



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abbes LAGHROUR - Khenchela
Institut des Sciences de la nature et de la vie



**Département de biologie moléculaire et
cellulaire**

N°:

THESE DE DOCTORAT

Pour l'obtention du diplôme de doctorat (LMD)

Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie végétale
Session : 2022/2023

Intitulée :
**Etude phytochimique et évaluation des activités
pharmaco-biologiques des extraits de *Tamarix africana***

Présentés par : TRAD KHODJA Esma Anissa

Membres de jury :

Pr. KADI Kenza	Présidente	Université LAGHROUR Abbes -Khenchela
Dr. KHABTANE A. El Hamid	Rapporteur	Université LAGHROUR Abbes -Khenchela
Pr. ARHAB Rabah	Co-rapporteur	Université Larbi Ben M'hidi-Oum El Bouaghi
Dr. HAMLII Sofia	Examinatrice	Université Abbes LAGHROUR-Khenchela
Dr. AGGOUN Moufida	Examinatrice	Université Des Frères Mentouri- Constantine 1
Dr. BENSLAMA Ouided	Examinatrice	Université Larbi Ben M'hidi-Oum El Bouaghi

Khenchela le :

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu de m'avoir guidée et éclairée dans cette noble voie et de m'avoir donné la force et la sagesse nécessaires afin d'accomplir ce modeste travail.

J'exprimé mes remerciements au professeur **ARHAB Rabah** d'avoir accepté à diriger ma thèse et pour m'avoir pris sous son aile, votre disponibilité, votre expérience, vos encouragements et votre gentillesse à mon égard m'ont permis beaucoup d'évoluer et de donner le meilleur de moi-même. Vous avez ma reconnaissance et mon respect éternel.

Un immense merci au docteur **Khabtane Abd El Hamid**, qui a accepté a dirigé ma thèse. Merci, pour son important apport à ma réussite dans la recherche.

J'aimerais également remercier Madame le Pr **KADI Kenza** de l'université Abbés Leghrour Khenchela pour avoir accepté d'être la présidente de mon jury de thèse.

J'adresse également mes remerciements à madame Dr **Aggoun Mofida** de l'université Des Frères Mentouri Constantine 1, Dr **Benselama Oueded** de l'université Larbi Ben M'hidi, Oum El-Bouaghi et Dr **Hamli Sofia** de l'université Abbés Leghrour Khenchela, pour avoir accepté de juger ce travail, je vous remercie de tous les conseils que vous m'avez apportés et aussi je tiens à vous exprimer toute ma gratitude pour les heures investies dans la correction du présent manuscrit.

J'adresse également mes remerciements les plus chaleureux au docteur **Bensouici Chawki** Maitre de conférences A au centre de recherche et de biotechnologie (Constantine) pour m'avoir accueilli et formé au sein de son laboratoire durant ma période de stage.

Un très grand merci aussi à **Mr Selmania Abd el rahmane**, chef de département de biosécurité et biosafety au niveau du CRBT pour m'avoir aussi beaucoup aidé.

Dédicace

Mon père

Je dédie ce travail, à cette âme magnifique qui nous a quitté sans prévenir et de façon subite, à mon idole, à mon guide et conseiller à mon « PaPa » Dr **TRAD KHODJA Djamel**. J'aurais aimé qu'il donne son avis sur ce travail et surtout qu'il soit présent là parmi nous avec son sourire encourageant. De là ou tu es j'espère que tu me vois, et que tu es fière de moi, la mort t'a volé brusquement et je n'ai pas eu le temps de t'exprimer ma reconnaissance pour tout le courage que tu m'as donné pour choisir cette filière, le soutient que tu m'as apporté durant mon parcours. Comme je t'ai déjà promis, aujourd'hui, je suis **docteur**

Ma mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer, mon respect et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien que vous m'avez porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mon cher frère Haïder

Mon cher docteur en pharmacie, à mon petit frère, qui m'a soutenu pendant les moments les plus durs avec son beau sourire. Avec qui j'ai partagé des moments de folie et d'extase, je te dédie ce travail et je te souhaite un avenir plein de réussite et de joie.

A ma cher sœur Fairouz

Ça ne suffit pas de dire simplement ma sœur, vous êtes bien plus qu'une sœur, avec votre tendresse, votre amour et votre occupation, vous m'avez soutenu pendant mes moments de faiblesse, de peur et de stress. Je te remercie énormément petite docteur.

A mon cher mari

Merci d'être toujours à mes côtés par votre présence, par votre amour, pour le courage que tu me donne. Que ce travail vous témoigne de ma sincère affection.

A ma famille

A mes chères tantes, mes oncles et mes grands-parents. Votre confiance en moi, vos encouragements, vos prières sont ce qui m'a poussée et me pousse toujours à suivre la voie de l'excellence, à rêver et à réaliser mes rêves.

Production scientifique

Communications scientifiques

I. Communications Internationales

- **TRAD KHODJA Esma Anissa, KHABTANE A. El Hamid, ARHAB Rabah**
Total phenolic content determination and urease inhibitory activity antioxidant activities assessment of Algerian *Tamarix africana* extract. International Congress on Biological and Health Sciences. 24-25-26-27 February 2022. TURKEY.
- **TRAD KHODJA Esma Anissa, KHABTANE A. El Hamid, ARHAB Rabah**
Dosage des polyphénols et évaluation de l'activité anti-Alzheimer des extraits de feuilles de *Tamarix africana*. 1st international days of natural and life sciences. 01, 02 March 2022. Ouargla. ALGERIA.

II. Communications Nationales

- **TRAD KHODJA Esma Anissa, KHABTANE A. El Hamid, ARHAB Rabah.**
Tyrosinase inhibitory activity investigation of acetone extract from *Tamarix Africana* leaves. Séminaire National sur la biodiversité végétale et animale, environnement et santé. Communication orale. 20 Mai 2021. Mila, Algérie.
- **TRAD KHODJA Esma Anissa, KHABTANE A. El Hamid, ARHAB Rabah.**
Investigation du pouvoir antioxydant de la fraction méthanolique des feuilles de la plante *Tamarix Africana*. 1er Congrès national du laboratoire de recherche Toxicomed sur la valorisation des substances et matériaux naturels. Communication poster. 5, 6 juin 2021. Tlemcen, Algérie.

Publication scientifique

Article type

In vitro assessment of antioxidant, neuroprotective, anti-urease and anti-tyrosinase activities of *Tamarix africana* leaves extracts and determination of phenolic content by LC-MS

Esma Anissa Trad Khodja, Abd El Hamid Khabtane, Rabah Arhab, Djamila Benouchenne, Mohamed Sabri Bensaad, Chawki Bensouici, Ramazan Erenler

Abd El Hamid Khabtane: Biotechnology, Water, Environment and Health Laboratory. Faculty of Natural and Life Sciences, University Abbes Laghrour, Khenchela, 40000, Algeria

Rabah Arhab: Laboratory of Natural Substances, Biomolecules and Biotechnological Applications, Faculty of Natural and Life Sciences, University Larbi Ben M Hidi, Oum El-Bouaghi, 04000, Algeria

Djamila Benouchenne: Genetics, Biochemistry and Plant Biotechnology Laboratory, Faculty of Natural and Life Sciences, University Constantine 1, Constantine, 25000, Algeria; Pharmaceutical Sciences Research Center, Constantine, 25000, Algeria

Mohamed Sabri Bensaad: Laboratory of Cellular and Molecular Physio-Toxicology-Pathology and Biomolecules (LPTPCMB), Faculty of Natural and Life Sciences, University Batna 2, Batna, 05000, Algeria; Laboratory of Biotechnology of Bioactive Molecules and Cellular Physiopathology (LBMBPC), Faculty of Natural and Life Sciences University Batna 2, Batna, 05000, Algeria

Chawki Bensouici: Biotechnology Research Center Ali Mendjli UV 03, Constantine, 25000, Algeria

Ramazan Erenler: Department of Chemistry, Faculty of Science and Literature, University Tokat Gaziosmanpasa, Tokat, 60250, Turkey

*Correspondence to: Esma Anissa Trad Khodja: Biotechnology, Water, Environment and Health Laboratory. Faculty of Natural and Life Sciences, University Abbes Laghrour, Khenchela, 40000, Algeria; Laboratory of Natural Substances, Biomolecules and Biotechnological Applications, Faculty of Natural and Life Sciences, University Larbi Ben M Hidi, Oum El-Bouaghi, 04000, Algeria.

E-mail : tradkhodja.esma@univ-khenchela.dz ; Phone : +213666712451

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2504-3627>

ABSTRACT

Objective: This study aimed to characterize the chemical profile of methanolic crude extract

and its fractions (Ethyl acetate, *n*-butanol and aqueous) using LC-MS analysis, to evaluate their biological and pharmacological properties: antioxidant (DPPH., ABTS+, Galvinoxyle free radical scavenging, reducing power, phenanthroline and β carotene-linoleic acid bleaching assays), enzymes inhibitory ability against several enzymes

(acetylcholinesterase (AChE), buthyrylcholinesterase (BChE), urease and tyrosinase).

Materials and methods: Secondary metabolites were extracted from *Tamarix africana* air-dried powdered leaves by maceration, the crude extract was fractionated using different solvents with different polarities (Ethyl acetate, *n*-butanol and aqueous). The amount of polyphenols, flavonoids and tannins (hydrolysable and condensed) were determined using colorimetric assays. A variety of *in vitro* biochemical tests were carried out to assess antioxidant and oxygen radical scavenging properties using DPPH, ABTS, Galvinoxyle free radical scavenging, reducing power, phenanthroline and β carotene-linoleic acid bleaching methods. Neuroprotective effect was examined against acetylcholinesterase and buthyrylcholinesterase enzymes. The anti-urease and anti-tyrosinase activities were performed against urease and tyrosinase enzymes respectively. The extract's components were identified using LC-MS and compared to reference substances.

Results: The results indicated that *Tamarix africana* extracts presented a powerful antioxidant activity in all assays and exhibited a potent inhibitory effect against AChE and BChE as well as urease and tyrosinase enzymes. LC-MS analysis identified amount of eight phenolic compounds were revealed in this analysis; Apigenin, Diosmin, Quercetin, Quercetine-3-glycoside, Apigenin 7-O glycoside, Rutin, Neohesperidin and Wogonin in methanolic extract and its different fractions of *Tamarix africana* from leaves.

Conclusion: Based on these findings, it is reasonable to assume that *Tamarix africana* could be considered as a potential candidate for pharmaceutical, cosmetics, and food industries to create innovative health-promoting drugs.

Key words: Antioxidant activity, Anti-tyrosinase, Anti-urease, LC-MS analysis, Neuroprotective activity, Phenolic content, *Tamarix africana*.

1. INTRODUCTION

In many developing countries, plants serve as a reference and play a significant role in basic health care sector, as well in cosmetics sector.¹ This natural resource has both organoleptic and biochemical features and include a high variety of bioactive chemicals content. The use of plant is not only limited to gastronomy and cosmetics but represent nowadays an important value for pharmaceutical industries.²

Recently, the production and use of medicinal plants to treat chronic diseases is increasing because of their minimal side effects.³ This can partially be explained by the nature of their chemical structure, which is rich in hydroxyl groups, commonly named secondary metabolites, that have been identified and used to treat a variety of health problems.⁴ Natural antioxidant biomolecules have a variety of phytochemical parameters such as, polarity, stability which have a direct effect on their solubility.⁵ Polyphenols are a class of secondary metabolites generated in significant amounts by different parts of plants and considered essential in our diet. Due to the incredible pharmacological and biological roles of these bioactive products, either for plant or human, a huge deal of attention is focused to drugs from natural origins.

In particular, *Tamarix L* leaves are traditionally used in decoction and infusion in order to treat disorders of the digestive tract.⁶ Several studies on *Tamarix L* species have reported the occurrence of different phytochemicals, such as phenolic acids, flavonoids, and tannins. *Tamarix africana L* is a plant that is frequently used in traditional Algerian medicine to treat gastroduodenal problems, as a result of the presence of polyphenols such as phenolic acids, flavonoids, and tannins.^{7,8} The richness of *Tamarix L* species in bioactive compounds may explain in part their pharmacological properties of to cure a variety of illnesses associated with oxidative stress, including diabetes, cancer, and neurological pathologies.⁹ Furthermore, these plants possess hepatoprotective, antineoplastic, antinociceptive¹⁰ and antibacterial activities.¹¹ As an example, *T. dioica Roxb.* has been used as a moderate laxative, antitussive, and antipyretic, as well as for the treatment of illnesses related to liver and spleen.¹²

Despite the beneficial effects of this plant health on human health, not much is known and few studies have reported the phytochemical and pharmacological qualities of this plant. The aims of this study are to estimate the total polyphenols content in *Tamarix africana L* leaves, and to evaluate the antioxidant, anti-urease, anti-tyrosinase and neuroprotective effects and characterize its chemical composition of this plant using LC-MS analysis.

2. MATERIALS AND METHODS

Plant Materials

Tamarix africana leaves were collected in March 2020 during the flowering season in the region of Khenchela,

Algeria (35° 25' 55" North, 7° 08' 40" East). The plant was identified based on its morphological and botanical characteristics and was identified by experts in the field from the agronomic department of Abbés Leghrouh Khenchela University (Algeria). A voucher specimen under the code (0073–2020), was deposited at the herbarium of the University Abbes Laghrour, Khenchela, Algeria.

