exogènes.....	25
II.5. Conséquences biochimique des ERO.....	26
II.5.1. Les Lipides.....	26
II.5.2. Les protéines.....	27
II.5.3. Acides nucléiques.....	27
II.5.4. Inflammation.....	28
II.6. Système de défense (Antioxydants).....	28
II.6.1. Antioxydants endogènes.....	29
II.6.2. Antioxydants exogènes.....	29
II.6.2.1. Vitamine E et C.....	30
II.6.2.2. Oligoéléments.....	31

II.6.2.3. Polyphénols.....	31
II.7. Stress oxydatif et pathologies	31
II.8.Stress oxydatif et cancer	32

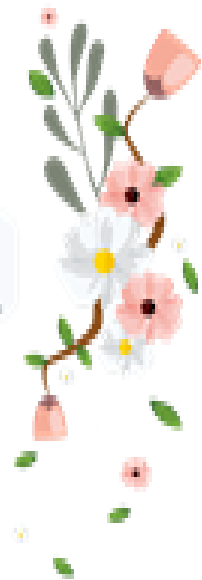
Chapitre III : Docking moléculaire

III.1. Définition de la modélisation moléculaire	34
III.2. Objectif.....	34
III.3. Principe.....	34
III.4. Types	34
III.4.1. Les méthodes quantiques.....	34
III.4.2. Mécanique moléculaire	35
III.4.3. Dynamique moléculaire	35
III.5. Domaine d'application	35
III.6. Docking moléculaire	35
III.6.1. Définition.....	35
III.6.2. Principe.....	36
III.6.3. Etapes	36
III.6.4. Types	37
III.6.5. Outils	38
III.6.5.1. Récepteur.....	38
III.6.5.2. Ligand.....	38
III.7. Programmes de docking moléculaire	38
III.7.1. AutoDock	39
III.7.2. Dock	40
III.7.3. FlexX.....	40
III.7.4. GOLD	40
III.7.5. Moe (Molecular Operating Environment).....	41
III.8. Les banques de données	41
III.8.1. PDB	41
III.8.2. PubChem	42
III.9. Evaluation « in silico » de l'activité de quelques molécules de l'ephedra alata	43
III.9.1. Méthode.....	43
III.9.1.1. Logiciel utilisé	43

III.9.1.2. Démarches à suivre	43
III.9.1.2.1. préparation de la cible	43
III.9.1.2.2. Préparation du ligand.....	43
III.9.1.2.3. Réalisation du docking	44
III.9.2. Molécules et cibles sélectionné	44
III.9.3. Résultats et discussion	46
Conclusion générale	49
Références bibliographiques	50



Introduction générale



Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales ont été utilisées comme traitement pour guérir plusieurs maladies grâce à leurs propriétés préventives et / ou cicatrisantes. De nos jours, malgré le développement de la médecine moderne et l'efficacité des médicaments synthétiques dans le traitement de différentes affections, de nombreuses personnes choisissent d'utiliser des remèdes traditionnels, en particulier pour leurs effets secondaires moindres par rapport aux médicaments chimiques.

Les plantes médicinales sont capables de produire un grand nombre des composés bioactifs, en particulier les métabolites secondaires, tels que les huiles essentielles, les terpènes, les alcaloïdes, et les composés phénoliques (comme les phénol simples, les acides phénoliques, les tanins, les coumarines et flavonoïdes). Pour cette raison, des études approfondies en utilisant différents extraits de plantes ont été rapportés par plusieurs scientifiques, pour étudier les différentes activités telles que l'activité antimicrobienne, anti inflammatoire, anti oxydant et anti diabétiques et de nombreuses autres valeurs médicinales de ces extraits [01].

Ephédra alata alenda est une plante médicinale qui possède des propriétés thérapeutiques, anti- oxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires. Elle est connue aussi par ses effets oxydants, antibactériens et anti-inflammatoires. Elle est connue aussi par ses effets efficaces dans le traitement de nombreuses maladies telles que le diabète, le rhume et la congestion nasale, la fièvre, les allergies et l'asthme [02].

Avec le développement des outils informatiques, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (assemblage ou arrimage moléculaire) a rapidement investi le domaine de la recherche en biologie. Celui-ci peut être défini comme la recherche du meilleur appariement entre deux molécules.

Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur, comme il peut servir à l'optimisation de molécules et au criblage de bases de données. En pharmacie, la découverte et la mise au point de nouvelles substances médicamenteuses peuvent passer par le criblage de bases de données avec des millions de composés pour une même protéine cible, ce qui ne serait pas réalisable en biologie classique. En général, la cible est une protéine et le ligand peut être une petite molécule organique [03].

Après une introduction générale où nous présentons le but du travail, ce manuscrit s'articule autour de trois chapitres suivis d'une conclusion générale.

➤ Le premier chapitre : Dans lequel nous avons donné une introduction sur la phytothérapie, les différents types des composés phénoliques et quelque méthode d'extraction des huiles essentielles.

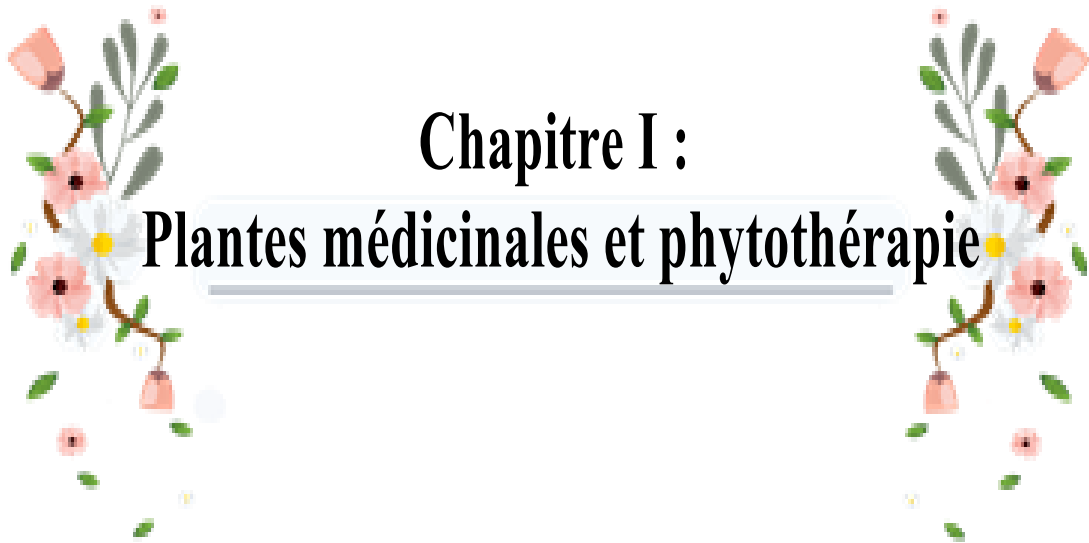
➤ Le deuxième chapitre : Il est consacré pour trois parties :

Partie (A) : Les sources des radicaux libre et les conséquences biochimique de ce dommage.

Partie (B) : Les antioxydants endogènes et exogènes.

Partie (C) : Stress oxydatif avec les pathologies et le cancer.

➤ Le troisième chapitre : Il englobe toutes les principales approches et les différentes méthodes de la modélisation et le docking moléculaire.



Chapitre I :

Plantes médicinales et phytothérapie

Sommaire

- La phytothérapie.....
- Les modes de préparation des plantes.....
- Les composés phénoliques.....
- Les huiles essentielles
- Techniques d'extraction à partir de plante.....

Le premier chapitre présente la phytothérapie et ses avantages, les modes traditionnels de préparation des plantes, ainsi que les définitions des différents types de composés phénoliques et leurs méthodes d'extraction, enfin la répartition et la composition chimique des huiles essentielles et quelques techniques d'extraction classiques et modernes.

I.1. Définition de la phytothérapie :

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : « phuton et therapeia » qui signifient respectivement "plante" et "traitement" [04]. La phytothérapie est donc la médecine basée sur l'utilisation de plantes ou de leurs extraits [05], elle désigne l'usage que l'on peut faire des plantes sous différentes formes : infusions, décoctions, cataplasmes, macérations etc. [06].

La phytothérapie est le traitement ou la prévention des maladies. Elle fait partie des médecines parallèles, ou médecines douces. L'emploi des plantes à dessein thérapeutique remonte à la plus haute antiquité et concerne un grand nombre de civilisations. Des écrits chinois sur ce sujet datent de plusieurs millénaires [07].

I.2. Types :**I.2.1. Médecine traditionnelle :**

Selon la définition officielle de l'organisation mondiale de la santé (OMS), la médecine traditionnelle est l'ensemble des pratiques, méthodes, savoirs et croyances en matière de santé qui impliquent l'usage à des fins médicales de plantes, d'animaux et de minéraux, de thérapies spirituelles, de techniques et d'exercices manuels séparément ou en association pour soigner, diagnostiquer et prévenir les maladies ou préserver la santé [08].

I.2.2. Médecine moderne :

La médecine moderne a émergé au XIX^{ème} siècle dans les pays occidentaux comme une émanation de la société [09], et se définit par d'énormes progrès dans la compréhension de la santé humaine et la capacité de modérer l'évolution des maladies chroniques, de corriger les conditions physiques invalidantes et de guérir les déficiences moléculaires [10]. Elle s'appuie sur des traitements qui ont obtenu une validation scientifique par des essais cliniques, soit parce qu'ils bénéficient d'un consensus professionnel fort obtenu avec l'accord et l'expérience de la majorité des professionnels de la discipline concernée [11].

I.3. Avantages :

- La phytothérapie est accessible pour tout le monde et ne nécessite pas d'obtenir une ordonnance [12];

- On utilise la plante entière ou seulement une partie de la plante (La feuille, la fleur, ...etc.). Chaque organe peut contenir de principes actifs, spécifiques et donc avoir un effet particulier [13];
- La médecine chimique prescrit par un pharmacien pourrait avoir certains effets secondaires négatifs. Cependant, la plupart des herbes médicinales et les remèdes n'ont pas d'effets secondaires négatifs [14];
- Les plantes utilisées en phytothérapie peuvent avoir des propriétés anti-inflammatoires, antioxydants, analgésiques, antispasmodiques, etc. qui peuvent soulager les douleurs et les symptômes de différentes affections [15];
- Les extraits de plantes et les principes actifs naturels peuvent pallier aux troubles de sommeil, aux troubles digestifs et aux problèmes de rhumatisme. Ils peuvent aussi solutionner les allergies ou tout autre problème de peau [16].

I.4. Les modes traditionnelles de préparation des plantes :

Le mode de préparation d'une plante médicinale est la méthode d'extraction des principes actifs responsables d'action guérisatrice. Il peut avoir un effet sur la quantité ces produits chimiques présents.

Les modes traditionnelles de préparation les plus courants sont : l'infusion, la décoction et la macération [17].

➤ **Infusion:**

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes. Il s'agit d'un procédé semblable à la préparation d'un thé commun dans une théière [18].



Figure I-1 : Infusion de tiges fleuries.

➤ **Décoction :**

Est consisté à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales. Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles [19].



Figure I-2 : Décoction des tiges et feuilles.

➤ **Macération :**

On laisse tremper des fleurs, écorces ou racines de plantes dans de l'huile, de l'alcool ou de l'eau à température ambiante pendant plusieurs heures. Le macérât peut ensuite être utilisé sous forme de cataplasme par exemple [20].



Figure I-3 : Macération des feuilles et des tiges.

I.5. Les composés phénoliques :

I.5.1. Définition :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) [21].

I.5.2. Biosynthèse :

Les composés phénoliques découlent directement des métabolites secondaires des végétaux, plus précisément de deux voies biosynthétiques :

- La voie shikimate : est la plus courante qui conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (Phénylalanine, tyrosine) puis, par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et leurs dérivés.
- La voie acétate : qui conduit à des poly-β-cétoesters de longueur variable [22].

Le sentier acétate et le sentier shikimate. De plus, par un sentier intermédiaire, ils peuvent produire des flavonoïdes, groupe le plus représentatif des composés phénoliques (Figure I-4) [23].

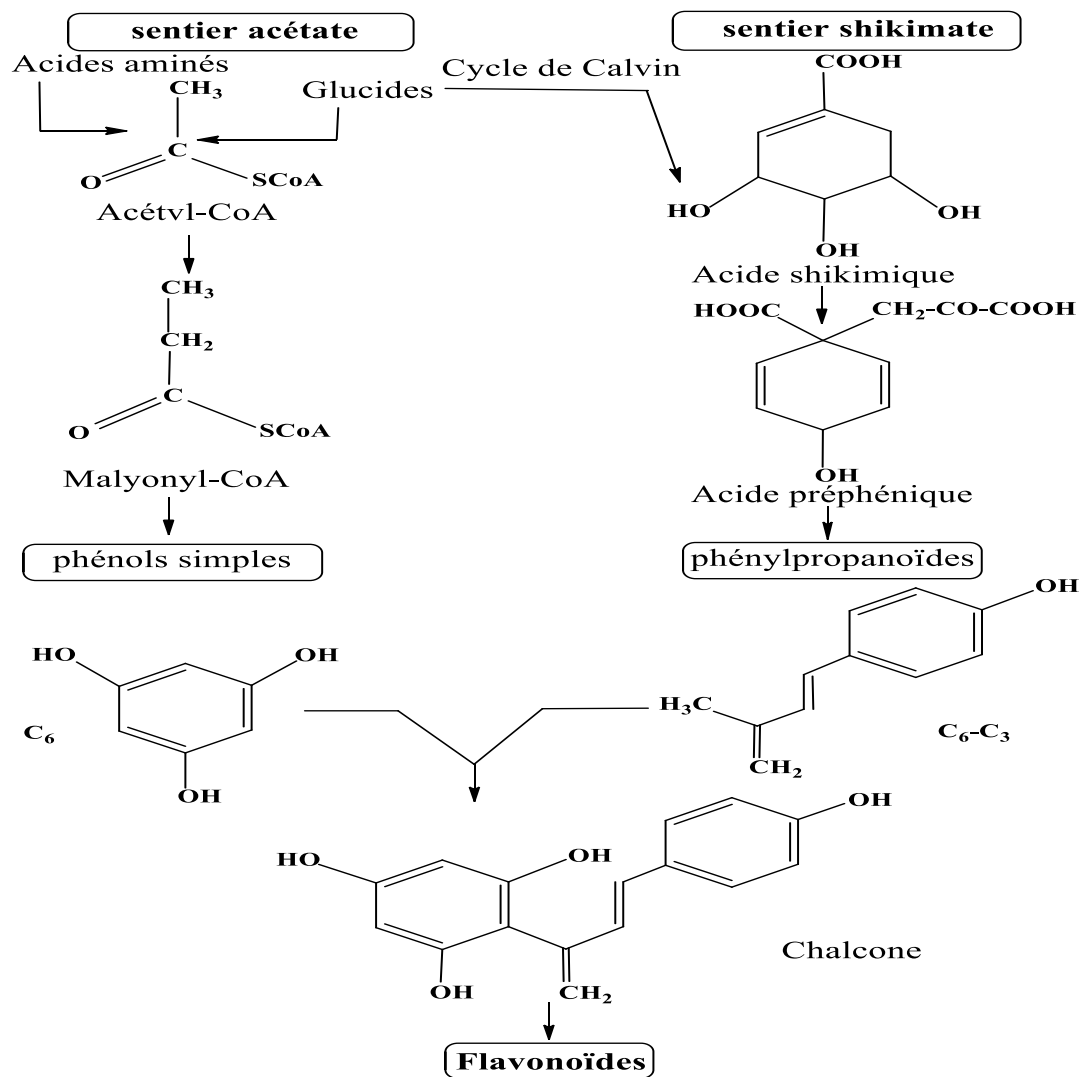


Figure I- 4 : Sentiers de biosynthèse des polyphénols: sentier acétate, sentier shikimate, et sentier de formation des flavonoïdes.

I.5.3. Classification :

Parmi les classes des poly phénols (des composés phénoliques) on a : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés.

I.5.3.1. Les acides phénoliques:

Ce sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique.

- Les acides hydroxybenzoïques : sont constitués d'un squelette à sept carbones C6-C1 dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside (Tableaux I-1) [24].

Tableau I-1 : Structure de l'acide hydroxybenzoïques et ses principaux dérivés.

Structure	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanilique
	H	OH	OH	H	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentsique

- Les acides hydroxycinnamiques : présentent une structure de base de forme C6-C3 dérivée de celle de l'acide cinnamique. Leur squelette est composé d'un noyau benzénique lié à une chaîne aliphatique à trois carbones, et qui possède un ou plusieurs groupements hydroxyles (Tableaux I-2) [25].

Tableau I-2 : Structure de l'acide hydroxycinnamique et ses principaux dérivés.