Yield determination of plant extracts

A total of 50g of leaves were powdered and macerated with methanol/water (80/20; v/v) for 48h. The crude dried extract, was fractionated using various solvents of increasing polarity, starting with dichloromethane, followed by ethyl acetate, and *n*-butanol.¹³ The extraction yield was calculated for the methanol extract and all the fractions by weighing the dried extracts and using the following formula:

$$\% \text{Yield} : (A1 / A2) * 100 \quad A_1: \text{dry extract weight} \\ A_2: \text{Weight has taken for extraction}$$

Total phenolic content determination

The proportion of total phenolic was measured accorded to Singleton; Müller^{14,15} methods. with slight modifications. 20 µl of sample was added to 100 µl of Folin Ciocalteu reagent and 75 µl of sodium carbonate solution. After the incubation of two hours, the absorbance was measured at 765 nm and the concentration of phenolic content calculated using the equation derived from a curve plotted with gallic acid as standard ($y = 0.0035x + 0.1044$; $R^2 = 0.996$). The result was expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) per g extract (mg/g).¹⁶

Total flavonoids content determination

This test was performed as described by Topçu et al¹⁷. A volume of 100 µl of extract was mixed with 100 µl of aluminum chloride colorimetric (AlCl₃). After the incubation of 15 min, the absorbance was measured at 415 nm and the flavonoids content was determined using the calibration curve equation of quercetin ($y = 0.0048x$; $R^2 = 0.987$). The results are stated in mg QE/g of the extract⁴

Determination of condensed tannin content

The condensed tannin content was determined by Saci et al.¹⁸ method. A volume of 25 µl of sample was mixed with 150 µl of vanillin and 75 µl of hydrochloric acid (HCl) were added. The absorbances were measured at 500 nm after 15 minutes of incubation. The findings were expressed as mg CE/g of extract based on the normal curve with catechin as the standard ($y = 0.0026x + 0.0303$; $R^2 = 0.984$).¹⁶

Determination of hydrolysable tannin content

Potassium iodate method was adopted to assess the hydrolysable tannins content. A volume of 50 µl of extract was mixed with 150 µl of 2.5 % potassium iodate. After 15 minutes, absorbance was measured at 550 nm. The standard was tannic acid ($0.0003x + 0.3452$; $R^2 = 0.9913$), and the results were represented as mg tannic acid equivalents (TAE)/100 g dry weight.¹⁹

LC-MS Analysis

The chemical profile by LC-MS (Liquid chromatography - Mass spectrometry) analysis was performed as described by Karan et al.²⁰ The analysis for phenolic compounds was performed on Quadrupole Shimadzu LC-MS-8050. For liquid chromatography, LC-30AD binary pumps, DGU-20A3r degasser, CTO-10ASvp column oven, and SIL-30AC autosampler were utilized. For separation, a C18 Inertsil ODS-4 (3m; 2.1150 mm) analytical column was used. The temperature of the column was set to 40°C. Mobile phase A (water, 5mM ammonium formate) and B (water, 5mM ammonium formate) were used in the elution gradient (methanol, 5 mM ammonium formate). The samples were prepared in 1.0 ppm solution in methanol.

Antioxidant activity determination of secondary metabolites

DPPH free radical scavenging assay

The DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical scavenging test was carried out using Blois²¹ procedure. BHA (butylated hydroxyanisole) and BHT (butylated hydroxytoluene) were employed as standards. The reduction of the DPPH radical in percent was calculated as follows:

DPPH inhibition (%) = $(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) \div A_{\text{control}}$
 A_{control} : Absorbance of DPPH solution / A_{sample} : Absorbance in the presence of extract or standard
 ABTS⁺ assay

The scavenging process of ABTS⁺(2,2' -azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic) was assessed using Re et al.²² approach. The inhibition percentages were calculated as previously described in DPPH Scavenging assay. BHA and BHT were used as standards.

Galvinoxyle scavenging assay (GOR)

This test was determined according to Shi et al.²³. The absorbances were estimated at 428 nm. BHT and BHA were used as references.

Cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC)

The extract's ability to reduce copper ions was determined using Apak et al.²⁴ method. BHT and BHA were used as standards for comparison. The findings were revealed as $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$), indicating 0.50 absorbance and referring to the concentration.

Reducing power test

The extract's reductive abilities were tested as described by the Oyaizu²⁵ procedure. In contrast, ascorbic acid, BHT, and BHA were used as standards.

β -carotene-linoleic acid bleaching assay

This test was performed according to Marco²⁶ protocol. BHA and BHT were used as standards. The β -carotene bleaching was determined using the following equation:

β - carotene inhibition (%) = $[1 - (A_{H0} - A_{Ht}) \div (A_{C0} - A_{Ct})] * 100$
 A_{H0} - A_{Ht} : the value of the absorbance of β -carotene content in the presence of the extract measured at t_0 and $t_{120 \text{ min}}$.

A_{C0} - A_{Ct} : the value of the absorbance of β -carotene content the presence of the negative control measured at t_0 and $t_{120 \text{ min}}$.

Phenanthroline assay

The Phenanthroline assay was assessed according to Szydłowska-Czerniak et al.²⁷. BHT and BHA were used as antioxidant standards.

Neuroprotective activity of extract and fractions

Acetylcholinesterase (AChE) and Butyrylcholinesterase (BChE) inhibitory capacities of extract and fractions

Tamarix africana's leaves fractions were evaluated for their possible inhibitory effect against Acetylcholinesterase (AChE) and Butyrylcholinesterase (BChE) following Ellman et al.²⁸. The galantamine was used as a reference. The inhibition percentages of AChE or BChE were calculated by comparing sample reaction rates to a blank sample using the formula:

$$\% \text{ inhibition} = [(E - S) \div E] * 100$$

E: Enzyme activity without extract. S: Activity of the enzyme in the presence of the extract.

10.Urease inhibitory activity

Urease inhibitory activity was determined according to Taha et al.²⁹. Thiourea was used a standard. The following equation was used to quantify the urease inhibition activity:

$$\text{Urease inhibition \%} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{sample}}) \div A_{\text{Control}}] * 100$$

where:

A_{Control} : the absorbances of the reaction medium, in the absence of the tested sample

A_{Sample} : the absorbances of the reaction medium, in the presence of the tested sample

11.Tyrosinase inhibitory activity

The Tyrosinase enzyme inhibitory was assessed by spectrophotometric method and using L-DOPA as a substrate according to Deveci et al.³⁰. Kojic acid was used as a standard. The inhibition percentage was calculated using the same approach as described in the Urease inhibition assay.

12.Statistical analysis

The results were expressed as mean \pm SD (n=3). The statistical analysis was performed by One-way ANOVA followed by multiple Dunnet's test using GraphPad Prism version 8. Results were considered highly significant at $p < 0.001$.

Results

Yield of extraction

Conventional extraction was carried out using four various types of solvents respectively; Methanol, ethyl-acetate, *n*-butanol and water to extract phenolic compounds from *Tamarix africana* (Table. 1). The results showed that methanol extract contained the highest proportion of phenolic content, followed by water, *n*-butanol, and, ethyl acetate extract.

2. Total phenolic content determination

The total phenolic, flavonoids, as well as condensed and hydrolysable tannins were quantified in *Tamarix africana* extracts (Table. 2). The *n*-butanol extract showed the highest proportion of total phenolic ($896.21 \pm 3.65 \mu\text{g GAE/mg}$ of extract). Therefore, the aqueous extract showed the lowest content of total phenolic ($482.92 \pm 2.87 \mu\text{g GAE/mg}$ of extract). The contents of flavonoids varied from ($399.06 \pm 3.00 \mu\text{g QE/mg}$) to ($117.15 \pm 2.06 \mu\text{g QE/mg}$) corresponding to the

n-butanol and aqueous extract, while the highest content of condensed tannins was observed in ethyl acetate extract ($9.73 \pm 1.09 \mu\text{g CE/mg extract}$). The aqueous extract contained a small proportion of condensed tannins ($1.03 \pm 0.41 \mu\text{g CE/mg extract}$) in comparison with ethyl acetate extract. However, all extracts were rich in hydrolysable tannins, especially the ethyl acetate extract ($810.98 \pm 4.90 \mu\text{g TAE/mg extract}$), while the aqueous extract gave the lowest content ($310.08 \pm 2.90 \mu\text{g TAE/mg extract}$).

3. LC-MS Analysis

From LC-MS results, eight phenolic substances were identified in *Tamarix africana* leaves extract among 34 phytochemical standards employed (Fig.1.4). Flavones, such as apigenin was detected on all the fractions, followed by diosmin, which was found in methanol and ethyl acetate fractions, although quercetin-3-glycoside was identified in ethyl acetate and *n*-BuOH fractions. The flavonol as quercetin was identified in aqueous fraction. Finally, the wogonin, Rutine, Apigenin 7-O glycoside, Neohesperidin were identified only in the *n*-BuOH fraction (Table. 3).

4. Antioxidant capacity determination

The antioxidant abilities were presented in (Table 4.5). The results clearly indicated that the antioxidant capacities of extract and its fractions, with a high inhibition percentage of ($99.67 \pm 0.00 \%$) for ethyl acetate fraction at the concentration ($50 \mu\text{g/ml}$) for β -carotene assay. Almost same findings were reported in DPPH, GOR and reducing power tests.

Concerning the ABTS⁺ test, it is also interesting to note that the *n*-BuOH fraction of *Tamarix africana* showed a remarkable antioxidant activity ($93.80 \pm 1.09 \%$). MeOH extract showed also a noticeable result in both CUPRAC and phenanthroline assays of (1.54 ± 0.16) (1.28 ± 0.12) respectively for the concentration of $50 \mu\text{g/ml}$. The findings of DPPH scavenging assay revealed that the *n*-butanol fraction has the highest antioxidant activity with ($\text{IC}_{50} = 2.91 \pm 0.08 \mu\text{g/ml}$), but considered lower than BHA, BHT standards. Furthermore, the ABTS⁺ scavenging assay results revealed that the MeOH extract possess a strong anti-radical power ($\text{IC}_{50} = 2.01 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$) and was closer to the BHA, BHT values. In contrast, *Tamarix africana* extracts showed an interesting radical scavenging against GOR radical with an IC_{50} values ranged between ($\text{IC}_{50} = 5.99 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$) and ($\text{IC}_{50} = 8.92 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$) for MeOH extract and *n*-butanol fraction, respectively. According to the preventive activity against bleaching of β -carotene, the ethyl acetate fraction showed the highest antioxidant activity comparable to that of BHA and BHT values ($\text{IC}_{50} = 4.22 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$). However, the methanolic extract showed the lower activity ($\text{IC}_{50} = 31.90 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$).

The methanolic extract demonstrated an interesting capacity to reduce irons in phenanthroline assay with an $A_{0.5}$ value of ($0.20 \pm 0.08 \mu\text{g/ml}$) while *n*-butanol fraction displayed a lower activity ($10.44 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$). Likewise,

the *n*-butanol fraction was found to be the most effective in reducing iron ions in reducing power assay with an $A_{0.5}$ values of ($1.72 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$). The aqueous extract showed the lowest activity ($6.44 \pm 0.32 \mu\text{g/ml}$). Furthermore, the *n*-butanol fraction showed also a strong capacity to reduce copper ions presenting an $A_{0.5}$ values of ($10.41 \pm 0.43 \mu\text{g/ml}$). However, the lower activity was observed in the methanolic extract ($17.25 \pm 0.50 \mu\text{g/ml}$).

5. Neuroprotective activity of extracts

5.1. AChE and BChE inhibitory capacities of extracts

The results disclosed that the extracts from leaves showed a high potential to inhibit AChE and BChE. The strongest inhibitory effects of *Tamarix africana* extract and fractions on AChE and BChE were observed at ($200 \mu\text{g/mL}$) and this for all the tested extract and fractions, as shown in (fig.5.6.). However, the effect of *Tamarix africana* on AChE appears to be more potent, with a maximum percentage inhibition of ($77.88 \pm 0.19\%$) for the *n*-BuOH fraction and ($76.25 \pm 0.17\%$) for the MeOH extract at the same dose, while aqueous and ethyl acetate fractions expressed ($74.57 \pm 0.38\%$) and ($64.37 \pm 0.76\%$) respectively, when compared to galantamine. The *n*-BuOH extract demonstrated a high potential to inhibit BChE ($89.17 \pm 0.43\%$) at the concentration of $200 \mu\text{g/ml}$ followed by MeOH extract, aqueous then ethyl acetate fraction ($82.76 \pm 0.55\%$), ($81.94 \pm 0.75\%$) and ($79.22 \pm 0.99\%$) respectively at the same concentration. *Tamarix africana* extracts showed a high potential to inhibit AChE and BChE as seen in table (Table .6). MeOH extract exhibited a significant inhibition against AChE with IC_{50} ($9.46 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$) which was closer to the galantamine, while the lowest IC_{50} value was recorded with ethyl acetate ($100.64 \pm 1.77 \mu\text{g/ml}$). The *n*-butanol fraction exhibited the highest inhibitory effect against BChE with an IC_{50} value of ($7.01 \pm 0.28 \mu\text{g/ml}$), but considered lower than the standards. However, the aqueous fraction exhibited the weakest inhibitory effect ($85.42 \pm 2.06 \mu\text{g/ml}$).

6. Urease inhibitory activity

At the same dose, the MeOH and *n*-BuOH extracts showed similar percentages of inhibition against urease ($86.33 \pm 0.95\%$ for the MeOH extract and $82.39 \pm 0.17 \%$ for the *n*-BuOH fraction) (Fig.7), while aqueous and ethyl acetate fractions expressed ($66.27 \pm 2.38\%$) and ($57.89 \pm 1.58\%$); respectively. Alternatively, thiourea showed high percentages of inhibition compared to the extracts. Methanolic extract inhibited urease significantly with an IC_{50} of ($10.81 \pm 1.25 \mu\text{g/ml}$) (Table.7), which lower to thiourea, followed by *n*-BuOH and ethyl acetate fractions with ($27.4 \pm 0.00 \mu\text{g/ml}$), ($30.69 \pm 3.04 \mu\text{g/ml}$) respectively. The aqueous extract, on the other hand, had the least inhibitory effect ($63.88 \pm 3.65 \mu\text{g/ml}$).