Structure	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	H	Acide ortho coumarique
	H	OH	H	H	Acide meta-coumarique
	H	H	OH	H	Acide para-coumarique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide ferulique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique
	H	OH	OH	H	Acide caféique

➤ **I.5.3.2. Les Flavonoïdes :**

Ont des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux de leur squelette de base en C15 [26], constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (Figure I-5) [27].

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations de différents organes végétaux [28]. Ils sont non toxiques et possèdent un spectre remarquable d'activités biologiques telles que les antiallergiques, les anti-inflammatoires, les antioxydants, les antimutagènes, les anticarcinogènes et la modulation des activités enzymatiques [29].

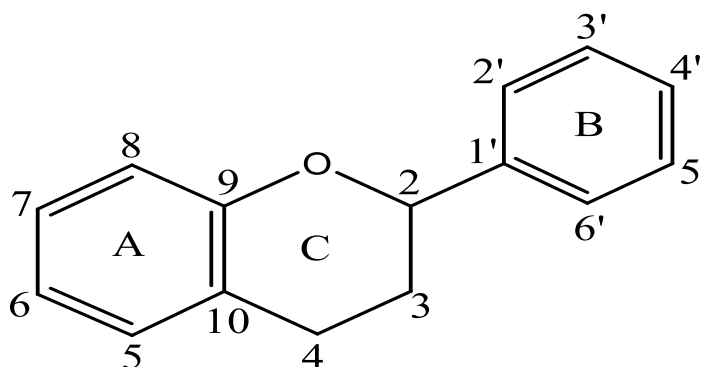
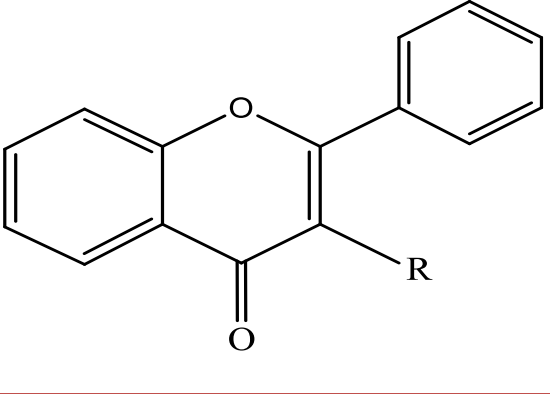
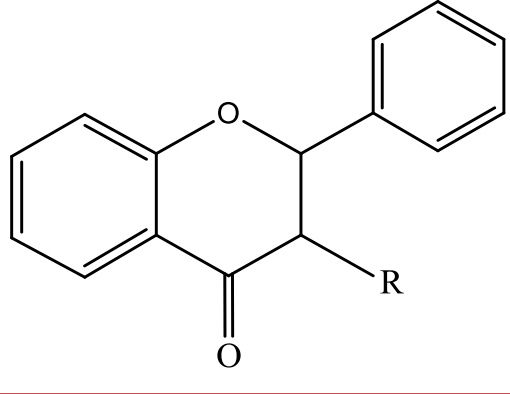
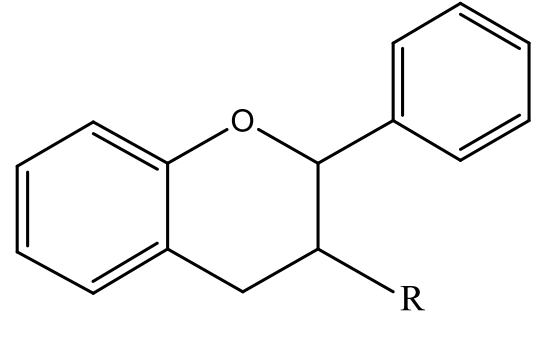
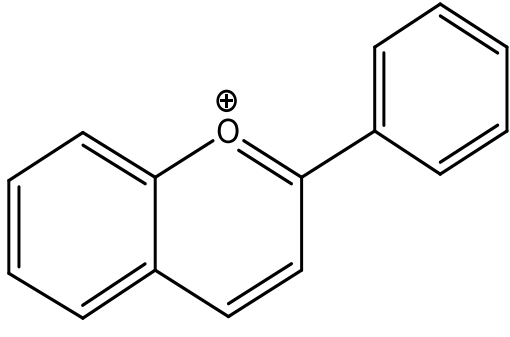
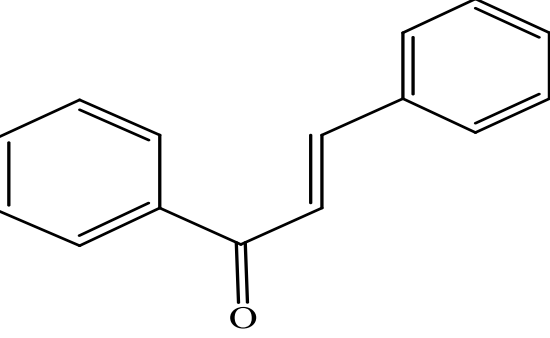
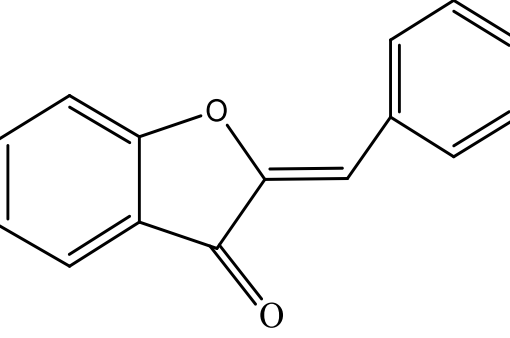


Figure I-5 : Squelette de base des flavonoïdes .

Tous les flavonoïdes peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation de noyau pyranique central (Tableau I-3) [30].

Tableau I-3 : Structures de différentes classes des flavonoïdes.

	
R=H, Flavone.	R=OH, Flavonol
	
R=H, Flavane.	R=OH, Flavan-3-ol
	
Chalcone	Aurones

I.5.3.3. Les tanins :

Les tanins sont des substances poly phénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant.

Il distingue deux grands groupes de tannins à différencier à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition [31].

➤ **Les tanins hydrolysables :**

Sont des polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique.

➤ **Les tanins condensés :**

Aussi appelés proanthocyanidines, sont des polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines [32].

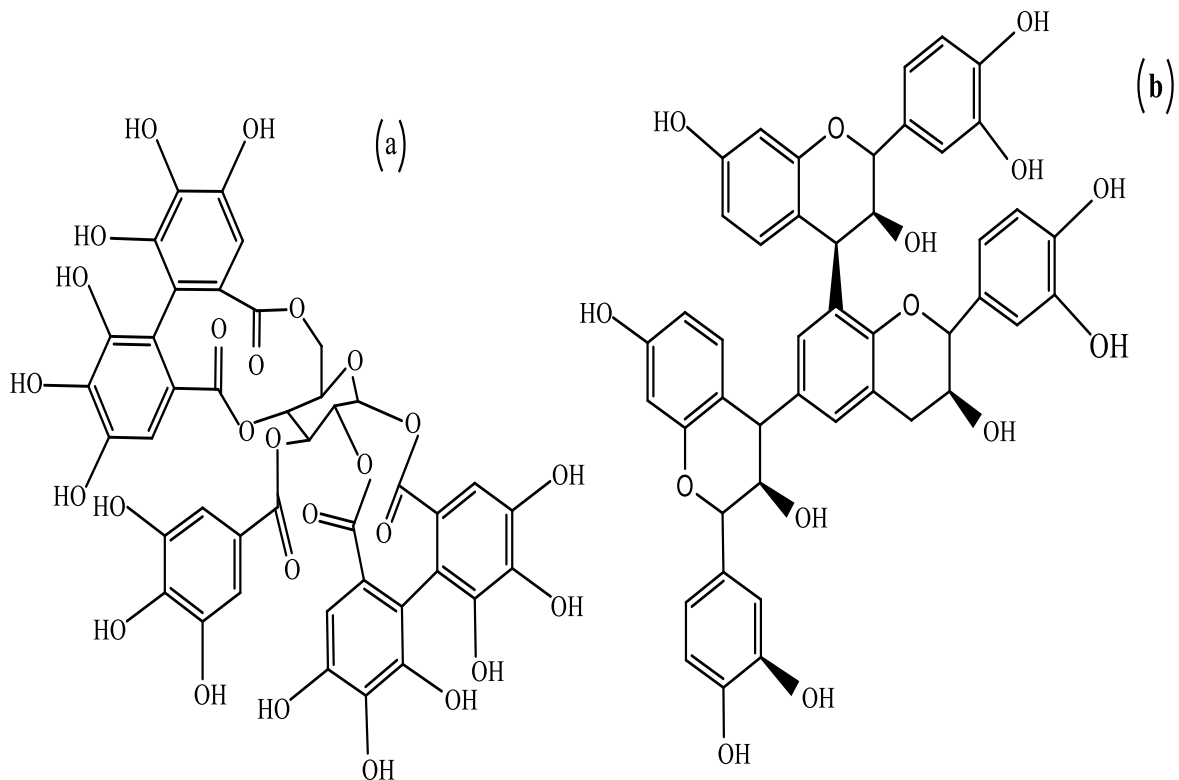


Figure I-6 : Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensés.

I.6. Extraction des composés phénoliques:

L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques [33].

I.6.1. Extraction solide-liquide:

La macération est une méthode traditionnelle et couramment employée. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation. Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température ambiante, ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules polyphénoliques [34].

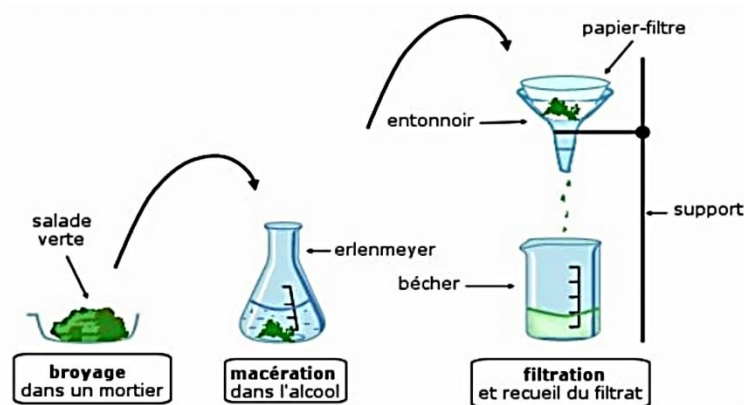


Figure I-7 : Extraction par macération.

I.6.2. Extraction liquide-liquide :

C'est une technique physicochimique de séparation et de concentration des composés ou des éléments chimiques, elle constitue une opération fondamentale en génie chimique. C'est un procédé qui permet la séparation d'un ou des plusieurs constituants d'un mélange en fonction de leurs solubilités relatives dans deux liquides différents ou non miscibles, habituellement de l'eau et un solvant organique [35].

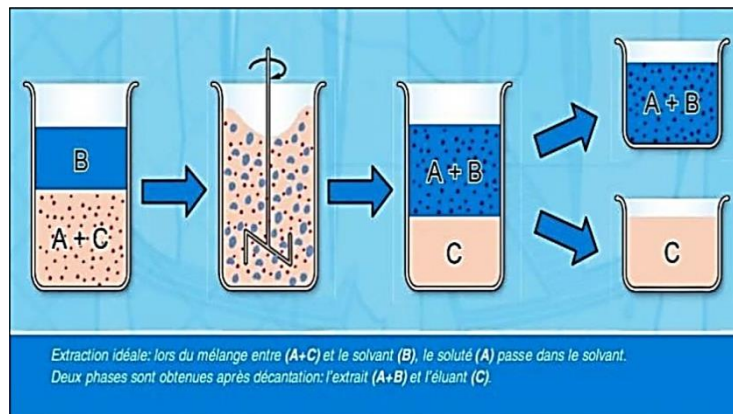


Figure I-8 : Extraction liquide-liquide.

I.6.3. Extraction au soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une technique qui repose sur la circulation continue du solvant à travers la matière végétale jusqu'à l'épuisement total du contenu végétal. Etant donné que l'extraction est effectuée à l'aide d'un solvant chaud cela améliore la dissolution des composés d'intérêts. La Figure I-9 représente l'appareil dans lequel s'effectue cette extraction. Parmi ses points indésirables: le temps d'extraction relativement important et la nécessité des grandes quantités de solvants, en plus du risque de thermodestruction des composés ciblés [36].

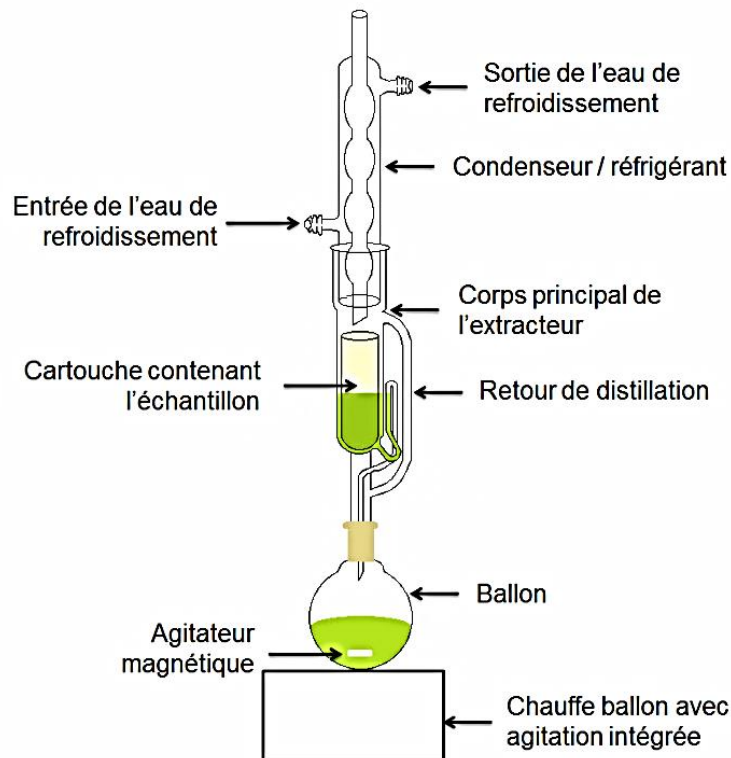


Figure I-9 : Schéma de l'extracteur Soxhlet.

I.6.4. Extraction assistée par ultrasons :

L'extraction assistée par ultrasons est un nouveau procédé d'extraction permettant d'extraire des molécules de faibles poids moléculaires. Dans les secteurs agroalimentaire et pharmaceutique, les ultrasons permettent l'extraction de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les huiles essentielles, les polysaccharides et les esters. Cette technologie s'est développée jusqu'au niveau industriel. En effet, les traitements par ultrasons améliorent l'extraction des composés phénoliques des végétaux [37].

I.7. Les huiles essentielles :

I.7.1. Définition :

Les huiles Essentielles (HE) sont des mélanges d'hydrocarbures et de leurs dérivés oxygénés qui résultent de deux voies isoprénoïdes [38]. Les huiles volatiles, ou essences aromatiques végétales nommées huiles essentielles car elles renferment la "Quinta essentia", la fragrance de la plante [39].

En outre, elles peuvent être obtenues à partir de différentes parties des plantes, telles que les racines, les tiges, les feuilles [40].



Figure I-10 : Des huiles essentielles biologiques.

I.7.2. Répartition dans la plante :

Les huiles essentielles se rencontrent généralement chez les végétaux supérieurs [41]: Il y a environ 500000 plantes sur terre ; 10000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales [42].

Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs bien sûr (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (eucalyptus, laurier noble, menthe poivrée) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal blanc), des racines (angélique), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (aneth, anis, badiane), des graines (muscade) (Figure I-11) [43].

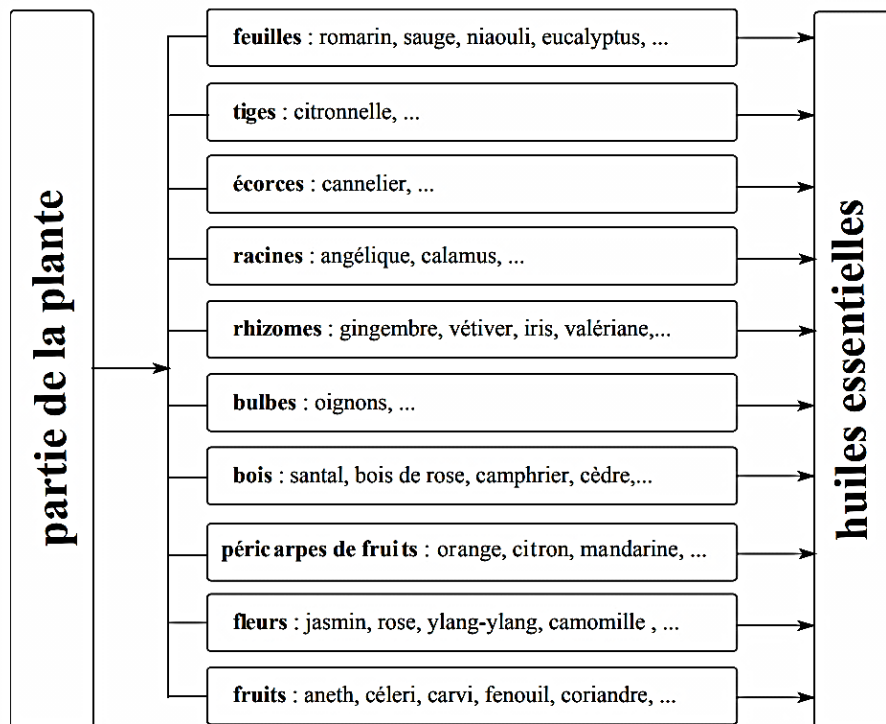


Figure I-11 : Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes.

I.7.3. Composition chimique :

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables [44]. Les constituants des huiles essentielles peuvent être partagés en trois grands groupes :

- Les terpènes.
- Les composés aromatiques, ex : alcool cinnamique, coumarine...
- D'autres composés très divers (acides, alcools, aldéhydes, esters...) [45].

I.7.3.1. Composés terpéniques :

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute (C₅H₈). Les terpènes sont de structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques,...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques [46].

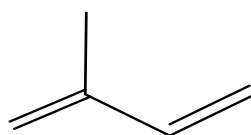


Figure I-12 : Structure chimique de l'Isoprène.

I.7.3.1.1. Monoterpènes :

Les monoterpènes sont formés par le couplage de deux unités isopréniques (C10) (Figure I-13) .Ils sont les molécules les plus représentatives, constituant 90 % des huiles essentielles et permettent une grande variété de structures.

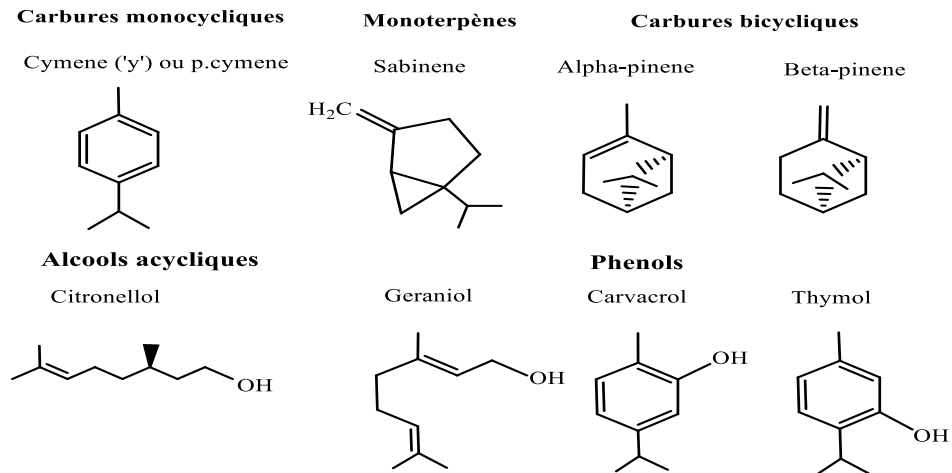


Figure I-13 : Structure chimique de certains monoterpènes.

I.7.3.1.2. Sesquiterpènes :

Les sesquiterpènes sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques (C15). L'extension de la chaîne augmente le nombre de cyclisations qui permet une grande variété de structures (Figure I-14). La structure et la fonction des sesquiterpènes sont semblables à ceux des monoterpènes [47].

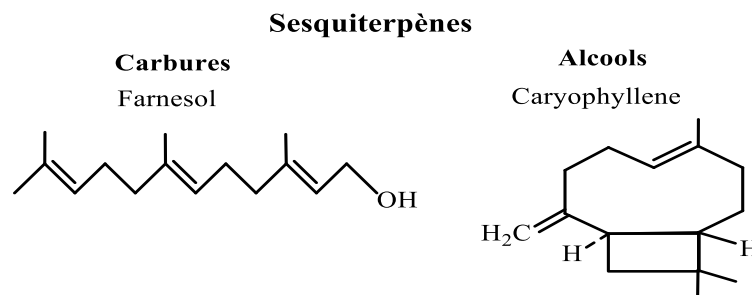


Figure I-14 : Structure chimique de certains sesquiterpènes

I.7.4. Techniques d'extraction à partir de plante :

L'extraction d'une l'huile essentielles (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer la qualité [48].

I.7.4.1. Techniques d'extractions classiques :

I.7.4.1.1. L'hydrodistillation :

L'eau et la matière végétale sont toutes deux chauffées dans un premier ballon, puis la vapeur et les extraits végétaux sont condensés dans un réfrigérant à eau et récupérés en fin de parcours dans un vase à décanter. La mise en contact de l'eau et du végétal pendant la chauffe favorise l'altération des composés aromatiques, particulièrement des esters [49].

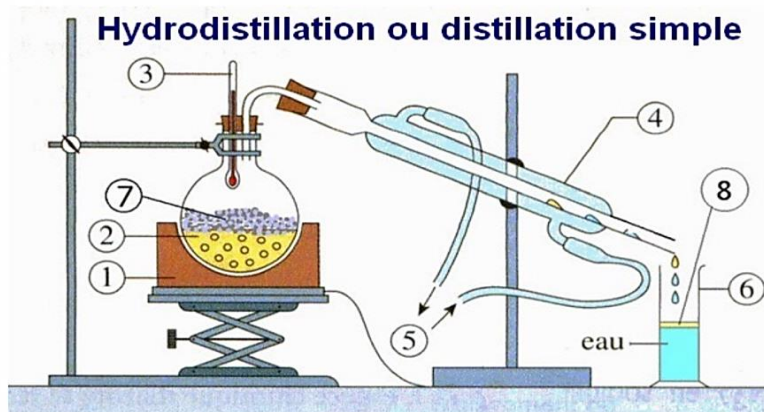


Figure I- 15 : L'hydrodistillation 1: Chauffe-ballon 2:Eau bouillante 3:Thermomètre 4:Réfrigérant à eau 5:Arrivée d'eau froide et Sortie d'eau tiédie 6:Essencier 7:Végétal 8:Huile Essentielle.

I.7.4.1.2. Extraction par expression à froid:

Ce mode d'obtention particulier est réalisé uniquement pour les fruits de la famille botanique des Rutaceae (citron, orange, bergamote, mandarine, etc.). C'est une méthode simple qui consiste à briser mécaniquement par abrasion les poches oléifères localisées au niveau de l'écorce ou du péricarpe du fruit pour en recueillir le contenu .L'huile essentielle est séparée du jus de fruit par un procédé mécanique de décantation à froid [50].

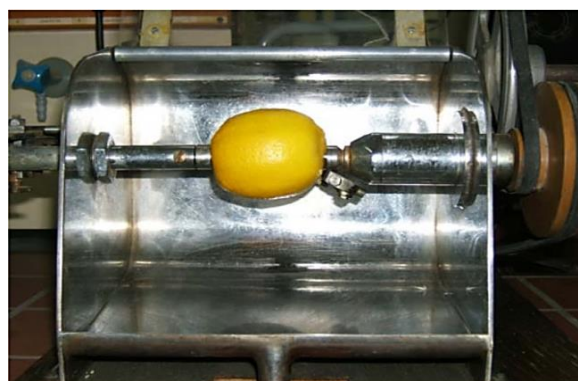


Figure I- 16 : Montage de l'expression à froid.

I.7.4.2. Techniques d'extractions modernes :

I.7.4.2.1. Extraction par fluide supercritique (EFS) :

L'extraction par fluide supercritique (EFS) est le processus de séparation d'un composant (l'agent d'extraction) d'un autre (la matrice) en utilisant des fluides supercritiques comme solvant d'extraction [51].

Tous l'extraction de fluide supercritique (EFS) est effectuée avec du dioxyde de carbone (CO_2). Le CO_2 est relativement non toxique, non inflammable, disponible en pureté à un coût relativement faible, et est facilement retiré de la extrait [52]. Néanmoins, le CO_2 supercritique possède une très faible polarité comme inconvénient. On est donc souvent amené à travailler sous des pressions très élevées ou alors à accroître le pouvoir solvant par l'ajout d'un Co-solvant polaire tel que l'éthanol et le coût de l'installation.

L'extraction par fluide supercritique offre des solutions que ne peuvent pas apporter les techniques traditionnelles parce qu'elle est conforme aux normes de plus en plus strictes en matière d'environnement [53].

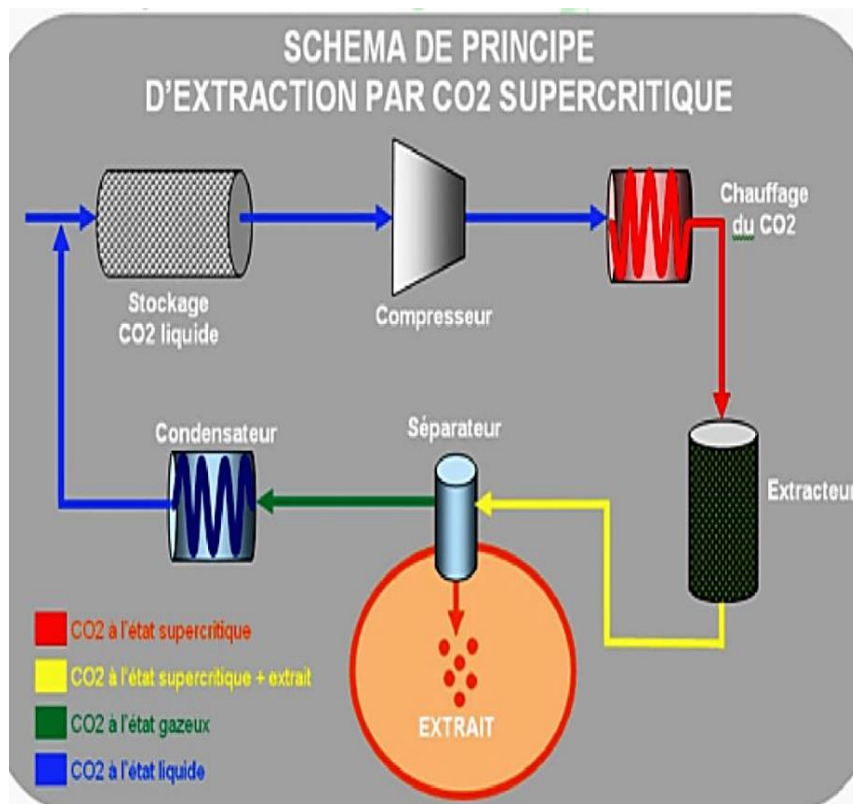


Figure I-17 : Procédé d'extraction au CO_2 supercritique.

I.7.4.2.2. Extraction par fluide pressurisé (EFP) :

L'extraction par fluides pressurisés (EFP) est une technique d'extraction dédiée aux matrices solides. Elle est également appelée extraction par un solvant chaud sous pression, ou extraction accélérée par solvant.

Le principe est simple : il s'agit d'extraire un échantillon solide avec un solvant (ou mélange de solvants) porté à haute température afin d'accélérer le processus d'extraction. L'extraction est donc réalisée sous pression pour maintenir le solvant à l'état liquide. Elle se déroule en plusieurs étapes successives (Voir figure I-18) [54].

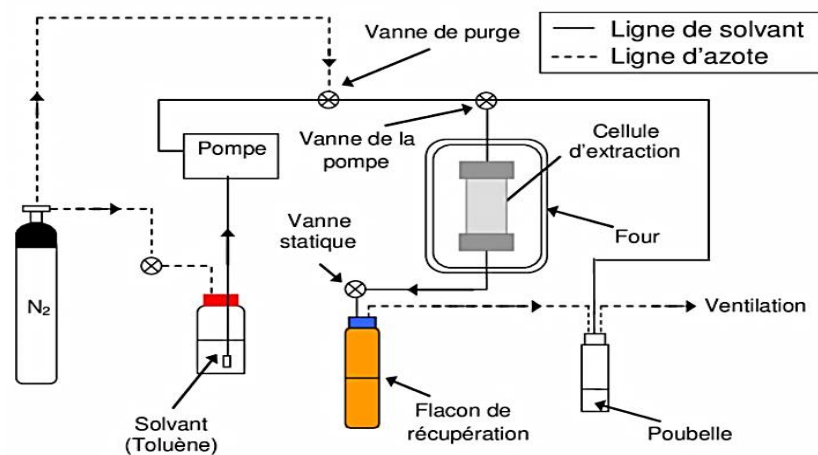


Figure I- 18 : Schéma de l'extracteur par fluide pressurisé.



Chapitre II : Stress et dommages oxydatifs



Sommaire

- ✓ Le stress oxydant
- ✓ Les sources des radicaux libres.....
- ✓ Conséquences biochimique des ERO
- ✓ Système de défense (Antioxydants).....
- ✓ Stress oxydatif et pathologies

Le deuxième chapitre contient un aperçu historique sur le stress oxydatif, définition et mécanisme, les sources des radicaux libre et ses conséquences biochimique, ensuite les antioxydants endogènes et exogènes pour défendre ces effets nocifs, enfin la relation entre le stress oxydatif et le cancer.

II.1. Aperçu historique de stress oxydant :

Au milieu des années 50, parmi les premiers, Gerschman et al, montrent que l'oxygène molécule pourtant indispensable à la vie, présente également une toxicité pour l'organisme.

En 1969, date clé dans l'histoire du stress oxydant, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant : la super oxyde dismutase qui élimine le radical libre anion superoxyde produit par réduction univalente de l'oxygène. Toutefois, pendant très longtemps, des doutes sont émis quant à l'existence réelle des radicaux libres et sur leurs effets in vivo.

Tout au début des années 1990, cette incertitude est levée de façon irréfutable grâce à l'utilisation de la technique de la résonance paramagnétique électronique (RPE) associée au spin trapping («piégeur de spin») dans des modèles de stress oxydant in vivo [55].

II.2. Définition :

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines : déficit nutritionnel en antioxydant, surproduction endogène d'origine inflammatoire, exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants [56].

L'équilibre pro-oxydant/antioxydant est déterminant pour le fonctionnement normal de la cellule et sa viabilité. Le stress oxydant peut altérer les voies de signalisation cellulaires et générer des dommages sur les protéines, les lipides et l'ADN des cellules. Il est ainsi associé à de nombreuses pathologies, notamment les cancers [57].

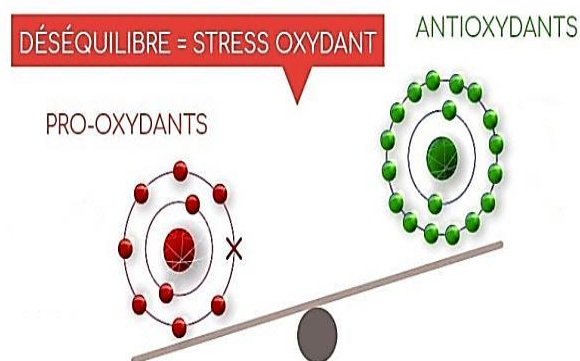


Figure II-1 : Le stress oxydant.

II.3. Mécanisme :

II.3.1. Définition:

Un radical est un atome ou une molécule qui a gagné ou perdu un électron. La présence d'un électron célibataire « non apparié » induit un dérèglement de son champ magnétique et confère à ces radicaux une grande instabilité [58].

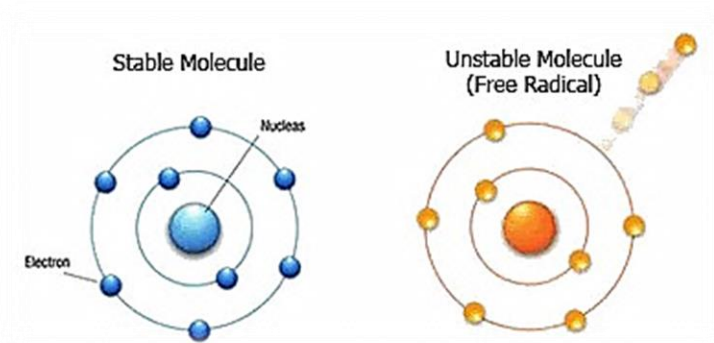


Figure II-2 : La formation d'un radical.

En biologie, les radicaux libres sont des dérivés réactifs de l'oxygène. Ils sont produits naturellement par notre organisme, principalement par nos cellules, lors de la transformation des nutriments en énergie (métabolisme), mais ils peuvent aussi provenir de sources extérieures comme le tabac, l'exposition aux UV, la pollution, le stress, etc. [59].