7. Tyrosinase inhibitory activity

The results illustrated in (Fig.8) demonstrated that the *n*-BuOH fraction gave the highest inhibition percentage at different concentrations. The *n*-BuOH fraction documented the high inhibition percentage ($68.69 \pm 0.45 \%$), followed by MeOH extract (59.84

$\pm 0.85\%$), then ethyl acetate and aqueous fractions ($52.84 \pm 0.87\%$) ($52.35 \pm 0.77\%$) respectively. The Anti-enzymatic activity was reported in the same manner as IC_{50} values presented in (Table. 8). The highest tyrosinase inhibitory activity was found *Tamarix africana* extract and its fractions. The MeOH extract gave the lowest IC_{50} ($IC_{50} = 7.61 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$) followed by ethyl acetate ($IC_{50} = 26.38 \pm 2.42 \mu\text{g/ml}$), MeOH ($31.97 \pm 1.07 \mu\text{g/ml}$) and aqueous fraction ($67.09 \pm 2.56 \mu\text{g/ml}$).

3. DISCUSSION

Nowadays, there is a huge deal of attention paid to the use of medicinal plants where humans appealed the nature. So, in the framework of looking for, discovering and isolating new, non-toxic drugs from natural resources, that present positive acts with minimal side effects compared with synthetic drugs³¹. Our attention was guided to *Tamarix africana*.

In order to extract these bioactive products from different parts of the plant, various solvents were used, depending on their polarities, their structures.³²⁻³⁴ Ethyl acetate solvent was used to pick up phenolic acids, flavonoids and some flavonoids glycosides, whereas *n*-butanol solvent was used to isolate other flavonoids glycosides and saponins.^{35,36} Recent study reported by Benabdallah et al.³⁷ that the aqueous extract yielded (19–22%) which is greater than ethyl acetate fraction (3–4.5%).

In this study, we investigated the chemical constitution of methanolic crude extract and its fractions (Ethyl acetate, *n*-BuOH, Aqueous) obtained from *Tamarix africana L* leaves using LC-MS tool. Their antioxidant ability also was examined using different tests with different mechanisms³⁷, as well as the enzyme's inhibitory ability of extract and fractions was performed (acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, urease and tyrosinase).

Phenolic, flavonoids and tannins contents determination The results indicated that the extract and its fractions were rich in total phenolics, total flavonoids and tannins. Our data are in the line of those reported that *Tamarix* species contained several phenolic acids and a considerable amount of flavonoids.³⁸

Also, our findings were in accordance with those results presented by Carmona-jiménez et al.³⁹ which demonstrated that *Tamarix articulata* extracts were wealthy in phenolics and flavonoids contents, and might potentially be a source of various phyto-compounds. The quantities of total phenolic components in the two extracts of *Tamarix africana L*. the ethyl acetate extract had a higher concentration (500–546 mg/g) while the aqueous extract had a total phenolic of (140–170 mg/g).³⁷ Moreover, Khabtane et al.⁴⁰ reported that the fraction of ethyl acetate from *Tamarix africana Poir* flowers has a flavonoids content of (14.33 ± 3.15 mg EQ/GE) while aqueous fraction has (4.85 ± 0.30 mg EQ/GE). Antioxidant properties are strongly correlated with a high phenolic content of a plant, which greatly

contributes to the suppression of reactive oxygen species (ROS) or reactive nitrogen species (RNS) by blocking enzymes involved in their formation or down-regulating the expression of their respective genes.

Antioxidant activity of the extract and its fractions

From our results, *Tamarix africana* leaves extract and fractions were found to have a strong scavenging ability against DPPH, ABTS⁺, and GOR free radicals which could accept a hydrogen atom from the antioxidant compound, after which converted to more stable molecules.^{41,42} In addition, each compound found in the extract can act independently or in a synergetic way with other compounds.⁴³

Our results disclosed that all fractions and crude extract presented a powerful antioxidant apt, these outcomes were in agree with a recent study of Wink⁴⁴, which reported that *Tamarix articulata* extracts revealed a strong antioxidant activity which could be due to the presence of phenolic compounds. Chekroun-Bechlaghem et al.⁴⁵, established that polyphenol compounds found in *Tamarix africana* leaves were responsible for their antioxidant properties. Another study carried out by Benabdallah et al.³⁷ demonstrated that ethyl acetate and aqueous fractions extracted from *Tamarix africana* leaves revealed a potential antioxidant ability in lipid peroxidation. Also, Bettaib et al.⁴⁶ results showed that the hydroethanolic extract from *Tamarix gallica* shoots reduced H₂O₂-induced oxidative stress in human intestinal epithelial (IEC-16) cells *in vitro*.

Neuroprotective activity of crude extract and its fractions Alzheimer's disease (AD) is completely dependent on the deficiency of antioxidants, antiradical, and reducing chemicals. Inhibition of a number of endogenous enzymes is also important in the progression of this neuropathology.⁴⁷ The depletion of the acetylcholine (ACh) neurotransmitter by cholinesterase is linked to the etiology of Alzheimer's disease.⁴⁸ Nowadays, the use of AChE inhibitors is the most effective treatment method.⁴⁹ Bioactive products have a strong antioxidant effect, which limits the propagation of this disease by neutralizing free radicals and preventing brain tissue damage.^{50,51}

Many studies showed that natural substances from diverse sources can suppress AChE and BChE activities such as polyphenols⁵², terpenoids, flavonoids and other phenolic compounds.⁵³ The effect of ROS on membrane phospholipids might be significant since some changes in membrane phospholipids may be unique to the pathophysiology of AD.⁵⁴ This could be possibly associated to the presence of phenolic acids (*p*-coumaric acid in the ethyl acetate extract, gallic acid, and ellagic acid in polar extracts) that have previously reported to possess a remarkable inhibitory effect against acetylcholinesterase.^{55,56}

Another research evaluated the effects of eleven flavonoids from *T. gallica* on the aggregation of β -amyloid (A).⁵⁷ In fact, there is an important relationship between β -amyloid and free radical production. Indeed, oxidative mechanisms can convert non-aggregated β -

amyloid to aggregated β -amyloid, underlining the fact that β -amyloid itself is considered a source of free radicals.⁵⁸ The anti-cholinesterase activity of ethyl acetate extracts obtained from leaves and stems of *T. aphylla* was reported in a recent study achieved by Mahfoudhi et al.⁵⁹ The data disclosed that the extracts inhibited acetylcholinesterase by 21% and 16.7%; respectively, otherwise, they didn't exhibit any effects against butyrylcholinesterase

Urease inhibitory activity

Urease is the enzyme that catalyzes the hydrolysis of urea to generate ammonia. It is known to be the main factor involved in gastritis and peptic ulceration. This production of ammonia in the stomach may allow the proliferation of several pathogenic microbial strains due to the increase in pH level which creates the perfect environment for them.⁶⁰

A large number of urease inhibitors have been identified from plants including terpenoids, polyphenols, and alkaloids acting as competing molecules with the substrate (urea) or by chelating the co-factor nickel.⁶¹ Extracts of *Tamarix L* demonstrated over the years interesting anti-urease activity, which encourages its use to treat *Helicobacter pylori* infections and associated disorders. The hydroethanolic extract from *T. dioica Roxb. ex Roth* aerial parts showed an important bactericidal effect against clinical isolates and standard *Helicobacter pylori* with 7.8-500 $\mu\text{g/ml}$ MBC > 500 $\mu\text{g/ml}$.⁶² To the best of our knowledge, there were no papers that reported the urease inhibitory effect of *Tamarix* extracts.

Tyrosinase inhibitory activity

Tyrosinase inhibitory activity of *Tamarix africana* leaves extract and its fractions was examined. The extract and the fraction exhibited a remarkable inhibitory effect against tyrosinase, which is the key enzyme in the synthesis of melanin, a pigment responsible for the color of skin, eyes, and hair in mammals. However, an overexpression of tyrosinase can generate in the long term some side effects such as hyperpigmentation, wrinkles and even skin cancer.^{63,64}

From the literature, there were no reports about the activity of extract and fractions from *Tamarix africana*. To the best of our knowledge, we report here for the first time the tyrosinase inhibitory activity.

UV exposure can generate reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS), which promote melanogenesis by activating tyrosinase. These reactive species increase DNA damage and may stimulate melanocyte growth. As a result, antioxidants and other ROS scavengers may help to diminish hyperpigmentation. The amount and position of hydroxyl substituents in certain flavonoids may significantly alter tyrosinase inhibition: a larger number of hydroxyl groups in the benzene ring improves its inhibition; whereas methylation or glycosylation have the opposite effect, possibly due to steric hindrance.⁶⁵

LC-MS analysis

According to the results of the previous qualitative phytochemical study, different fractions revealed a potent biological activity. Thus, it is required to subject it to appropriate tools for identifying its chemical contents. LC-MS analysis is a strong analytical method for gaining a deeper understanding of the chemical composition of plant extracts.⁶⁵

The results of LC-MS indicated the presence of rutin, quercetin, diosmin, apigenin and quercetin-3-glucoside, which are subclasses of flavonoids which can scavenge free radicals and control antioxidant pathway expression to protect against oxidative stress, lowering the risk of diabetes, obesity, nervous system illnesses, and other chronic diseases.⁶⁶

A natural flavonoid named quercetin has an important antioxidant capacity.⁶⁷ Apigenin and quercetin are common flavonol glycoside compounds found in many plants and known to possess multiple biological activities. Apigenin has a large spectrum of health benefits resulting from its free radical scavenging and anti-inflammatory properties.⁶⁸ Diosmin, considered as one of the most utilized flavonoids, possesses a multitude of biological and beneficial activities, including antioxidant.⁶⁹ Diosmin might be a novel and promising candidate for the treatment of nervous system illnesses such as Alzheimer's disease (AD) and other brain damage.⁷⁰

Additionally, rutin presented a significant antioxidant property that may lead in the near future a wide range of pharmacological applications such as tyrosinase inhibitory capacity and may selectively blocks the first step of melanin synthesis which involved the hydroxylation of monophenols into o-diphenols.⁷¹ The neohesperidin is a flavanone glycoside that is well-known for its antioxidant ability and a wide range of biological effects, including anti-inflammation, neuroprotection, gastric protection, and anticancer properties.⁷² While wogonin, is a flavone that may provide neuroprotection against oxidative stress-induced brain injury,⁷³ and protects neurons from oxidative stress.⁷⁴

Benabdallah et al.³⁷ reported that HPLC analysis of *Tamarix africana L.* extracts revealed the presence of quercetin, kaempferol, luteolin, and isorhamnetin in the ethyl acetate fraction Furthermore, the aqueous extract includes mostly flavonoid glycosides or rutinoides, as well as some flavonoid aglycones, among which isoquercetin and luteolin are discovered. In addition to flavonoids, the extracts include procyanidins and certain phenolic acids such as ellagic acid, gallic acid, and vanillic acid.

The richness of *Tamarix africana L.* of bioactive components like flavonoids, phenolic acids, and tannins may be one of the reasons for its widespread usage in traditional medicine. Another research paper reported by Chekroun-Bechlaghem et al.⁷⁵ revealed that sixteen phenolic compounds were discovered successfully. Six of these are phenolic acids (Gallic acid, Chlorogenic acid, Caffeic acid, p-Coumaric acid, Caffeic acid dimethyl

allyl ester, and Caffeic acid phenolic ester) and ten of them are flavonoids (Chrysin, Rutin, Myricetin, Quercetin, Genistein, Kaempferol, Apigenin, Kaempferol-3-O-glucoside, Quercetin-3-O-arabonoside and Galangin). These substances in *Tamarix africana* extract might be responsible for the antioxidant and neuroprotective, anti-tyrosinase and anti-urease capacities.

Conclusion

For the first time, our study described the extraction yield and phenolic content in each fraction. This approach related principally on chemical analysis of phenolic compounds as well as the antioxidant and neuroprotective abilities of four extracts and fractions from *Tamarix africana*. LC–MS analysis allowed the identification of 8 phenolic compounds in which the major constituents were flavonoids. The results also revealed a significant antioxidant and neuroprotective, anti-tyrosinase and anti-urease capacities at low concentration. However, further studies are mandatory to isolate these bioactive molecules and evaluate their full pharmacological potential.

4. REFERENCES

- Dalar A, Mukemre M, Unal M, et al. traditional medicinal plants of ađri province, turkey. *j. of ethnophar*2018; 226, 56-72.
- Villaverde JJ, Sandin-España P, Sevilla-Morán B, et al. biopesticides from natural products: current development, legislative framework, and future trends. *bioresources*,2016; 11(2): 5618-5640.
- Mahomoodally MF, Vlasisavljevic S, BerezniS , et al. lotus aegaeus (gris.) boiss and iberis sempervirens L.: chemical fingerprints, antioxidant potential, and inhibition activities and docking on key enzymes linked to global health problems. *indu. crops and pro*2018; 120: 271-278.
- GülçinI, Gören AC, Taslimi P, et al. anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of anatolian pennyroyal (menthapulegium)-analysis of its polyphenol contents by lc-ms/ms. *bio. and agri. biotech*2020; 23:101441
- Nikousaleh A, Prakash J. antioxidant components and properties of dry heat treated clove in different extraction solvents. *j. of food sci. and techn*2016; 53(4): 1993-2000.
- Khennouf S, Benabdallah H, Gharzouli K, et al. effect of tannins from quercus suber and quercus coccifera leaves on ethanol-induced gastric lesions in mice. *j. of agri. and food chem* 2003; 51(5): 1469-1473.
- Benabdallah H, Gharzouli K, Khennouf S, et al . phytochemical analysis and anti-lipid peroxidation activity of tamarix africana l. extracts. *g. j. of r. on med. plants indi.s med*2014; 3(7): 278.
- Mahfoudhi A, Grosso C, Gonçalves R F, et al. evaluation of antioxidant, anticholinesterase, and antidiabetic potential of dry leaves and stems in tamarixaphylla growing wild in tunisia. *chem. Biodiverse* 2016; 13: 1747 -1755
- Rasouli H, Farzaei MH, Khodarahmi R. polyphenols and their benefits: review. *int. j. food. Prop*2017; 20: 1700-1741
- Bahramsoltani R, Kalkhorani M, Zaidi SM, et al. the genus tamarix: traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *j. of ethnophar*2020; 246: 112-245.
- Quattrocchi U. *crc world dictionary of medicinal and poisonous plants: common names, scientific names, eponyms, synonyms, and etymology* (5 volume set). *crc press*2016
- Benabdallah H, Gharzouli K, Khennouf S, et al. phytochemical analysis and anti-lipid peroxidation activity of tamarix africana l. extracts. *g. j. of r. on med. plants indi.s med*2014; 3(7): 278
- Lekouaghet A, Boutefnouchet A, Bensuici C, et al. *in vitro* evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extract and its fractions from leuzeaconifera l. roots. *s. afr. j. of b*2020;132: 103-107
- Singleton VL, Rossi J A. colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *amer. j. of eno. and vitic*1965; 16(3): 144-158.
- Müller L, Gnoyke S, Popken A.M, et al. antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *lwt-food sci. and tech* 2010; 43(6): 992-23
- El Aanachi S, Gali L, Nacer SN, et al. phenolic contents and *in vitro* investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of pelargonium graveolens growing in morocco. *bio. and agri. Biotech*2020; 29: 101-819.
- Topçu G, Ay M, Bilici A, et al. a new flavone from antioxidant extracts of pistaciaterbinthus. *food chem*2007; 103(3): 816-822.
- Saci F, Louaileche H, Gali L, et al. changes in anticholinesterase, antioxidant activities and related bioactive compounds of carob pulp (ceratonia siliqua l.) during ripening stages. *j. of food meas. and charac*2020; 14(2): 937-945.
- Pierson JT, Curry MC, Shaw PN, et al. polyphenolic contents and the effects of methanol extracts from mango varieties on breast cancer cells. *food sci. and biotech*2015; 24(1): 265-271.
- Karan YB, Balkan T, Erenler R. phenolic contents of different potato genotypes grown in the central northern region in turkey. *tur. j. of agri.-food sci. and tech*2021; 9(8): 1606-1611.
- Blois MS. antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*1958; 181(4617): 1199-1200.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *free radical bio. and med*1999; 26(9-10): 1231-1237.
- Shi H, Noguchi N, Niki E. Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *meth. in enzymo*2001; 335: 157-166.
- Apak R, Güçlü k, Özyürek M, et al. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins c and e, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: cuprac method. *j. of agril. and food chem*2004;52(26): 7970-7981.
- Oyaizu M. studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *the jap. j. of nutri. and diet*1986; 44(6): 307-315.
- Marco GJ. a rapid method for evaluation of antioxidants. *j. of the amer. oil chem. soc*1968; 45(9): 594-598.
- Szydłowska-CzerniakA, Dianoczki C, Recseg K, et al. determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *talanta*2008; 76(4): 899-905.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, et al. a new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *bioch. Pharm*1961; 7(2): 88-95.
- Taha M, Ullah H, Al Muqarrabun LMR, et al. bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: synthesis and molecular modeling studies. *bioorganic & medicinal chemistry*2018; 26(1): 152-160.
- Deveci E, Tel-Çayan G, Duru M E. Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of ferula elaeochytris and sideritis stricta. *inter. j. of food properties*2018; 21(1): 771-783.
- Suwal S, Marciniak A. technologies for the extraction, separation and purification of polyphenols—a review. *nepal j. of biotech* 2018; 6(1): 74-91.
- Maisetta G, Batoni G, Caboni P, et al. tannin profile, antioxidant properties, and antimicrobial activity of extracts from two mediterranean species of parasitic plant cytinus. *Bmc. Complement. Altern. med.* Apr 2019; 5;19(1):82
- Zou T B, Xia E Q, He T P, et al. ultrasound-assisted extraction of mangiferin from mango (mangifera indica l.) leaves using response surface methodology. *Molecules* 2014; 19(2): 1411-1421.

34. Jayaprakasha G, Girenavar B, Patil BS. radical scavenging activities of rio red grapefruits and sour orange fruit extracts in different *in vitro* model systems. *bior. tech*2008; 99(10): 4484-4494.
35. Prasad K N, Yang E, Yi C, et al. effects of high pressure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of longan fruit pericarp. *inn. food sci and emer. Techns* 2009; 10(2): 155-159.
36. Thavamoney N, Sivanadian L, Tee L H. et al. Extraction and recovery of phytochemical components and antioxidative properties in fruit parts of *Dacryodes rostrata* influenced by different solvents. *J.l of fo. Sci. and technol.* 2018; 55(7), 2523-2532.
37. Benabdallah H, Gharzouli K, Khenouf S, et al. phytochemical analysis and anti-lipid peroxidation activity of tamarix africana l. extracts. *g. j. of r. on med. plants indi.s med*2014; 3(7): 278.
38. Halliwell, B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. *Bioch. Pharma.* 1995, 49(10), 1341-1348.
39. Carmona-jiménez Y, García-moreno MV, Igartuburu JM, et al. simplification of the dpph assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *food chem*2014; 165:198-204
40. Khabtane A, Zeraib A, Ali LAWK, et al. In vitro evaluation of the anti-microbial activity and the anti-oxidant activity of the flavonoids extracted from the flowers of the *Tamarix africana* Poir *Inter. J; of biosc.* 2017. 417-426.
41. Ueno H, Yamakura S, Arastoo RS, et al. systematic evaluation and mechanistic investigation of antioxidant activity of fullereneols using β -carotene bleaching assay. *j. of nanom., 2014.*
42. Shahidi F, Zhong Y. measurement of antioxidant activity. *j funct foods*2015; 18: 757-781.
43. Chekroun-bechlaghem N, Belyagoubi-benhammou N, Belyagoubi L, et al. phytochemical analysis and antioxidant activity of tamarix africana, arthrocnemum macrostachyum and suaeda fruticosa, three halophyte species from algeria. *plant bios.-an inter. j. dealing with all aspects of p. bio*2019; 153(6): 843-852.
44. Wink M. modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*2015; 2(3): 251-286.
45. langyanai S, Chaniad P, Puripattanaavong J. acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of thai vegetables. *inter. j. of pharma med. and bio*2017.
46. Bettaib J, Talarmin H, Droguet M. et al. *Tamarix gallica* phenolics protect IEC-6 cells against H₂O₂ induced stress by restricting oxidative injuries and MAPKs signaling pathways. *Biomed. Pharmacother.* 2017; 89, 490-498.
47. Goedert M. neurodegeneration. alzheimer's and parkinson's 644 diseases: the prion concept in relation to assembled abeta, tau, and alpha-645 synuclein. *Science*2015; 349: 646.
48. Yakoubi R, Megateli S, Sadok T H. A synergistic interactions of Algerian essential oils of *Laurus nobilis* L., *Lavandula stoechas* L. and *Mentha pulegium* L. on anticholinesterase and antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*2021; 31:101891
49. Phan HT, Samarat K, Takamura Y et al. polyphenols modulate alzheimer's amyloid beta aggregation in a structure-dependent manner. *Nutrients*2019; 11(4): 756.
50. Djermene N, Gali L, Arhab R, et al. chemical composition and *in vitro* evaluation of antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibitory activities of *erucaria uncatata* and *thymeleae hirsuta*. *bio. and agri. Biotech*2020; 29: 101834.
51. Bensaad MS, Dassamiour S, Hambaba L, et al. *in vitro* assessment of antioxidant, anti-inflammatory, neuroprotective and antimicrobial activities of *centaurea tougourensis* boiss. & reut. *j. of phar. pharmaco.* R2021; 9(6): 790-802
52. Murray, A. P., Faraoni, M. B., Castro, M. J., Alza, N. P., & Cavallaro, V. (2013). Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. *Current neuropharmacology.* 11(4), 388-413.
53. Dyrks T, Dyrks E, Hartmann T, et al. amyloidogenicity beta a4 and beta a4-bearing amyloid protein precursor fragments by metal-catalyzed oxidation. *j. of bio. Chem*1992; 267(25): 18210-18217.
54. Thomas T, Thomas G, Mclendon C, et al. β -amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature*1996; 380(6570): 168-171.
55. Christen Y. oxidative stress and alzheimer disease. *the amer. j. of clin. Nutri*2000; 71(2): 621s-629s.
56. Kosikowska P, Berlicki L. urease inhibitors as potential drugs for gastric and urinary tract infections: a patent review. *expert opin. ther. Pat*2011; 21: 945-957.
57. Shabana S, Kawai A, Kai K, et al. inhibitory activity against urease of quercetin glycosides isolated from *allium cepa* and *psidium guajava*. *biosci. biotechnol. Biochem*2010; 74: 878-880
58. Hassan STS, Zemlicka M. plant-derived urease inhibitors as alternative
59. chemotherapeutic agents. *arch. pharm. (weinheim)*2016; 349: 507-522.
60. Mahfoudhi A, Grosso C, Gonçalves R F. et al. Evaluation of Antioxidant, Anticholinesterase, and Antidiabetic Potential of Dry Leaves and Stems in *Tamarix aphylla* Growing Wild in Tunisia. *Chem. Biodivers.* 2016 ; 13, 1747- 1755
61. Irají A, Panahi Z, Edraki N, et al. design, synthesis, *in vitro* and *in silico* studies of novel schiff base derivative 2-hydroxy-4-methoxybenzamide as tyrosinase inhibitors. *drug develops. Research*2021; 82(4): 533-542.
62. Zaidi S F, Muhammad J S, Shahryar S. Anti-inflammatory and cytoprotective effects of selected Pakistani medicinal plants in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *J. Ethnopharmacol.* 2012; 141, 403-410.
63. Sepehri N, Irají A, Yavari A, et al. the natural-based optimization of kojic acid conjugated to different thio-quinazolinones as potential anti-melanogenesis agents with tyrosinase inhibitory activity. *bioorganic & medicinal chemistry*2021; 36: 116044.
64. Han H, Yilmaz H, Gulcin I. antioxidant activity of flaxseed (*linum usitatissimum* L.) shell and analysis of its polyphenol contents by lc-ms/ms. 2018
65. Xu D, Hu MJ, Wang YQ, et al. antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*2019; 24(6): 1123.
66. Tian C, Liu X, Chang Y, et al. investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin. *s. a. j. of b*2021; 137: 257-264.
67. Camarda L, Distefano V, Delbosco SF, et al. Antiproliferative activity of citrus juices and hplc evaluation of their flavonoid composition. *Fitoterapia* 2007; 78(6): 426-429
68. Zhang H, Tsao R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Curr.t Opin. in Foo. Sci.* 2016; 8, 33-42.
69. Sharma S, Ali A, Ali J, et al. rutin: therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *exp. opinion on inves. drugs*2013; 22(8): 1063-1079.
70. Wang J, Yuan Y, Zhang P, et al. neohesperidin prevents $\alpha\beta$ 25-35-induced apoptosis in primary cultured hippocampal neurons by blocking the s-nitrosylation of protein-disulphide isomerase. *neuroch. Res*2018; 43(9): 1736-1744.
71. Hong KB, Han SH, Park Y. romaine lettuce/skullcap mixture improves sleep behavior in vertebrate models. *bio. and pharm. B*2018; 41(8): 1269-1276.
72. Zhang R, Guo L, Ji Z, et al. radix scutellariae attenuates cums-induced depressive-like behavior by promoting neurogenesis via camp/pka pathway. *neuroch. Res*2018; 43(11): 2111-2120.
73. Sharma S, Ali A, Ali J, et al. Rutin: therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Exp. Opin. on investi. Dru.* 2013; 22(8), 1063-1079.
74. Wang J, Yuan Y, Zhang P. et al. Neohesperidin Prevents $\alpha\beta$ 25-35-Induced Apoptosis in Primary Cultured Hippocampal Neurons by Blocking the S-Nitrosylation of Protein-Disulphide Isomerase. *Neuroche.l res.* 2018; 43(9), 1736-174
75. Hong K B, Han S H, Park Y. et al. Romaine lettuce/skullcap mixture improves sleep behavior in vertebrate models. *Biolo. and Pharm. Bull.* 2018; 41(8), 1269-1276.

76. Chekroun-Bechlaghem N, Belyagoubi-Benhammou N, Belyagoubi L. et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activities of three halophyte plants from Algeria and detection of some biomolecules by HPLC-DAD, Nat. Prod. Res. 2019.