II.3.2. Différentes formes des radicaux libres :

Les espèces réactives de l'oxygène sont un type de molécule qui se produit naturellement dans le corps en raison du métabolisme normal de l'oxygène. Elles jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire et sont donc nécessaires aux fonctions cellulaires de base.

Toutefois, une augmentation considérable des espèces réactives de l'oxygène dans l'organisme peut causer des dommages importants aux structures cellulaires, conduisant à une situation connue sous le nom de stress oxydatif [60].

Tableau II-1 : Espèces réactives importantes dans le système biologique [61].

Radicaux libres	Non radicaux
Les espèces réactives de l'oxygène	
Superoxide, ($O_2^{\cdot-}$)	Peroxyde d'hydrogène, H_2O_2
Hydroxyl, (OH^{\cdot})	Oxygène singulet, O_2^1
Peroxyl, (RO_2^{\cdot})	Peroxides organiques, ROOH
Alkoxyl, (RO^{\cdot})	Peroxynitrite, $ONOO^{\cdot}$
Carbonate, $CO_3^{\cdot-}$	Acide peroxytreux, $ONOOH$

II.4. Sources :

Les radicaux libres peuvent être produits à partir des sources endogènes ou exogènes: les sources endogènes qui comprennent différents organes cellulaires tels que mitochondrie, réticulum endoplasmique, cellules phagocytaires.....) . Et les sources exogènes comme (pollution, alcool, fumée de tabac, métaux lourds, solvants industriels, pesticides, certains médicaments) [62].

II.4.1. Endogènes :

II.4.1.1. Chaîne respiratoire mitochondriale :

Les mitochondries sont des organites produites à elles seules près de 50 % des ERO dans les cellules [63].

La chaîne respiratoire des mitochondries transforme l' O_2 en H_2O par des réactions d'oxydo-réduction pour fournir l'énergie cellulaire, surtout sous forme d'ATP. Trois composantes de la chaîne respiratoire réduisent une faible portion de l'oxygène par le transfert d'un seul électron pour produire l' $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , et le OH^{\cdot} : le complexe NADH déshydrogénase, la région de l'ubiquinone-cytochrome B et la dihydrol-orotate déshydrogénase. La formation de formes actives de l'oxygène par les mitochondries augmente en fonction de la concentration d'oxygène [64].

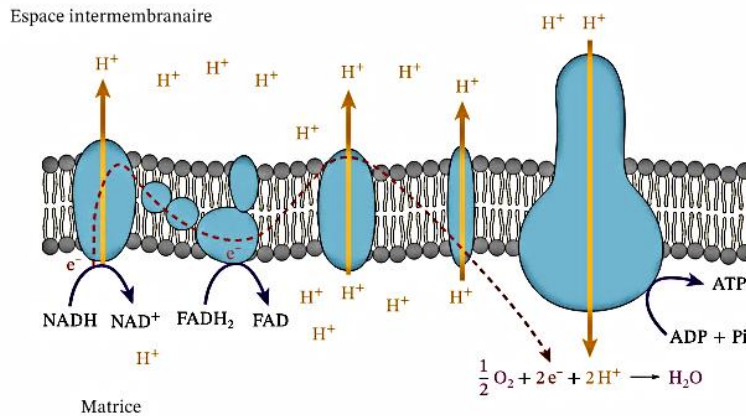
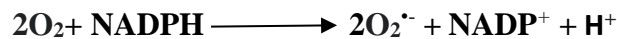


Figure II-3 : Schéma de la chaîne respiratoire mitochondriale.

II.4.1.2. NAD (P) H oxydase:

Les NADPH oxydases sont un groupe d'enzymes associées à la membrane plasmatique que l'on trouve dans diverses cellules d'origine mésodermique. La plus étudiée est la NADPH oxydase, qui se trouve dans les phagocytes professionnels et les lymphocytes B. Il catalyse la production de super oxyde (O₂⁻) par la réduction d'un électron d'oxygène, en utilisant le NADPH comme donneur d'électrons :

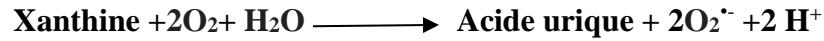


L'O₂ généré par cette enzyme sert de matière de départ pour la production d'un vaste assortiment d'oxydants réactifs, y compris les halogènes oxydés, les radicaux libres et l'oxygène simple. Ces oxydants sont utilisés par les phagocytes pour tuer les microorganismes envahissants, mais ils causent aussi beaucoup de ce que les militaires appelleraient des « dommages collatéraux » aux tissus avoisinants, de sorte que leur production doit être rigoureusement réglementée pour s'assurer qu'ils ne sont produits qu'au moment et à l'endroit requis [65].

II.4.1.3. Xanthine oxydase :

Sous conditions physiologiques, la xanthine oxydase est localisée en particulier dans le foie et dans la muqueuse de l'intestin grêle [66], il existe aussi principalement sous forme de déshydrogénase intracellulaire où la majorité des électrons dérivés du substrat réduisent NAD⁺ en NADH [67].

La xanthine oxydase catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'ischémie-reperfusion ou d'hypoxie. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l' $O_2^{\cdot-}$ [68].



II.4.1.4. Enzymes des réticulums endoplasmiques :

Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques. Les enzymes des réticulums endoplasmique qui contribuent à la formation de ERO comprennent le cytochrome P450, les enzymes b5 et la diamine oxydase. La plus connue de ces enzymes est le P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des ERO. Il semble que cette production radicalaire régule certaines fonctions du réticulum [69,70].

II.4.2. Exogènes :

Les sources exogènes sont principalement des pro-oxydants environnementaux, tels que les pesticides, les métaux lourds, la fumée de cigarette, les polluants, les poussières (amiante, silice) et les composés induits par l'utilisation de certains médicaments, les rayonnements électromagnétiques (ionisants, rayons ultraviolets) ou lors d'un coup de chaleur [71].

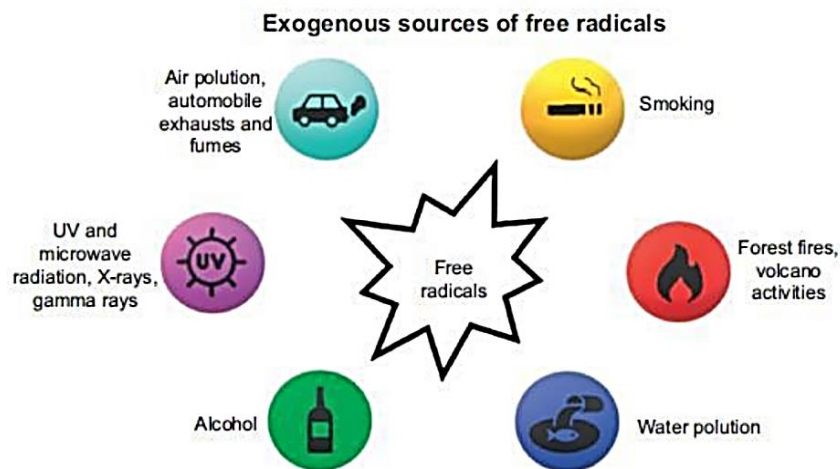


Figure II-4 : Sources exogènes des radicaux libres.

II.5. Conséquences biochimique des ERO :

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides [72].

II.5.1. Les Lipides :

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes. Une première réaction produit un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide gras (initiation). Puis les réactions s'enchaînent pour produire plusieurs radicaux libres (propagation) qui se combinent pour former des composés non radicalaires (terminaison) [73].

La malonedialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (HNE) sont des exemples d'aldéhydes résultants de la peroxydation lipidique et sont utilisés comme marqueurs suivis lors de la détection de peroxydation lipidique chez les patients. Les ERO ainsi que la MDA et le HNE peuvent aussi oxyder les lipoprotéines de faible densité (LDL), riches en acides gras polyinsaturés causant un nombre de changements structuraux et fonctionnels [74].

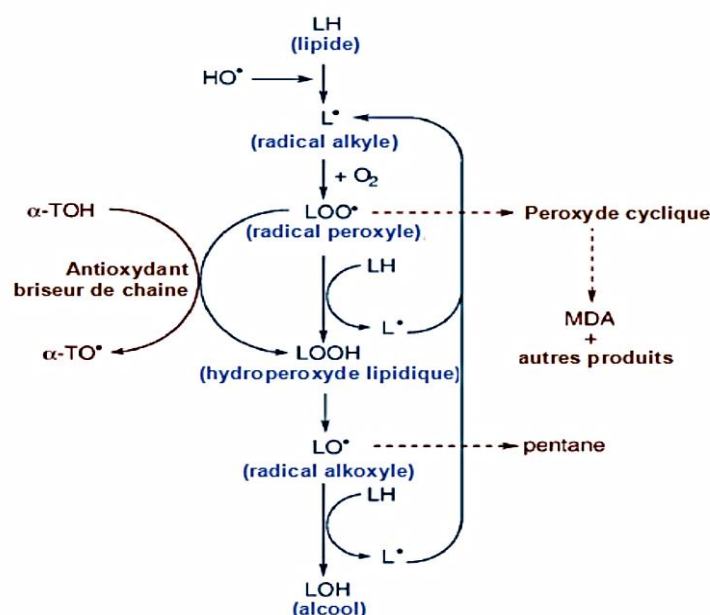


Figure II-5 : Processus de la peroxydation lipidique.

II.5.2. Les protéines :

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ERO. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire [75].

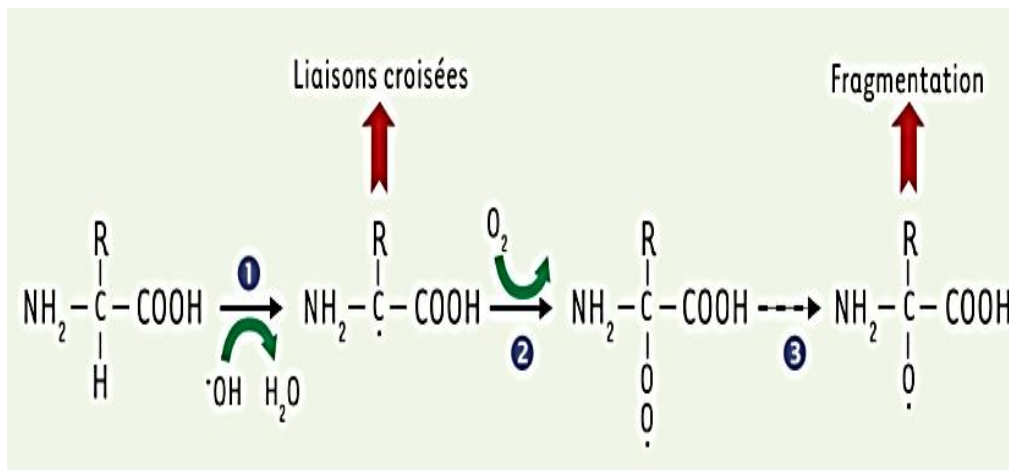


Figure II-7 : Oxydation de la chaîne polypeptidique.

II.5.3. Acides nucléiques :

La production d'ERO conduit à la formation d'un large spectre de modifications de l'ADN. Les modifications des bases puriques et pyrimidiques, les cassures simple et double-brin, et les sites abasiques, oxydés ou non. Les catégories principales de dommages oxydatifs de l'ADN :

- Oxydation de l'adénine ;
- Oxydation des bases et du 2-désoxyribose ;
- Action indirecte réduction des radicaux (ROO·) ;
- Oxydation des bases et du 2-désoxyribose [76].

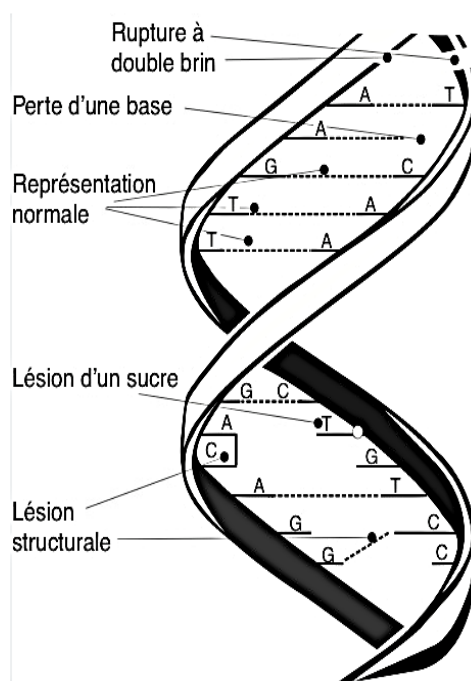


Figure II-8 : Altération de l'ADN.

II.5.4. Inflammation :

L'inflammation est une réponse physiologique de défense ou d'adaptation à une agression, qui peut être un microorganisme ou toutes substances particulières ou solubles, étrangères à l'organisme [77]. Le processus inflammatoire et le stress oxydant sont étroitement liés. Les cellules inflammatoires libèrent de nombreuses substances comme des espèces réactives et des enzymes. Toutes ces substances vont alors induire des dommages sur les tissus et un stress oxydatif. De la même façon, le stress oxydant va libérer des radicaux libres qui peuvent entraîner une cascade de messages aux cellules, renforçant alors l'expression des gènes qui augmentent l'inflammation. En résumé, le stress oxydant peut donc causer l'inflammation, et inversement, l'inflammation peut engendrer un stress oxydant [78].

II.6. Système de défense (Antioxydants) :

Les réactions d'oxydation sont cruciales pour la vie aérobie, mais la génération de ROS non contrôlée est dommageable. Bien que les radicaux libres soient continuellement générés, le corps est équipé pour défendre les effets nocifs de ERO à l'aide d'antioxydants, collectivement appelés le système de défense antioxydant qui comprend à la fois des mécanismes enzymatiques et non enzymatiques [79].

Un anti-oxydant se définit comme étant « toute substance qui, présente à faible concentration comparable à celle d'un substrat oxydable, inhibe l'oxydation de ce dernier » [101]. Un bon antioxydant devrait à la fois :

- Agir spécifiquement sur les radicaux libres ;
- Chélater les métaux de transition ;
- Agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer ;
- Agir à des concentrations physiologiques relativement faibles [80].

II.6.1. Antioxydants endogènes :

Les antioxydants endogènes sont nécessaires au contrôle du stress oxydatif. Leur rôle est d'empêcher la production de radicaux libres ou de désactiver les radicaux libres produits par le fonctionnement de l'organisme. Les acteurs clés de la lutte antioxydante, ce sont des enzymes spécifiques de la lutte antioxydant:

- Glutathion peroxydase (GPx) ;
- Superoxyde dismutase (SOD) ;
- Catalase (CAT) ;
- Glutathion réductase (GR) [81].

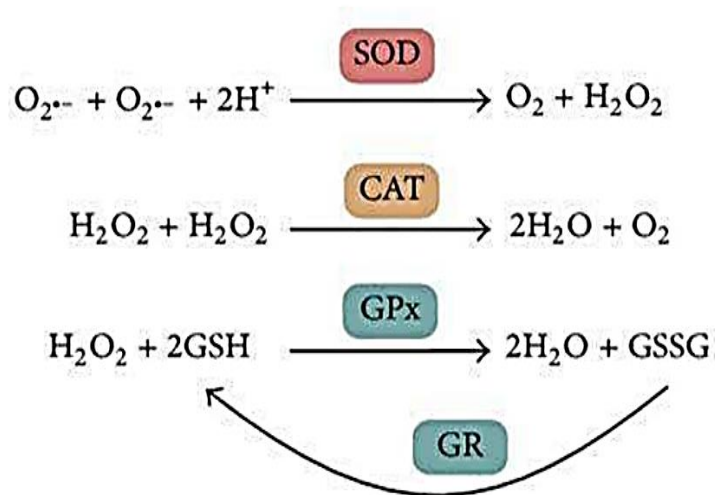


Figure II-9 : Système principal de défense antioxydante enzymatique in vivo et leurs réactions sur les radicaux libres et l'oxyde d'hydrogène.

II.6.2. Antioxydants exogènes :

Ce sont ceux que nous consommons tous les jours dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes [82].

II.6.2.1. Vitamine E et C :

Vitamine E (α -tocophérol, désormais dénommé vitE), vitamine C (acide ascorbique, vitC) sont les principaux antioxydants présents dans les aliments [83] :

- La vitamine E est une vitamine liposoluble qui existe dans huit différentes formes. Tocopherol est la forme la plus active de vitamine E chez l'homme et est un puissant antioxydant biologique qui est considéré comme le principal antioxydant membrané employé par la cellule [84].

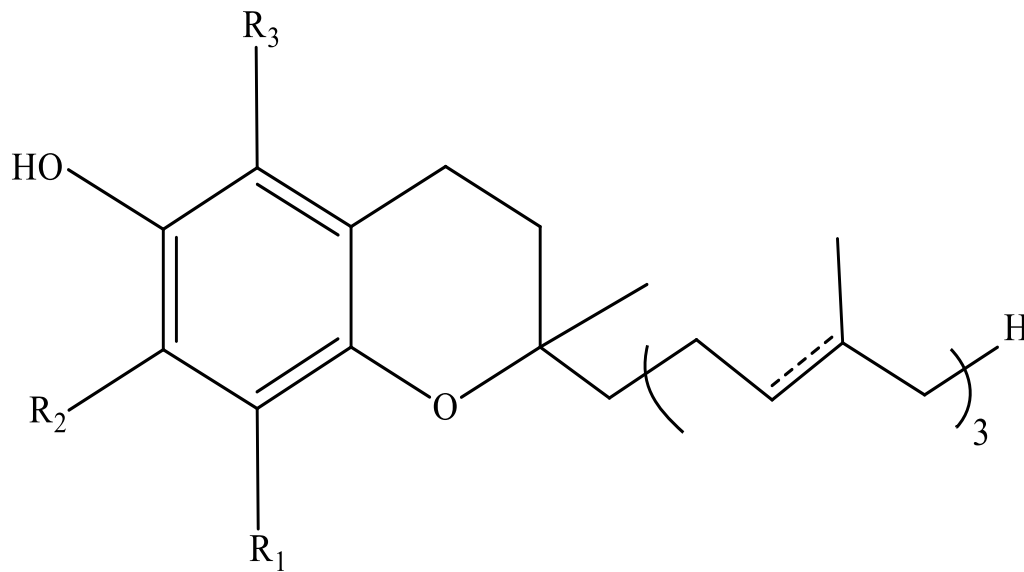


Figure II-10 : Structure chimiques des vitamines E.

- La vitamine C est une molécule hydrophile que l'on retrouve dans de nombreux fruits comme les oranges, les citrons et les fraises. Son caractère hydrophile ne lui permet pas d'avoir une activité intracellulaire.

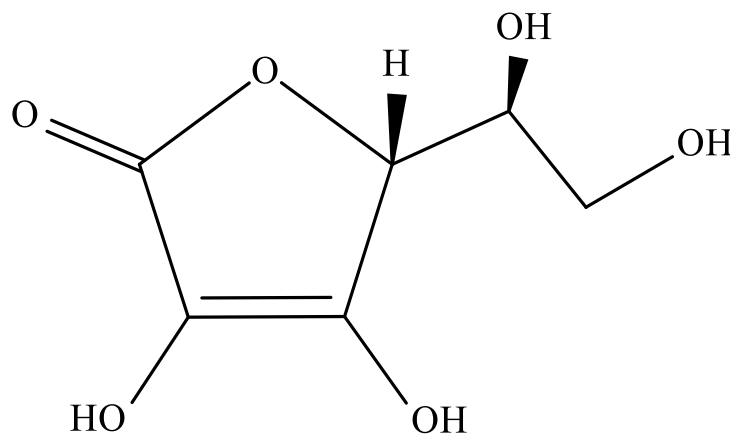


Figure II-11 : Structure chimique de la vitamine C.

Toutefois la vitamine C est capable de piéger des radicaux libres mais son intérêt majeur en terme de pouvoir antioxydant réside en sa capacité à régénérer la vitamine E au sein de la membrane [85].

II.6.2.2. Oligoéléments :

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels apportés par l'alimentation. Ils jouent un rôle important dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, peuvent avoir une action pro-oxydante lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite [86].

II.6.2.3. Polyphénols :

Les polyphénols sont une famille de molécules organiques très répandue dans le monde végétal et dans beaucoup d'aliments. Ils sont responsables entre autres, de l'arôme et de la couleur des végétaux. On peut citer les flavonoïdes qui sont responsables de l'amertume du pamplemousse, les tanins qui sont à l'origine de l'astringence de plusieurs fruits et les anthocyanines de la couleur des fruits rouges par exemple. Leur rôle chez les végétaux est primordial mais ils sont aussi importants chez l'homme. Ils sont avant tout réputés pour leurs propriétés antioxydantes et permettent de lutter contre la formation de radicaux libres [87].

II.7. Stress oxydatif et pathologies :

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydants. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les défenses est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus [88]. Il est donc impliqué dans de très nombreuses pathologies telles que : maladie d'Alzheimer ; maladie de Parkinson ; maladies chroniques inflammatoires de l'appareil digestif ou l'endométriose , maladies cardiovasculaires (hypertension...), maladies broncho-pulmonaires , affections virales chroniques, diabète, polyarthrite rhumatoïde [89].

II.8. Stress oxydatif et cancer :

Le développement du cancer chez l'homme est un processus complexe comprenant des changements cellulaires et moléculaires induits par divers stimuli endogènes et exogènes. Il est bien établi que les lésions oxydatives de l'ADN sont responsables du développement du cancer. L'initiation et la promotion du cancer sont associées à des anomalies chromosomiques et à l'activation oncogène induite par les radicaux libres (ERO, ERN). Par exemple, le tabagisme et l'inflammation chronique résultant de maladies non infectieuses comme l'amiante sont des sources de dommages oxydatifs à l'ADN qui peuvent contribuer au développement du cancer du poumon et d'autres tumeurs [90].

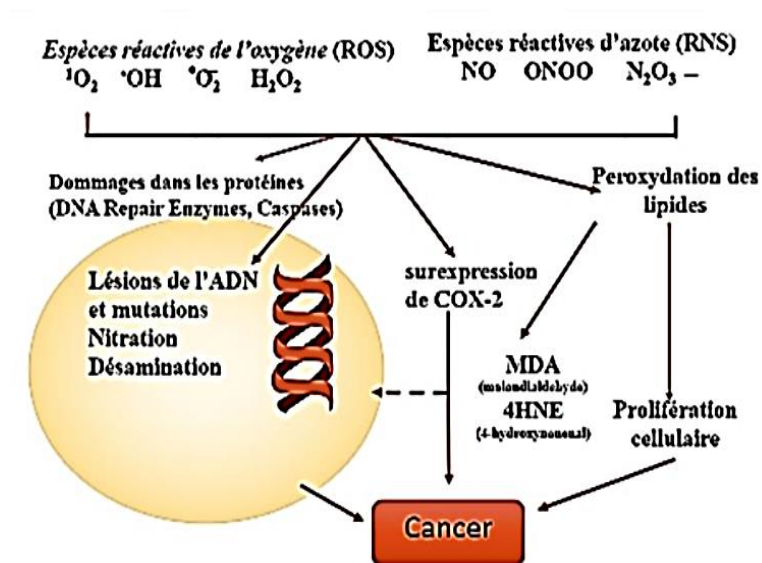
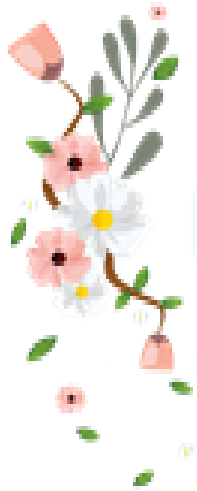


Figure II-13 : Relation entre le stress oxydant et le cancer.



Chapitre III

Docking moléculaire



Sommaire

- ✓ Modalisation moléculaire.....
- ✓ Docking moléculaire
- ✓ Évaluation de l'activité antibactérienne de éphédra alata
- ✓ Résultats.....
- ✓ Discussion.....

Le troisième chapitre présente les bases de la modélisation moléculaire, ses types et ses applications, ainsi que le docking moléculaire et leur principe, les types, ses outils et les logiciels utilisés pour la simulation.

III.1. Définition de la modélisation moléculaire :

La modélisation moléculaire dont le nom, souvent associée aux techniques de graphisme moléculaire en 2D ou 3D, et surtout utilisée comme « moteur de calcul » pour modéliser ou « mimer » le comportement des molécules.

En chimie la modélisation moléculaire permet de déterminer la structure des composés organiques et d'orienter les voies de synthèse organique des produits pharmaceutiques dans le domaine du Drug design. Mais c'est en biologie qu'elle s'avère être un outil indispensable, en particulier dans l'étude structure /activité des biomolécules [91].

III.2. Objectif :

Consiste à construire des modèles des molécules ou d'ensemble de molécules, dans le but de mieux en comprendre la structure et les autres propriétés physico-chimiques [92].

III.3. Principe :

Modéliser une molécule consiste à préciser, à partir de calculs, la position des atomes qui la constituent, dans l'espace et de calculer l'énergie de la structure ainsi engendrée. Une représentation " la plus proche possible de la réalité " correspondra à une structure de plus basse énergie [93].

III.4. Types :

Les méthodes de la modélisation moléculaire comprennent : les méthodes quantiques, la mécanique moléculaire et la dynamique moléculaire.

III.4.1. Les méthodes quantiques :

Ces méthodes sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires (OM). Leur complexité augmente rapidement avec le nombre d'électrons. Les principales variantes sont :

- La méthode de Hückel ;
- Les méthodes de champ auto-cohérent ;
- Les méthodes basées sur la fonctionnelle de la densité [94].

III.4.2. Mécanique moléculaire :

La mécanique moléculaire permet de calculer la géométrie (conformation) et l'énergie potentielle des systèmes moléculaires sans résoudre l'équation de Schrödinger. Cette méthode est particulièrement utilisée pour le calcul de systèmes de haut poids moléculaire tels que les macromolécules biologiques (protéines, membranes, ADN) [95].

III.4.3. Dynamique moléculaire:

La Dynamique Moléculaire (DM) est la science de la simulation d'un système de particules. Elle a été appliquée sur des systèmes allant de l'atome jusqu'à une galaxie. La dynamique moléculaire produit des trajectoires c'est à dire les coordonnées de tous les atomes du système En fonction du temps [96].

III.5. Domaine d'application :

On peut diviser l'application de la modélisation moléculaire en trois catégories :

- Soit pour obtenir une géométrie à laquelle on attache de l'intérêt. Cette situation se présente lorsque la modélisation guide l'interprétation des résultats provenant des études de structure par rayons X ou par diffraction électronique, ou lorsqu'il s'agit de modéliser une molécule pour les besoins de l'infographie.
- Dans l'interprétation des effets stériques sur la réactivité ou bien de la stabilité relative des isomères en tant qu'énergie stérique ou de tension.
- Quand aucune liaison n'est rompue, ni formée et qu'aucun intermédiaire chargé n'intervient, l'interconversion conformationnelle se prête particulièrement bien à une description par la MM. On peut obtenir grâce à cette analyse des informations structurales sous forme d'un profil énergétique (en fonction d'un angle dièdre par exemple) ou des cartes énergétiques 3D [97].

III.6. Docking moléculaire :

III.6.1. Définition :

Le docking (amarrage) est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable. Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments et réduire les essais expérimentaux. Il existe deux approches essentielles :

- Basée sur la complémentarité des surfaces ;
- Basée sur le calcul de l'énergie du complexe [98].

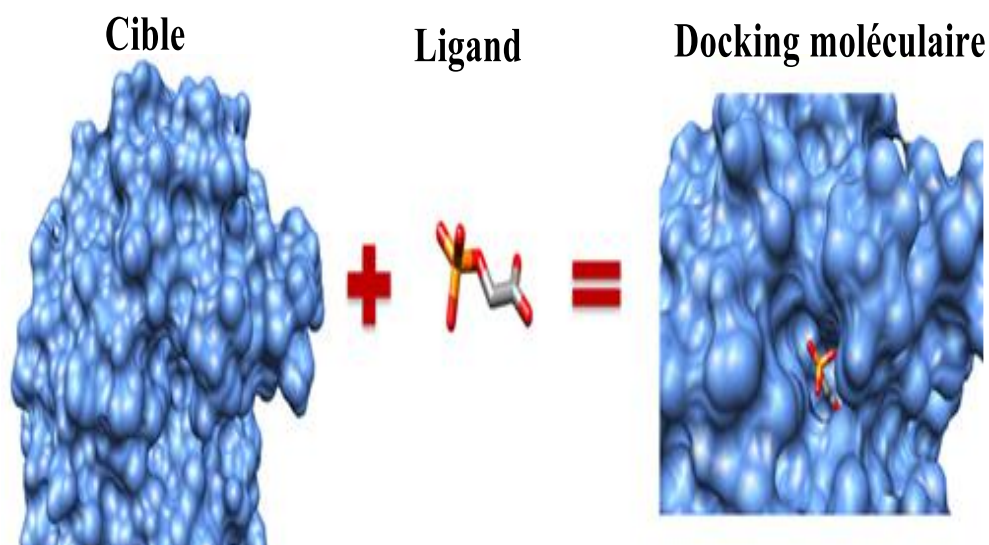


Figure III-01 : Éléments dans l'amarrage moléculaire.

III.6.2. Principe :

Le plus important problème pour l'étape de docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. En fonction du nombre de degrés de liberté de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Pour éviter les calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants [99].

III.6.3. Etapes :

Le principe du docking repose sur 3 étapes :

1. Représentation des systèmes moléculaires ;
2. Établissement d'un algorithme de recherche des interactions ;
3. Établissement d'une fonction permettant d'évaluer l'interaction entre les partenaires [100].

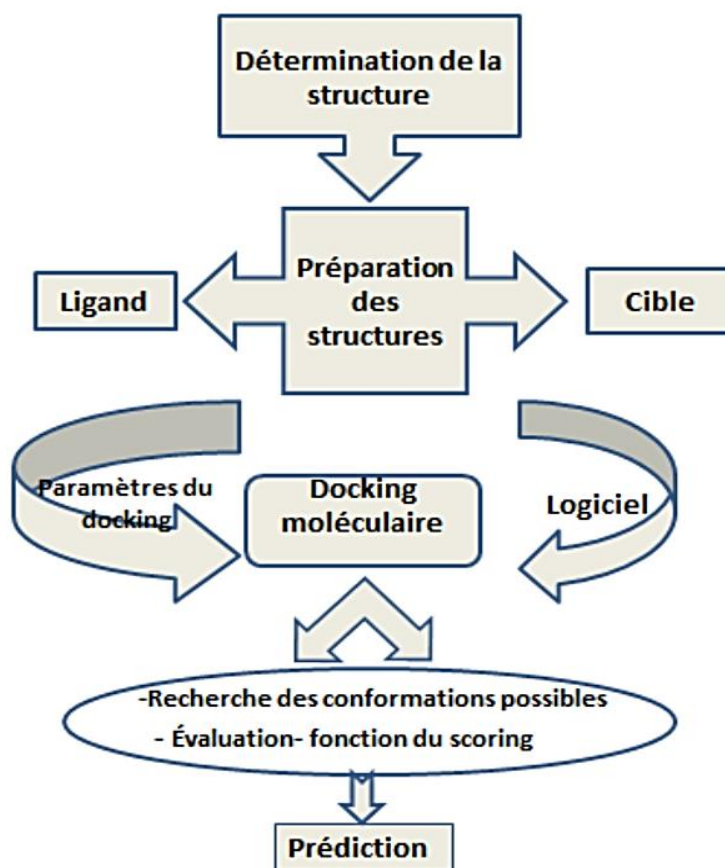


Figure III-02 : Etapes du processus de docking.

III.6.4. Types:

Il existe trois types de Docking moléculaire :

Le Docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéineligand en considérant que chacune des deux molécules étant une entité rigide tout en conservant 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. Cependant, 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. On parle, dans ce cas, de Docking flexible.

Entre les deux modes existe le Docking semi-flexible, où les partenaires d'interaction sont partiellement déformables. En général, le récepteur est traité comme étant rigide et le ligand comme étant totalement flexible, se sont imposés, car elles permettent d'obtenir des résultats plus précis [101].

III.6.5. Outils :

III.6.5.1. Récepteur :

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand. Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB (« Protein Data Bank », (en anglais), la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN) [102].

III.6.5.2. Ligand :

Molécule possédant un site conformationnel qui lui permet de « reconnaître » une molécule réceptrice pour s'encaster dans un site topologiquement complémentaire. La liaison ainsi constituée peut soit enclencher un cycle de modifications ayant pour point de départ le récepteur (effet activateur), soit au contraire inhiber le fonctionnement de celui-ci (effet bloquant) [103].

III.7. Programmes de docking moléculaire :

Dans le domaine de docking moléculaire, plusieurs logiciels ont été utilisés pour étudier les différentes interactions existantes entre deux entités moléculaires.

A l'heure actuelle, il ya nombreux programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM [104].