Liste des abréviations

A_{0,5} : Absorbance de l'échantillon pouvant inhiber la moitié des radicaux présents dans une solution

ABTS : Acide 2,2'- azinobis-3-et ylbenzothiazoline-6-sulfonique

AChE : Acétylcholine estérase

AE : Acétate d'éthyle

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

BChE : Buthyrylcholine estérase

BHA : Butyl Hydroxy Anisole

BHT : Butyl Hydroxy Toluène

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50 %

CUPRAC : Capacité antioxydante par réduction de cuivre

DPPH : 2,2-Déphenyl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent en acide gallique

EAT : Equivalent en acide tannique

EC : Equivalent en catéchine

EQ : Equivalent en quercétine

FeCl₃ : Chlorure de fer

FPS : Facteur de protection solaire

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant Power

HCl: Chlorure d'hydrogène

IKI: Iodine/Potassium Iodide

LC-MS : Chromatographie liquide couplé à spectrométrie de masse

MA : Maladie d'Alzheimer

MDA : Malondialdéhyde

n-BuOH : La fraction *n*-butanol

PBS : Score Biologique Possible

ROS : Espèces réactives d'oxygène

RNS : Espèces réactives d'azote

SOD : Superoxyde dismutase

Liste des tableaux

Tableau 1	Quelques travaux scientifiques réalisés sur l'espèce <i>Tamarix africana</i>	13
Tableau 2	Métabolites secondaires extraites de l'espèce <i>Tamarix africana</i>	14
Tableau 3	Préparation des dilutions.....	28
Tableau 4	Conditions de fonctionnement de la chromatographie.....	31
Tableau 5	Rendement d'extraction des métabolites secondaires à partir des feuilles, fleurs, tiges et graines de <i>Tamarix africana</i> en (%)	50
Tableau 6	Résultats du screening phytochimique des métabolites secondaires dans les différentes parties (feuilles, fleurs, tiges et graines) de <i>Tamarix africana</i>	51
Tableau 7	Contenu phénolique des fractions de <i>Tamarix africana</i>	53
Tableau 8	Identification et quantification des composés phénoliques dans différentes fractions de feuilles de <i>Tamarix africana</i> analysé par LC-MS.....	54
Tableau 9	Génération du sourire canonique des composés identifiés par LC-MS.....	57
Tableau 10	Propriétés physicochimiques <i>in silico</i> de composés phénoliques de <i>Tamarix africana</i>	61
Tableau 11	Prédiction des propriétés pharmacocinétique des composés phénoliques de <i>Tamarix africanain silico</i> par le profil ADMET.....	63
Tableau 12	Prédiction des propriétés pharmacologiques (activité biologique) <i>in silico</i> des composés phénoliques de <i>Tamarix africana</i>	67
Tableau 13	Prédiction des cibles thérapeutiques <i>in silico</i> des composés phénoliques de <i>Tamarix africana</i>	68
Tableau 14	Prédiction de la cytotoxicité <i>in silico</i> des composés phénoliques de <i>Tamarix africana</i>	70
Tableau 15	Prédiction de l'inhibition des virus <i>in silico</i> des composés phénoliques de <i>Tamarix africana</i>	72
Tableau 16	Energie de liaison en Kcal/mol des composants phénoliques de la plante <i>Tamarix africana</i> avec les enzymes cibles examinées.....	76
Tableau 17	Les interactions établis entre les meilleurs des ligands phénoliques de <i>Tamarix africana</i> avec leurs cibles enzymatiques	77
Tableau 18	Energie de liaison en Kcal/mol des composants phénoliques de la plante <i>Tamarix africana</i> avec les cibles du Sars-Cov2 et le cancer.....	84
Tableau 19	Les interactions établis entre les meilleurs des ligands phénoliques de <i>Tamarix africana</i> avec les cibles du Sars-Cov2 et les cancers.....	85

Tableau 20	Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) des extraits et fractions des feuilles de <i>Tamarix africana</i> dans le test DPPH [•]	91
Tableau 21	Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> dans le test ABTS ^{•+}	92
Tableau 22	Capacité antioxydante (Absorbances) et A _{0.5} des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> dans le test du test CUPRAC.....	93
Tableau 23	Capacité antioxydante (Absorbances) et A _{0.5} des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> dans le test du pouvoir réducteur (FRAP).....	94
Tableau 24	Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> dans le test GOR [•]	95
Tableau 25	Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) et des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> dans le test du blanchiment de l'acide β-carotène-linoléique.....	96
Tableau 26	Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) et A _{0.5} des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> dans le test de la phénanthroline.....	97
Tableau 27	Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) et IC ₅₀ des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> dans le test de réduction de permanganate (Prac).....	98
Tableau 28	Capacité antioxydante des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> en valeurs de IC ₅₀ et A _{0.5}	99
Tableau 29	Inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) par les extraits et fractions des feuilles de <i>Tamarix africana</i>	100
Tableau 30	Inhibition de labuthyrylcholinestérase (BChE) par les extraits et fractions des feuilles de <i>Tamarix africana</i>	101
Tableau 31	Inhibition de l'uréase par les extraits et fractions des feuilles de <i>Tamarix africana</i>	102
Tableau 32	Inhibition de la tyrosinase par les extraits et fractions des différentes parties de <i>Tamarix africana</i>	104
Tableau 33	Calcul du facteur de protection solaire (FPS) des extraits et fractions des feuilles de <i>Tamarix africana</i>	105
Tableau 34	Recommandation de la Commission européenne sur les catégories des produits solaires.....	105

Tableau 35	Inhibition de l'enzyme α -amylase et IC ₅₀ des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i>	106
Tableau 36	Les doses létales médianes (DL ₅₀) de l'activité cytotoxique contre les larves <i>Artémia Salina</i> des extraits et fraction <i>Tamarix africana</i> et du standard.....	109

Liste des figures

Figure 1	Aspect générale des Tamaricacées (Hadj allal, 2014).....	04
Figure 2	Forme des feuilles des Tamaricacées (Rouissi, 2018).....	04
Figure 3	La forme des fleurs des Tamaricacées lors de la floraison (Khabtane, 2015).....	05
Figure 4	Les principaux caractères botaniques des tamaricacées (Lefhal, 2014).....	06
Figure 5	La forme des graines des Tamaricacées (Lefhal, 2014).....	06
Figure 6	L'aire d'origine de répartition du genre <i>Tamarix L.</i> selon (Nelroy E. Jackson, 1996)(Khabtane, 2015).....	07
Figure 7	Les principaux caractères botaniques du <i>Tamarix africana</i> (Khabtane, 2015).....	09
Figure 8	Intervention des méthodes <i>in silico</i> dans le processus du recherche et développement de nouveaux médicaments (Asses et al., 2011).....	16
Figure 9	Schéma explicatif du profil ADME.....	17
Figure 10	Zone d'échantillonnage	24
Figure 11	Protocole d'extraction des métabolites secondaires de <i>Tamarix africana</i> par macération et fractionnement.....	25
Figure 12	Protocole d'extraction des tanins.....	26
Figure 13	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	29
Figure 14	Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	29
Figure 15	Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	30
Figure 16	Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.....	31
Figure 17	Préparation des dilutions des extraits dans le méthanol.....	35
Figure 18	Mécanisme de réduction du radical DPPH• par un antioxydant (Gülçin, 2012).....	36
Figure 19	Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H• (Gülçin, 2012).....	37

Figure 20	Réduction du complexe chromogène de Cu^{+2} -Nc ₂ (Özyürek et al., 2011).....	38
Figure 21	Mécanisme réactionnel du test FRAP (Gülçin, 2012).....	39
Figure 22	Réduction du radical libre Gox• en GoxH (Shi et al., 2001).....	40
Figure 23	Formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline (Apak et al., 2007).....	41
Figure 24	Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman (Ellman et al., 1961)....	43
Figure 25	Formation du complexe amylose-iodure en absence de l' α -amylase (Boursier, 2005).....	47
Figure 26	mécanisme de réduction des nanoparticules d'argent (Özyürek et al., 2012).....	48
Figure 27	Larve <i>Artémia Salina</i> sous microscopie optique grossissement x10.....	49
Figure 28	Prédiction des propriétés physicochimiques des composés testés.....	60
Figure 29	Illustrations 3D et 2D montrant les interactions entre les meilleurs ligands et leurs cibles enzymatiques respectivement	82
Figure 30	Illustrations 3D et 2D montrant les interactions entre les meilleurs ligands et leurs cibles.....	88
Figure 31	Valeurs des IC ₅₀ d'inhibition de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase par les différents extraits et fractions des feuilles de <i>Tamarix africana</i> . Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).....	101
Figure 32	Valeurs des IC ₅₀ d'inhibition de l'uréase par les différents extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> . Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).....	103
Figure 33	Valeurs des IC ₅₀ d'inhibition de la tyrosinase par les différents extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> . Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).....	104
Figure 34	Les absorbances des extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> . Le trolox est utilisé comme standards. Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).....	107
Figure 35	Valeurs des A _{0,5} de réduction des nanoparticules d'argent par les différents extraits et fractions de <i>Tamarix africana</i> . Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).....	107

Figure 36 Pourcentage de mortalité des larves d'*A. salina* en présence des extraits et fractions de *Tamarix africana* et le standard bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$). Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).....

Table des matières

Production scientifique.....	I
Liste des abréviations.....	II
Liste des tableaux	III
Liste des figures	IV
Introduction générale.....	1

Partie Bibliographique

*Chapitre 1 : Présentation de l'espèce étudiée (*Tamarix africana*)*

1. Généralités sur la famille Tamaricaceae.....	4
2. Caractères généraux de la famille Tamaricaceae	4
2.1. Feuilles.....	4
2.2. Fleurs	5
2.2.1. Sépales et pétales	5
2.2.2. Etamines	5
2.2.3. Gynécée	5
2.3. Graines	6
3. Origine et répartition géographique	6
4. Classification	7
4.1. Classification classique des Tamaricacées selon Cronquist 1988	7
4.2. Classification des Tamaricacées selon Angiosperms Phylogeny Group	8
5. Etude du genre <i>Tamarix</i> L.....	8
5.1. Caractères généraux du genre <i>Tamarix</i> L.....	8
5.2. Espèce <i>Tamarix africana</i>	8
5.2.1. Description botanique	8
5.2.2. Nom vernaculaire	9
5.2.3 Taxonomie	9
5.3. Etude ethnobotanique du genre <i>Tamarix</i> L.	9
5.3.1. En chine	9

5.3.2. En Afghanistan	10
5.3.3. Au Maroc	10
5.3.4. Au Pakistan	10
5.3.5. En Algérie	10
5.3.6. En Tunisie	10
5.3.7. En Egypte	11
5.3.8. En Palestine et Jordanie	11
6. Phytothérapie du genre <i>Tamarix L.</i>	11
6.1. Propriété pharmaceutique en médecine traditionnelle	11
6.1.1. Infection par les parasites internes et externes	12
6.1.2. Pathologies du système digestif	12
6.1.3. Pathologies du système respiratoire	12
6.1.4. Dermo-cosmétologie	12
6.1.5. Pathologies bucco-dentaires	12
6.2. Travaux réalisés sur l'espèce <i>Tamarix africana</i>	13
6.3. Métabolites secondaires extraits de l'espèce <i>Tamarix africana</i>	14

Chapitre 2 : Prédiction par l'étude bio-informatique

1. Prédiction des propriétés physicochimiques <i>in silico</i>	16
2. Prédiction des propriétés pharmacocinétiques par l'étude <i>in silico</i>	16
2.1. Absorption	17
2.2. Distribution	17
2.2.1. Interaction avec les protéines plasmatiques du sang.....	18
2.2.2. Volume de distribution.....	18
2.2.3. Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique.....	18
2.3. Métabolisme	19
2.4. Elimination ou clairance	19
2.5. Toxicité	19
3. Prédiction des propriétés pharmacodynamiques par le Docking moléculaire	20
3.1. Définition.....	20

3.2.	Principe du Docking	20
3.3.	Outils du Docking moléculaire	20
3.3.1.	Autodock	21
3.3.1.1.	Autodock vina	21
3.3.1.2.	Autodock tools.....	21
3.4.	Type de Docking moléculaire	21
3.4.1.	Docking rigide	21
3.4.2.	Docking semi-flexible	21
3.4.3.	Docking flexible	22
3.5.	Scoring	22
3.5.1.	Principe	22
3.5.2.	Fonction de score	22
3.6.	Propriétés pharmacodynamiques	23

Partie Expérimentale

Chapitre 3 : Matériels et Méthodes

1.	Matériel végétale.....	24
2.	Extraction des métabolites secondaire	24
2.1.	Extraction par macération et fractionnement	24
2.2.	Extraction des tanins.....	24
2.3.	Rendement d'extraction.....	26
3.	Analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires du <i>Tamarix africana</i>	26
3.1.	Analyse qualitative par le screening phytochimique.....	26
3.1.1.	Recherche des tanins.....	26
3.1.2.	Recherche des flavonoïdes.....	27
3.1.3.	Recherche des anthocyanes.....	27
3.1.4.	Recherche des coumarines.....	27
3.1.5.	Recherche des Alcaloïdes	27

3.1.6. Recherche des Stérols et Stéroïdes.....	27
3.1.7. Recherche des triterpènes	28
3.1.8. Recherche des saponosides	28
3.1.9. Recherche des composés réducteurs	28
4. Etude quantitative.....	28
4.1.Dosage des polyphénols totaux.....	28
4.2.Dosage des flavonoïdes totaux	29
4.3. Dosage des tanins condensés	30
4.4.Dosage des tanins hydrolysables	30
5. Analyse du contenu phénolique de <i>Tamarix</i> par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)	31
5.1. Préparation des extraits pour l'analyse LC-MS	31
5.2. Instruments et conditions chromatographiques pour l'analyse LC-MS	31
6. Etude préclinique des propriétés pharmacocinétiques des molécules <i>in silico</i>	32
6.1. Détermination des structures et SMILES.....	32
6.2. Détermination des propriétés physicochimiques des molécules.....	32
6.3. Prédiction de la pharmacocinétique des molécules par le profil ADMET	32
6.4.Prédiction des propriétés pharmacologiques (activité biologique)	33
6.5.Prédiction des cibles thérapeutiques	33
6.6.Prédiction de la cytotoxicité	33
6.7.Prédiction de l'inhibition vis-à-vis des virus	33
7. Etude des propriétés pharmacodynamiques par le Docking moléculaire	34
8. Etude des activités pharmacologiques des extraits <i>in vitro</i>	34
8.1. Préparation des dilutions.....	34
8.2. Activité antioxydante	35
8.2.1. Test de piégeage du radical DPPH.....	35
8.2.2. Réduction des radicaux cationiques ABTS ⁺	36