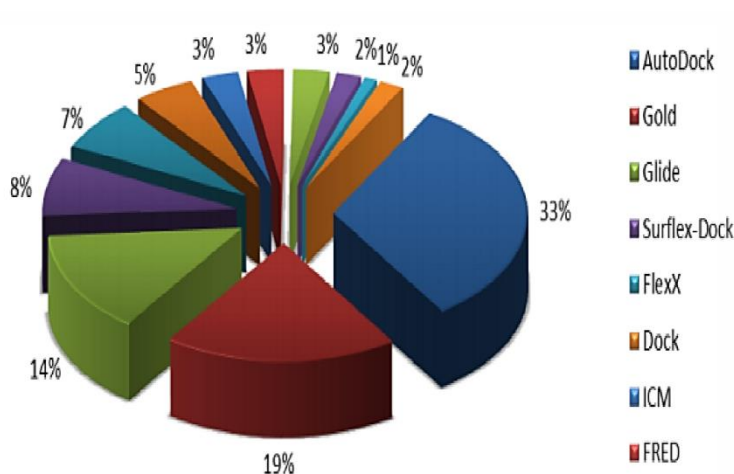


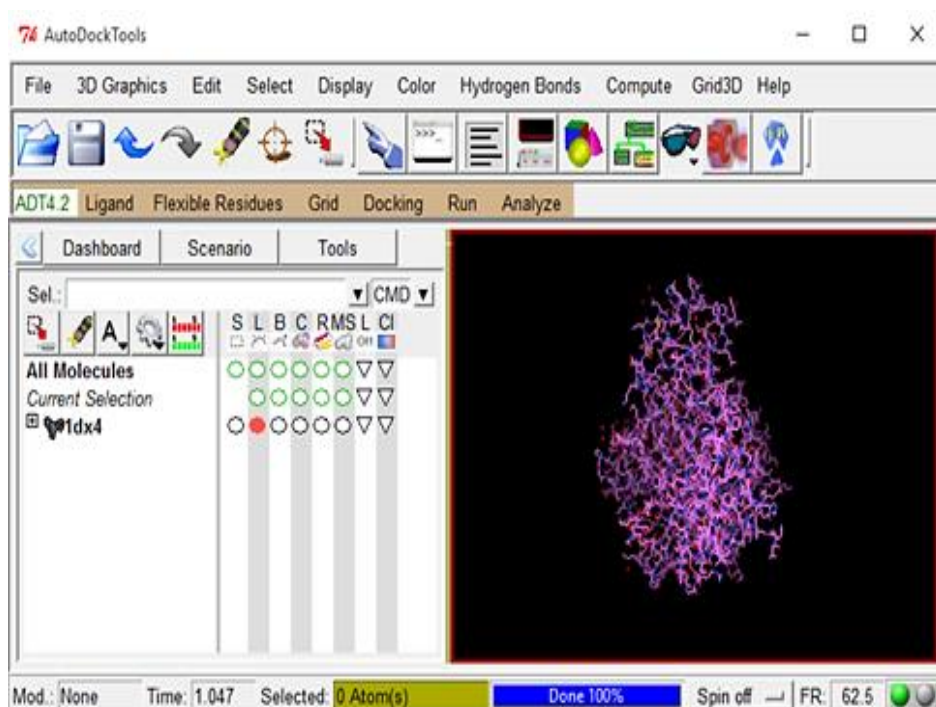
Figure III-03 : Comparaison des programmes de docking les plus cités.

Tableau III-01: Principaux programmes du docking moléculaire.

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

III.7.1. AutoDock :

Est un programme utilisé pour prédire les conformations liées d'un petit ligand flexible à une cible macromoléculaire de structure connue. La technique combine le recuit simulé pour la recherche de conformation avec une méthode rapide d'évaluation énergétique basée sur grille [105].

**Figure III-04 :** Interface graphique du logiciel Auto Dock.

III.7.2. Dock :

Le DOCK est l'un des logiciels de docking ligand-protéine les plus anciens et les plus connus. La version initiale utilise des ligands rigides, la flexibilité a été incorporée plus tard par l'intermédiaire de la construction par incrémentation du ligand dans la poche de liaison [106].

III.7.3. FlexX :

FlexX est un programme informatique permettant de prédire les interactions protéineligand. Pour une protéine donnée et un ligand, FlexX prédit la géométrie du complexe ainsi qu'une estimation de la force de liaison. Dans cette première version de FlexX, la protéine est supposée être rigide. Ainsi, la protéine doit être donnée dans une conformation semblable à l'état lié. L'accostage d'algorithme dans FlexX fonctionne sans intervention manuelle. Jamais, dans certains cas des informations supplémentaires sur le ligand ou même le complexe sont connues. Vous pouvez intégrer Cette connaissance dans les calculs avec FlexX en effectuant des étapes simples manuellement. Ainsi, FlexX est idéal pour les travaux interactifs sur les complexes protéine-ligand ainsi que pour le dépistage un plus grand ensemble de ligands afin de trouver de nouvelles pistes pour la conception de médicaments [107].

III.7.4. GOLD :

Est un programme d'amarrage utilise l'algorithme génétique pour fournir un docking du ligand flexible et une protéine avec des groupes d'hydroxyle flexibles. Autrement dit, la protéine est considérée comme rigide, qui est un avantage quand la poche de liaison contient les acides aminés qui forment des liaisons hydrogène avec le ligand. GOLD emploie une fonction de score qui est basée sur des conformations favorables trouvées dans la base de données structurale de Cambridge et sur des résultats empiriques des interactions chimiques faibles [108].

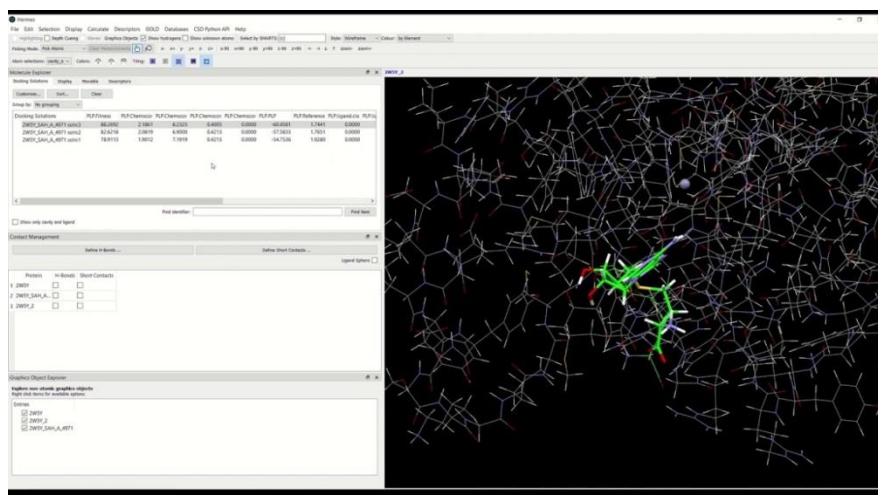


Figure III-05: Docking par Gold.

III.7.5. Moe (Molecular Operating Environment):

MOE Est une plateforme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation et la simulation, et le développement de méthodes dans un seul package. Il s'agit d'un système logiciel complet développé par le Chemical Computing Group ULC. Membre du Groupe canadien d'informatique chimique. Les applications scientifiques du MOE sont utilisées par les biologistes, les chimistes médicaux et les chimistes computationnels dans la recherche pharmaceutique, biotechnologique et universitaire [109].

Le Molecular Operating Environment permet d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir les meilleures conformations de ces molécules. Il permet également de docker plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. Et présente une forme de docking flexible dans lequel le récepteur et le ligand change de conformation et s'adaptent à l'environnement. Il est également possible de représenter l'enzyme et son ligand Co-cristallisateur [110].

III.8. Les banques de données:

III.8.1. PDB :

La banque de données protéiques RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics), plus communément appelée PDB (Protein Data Bank), a été utilisée pour obtenir la structure des protéines (enzymes) cibles. Cette base de données est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures tridimensionnelles de protéines d'intérêt pharmaceutique [111].

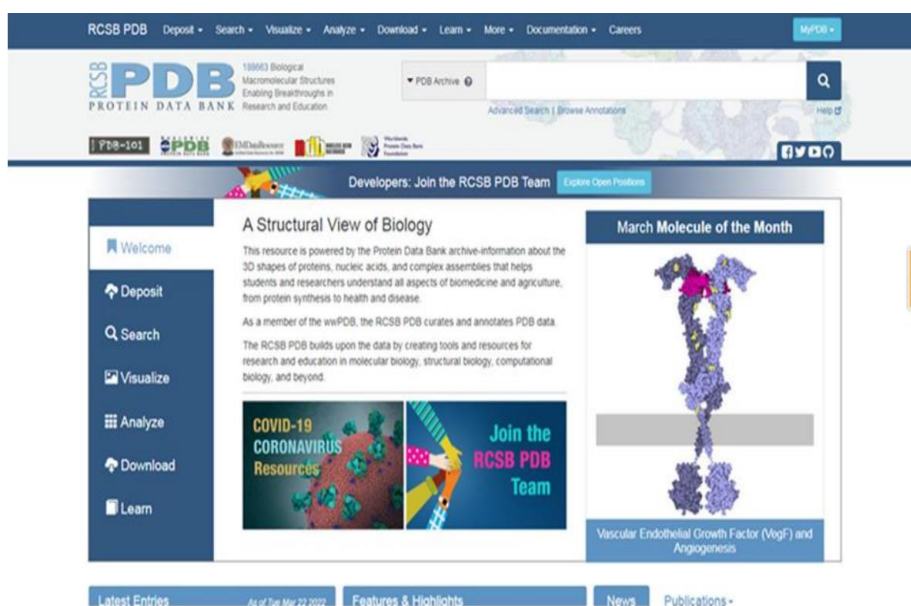


Figure III-06 : Page d'accueil de la base de données RCSB.

III.8.2. PubChem :

Pubchem est une base de données créée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) qui contient des informations sur les structures chimiques, identifiants, propriétés physiques et chimiques, activités biologiques, tests biologiques, brevets, toxicité, etc., de petites molécules composés tels que les médicaments, nucléotides, peptides, mais aussi de macromolécules [112].

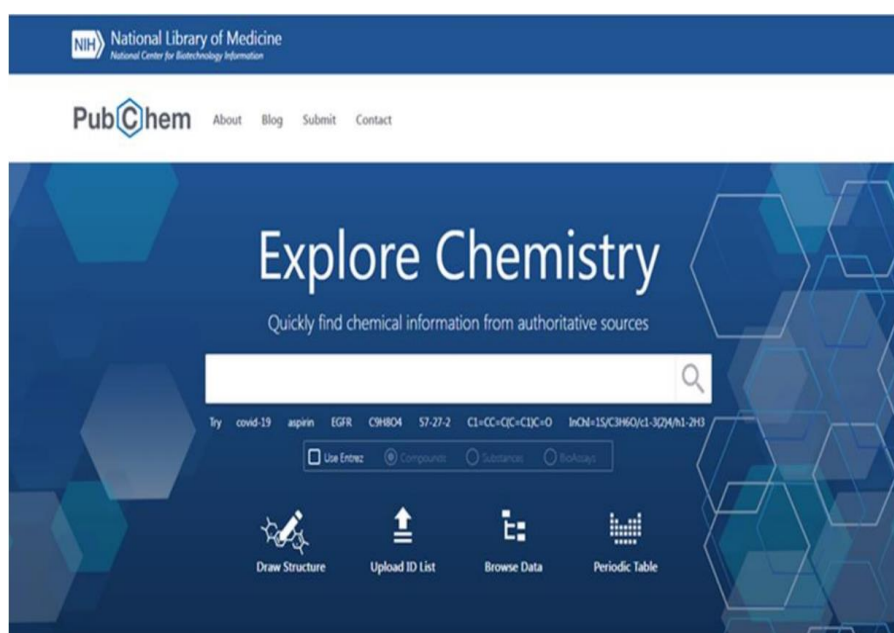


Figure III-07 : Page d'accueil de la base des données PubChem.

III.9. Evaluation « in silico » de l'activité de quelques molécules de l'ephedra alata :

La partie calcul consiste à étudier les interactions entre une série de molécules et des récepteurs protéiniques.

III.9.1. Méthode :

III.9.1.1. Logiciel utilisé :

Pour l'étude de docking moléculaire, on a utilisé le MOE 2014. Le MOE est un outil de calcul chimique et de modélisation moléculaire, un logiciel largement utilisé dans les applications scientifiques.



Figure III-08 : Interface du logiciel MOE.

III.9.1.2. Démarches à suivre :

III.9.1.2.1. préparation de la cible :

- Téléchargement d'enzyme à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank.
- Simplification une des deux chanines.
- Elimination des molécules d'eau.
- Protonation et correction de la structure.

III.9.1.2.2. Préparation du ligand :

- Les ligands (inhibiteurs) sont téléchargés à partir de la base PUBCHEM sous forme smiles extension ;

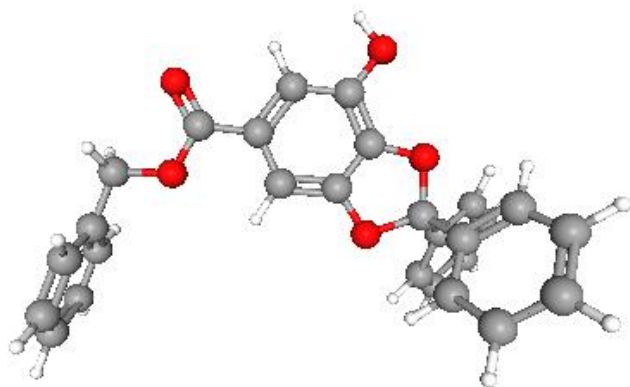
- Ajouts des charges et proton ;
- Minimisation de l'énergie.

III.9.1.2.3. Réalisation du docking :

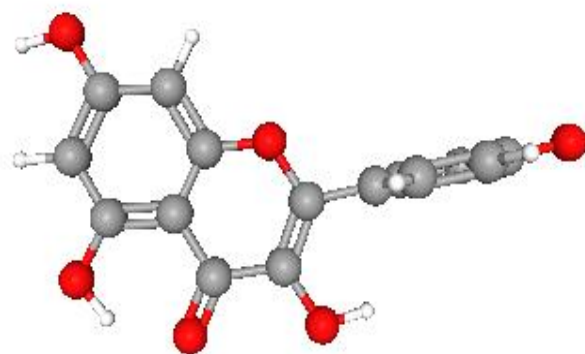
- L'ajout de la protéine.
- Création une data base pour le ligand.
- Configuration des paramètres du docking.
- Les simulations de fixation du ligand sur le récepteur ont été faites sur le Ligand Pocket.

III.9.2. Molécules et cibles sélectionnés :

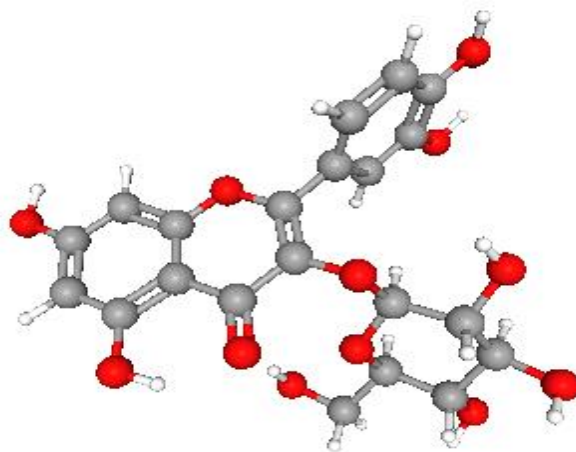
- Cinq molécules parmi les composés isolées de l'espèce Ephedra alata :



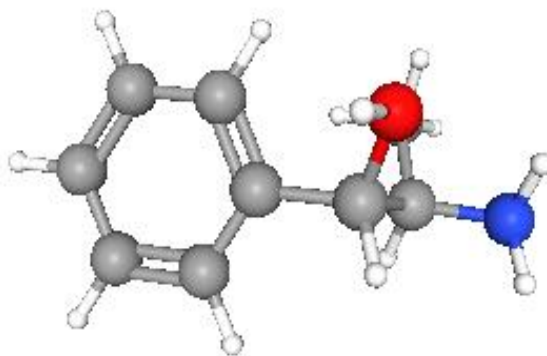
Gallic acid,



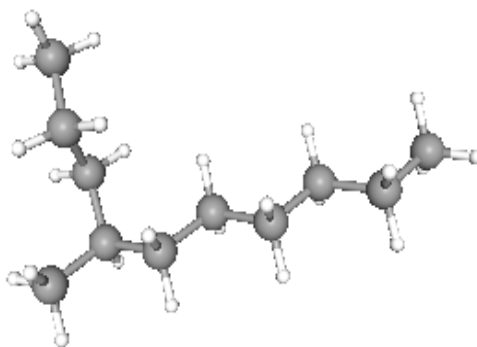
Kaempferol,



Quercetin 3-O-glucoside,



Norephedrine,



4-Methyldecane

-Et une cible qui a fait l'objet de l'étude de la prédiction :

2CDU (NADPH oxydase, un complexe protéique qui provoque le stress oxydative).