8.2.3. Capacité antioxydante réductrice cuivrique (CUPRAC)	37
8.2.4. Pouvoir réducteur (FRAP)	38
8.2.5. Test de piégeage de Galvinoxyle (GOR)	39
8.2.6. Inhibition du blanchiment à l'acide β -carotène-linoléique.....	40
8.2.7. Test de la phénanthroline.....	41
8.2.8. Pouvoir antioxydant réducteur du permanganate (Prac).....	42
8.3. Activité anti-enzymatique	42
8.3.1. Activité Anti-Alzheimer	42
8.3.1.1. Inhibition du cholinestérase	42
8.3.2. Test d'inhibition de l'uréase	44
8.3.3. Activité dermato-protectrice	44
8.3.3.1. Test d'inhibition de la tyrosinase	44
8.3.3.2. Facteur de protection solaire (FPS)	45
8.3.4. Test de l'activité antidiabétique	46
8.3.4.1. Inhibition de α -amylase	46
9. Test des nanoparticules d'argent (SNP)	47
10. Test de cytotoxicité.....	48
10.1. Test de létalité des larves <i>Artémia</i>	48
11. Etude statistique	49

Chapitre 4 : Résultats

1. Rendement d'extraction des métabolites secondaires.....	50
2. Analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires de <i>Tamarix africana</i>	50
2.1. Analyse qualitative par le screening phytochimique.....	50
2.2. Etude quantitative.....	51
2.2.1. Dosage des composés phénoliques	51
2.2.2. La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS).....	54
3. Etude <i>in silico</i> des propriétés pharmacocinétiques des molécules identifiées dans les feuilles de la plante <i>Tamarix africana</i>	56

3.1. Détermination des structures et SMILES	56
3.2. Détermination des propriétés physicochimiques des molécules.....	60
3.3.Prédiction du profil ADMET des molécules.....	61
3.4.Prédiction des propriétés pharmacologiques (activité biologique).	67
3.5.Prédiction des cibles thérapeutiques.....	68
3.6.Prédiction de la cytotoxicité.....	70
3.7.Prédiction de l'inhibition des virus.....	71
4. Prédiction des propriétés pharmacodynamiques des composés phénoliques de <i>Tamarix africana</i> par le docking moléculaire	73
4.1.Prédiction des propriétés pharmacodynamiques des molécules vis-à-vis les enzymes.....	73
4.2.Prédiction des propriétés pharmacodynamiques des molécules vis-à-vis le Sars-Cov 2 et étude de l'effet anticancéreux.....	83
5. Etude des activités pharmacologiques des extraits <i>in vitro</i>	90
5.1. Activité antioxydante	90
5.1.1. Test de piégeage du radical DPPH ^{••}	90
5.1.2. Réduction des radicaux cationiques ABTS ^{•+}	91
5.1.3. Capacité antioxydante réductrice cuivrique (CUPRAC)	92
5.1.4. Pouvoir réducteur (FRAP)	93
5.1.5. Test de piégeage de Galvinoxyle (GOR)	94
5.1.6. Inhibition du blanchiment de l'acide β-carotène-linoléique	95
5.1.7. Test de la phénanthroline	96
5.1.8. Capacité de l'antioxydant réducteur de permanganate (Prac)	97
5.2.Activité anti-enzymatique	100
5.2.1. Activité Anti-Alzheimer	100

5.2.1.1. Inhibition de la Cholinestérase	100
5.3. Activité anti-uréase	102
5.4. Activité dermato-protectrice	103
5.4.1. Activité anti-tyrosinase	103
5.4.2. Facteur de protection solaire (FPS)	104
5.5. Activité antidiabétique	106
5.5.1. Inhibition de l' α -amylase	106
5.6. Test de réduction des nanoparticules d'argent (SNP)	106
5.7. Test de cytotoxicité	108
5.7.1. Test de létalité des larves <i>Artémia</i>	108
<i>Chapitre 05 : Discussion générale</i>	110
<i>Conclusion générale et perspectives</i>	139
<i>Référence bibliographique</i>	142
<i>Annexe</i>	
<i>Résumé</i>	

Introduction générale

La santé humaine a toujours été considérée comme un enjeu majeur pour le développement socio-économique et encore un défi pour la communauté scientifique, suite à l'apparition de nombreuses pathologies chroniques et la propagation des pandémies que nous vivons aujourd'hui dont le bon exemple est le Covid-19 (Lauwers *et al.*, 2020).

Pour survivre face à ces maladies qui peuvent être mortelles, les médicaments sont utilisés pour les prévenir, les traiter et parfois même les déceler. Ils peuvent en combattre la cause ou en atténuer les manifestations. Ils agissent par l'intermédiaire d'une ou de plusieurs substances actives, associées à des excipients (sans activité thérapeutique) qui permettent la préparation du médicament. La notion de médicament idéal ciblerait seulement le problème de santé (interaction directe avec la cible thérapeutique) et n'aurait aucun autre effet sur l'organisme. Malheureusement, ce médicament parfait n'existe pas. Tous les médicaments peuvent entraîner des effets autres que ceux prévus. Le risque d'effets secondaires varie grandement en fonction du médicament utilisé, de la façon dont il est employé, des autres médicaments pris en même temps (interaction médicamenteuse) et des caractéristiques du patient (comme son âge, son poids, les autres maladies dont il souffre et ses facteurs de risque), sont tous responsables de l'innocuité des médicaments et des complications à long termes.

Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activité pharmaco-biologique constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques, pour un objectif majeur, d'éviter l'utilisation des médicaments synthétiques qui ont des effets secondaires non négligeables sur la santé humaine (Karimi *et al.*, 2015). Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologiques et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs. Cela peut s'expliquer en partie par la nature de la structure chimique, riche en groupes hydroxyles, communément appelés métabolites secondaires, qui ont été identifiés et utilisés pour traiter une variété de problèmes de santé. (Gülçin *et al.*, 2020). Ces phytomolécules peuvent avoir les mêmes propriétés que les médicaments de synthèse avec des effets indésirables minimes.

La classe des métabolites secondaires la plus répandue sont les polyphénols qui sont générés en quantités importantes par différentes parties des plantes et considérés comme essentiels dans notre alimentation. Ces substances bioactives peuvent agir de diverses manières pour réduire la formation excessive d'espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote (ROS, RNS), (Kalaivani *et al.*, 2011 ; Forni *et al.*, 2019), et peuvent même réduire les ROS dans les cellules, ce qui les rend efficaces pour le traitement de nombreuses maladies, y compris divers types de

cancers, le diabète et même certaines maladies neurodégénératives. Les antioxydants naturels peuvent être utilisés comme une sorte de médecine préventive (Valko et *al.*, 2007), retardant le processus de vieillissement cellulaire et diminuant le risque de développer un cancer ou un diabète (Sharifi-Rad et *al.*, 2020). De plus, ils ont la capacité d'absorber certains rayons nocifs associés à l'exposition au soleil, tels que les rayons ultraviolets (UV), par l'intermédiaire de leurs substances chimiques bioactives, qui fonctionnent comme un filtre naturel (Korać et *al.*, 2011), réduisant de manière significative le risque de développer un mélanome, le cancer de la peau le plus répandu (Pal et *al.*, 2016).

En raison des rôles pharmacologiques et biologiques importantes de ces produits bioactifs, que ce soit pour la plante ou l'homme, une énorme attention est portée aux médicaments d'origine naturelle.

Tamarix africana appartient à la famille des Tamaricaceae, se retrouve naturellement en Asie et en Afrique. Les populations utilisent cette plante à des fins médicales pour prévenir et traiter plusieurs affections (Alnuqaydan et Rah, 2019). Le genre *Tamarix* L. comprend différentes espèces, qui sont souvent utilisées pour traiter la diarrhée, les maux de dents et les aphtes, tandis que les poudres et les décoctions de la partie racine sont utilisées pour traiter la lèpre, la variole et la tuberculose. Les feuilles de *Tamarix* L. sont utilisées pour soigner les rhumatismes et les hépatites, tandis que les branches sont utilisées comme astringent (El Rhaffari et Zaid, 2004). En particulier, les feuilles de *Tamarix* L. sont traditionnellement utilisées en décoction et en infusion afin de traiter les troubles du tube digestif (Khennouf et *al.*, 2003). Plusieurs études sur les espèces de *Tamarix* L. ont rapporté la présence de différents composés phytochimiques, tels que des acides phénoliques, des flavonoïdes et des tanins (Bahramsoltani et *al.*, 2020).

Tamarix africana est une plante fréquemment utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter les problèmes gastroduodénaux, en raison de la présence de polyphénols tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Khennouf et *al.*, 2003 ; Benabdallah et *al.*, 2014). La richesse des espèces de *Tamarix* L. en composés bioactifs peut expliquer en partie leurs propriétés pharmacologiques de guérir une variété de maladies associées au stress oxydatif, y compris le diabète, le cancer, et les pathologies neurologiques (Mahfoudhi et *al.*, 2016). De plus, ces plantes possèdent des activités hépatoprotectrices, antinéoplasiques, antinociceptives (Rasouli et *al.*, 2017) et antibactériennes (Bahramsoltani et *al.*, 2020). Malgré les effets bénéfiques de cette plante sur la santé humaine, peu d'études ont rapporté les qualités phytochimiques et pharmacologiques de cette plante.

La bioinformatique, en tant que nouvelle discipline émergente, a considérablement évolué au cours des dernières décennies et représente aujourd'hui un domaine d'étude important, permettant aux chercheurs de stocker, récupérer, organiser et analyser des données biologiques (Li et *al.*, 2020). Parmi ces disciplines, une approche informatique moderne, appelée la prédiction *in silico*, a permis de prédire les propriétés chimiques et biologiques de milliers de molécules naturelles et synthétiques. En effet, cette approche a permis à la communauté scientifique de gagner un temps considérable et de diminuer le coût des études liées aux expériences de laboratoire sur les animaux (Dassamiour et *al.*, 2022).

Le docking moléculaire représente une autre approche *in silico* vise à prévoir la structure d'un complexe moléculaire à partir des composées isolées, ce qui est notablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro*. Les logiciels de docking sont donc des instruments très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la majorité des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, habituellement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée (Fredj, 2021). Dans ce contexte, cette thèse vise à caractériser la plante *Tamarix africana* via l'exploration de son contenu en composés phénoliques et l'élucidation de ces activités biologiques. Ainsi, les objectifs assignés à cette étude se résument en :

- i) Une analyse qualitative de la composition phytochimique de *Tamarix africana*,
- ii) Une estimation quantitative les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes, en tanins hydrolysables et condensés par mesure spectrophotométrique,
- iii) Une détermination de son profil phytochimique via la caractérisation des différents extraits et fractions par LC-MS,
- iv) Une étude préclinique de prédiction des propriétés pharmacocinétiques des molécules *in silico*,
- v) Une prédiction des propriétés pharmacodynamiques par le docking moléculaire
- vi) Et une évaluation *in-vitro* des activités pharmacobiologiques à savoir l'activité antioxydante, anticholinestérase, anti-uréase, antidiabétique, l'activité dermatoprotectrice (anti-tyrosinase, facteur de protection solaire (SPF), la cytotoxicité sur les larves *Artémia Salina* et enfin le test de réduction des nanoparticules d'argent.

Chapitre 01 :

*Présentation de l'espèce étudiée (Tamarix
africana)*

1. Généralités sur la famille *Tamaricaceae*

Les Tamaricacées sont des sous-arbrisseaux ou arbustes généralement halophytes, rarement xérophytes. Cette une famille de dicotylédones comprend 125 espèces réparties dans les différentes régions du monde, notamment l'Europe, l'Asie et l'Afrique et les USA (Sultanova et *al.*, 2001). Famille des caryophyllales appartenant aux eudicots vrais selon la nouvelle classification des angiospermes (**Fig. 1**) (Anderson, 2005).

Les Tamaricacées se répartissent dans les zones arides ou sablonneuses des régions tempérées à subtropicales (Lefahal, 2014). En Algérie, on rencontre deux genres seulement : *Tamarix* L. représenté par dix espèces et *Reaumuria* L. représenté par une seule espèce, *Reaumuria vermiculata* L. (Quezel et Santa, 1963).



Figure 1. Aspect général des Tamaricacées (Hadj allal, 2014)

2. Caractères généraux de la famille *Tamaricaceae*

Les Tamaricacées sont généralement caractérisées par des :

2.1. Feuilles

Petites de 0,5 à 0,7mm de long, écailleuses, petites alternes, souvent sessiles, rarement subsessiles, éricoïdes, dotées de glandes qui secrètent des sels (**Fig. 2**) (Khabtane, 2015).

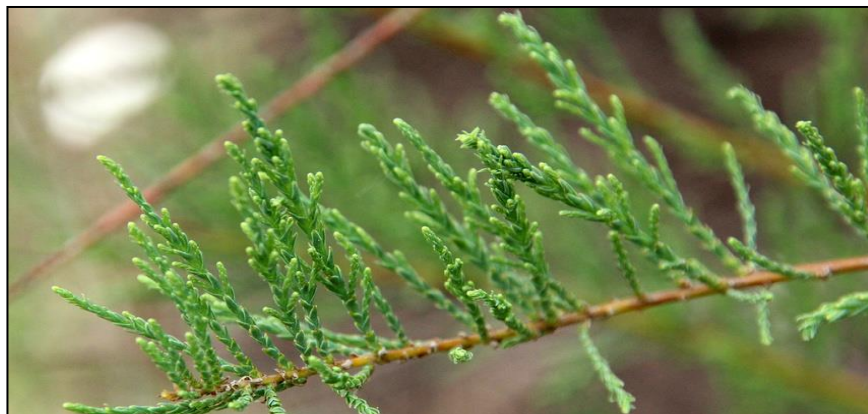


Figure 2. Forme des feuilles des Tamaricacées (Rouissi, 2018)

2.2. Fleurs

Souvent petites bisexuelles et rarement unisexuelles, actinomorphes bractéoles penta ou tétra mères, sépales et pétales imbriqués, étamines 5 ou plusieurs. Ovules anatropes ou ascendants, les fruits sont des capsules loculicides contiennent des graines barbues entièrement, ou souvent au sommet (Quezel et Santa, 1963; Lefahal, 2014) (**Fig. 3**).