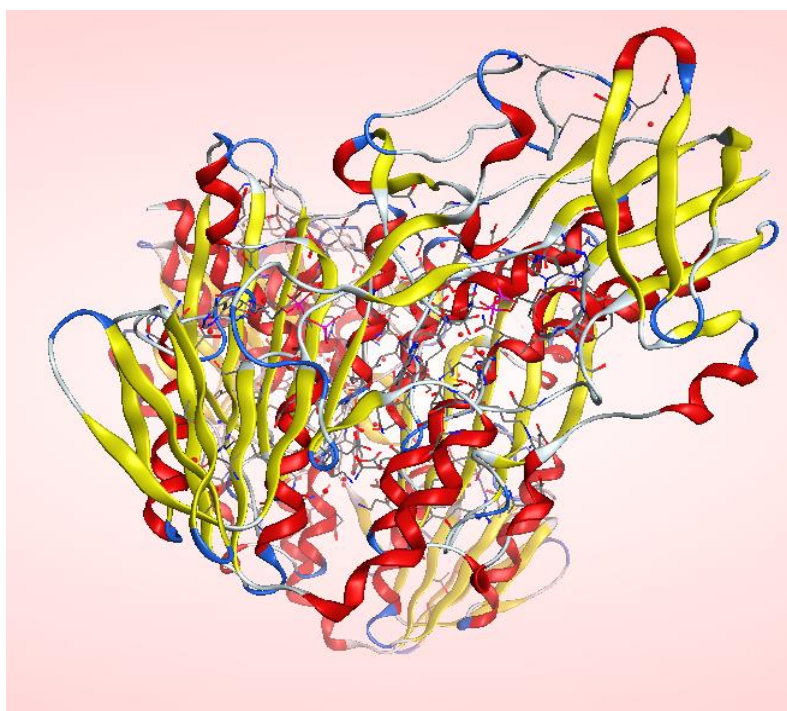


Figure III-09 : Structure de l'enzyme Code PDB (2CDU).

III.9.3. Résultats et discussion :

Les valeurs obtenues sont classées selon le critère suivant : bonne ($\text{RMSD} \leq 2,0\text{\AA}$), acceptable ($\text{RMSD} > 2\text{\AA}$ et $\leq 3,0\text{\AA}$), imprécise lorsque la solution du docking est loin du site actif ou dans une position inversée ou incorrecte ($\text{RMSD} > 3\text{\AA}$).

Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau III-02**. Les meilleurs inhibiteurs sont choisis en comparant leurs scores d'affinité par rapport à ceux du ligand de référence.

Tableau III-02 : Les ΔG binding pour les interactions molécule- enzyme CDK2.

Molécule	E (ΔG binding Kcal/mole)	RMSD
Quercetin 3-O-glucoside	-7.55	1.73
Acide gallique	-4.89	1.63
Kaempferol	-6.24	1.29
Norephedrine	-5.49	2.79
4-Methyldecane	-5.33	1.07
5-fluorouracil (référence)	-4.1	0.32

Dans cette étude, l'énergie de ligand 5-fluorouracil a été choisie comme énergie de référence pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants d'Ephedra alata.

Le docking moléculaire des quatorze molécules a donné des scores d'affinité allant de -4.89 Kcal/mole pour l'acide gallique jusqu'à -7.66 Kcal/mole pour le quercetin 3-O-glucoside.

Pour rappel, les scores d'affinité les plus négatifs indiquent une plus forte interaction entre le ligand et la protéine.

A la lumière des résultats du **tableau III-02**, il ressort que les composés testés présentent une meilleure affinité pour la protéine cible:

Quercetin 3-O-glucoside -7.55, Kaempferol -6.24, Norephedrine -5.49, 4-Methyldecane -5.33 et l'Acide gallique-4.89 Kcal/mol, en comparaison à celle du ligand de référence -4.1 Kcal/mol, et sont susceptible de former avec elle des complexes plus stables.

En complément des résultats obtenus ; une analyse visuelle des complexe qui Ligand-cible protéique a été réalisée.

La suivante **figure III-11**, montre que parmi les composés étudiés, les molécules qui sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyles (OH) possèdent une importante affinité à la protéine, le nombre d'interactions est observé pour le Quercetin 3-O-glucoside et le pseudophidrine qui forment cinq liaisons avec le récepteur, puis le kaempferol avec quatre, par contre le n'a pas révéler aucune relation avec la cible étudiée.

La formation d'un complexe stable dépend de la fixation de l'inhibiteur dans le site actif par des interactions, principalement des interactions hydrophobes, électrostatiques et des liaisons de types hydrogène.

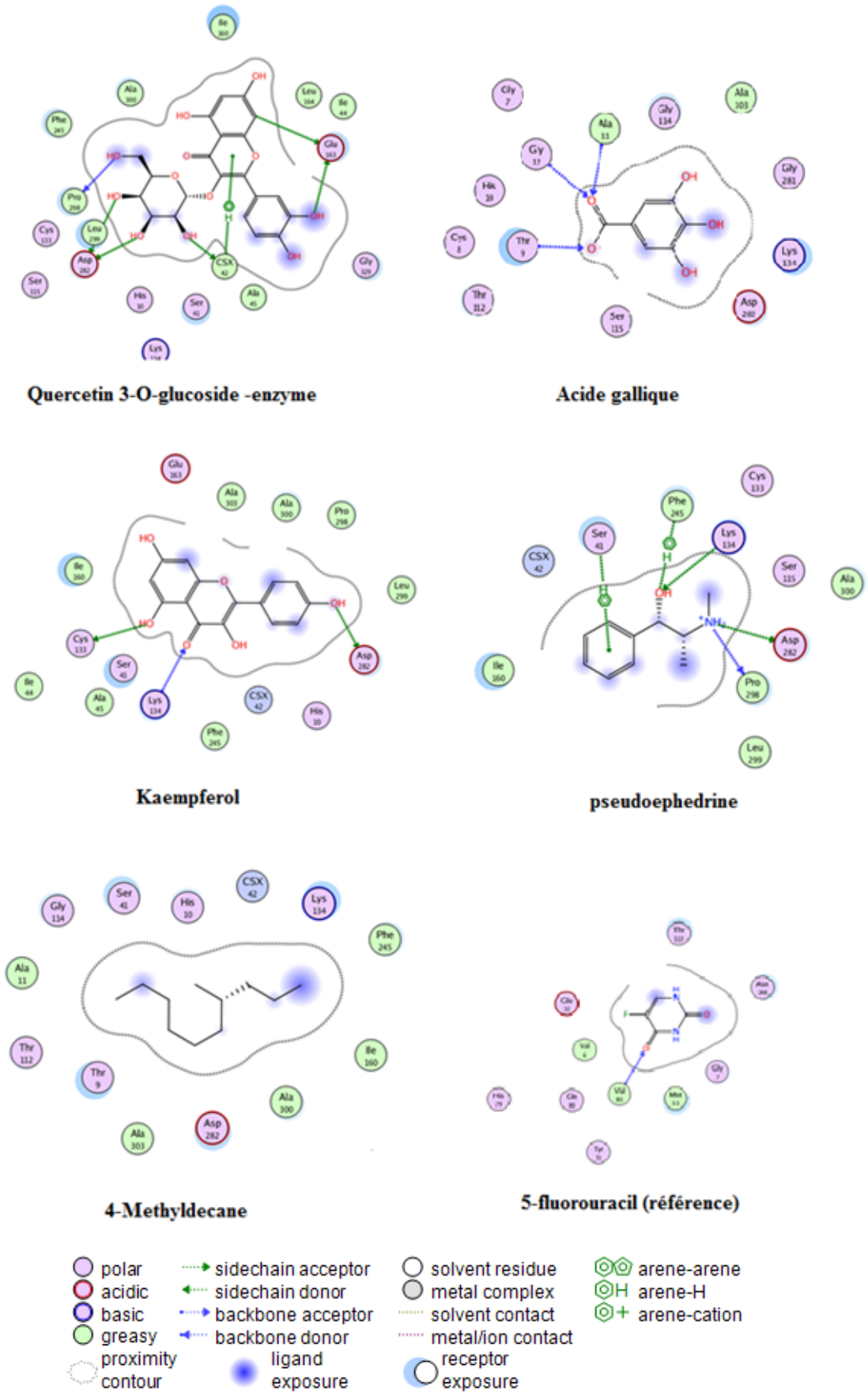


Figure III-10 : Mode interaction molécules -enzyme NADPH oxydase.



Conclusion générale



Ce manuscrit, " Évaluation in silico du pouvoir antioxydant de quelques polyphénols de la plante éphédra alata sur le stress oxydatif " comprend trois chapitres :

Dans le premier chapitre, nous avons présenté la phytothérapie et ses avantages, ensuite nous avons mentionné des définitions des différents types des composés phénoliques et leurs méthodes d'extraction ainsi que quelques techniques d'extraction des huiles essentielles.

Dans le deuxième chapitre, nous avons donné un aperçu sur le stress oxydatif et les radicaux libre ensuite les conséquences biochimiques du dommage oxydatif, ainsi que le Système de défense (Antioxydants), et stress oxydant avec pathologies et le cancer.

Dans le troisième chapitre, nous avons concentré sur la modélisation moléculaire, en présentes des rappels sur les différents types ainsi que leur principe, application et des logiciels.

Enfin dans la partie calcul nous avons présenté le programme MOE que nous avons utilisé pour faire le Docking de certains molécules qui sont les composés isolées de l'espèce Ephedra alata (Quercetin 3-O-glucoside, Acide gallique, Kaempferol, Norephedrine, 4-Methyldecane) avec le récepteur protéinique NADPH oxydase Code PBD (2CDU).

Parmi les molécules testées, les meilleures interactions ligand-récepteur sont observées pour le Quercetin 3-O-glucoside et le pseudophidrine qui forment cinq liaisons avec le récepteur, puis le kaempferol avec quatre, par contre le n'a pas révéler aucune relation avec la cible étudiée.



Références Bibliographiques

- [01] **Asraoui F & Kounoun A & Cadi H. E & Cacciola F & Majdoub Y. O. E & Alibrando F ... & Louajri A**, «Phytochemical investigation and antioxidant activity of *Globularia alypum* L », *Molecules Article*, 2021, vol 26, pp 759.
- [02] **Addad M**, « Etude phytochimique et Evaluation de l'activité biologique des extraits de plante *Ephédra alata alenda* », Mémoire de Master, Université Larbi Ben M'Hidi -Oum El Bouaghi, 2022.
- [03] **Bouchacra S**, «Modélisation des interactions protéine-petites molécules : étude de la relation structure-fonction dans le cas des lipases», Thèse de Doctorat en Sciences, Université Badji Mokhtar-Annaba, 2018.
- [04] **Chabrier J.Y**, « Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie », Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Henri Poincaré - Nancy 1- France, 2010.
- [05] **Chevallier A**, « Motivations à la formation et à la prescription de la phytothérapie chez les médecins généralistes », Thèse de Doctorat en médecine, Université de Lorraine - France, 2020.
- [06] **Ooreka**, « Comprendre phytothérapie - définition », < <https://www.phytotherapie.ooreka.fr/comprendre/phytotherapie-definition> >, Consulté le :01/03/2023.
- [07] **Castagna J & Kurihara F & Amsler E & Soria A & Barbaud A**, « Quelques déboires avec la phytothérapie », *Revue française d'allergologie*, 2022 , Vol 62, pp282-284.
- [08] **Slimane Messaoud K**, «Phytothérapie et coronavirus-19-à la wilaya d'Ain Temouchent », Mémoire de Master, Université Belhadj Bouchaib Ain-Temouchent, 2021.
- [09] **Van Dormael M**, «La médecine coloniale, ou la tradition exogène de la médecine moderne dans le Tiers Monde », *Studies in Health Services Organisation & Policy* (ITG Press), 1, 1997.
- [10] **Senghor A.S**, « Médecine moderne et médecine traditionnelle: Analyse à partir d'une auto-ethnographie », <file:///C:/Users/ilyes%20cyber-shop/Downloads/Intervention-2.pdf >, Consulté le 02/03/2023.

- [11] **Se soigner autrement**, «médecine traditionnelle et médecine moderne », < <https://sesoignerautrement.net/medecine-traditionnelle-medecine-moderne-quelles-differences> >, Consulté le 02/03/2023.
- [12] **Oullai L & Chamek C**, «Contribution à l'étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales utilisées pour le traitement des affections de l'appareil digestif en Kabylie», Thèse de doctorat en Pharmacie, Université Mouloud Mammeri Tizi- Ouzou, 2018.
- [13] **Bouziiani O & Sidi ali B**, «Étude de la phytothérapie traditionnelle dans la région de Zaouiet Kounta et Reggane », Mémoire de Master, Université Ahmed Draïa Adrar, 2018.
- [14] **Ben Moussa M.T**, «phytothérapie»,<http://pharmacie.univ-batna2.dz/sites/default/files/pharmacie/files/cours_44_phytotherapie_-six.pdf >, Consulté le 05/03/2023.
- [15] **Centre européen de formation**, «La phytothérapie : les bienfaits des plantes», < <https://www.centre-europeen-formation.fr/blog/bien-etre/phytotherapie/>>, Publié le 25 novembre 2022, Consulté le 07/03/2023.
- [16] **Santors**, «Tout sur la phytothérapie», < <https://santors.fr/phytotherapie> >, Consulté le 07/03/2023.
- [17] **Lehout R & Laib M**, « Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale: Artemisia herba alba Asso », Mémoire de Master, Université de Frère Menturi Constantine, 2015.
- [18] **Sofowora A**, «Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique», KARTHALA Editions, 2010.
- [19] **Benzeggouta N**, « Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes médicinales seules et combinées », Thèse de Doctorat en Sciences, Université Mentouri-Constantine, 2015.
- [20] **Actusanté Fenua**, «Quelles sont les méthodes d'extraction des principes actifs ? », <<https://actusantefenua.com/bien-etre/naturopathie/methodes-d'extraction-principes-actifs/>>, Consulté le 13/03/2023.

- [21] **Boizot N & Charpentier J. P**, « Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier », Cahier des Techniques de l'INRA, 2006, pp79-82.
- [22] **Jean B**, « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales», TOC & DOC Editions, 2009.
- [23] **Amrouche S & Mezieche E**, « Extraction et valorisation des polyphénols de substrats végétaux », Thèse de doctorat, Ecole Nationale Polytechnique ,2021.
- [24] **Zibouche S**, « Les composés phénoliques: origine, toxicité et voies d'élimination », Mémoire de Master, Ecole Nationale Polytechnique, 2015.
- [25] **Bourennani S & Mokrani C**, « Synthèse bibliographique sur l'effet de l'interaction polyphénols-protéines sur l'activité antioxydante », Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, 2020.
- [26] **Agronomie**, « Quelles différences entre acides phénols, flavonoïdes, tannins », <<https://agronomie.info/fr/quelles-differences-entre-acides-phenols-flavonoïdes-tannins/>>, Consulté le 18/03/2023.
- [27] **Marfak A**, « Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides », Thèse de doctorat, Université de Limoges, 2003.
- [28] **Ghedira K**, « Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie », Article de Pharmacognosie, 2005, vol 4, pp 162-169.
- [29] **Patil V. M & Masand N**, « Anticancer potential of flavonoids: chemistry, biological activities, and future perspectives», Studies in natural products chemistry, 2018, 59, pp401-430.
- [30] **Bouchelouh S & Hala A**, «Etude théorique des propriétés physico-chimiques des flavonoïdes d'une plante (salvia officinalis) », Mémoire de Master, Université Mohammed Seddik Ben yahia- Jijel ,2020.

- [31] **Catier O & Roux D**, «Botanique pharmacognosie phytothérapie : cahiers du préparateur en pharmacie », Wolters kluwer édition , 2007.
- [32] **Mahmoudi S & Khali M & Mahmoudi N**, «Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L) », Revue Nature & Technologie, Université Saâd Dahlab-Blida, 2013, vol 9, pp35-40.
- [33] **Bouhadjera K**, «Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales Sahariennes, *Oudneya africana* R. Br. Et *Aristida pungens* L», Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, 2005.
- [34] **Bentaleb H & Kenouz C**, «Extraction et séparation chromatographique des composés de l'espèce *Centaurea montana* », Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945- Guelma, 2020.
- [35] **Boukeni G & Toun T**, «Activité antioxydante des composés phénoliques d'*Asphodelus microcarpus* », Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri -Tizi-Ouzou, 2020.
- [36] **El darra N**, «Les composés phénoliques des raisins: étude du potentiel qualitatif et des procédés émergents d'extraction », Thèse de doctorat, Université de Technologie Compiègne- France, 2013.
- [37] **Naili F & Ben Selhoub C**, «Optimisation de l'extraction assistée par micro-ondes par plan d'expérience de l'ail », Mémoire de Master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimy - Bordj Bou Arréridj, 2020.
- [38] **Sharifi-Rad J & Sureda A & Tenore G. C & Daglia M & Sharifi-Rad M & Valussi M & Iriti M**, «Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems», Review Molecules, 2017, 22, 1-55.
- [39] **Lamarti A & Badoc A & Deffieux G & Carde J.P**, «Biogénèse des monoterpènes II la chaîne isoprénique », Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1994, vol 133, pp79 - 99.
- [40] **Pavoni L & Perinelli D. R & Bonacucina G & Cespi M & Palmieri G. F**, «An overview of micro-and nanoemulsions as vehicles for essential oils: Formulation, preparation and stability», Review Nanomaterials, 2020 ,vol 10, pp1-24.