Figure 3. Forme des fleurs des Tamaricacées lors de la floraison (Khabtane, 2015)

2.2.1. Sépales et pétales

Imbriqués persistantes, distinctes ou rarement à la base connée ; pétales 4–5, alternés avec les sépales et parfois persistant (Gaskin, 2003).

2.2.2. Étamines

Au nombre de 5 ou plus, insérées sur un disque nectarifère, libres ou unies à la base, généralement égal en nombre de pétales ou plus, distincts ou conné à la base ou fasciculé, souvent attaché à un disque de nectar charnu, anthères 2-loculaires, s'ouvrant par des fentes longitudinales (Crins, 1989; Gaskin, 2003).

2.2.3. Gynécée

Leur nombre varie entre 5 à 2 carpelles avec autant de stigmates libres, à placentation pariétale ou pariétale-basale. Ovules de 2 à n, anatropes, ascendants. Le fruit est une capsule loculicide. Graine barbue entièrement ou seulement au sommet, rarement ailée, albuminée ou non, à embryon droit (Crins, 1989; Khabtane, 2015)

La famille des Tamaricaceae regroupe 112 espèces endémiques des régions de l'Eurasie et l'Afrique et introduites dans d'autres régions telle que l'Amérique du Nord (Benkelfat, 2020).

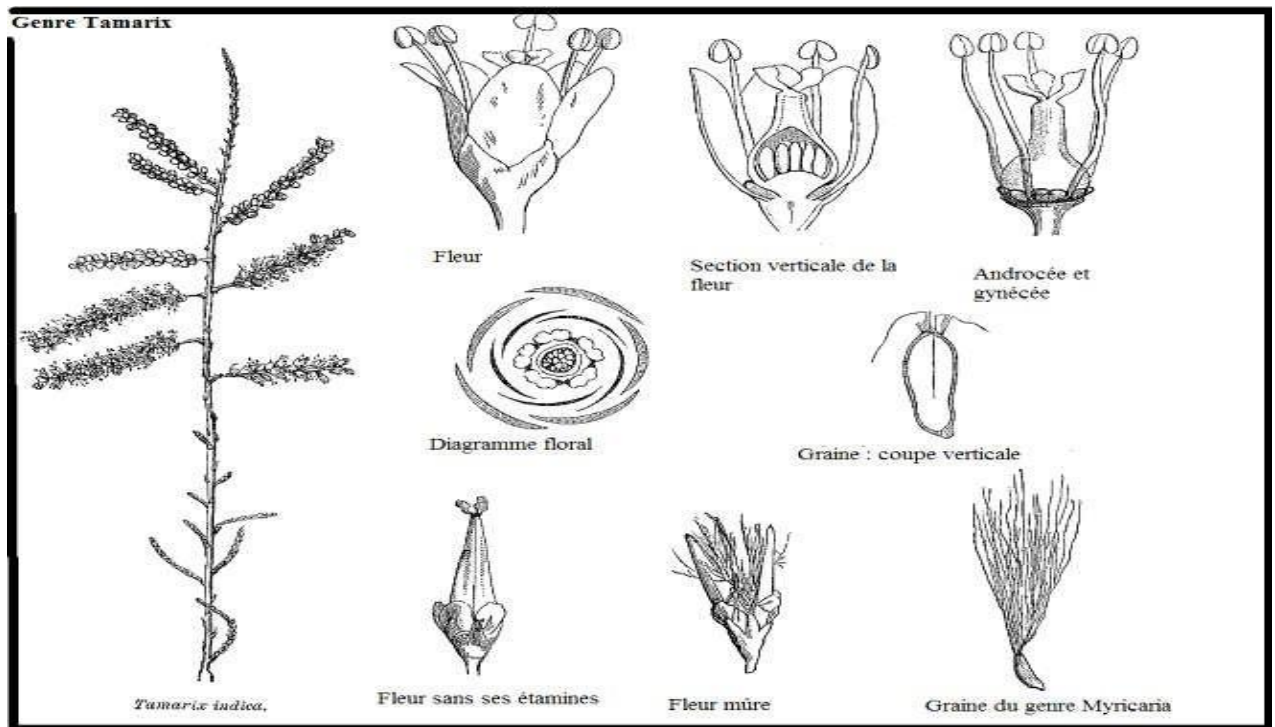


Figure 04. Principaux caractères botaniques des Tamaricacées (Lefhal, 2014).

2.3. Graines

Petites avec une touffe des cheveux blancs sur l'extrémité (Brotherson et Field, 1987). Leur forme est variable d'une espèce à une autre, elles sont cylindriques et très petites (0,17 mm sur 0,45 et pèsent 1 μ g) (Fig. 5) aussi caractérisées par l'absence de la dormance. Leur durée de vie est très courte en été n'excède 7 semaines, mais en hiver peut atteindre jusqu'à 19 semaines dans les conditions idéales du milieu (Baker, 1972).



Figure 5. Forme des graines des Tamaricacées (Lefhal, 2014).

3. Origine et répartition géographique

La Tamaricacée est originaire d'une zone qui s'étend de l'Europe australe et de l'Afrique du Nord par l'intermédiaire du Moyen-Orient et d'Asie du Sud à la Chine et au Japon (Ijbari et

Chapitre 1 : Présentation de l'espèce étudiée (*Tamarix africana*)

al., 2014). Les espèces du *Tamarix* L. sont considérées comme espèces envahissantes en Amérique du Nord et l'Australie (Nelroy, 1996 ; Heywood et *al.*, 2007). Selon Baum (1978), les *Tamarix* L. présentent deux centres de spéciation : un du côté asiatique (Pakistan-Afghanistan-Iran- Turkménistan - sud du Kazakhstan - ouest de la Chine) et un autre dans la région de la Méditerranée orientale. Il est considéré comme exotique en Australie, en Amérique et en Afrique du Sud. Selon Gaskin et Schaal (2003), aucun tamarix n'existe naturellement en Australie ou dans les Amériques, bien que plusieurs espèces aient été naturalisées et aient envahi des habitats propices dans ces régions du monde et dans d'autres.

En Algérie, 10 espèces de *Tamarix* L. ont été signalées : *Tamarix gallica*, *Tamarix africana*, *Tamarix aphylla*, *Tamarix boveana*, *Tamarix pauciovulata*, *Tamarix parviflora*, *Tamarix brachystylis*, *Tamarix anglica*, *Tamarix speciosa* et *Tamarix balansae* (Quezel et Santa, 1962)

Les espèces de *Tamaricaceae* en Algérie se trouvent dans environnements arides et semi-arides qui jouent un rôle majeur dans la vie socio-économique de la population rurale locale (Fig. 6). (Villar et *al.*, 2014).



Figure 06. Aire d'origine de répartition du genre *Tamarix* L. selon Khabtane (2015).

4. Classification

4.1. Classification classique des Tamaricacées selon Cronquist 1988

La classification de Cronquist 1988, est une classification classique des angiospermes. Elle serait la dernière version des classifications majeures basées essentiellement sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques, et qui ignore donc les critères de la classification phylogénétique. Les Tamaricaceae sont des dicotylédones appartenant à l'ordre Violales

Chapitre 1 : Présentation de l'espèce étudiée (*Tamarix africana*)

- Règne : *Plantae*
- Sous règne : *Tracheobionta*
- Division : *Magnoliophyta* ou Angiospermes
- Classe : *Magnoliopsida* ou Dicotylédones
- Sous-classe : *Dilleniidae*
- Ordre : Violales
- Famille : *Tamaricaceae*

4.2. Classification des Tamaricacées selon Angiosperms Phylogeny Group

La classification APG traduit les relations évolutives entre Angiospermes obtenues après plusieurs analyses cladistiques sur des critères moléculaires (Moore et *al.*, 2010). Selon cette classification, les Tamaricaceae appartenant à l'ordre Caryophyllales

- Clade : Angiospermes
- Clade : Dicotylédones vraies
- Clade : Noyau des Dicotylédones vraies
- Ordre : Caryophyllales
- Famille : *Tamaricaceae*

5. Etude du genre *Tamarix* L.

5.1. Caractères généraux du genre *Tamarix* L.

Le genre *Tamarix* L. (Tamaricaceae), avec environ 90 espèces, est une plante tolérante au sel et aux alcalis, formant des arbustes ou des arbres à feuilles persistantes ou à feuilles caduques avec des feuilles ressemblant à des écailles, distribués de manière discontinue dans les zones arides et semi-arides d'Eurasie, d'Afrique et autour de la côte de l'ancienne mer Méditerranée. Les *Tamarix* L. sont en générales des arbrisseaux ou arbres, très rameux à rameux dressés, grêlés, effilés, ceux de l'année sont feuillés (Zhang et *al.*, 2018).

5.2. Espèce *Tamarix africana*

5.2.1. Description botanique

Inflorescence large de 5-8 mm. Anthères obtuses au sommet. Fleurs pentamères, chatons sessiles naissant du vieux bois ou du bois de l'année précédente, denses et épars, court (2-3 mm). Style long, bractée étroite presque linéaire. Feuilles lancéolées à pointe courte. Capsules ovoïdes de 5x3 mm. Fleurs blanches, rosées ou rouges (**Fig. 7**) (Benkelfat, 2020).



Figure 07. Principaux caractères botaniques du *Tamarix africana* (Khabtane, 2015)

5.2.2. Nom vernaculaire

- Nom scientifique : *Tamarix* L.
- Nom Français : Tamaris, Tamarin
- Nom Anglais : Salt Cedar, Tamarisk
- Nom Arabe : Athal, Tarfa, Arich (الاثال)
- Nom Amazigh : Amammythe

5.2.3 Taxonomie

- Règne : *Plantae*
- Sous règne : *Tracheobionta*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Dilleniidae*
- Ordre : Violales
- Famille : *Tamaricaceae*
- Genre : *Tamarix* L.
- Espèce : *Tamarix Africana*

5.3. Etude ethnobotanique du genre *Tamarix* L.

Certaines espèces du genre *Tamarix* L. ont été utilisées en médecine traditionnelle pour leurs vertus thérapeutiques par des populations anciennes :

5.3.1. En chine

Les chinois ont généralement utilisé les branches et les feuilles des plantes *Myricaria wardii* et *Myricaria bracteta* pour le traiter de la grippe et limiter l'effet de poison des scorpions (Zhao et al., 2005).

5.3.2. En Afghanistan

Les fleurs de quelques *Tamarix* L. sont appliquées en cataplasme sur les abcès cutanés, les plaies et les furoncles fermés pour les faire murir (Younos et al., 2005). Les feuilles de *Tamarix Ramosissima* sont considérées en tant que remède très efficace pour le traitement du rhumatisme et d'hépatite, alors que les branches sont brevetées comme astringent (Pavlov et al., 1963).

5.3.3. Au Maroc

Les différentes espèces du genre *Tamarix* L. sont souvent utilisés pour leurs propriétés curatives : les galles sont prescrites sous forme de tisane afin de traiter la diarrhée, les douleurs dentaires et l'ulcère buccal ; les poudres et les décoctions des racines sont employés pour soigner lèpre, variole et la tuberculose (El Rhaffari et Zaid, 2004).

5.3.4. Au pakistan

Le *Tamarix aphylla* L. Karst est utilisé comme remèdes à base de plantes tels que diurétique, anti-inflammatoire, et pour traiter les hématomes internes (Mohammedi et Atik, 2011) la tuberculose, la lèpre, la variole aphrodisiaque et tonique, l'hépatite, l'eczéma et autres affections cutanées (Marwat et Rehman, 2011). De plus les extraits de *Tamarix aphylla* L. Karst peuvent être utilisé comme des analgésiques et antipyrétiques (Qadir et al., 2014), ils ont également un effet antimicrobien (Zain et al., 2012) et antifongique (Mohammedi et Atik, 2013) et un effet cardioprotecteur dans la cardiotoxicité induite par la doxorubicine (Ashour et al., 2012). Bien que *T. aphylla* L. Karst ait été examiné pour ses nombreuses propriétés médicinales, il n'y a pas preuves de l'action antidiabétique de cette plante (Ullah et al., 2017)

5.3.5. En Algérie

Les infusions des racines et des feuilles ont un usage interne comme astringent, anti-diarrhéique, diurétique et surtout pour traiter certaine insuffisance hépatique (Ali-Delille, 2013). Les feuilles de *Tamarix africana* Poir sont utilisé sous forme d'infusion dans la région montagneuse de Bordj Bou Arreridj (Nord-Est de l'Algérie) pour traiter les maladies cardiovasculaires et diurétiques (Miara et al., 2019)

5.3.6. En Tunisie

Les huiles essentielles isolées de la partie aérienne du *Tamarix boveana* d'origine tunisienne ont montré une activité anti bactérienne contre les Staphylocoques aureus et les Microcoques luteus à des faibles concentrations de 0,3g/ml, et 0,5g/ml, cependant les huiles isolées à partir des fleurs sont actives contre le *Staphylocoques epidermidis* et l'*Escherichia coli* (0,5g/l) (Saidana et al., 2008). Les tests biologiques menés sur l'espèce *Tamarix nilotica* ont mis en évidence une activité antiviral contre le Verus HSV (Soltan et Zaki, 2009).