- [41] **Agronomie**, « Répartition et localisation des huiles essentielles », <<https://agronomie.info/fr/repartition-et-localisation-des-huiles-essentielles-2/>>, Consulté le 11/04/2023.
- [42] **Nowitz T & Bottet J**, «Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins », Edition Larousse-Bordas, 2000, p54.
- [43] **Figueredo G**, « Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne», Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II –France, 2007.
- [44] **Couic Marinier F & Lobstein A**, «Composition chimique des huiles essentielles », Actualités pharmaceutiques, 2013, vol 52, pp22-25.
- [45] **Meddour A & Medini A**, «Etude du réseau d'alimentation en eau potable des deux villages (Taourirt et Bounaïme) de la Commune de Benidjellil Wilaya de Bejaïa », Mémoire de Master, Université Abderrahmane Mira- Bejaïa, 2021.
- [46] **Yaacoub R & Tlidjane I**, «Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de Cuminum cyminum L. et de Foeniculum vulgare Mill. Extraite par hydrodistillation et CO₂. Supercritique: Etude comparative», Mémoire de Master, Université Laëbi Ben M'hidi - Oum El Bouaghi, 2018.
- [47] **Belkhiri F & Baghiani A**, « plantes médicinales Activités antioxydantes et antibactériennes Etude de cas : Tamus et Carthamus caeruleus », éditions Universitaires Européennes ,2017.
- [48] **Boukhatem M.N & FERHAT A & KAMELI A**, « Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature», Revue Agrobiologia, 2007, vol 3, pp 1653-1659.
- [49] **Jouault S**, « La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité », Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine-Nancy – France, 2012.
- [50] **Hessas T & Simoud S**, « Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Thymus sp », Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mouloud Mammeri -Tizi-Ouzou, 2018.

[51] **Rassem H. H & Nour A. H & Yunus R. M**, « Techniques for extraction of essential oils from plants: a review », Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2016, vol 10, pp 117-127.

[52] **Pourmortazavi S.M & Hajimirsadeghi S.S**, « Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis », Journal of chromatography A, (2007), vol 1163, pp2-24.

[53] **Herzi N**, « Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles », Thèse de doctorat, Université de Toulouse- France ,2013.

[54] **Chim Activ**, «L'extraction par un liquide sous pression (PLE)», <<http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/methodologie/extraction/savoir-plus/14> >, Consulté le 13/04/2023.

[55] **Defraigne J.O & Pincemail J**, « Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités », Revue médicale de Liège, 2008, vol 63, pp 10-19.

[56] **Favier A**, « Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur », Revues Annales de Biologie Clinique, 1997, Vol 55, pp 9-16.

[57] **El Banna N**, « La génération du stress oxydant comme stratégie thérapeutique anticancéreuse: Investigation des mécanismes d'action de la vitamine C, de l'auranofin et de leur combinaison », Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay (ComUE), 2019.

[58] **Baudoin P**, « Radicaux libres et antioxydants », < <https://www.sport-passion.fr/sante/radicaux-libres-et-antioxydants.php> >, Consulté le 30/04/2023.

[59] **Bechthold J & M Barranquero Gómez M & Aura Masip M & Salvador Z**, « Que sont les antioxydants et comment affectent-ils la qualité du sperme? », <<https://www.invitra.fr/spermatozoides-et-antioxydants/>>, Mise à jour le 21/05/2021, Consulté le 01/05/2023.

[60] **Merikhi M & Amoura I**, « Evaluation de l'état du stress oxydatif et des altérations histopathologiques et biologiques au cours de cancérogénèse colorectale », Mémoire de Master, Université Mohammed Sedik Ben Yahia – Jijel, 2018.

- [61] **Phaniendra A & Jestadi D. B & Periyasamy L**, « Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases », *Indian journal of clinical biochemistry*, 2015, vol 30, pp 11-26.
- [62] **Chatre L**, « Stress, antioxydants et mitochondries », < <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/physiologie-cellulaire/stress-antioxydants-et-mitochondries/>>, Publié le 22/05/2017, Consulté le 02/05/2023.
- [63] **Hardy P**, « L'interaction entre les prostaglandines, les radicaux libres et le monoxyde d'azote dans l'autorégulation des débits sanguins oculaires », Thèse de doctorat en pharmacologie, Université de Montréal – Canada ,1999.
- [64] **Babior B. M**, «NADPH Oxidase: an update », *The Journal of the American Society of Hematology*, 1999, vol 93, pp1464-1476.
- [65] **Wattanapitayakul S. K & Bauer J. A**, «Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms, and therapeutic implications», *Pharmacology & therapeutics*, 2001, vol 89, pp187-206.
- [66] **Kelley E. E & Hock T & Khoo N. K & Richardson G. R & Johnson K. K & Powell P. C. ... & Tarpey M. M**, « Moderate hypoxia induces xanthine oxidoreductase activity in arterial endothelial cells», *Free Radical Biology and Medicine*, 2006,vol 40,pp 952-959.
- [67] **Garait B**, «Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin», Thèse de Doctorat, Université Joseph-Fourier-Grenoble I- France, 2006.
- [68] **Biotech ecole**, « oxygène métabolisme », < <https://www.biotech-ecole.net/oxygene-metabolisme-ROS.html>>, Consulté le 06/05/2023.
- [69] **Martemucci G & Costagliola C & Mariano M & D'andrea L & Napolitano P& D'AlessandroA. G**, « Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health », *Review (Oxygen)*, 2022, vol 2, pp 48-78.
- [70] **Boursassa C & Ouzerala K & Remichi L**, « Stress oxydatif et troubles de l'humeur », Mémoire de Master, Université de Boumerdès Mhamed - Bouguera, 2021.
- [71] **Favier A**, « Le stress oxydant», *L'actualité chimique*, 2003, vol 108, pp 832- 863.

[72] **Agronomie**, « Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides », < <https://agronomie.info/fr/mecanismes-generaux-de-loxydation-des-lipides/> >, Consulté le 07/05/2023.

[73] **Benslama A**, « Etude phytochimique et activitésantioxydante et hépatoprotectrice des extraits de *Thymus pallidus* », Thèse de doctorat en sciences, Université Ferhat Abbas- Sétif 1, 2020.

[74] **Haleng J & Pincemail J & Defraigne J. O & Charlier C. & Chapelle J. P**, « Le stress oxydant », Revue médicale de Liège, 2007, vol 62, pp 628-638.

[75] **St-Louis M. R**, « Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation », Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 2011.

[76] **Pasquier C**, « Stress oxydatif et inflammation », Revue française des laboratoires, 1995, vol 276, pp 87-92.

[77] **Laboratoire Lescuyer**, «stress oxydant et antioxydants : comprendre pour mieux vieillir ! », < <https://www.laboratoire-lescuyer.com/blog/nos-conseils-sante/stress-oxydant-et-antioxydants-comprendre-pour-mieux-vieillir> >, Consulté le 10/05/2023.

[78] **Bhattacharyya A & Chattopadhyay R & Mitra S & Crowe S.E**, « Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases », Physiological reviews, 2014, vol 94, pp 329-354.

[79] **Leroy P**, « Les composants du stress oxydant et les radicaux libres », Revue Hegel, 2016, vol 6, pp 218-219.

[80] **Kessoum S**, « Activité antioxydante des polyphénols d'*Artemisia herba alba* », Mémoire de Master, Université Abderrahmane MIRA de Bejaia - Alger, 2014.

[81] **Bernard A**, «Les antioxydants: Que sont-ils? A quoi servent-ils? », <<https://phytocea.com/blogs/questions-de-sante/les-antioxydants-que-sont-ils-a-quoi-servent-ils>>, Publié le 19 mai, 2022, Consulté le 11/05/2023.

[82] **M'cili M & Melghid I**, « Le rôle des plantes médicinales dans la prévention contre les dommages oxydatifs », Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri- Constantine, 2020.

[83] **Fabre G & Bayach I & Berka K & Paloncýová M & Starok M & Rossi C ... & Trouillas P**, « Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes », *Journal The Royal Society of Chemistry* 2012, vol 51,pp1-4.

[84] **Valko M & Rhodes C. J & Moncol J & Izakovic M & Mazur M**, « Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer»,*Chemico-biological interactions*, 2006,vol 160,pp1- 40.

[85] **Desmier T**, « Les antioxydants de nos jours: définition et applications », Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges-France, 2016.

[86] **Belkacemi O**, « La consommation d'aliments fonctionnels riches en antioxydants et le statut antioxydant total chez la personne âgée ». Mémoire de Maître ès sciences en sciences cliniques, Université de Sherbrooke Québec- Canada, 2011.

[87] **Passe port santé**, « Polyphénols : les bienfaits et vertus de ces composés », < <https://www.net/fr/Nutrition/PalmarsNutriments/Fiche.aspx?doc=polyphenols-bienfaits-vertus-composes>>, Consulté le 13/05/2023.

[88] **Favier A**, « Stress oxydant et pathologies humaines », *Annales pharmaceutiques françaises*, 2006, Vol 64, pp 390-396.

[89] **Ooreka**, « Stress oxydatif : définition, conséquences, traitement», < <https://stress.ooreka.fr/astuce/voir/751351/stress-oxydatif> >, Consulté le 13/05/2023.

[90] **Pham-Huy L. A & He H & Pham-Huy C**, « Free radicals, antioxidants in disease and health», *International journal of biomedical science*, 2008, vol 4, pp 89-96.

[91] **Kettani A & Mikou A**, « La Modélisation moléculaire, un outil de laboratoire précieux », *Les technologies de laboratoire*, N° 9 Mars-Avril, 2008.

[92] « **Modélisation moléculaire** », <<https://www.arronax-nantes.fr/chimie-et-radiopharmacie/thematique/theme-1>>, Consulté le : 16/05/2022.

[93] **Paugam R**, Master de Chimie, « 1ère année ORSAY UE CHIM 403 Renée PAUGAM Octobre 2008 INITIATION A LA MODELISATION MOLECULAIRE », < <https://www.masterchimie1.universite-paris-Saclay.fr/Cours%20en%20ligne/>

Chim430_Modelisation-moleculaire.pdf >, Consulté le : 17/05/2023.

[94] « Modélisation moléculaire », Université Limoges –France, < https://www.unilim.fr/pages_perso/jean.debord/model.pdf>, Consulté le : 18/05/2023.

[95] **Trouillas p**, « Les méthodes in silico dans la recherche pharmaceutique. Exemple d'application pour l'étude pharmacocinétique post-autorisation de mise sur le marché des β -bloquants utilisés pour le traitement du glaucome », Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges, 2021.

[96] **Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux**, « Brève introduction à la mécanique (MM) et à la dynamique moléculaires (DM) », < <https://www.cbm-lab.fr/Pages/COMX/MM-DM.aspx/>>, Publié le 6 janvier 2021, Consulté le: 22/05/2023.

[97] **Harkati D**, « Etude de la structure et des propriétés physico-chimiques associées, de quelques molécules bioactives à intérêt pharmaceutique », thèse de doctorat en science, Université Mohamed Khider -Biskra, 2013.

[98] **Ubuntu**, « Docking Principes et méthodes », < <https://wiki.ubuntu.com/kmezhoud/Bioinformatics?Action=AttachFile&do=get&target=docking.pdf>>, Consulté le : 19/05/2023.

[99] **Laouar I**, « Etude des interactions enzymae-ligand. Cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase », Mémoire de Master, Université d'EL-Oued, 2015.

[100] **Unisciel**, « Le docking », <https://ressources.unisciel.fr/_reste_a_valider/drug_design/co/docking.html>, Consulté le: 21/05/2023.

[101] **Ghadhab T & Soufi M**, « Constantine1Application du Docking moléculaire par SURFLEX Pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la Kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2) », Mémoire Master, Université des Frères Mentouri -Constantine1, 2020.

[102] **Tifourak D**, « Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse », Mémoire Master, Université 8 Mai 1945 -Guelma, 2019.

[103] **Ligand**, « **biologie moléculaire** », < <https://www.universalis.fr/encyclopedie/ligand-biologie-moleculaire/>>, Consulté le: 21/05/2023.

[104] **Farourou R & Zennou A**, « Etude par modélisation moléculaire nouvelles molécules antidiabétiques », Mémoire de Master, Université Mohamed Khider –Biskra, 2022.

[105] **Goodsell D.S & Morris G. M & Olson A.J**, « Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock », Journal of molecular recognition, 1996, vol 9, pp1-5.

[106] **Mahdjoub Y**, « Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini Application docking moléculaire », Diplôme de magister, Université des Science et des Technologies d'Oran Mohamed Boudiaf, 2010.

[107] **Boudjizza M & Regad A**, Etude comparative de l'efficacité de deux programmes de docking et application à l'inhibition de la MAOB », Mémoire de Master, Université Frères Mentouri -Constantine 1,2019.

[108] **Youcef M**, « Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini « Application docking moléculaire », Les logiciels de docking, « http://www.univ-usto.dz/theses_en_ligne/doc_num.php?explnum_id=834 ».

[109] **Cd Computabio**, «Molecular Operating Environment (MOE) Software», <<https://www.computabio.com/applications-of-molecular-operating-environment-moe-software.html>>, Consulté le: 24/04/2021.

[110] **Groupe Montréal**, « Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Quebec », <<https://www.chemcomp.com/Products.htm>>, Consulté le: 24/04/2021.

[111] **Yakhleff I & Reffesse k**, « Etude par docking moléculaire de l'effet anti-inflammatoire des métabolites secondaires d'Ephedra alata » ,29 juin 2022 Mémoire de Master, Université Mohamed Khider- Biskra ,2022.

[112] **Université libre de Bruxelles**, « Pubchem-Bibliothèques-ULB », <<https://bib.ulb.be/fr/bibliotheques/bst/ressources-documentaires/pubchem>>, Consulté le: 24/04/2021.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم عن طريق الالتحام الجزيئي فعالية سلسلة من جزيئات النبات الطبي وهي كيرسيتين 3-س-جلوكوزيد ، سودوفيدرين ، كايمفيرول مع مستقبلات البروتين NADPH أوكسيداز كود PBD (2CDU).

كشفت النتائج التي تم الحصول عليها عن تقارب أفضل بين كيرسيتين 3-س-جلوكوزيد والجزء الذي تم اختباره من إنزيم NADPH أوكسيداز كود PBD (2CDU). بالإضافة إلى ذلك ، فإن حساب قيم RMSD يؤكد عدم موثوقية الالتحام مع جزيئة ريمديسيفير-مستقبل الذي تمت دراسته.

الكلمات المفتاحية: العلندة ، كيرسيتين 3-س-جلوكوزيد ، سودوفيدرين ، كايمفيرول ، الالتحام الجزيئي.

Abstract

The objective of this study is to evaluate by molecular Docking the efficacy of series of molecules of a medicinal plant ephedra alata namely: Quercetin 3-O-glucoside, pseudophidrine and kaempferol with protein receptor NADPH oxidase Code PBD (2CDU).

The results obtained reveal a better affinity between Quercetin 3-O-glucoside and the tested part of the enzyme NADPH oxidase Code PBD (2CDU). In addition, the calculation of RMSD values confirms the reliability test of our Docking for the studied Remdesivir-receptor ligand.

Keywords: ephedra alata, Quercetin 3-O-glucoside, pseudophidrine, kaempferol, molecular docking.

Résumé

L'objecte de cette étude est d'évaluer par Docking moléculaire l'efficacité de série de molécules d'une plante médicinale éphédra alata à savoir : Quercetin 3-O-glucoside, pseudophidrine et le kaempferol avec récepteurs protéinique NADPH oxydase Code PBD (2CDU).

Les résultats obtenus révèlent une meilleure affinité entre le Quercetin 3-O-glucoside et la partie testés de l'enzyme NADPH oxydase Code PBD (2CDU). En outre, le calcul des valeurs de RMSD confirme test de fiabilité la non fiabilité de notre Docking pour le ligand Remdesivir-récepteur étudié.

Mots clés: éphédra alata, Quercetin 3-O-glucoside, pseudophidrine , kaempferol , Docking moléculaire.