5.3.7. En Egypte

Le genre *Tamarix* est le plus grand genre de la famille Tamaricacées (*Tamaris*). Il est représenté en Egypte avec deux espèces indigènes qui sont *Tamarix aphylla* L. Karst et *T. nilotica* Bunge (Boulos, 1999). *T. nilotica* Bunge a sa place dans l'histoire égyptienne où il a été mentionné dans papyrus anciens à l'époque pharaonique pour expulser la fièvre, soulager maux de tête, pour éliminer l'inflammation et comme aphrodisiaque. En plus, il était utilisé dans les traditions égyptiennes comme agent antiseptique (Abou Zid et Sleem, 2011). Différentes parties de *Tamarix* sont utilisées ; les feuilles et les jeunes branches sont cuites pour l'œdème de la rate, mélangé avec du gingembre pour les infections de l'utérus, tandis que l'écorce, lorsqu'elle est bouillie dans de l'eau avec du vinaigre est utilisée comme lotion contre les poux (Cao et al., 1997). Les constituants flavonoïdes et phénoliques ont été signalés sur les feuilles, les racines et les fleurs de *T. nilotica*. Les feuilles ont révélé une activités antioxydantes et hépatoprotectrices (Abouzid et Sleem, 2011).

5.3.8. En Palestine et Jordanie

Plusieurs espèces de *Tamarix* ont été utilisées en médecine traditionnelle comme médicament et tonique grâce à leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes (Shanna et Parmar, 1998 ; Makhmoor et al., 2001; Meot-Duros et al., 2008 ; Ksouri et al., 2009 ; Sultanova et Atik, 2011). Par exemple, *T. aphylla* est décrit comme ayant des propriétés antirhumatismales et astringentes, tandis que la décoction des feuilles est utilisée par les populations locales de Palestine et de Jordanie pour traiter la fièvre (Said et al., 2002; Al-Quran, 2005; Alzweiri et al., 2011). De plus, on a découvert que *T. nilotica* possède une activité antivirale puissante contre le virus herpès simplex-1 (HSV), tandis que L'extrait méthanolique de *T. gallica* présente des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et activités chimiopréventives (Sehrawat et Sultana, 2006; Soltan et Zaki, 2009 ; Chaturvedi et al., 2012). En ce qui concerne *T. aphylla*, gel. les

formulations de cette plante à 15 et 25% ont été comparées avec des produits commercialisés pour l'inflammation et l'excision des plaies conditions, en raison de leur efficacité anti-inflammatoire et cicatrisante (Yusufoglu et Alqasoumi, 2011).

6. Phytothérapie du genre *Tamarix* L.

6.1. Propriété pharmaceutique en médecine traditionnelle

Le Tamarix L. est l'un des bourgeons qui active le métabolisme du fer, puisqu'il stimule la formation des hématies. Il est recommandé dans les syndromes hémogéniques aigus, l'anémie hypochrome, l'érythropénie hypoplaquettaire et médullaire. Il agit comme hypercoagulant total et est, de ce fait, indiqué dans les hypocoagulations sanguines (Depoërs, 2002). C'est un remède des thrombopénies acquises par suite d'infection virale et s'indique dans la mononucléose infectieuse. Il lutte contre l'histiocytose diffuse chronique (maladie de Hand Schuller) et active le métabolisme du cholestérol (Philippe, 2007). Des préparations de différentes parties (feuille, fleur, tige, racine, graine...) du tamarix sont administrées par voie per os ou en usage externe à titre préventive ou même comme curatifs.

Selon El Rhaffari et Zaid, 2004, le genre *Tamarix* présente une large gamme d'effets pharmacologiques, citant :

6.1.1 Infection par les parasites internes et externes

Les Tamaricacées sont utilisées pour traiter les helminthiases, les parasites intestinaux, la leishmaniose, les parasites de la peau, les acariens... à usage interne et externe.

6.1.2. Pathologies du système digestif

Les maladies du système digestif les plus traitées sont en général les maux d'estomac, les spasmes et coliques, les désordres digestifs et gastrites, les gastro-entérites, les hépatites, les maux de la rate, la diarrhée, le gonflement de la rate, la constipation... Tous les remèdes préparés sont ingérés.

6.1.3. Pathologies du système respiratoire

La population utilise les plantes pour leurs vertus antitussive, antiasthmatique, pour soigner la bronchite, la coqueluche, la tuberculose et les douleurs thoraciques. Administrées par voie orale.

6.1.4. Dermo-cosmétologie

Les Tamaricacées sont utilisées souvent pour le soin et la cicatrisation des blessures, la maturation des abcès, les dermatoses et dermatites, le soin des cheveux et l'alopecie et les brûlures. Les remèdes sont en totalité à usage externe

6.1.5. Pathologies bucco-dentaires

Pour soigner le mal de dents, la gingivite, les ulcères buccaux, les aphtes, les stomatites... à usage externe

6.2. Travaux réalisés sur l'espèce *Tamarix africana*

Des travaux et des recherches scientifiques ont été réalisés sur l'espèce *Tamarix africana* afin de la valoriser et de l'exploiter. Le potentiel pharmacologique curatif a été examiné via différentes activités biologiques *in vitro* et *in vivo*. Une investigation a été faite par Benabdallah et *al.*, (2014) a porté sur l'analyse phytochimique et activité anti-péroxydation lipidique des extraits de cette plante récupéré de la région de Bordj Bou Arreridj. Alors que Khabtane et *al.*, 2017 ont évalué *in vitro* l'activité anti-microbienne et anti-oxydante des flavonoïdes extraits des fleurs du *Tamarix africana* Poir de la région de kenchela. Cheron-Bouchlaghem et *al.* (2019) ont montré le potentiel antioxydant et l'analyse phytochimique des extraits des feuilles de cette plante endémique récupérés de la région d'Oran. En 2021, ces auteurs ont étudié les activités antimicrobienne et anti-inflammatoire *in vivo*, ainsi que la détection de certaines biomolécules par HPLC-DAD des extraits de feuilles de *Tamarix africana* (**Tab. 1**).

Tableau 01 Quelques travaux scientifiques réalisés sur l'espèce *Tamarix africana*

Travaux scientifiques	Références
"Phytochemical Analysis and Anti-Lipid Peroxidation Activity of <i>Tamarix Africana</i> L. Extracts"	Benabdallah et <i>al.</i> , 2014
" <i>In vitro</i> evaluation of the anti-microbial activity and the anti-oxidant activity of the flavonoids extracted from the flowers of the <i>Tamarix africana</i> Poir "	Khabtane et <i>al.</i> , 2017
« Phytochemical analysis and antioxidant activity of <i>Tamarix africana</i> , <i>Arthrocnemum macrostachyum</i> and <i>Suaeda fruticosa</i> ,	Cheron-Bouchlaghem, et <i>al.</i> , 2019

three halophyte species from Algeria »	
« Antimicrobial and anti-inflammatory activities of three halophyte plants from Algeria and detection of some bimolecular by HPLC-DAD “	Cheron-Bouchlaghem, et al., 2021

6.3. Métabolites secondaires extraits de l'espèce *Tamarix africana*

Les métabolites secondaires sont synthétisés dans les différentes parties de la plante avec des concentrations très variées qui dépendent principalement des conditions environnementales. Des techniques et des outils récents et très sophistiqués ont été adoptés afin d'extraire, de quantifier, d'identifier et de caractériser les différentes molécules présentes dans les végétaux. Les métabolites secondaires présents dans les plantes ont une forte utilisation en médecine pour des problèmes d'anxiétés et de stress, mais aussi pour atténuer des symptômes de maladies chroniques ou encore, prévenir diverses maladies qui vont de la migraine au cancer. Par leur activité antioxydante, anticancéreuse, anti-inflammatoire et cardioprotectrice, les composés phénoliques sont bénéfiques pour la santé humaine. Actuellement, peu de recherche scientifique ont été dirigées vers *Tamarix africana*. Le **Tableau 2** représente quelques molécules bioactives extraites de cette plante.

Tableau 02 Métabolites secondaires extraites de l'espèce *Tamarix africana*

Métabolites secondaires	Groupes	Référence
Acide carboxylique	Acide succinique	Karker et al. (2016)
Flavonoïdes	4',7-di-O-méthylkaempferol-3- O-sulphate	
	5,7,4'-trihydroxyflavan 7-O-sulphate	
	5,7,4'-trihydroxyflavan-4-ol5,7- disulphate	
	Gardenin A-C	
	Naringénine	
	Naringénine 4'-O-sulfate	
	Kaempferol 3-O-β -Dglucuronopyranoside	
	Tamarixetine 3-O-Sulfate	
Kaempferol4'-methylether-sulfate		
Acide phénolique	Acide 5-hydroxy vératrique	Karker et al. (2016)

Chapitre 1 : Présentation de l'espèce étudiée (*Tamarix africana*)

	Ester méthylique de l'acide 5-hydroxy vératrique	
	Acide férulique	
	Ester méthylique de l'acide férulique	
Acides ellagiques	Acide ellagique	Harborne (1975)
Acides cinnamiques et dérivés	Trans coniferyl alcool -4-O-sulphate	Tomas-Barberan et <i>al.</i> (1994)

Chapitre 2 :

Prédiction par l'étude bio-informatique

Chapitre 2 : Prédiction par l'étude bio-informatique

La découverte d'une molécule médicamenteuse « drug discovery » (**Fig. 8**) est un processus souvent extrêmement long, fastidieux et incertain. Pour chaque nouveau médicament, le temps s'écoulant entre la première étape, au cours de laquelle une cible biologique pertinente dans un processus pathologique donné est identifiée, jusqu'à la mise sur le marché d'un médicament est estimé à une moyenne de 12 à 14 ans avec un coût global minimum de 800 millions de dollars (Morgan et *al.*, 2011).

La bio-informatique, tant qu'une nouvelle discipline émergente, a considérablement évolué au cours des dernières décennies et représente aujourd'hui un domaine d'étude important, permettant aux chercheurs de stocker, de récupérer, d'organiser et d'analyser des données biologiques (Li et *al.*, 2020). Parmi ces développements, une approche informatique moderne, appelée *in silico*, ou approche computationnelle a permis de prédire les propriétés chimiques et biologiques de milliers de molécules naturelles et synthétiques, grâce à la précision élevée des algorithmes et à des bases de données constamment mises à jour (Echigoya et *al.*, 2015).

Traditionnellement, les médicaments étaient découverts en testant des composés synthétisés dans des processus à plusieurs étapes qui prenaient beaucoup de temps et de tests biologiques *in vivo* et qui arrivent dans la plupart du temps à des résultats défavorables dues à leurs propriétés pharmacocinétiques, leur métabolisme et leur toxicité potentielle. De ce fait, les méthodes récentes de prédiction des structures des molécules, des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques (ADMET), ont permis à la communauté scientifique de gagner un temps considérable et de diminuer le coût des études liées aux expériences de laboratoire sur les animaux (Dassmiour et *al.*, 2022).

La recherche scientifique dans le domaine de la pharmacologie s'est considérablement développée au cours du siècle dernier. Notre connaissance des systèmes biologiques continue de croître grâce à des études bien conçues et des progrès continus dans les technologies disponibles pour mesurer et analyser des échantillons biologiques et des sujets (Van et Gifford, 2003).

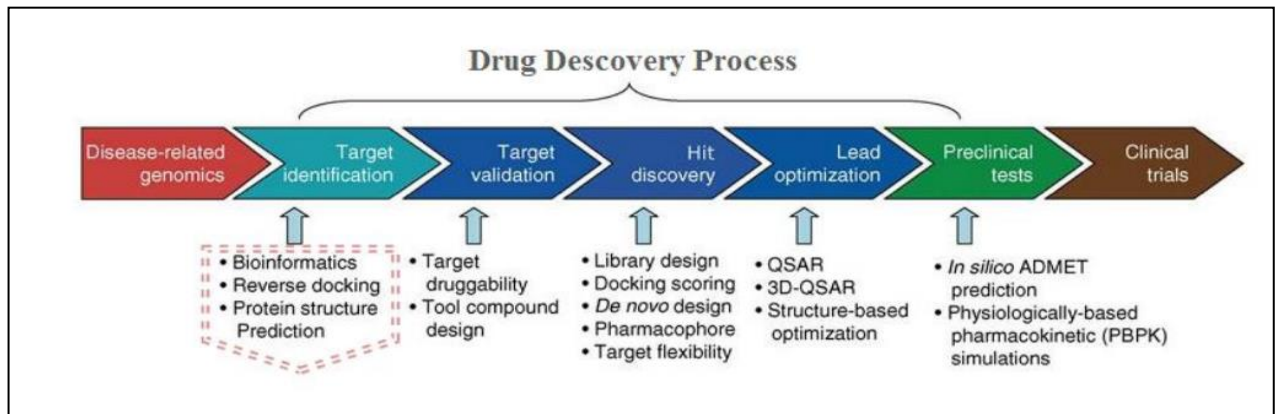


Figure 8. Intervention des méthodes *in silico* dans le processus du recherche et développement de nouveaux médicaments (Asses et *al.*, 2011).

1. Prédiction des propriétés physicochimiques *in silico*

Une propriété physico-chimique dans un système correspond à une mesure particulière de l'état du système à un instant donné et à un endroit donné (Rahman, 2009). Dans ce contexte six propriétés physicochimiques des médicaments sont testées ; la lipophilie, la taille, la polarité, l'insolubilité, l'insaturation et la flexibilité (Diana et *al.*, 2017).

2. Prédiction des propriétés pharmacocinétiques par l'étude *in silico*

La pharmacocinétique est l'étude du devenir d'un médicament dans l'organisme (ou influence de l'organisme sur le médicament) (**Fig.9**). C'est aussi l'étude de la chronologie de l'effet, elle comprend 4 étapes : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion du médicament (ADME). Les propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADMET) des médicaments candidats ou des produits chimiques environnementaux jouent un rôle clé dans la découverte du médicament et de l'évaluation des risques environnementaux. Pour être efficace en tant que médicament, une molécule puissante doit atteindre sa cible dans le corps en concentration suffisante et y rester sous une forme bioactive assez longtemps pour que les événements biologiques attendus se produisent (Tsaïoun et *al.*, 2016). Le développement de médicaments implique l'évaluation de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion (ADME) de plus en plus tôt dans le processus de découverte, à un stade où les composés considérés sont nombreux mais où l'accès aux échantillons physiques est limité (Daina et *al.*, 2017).

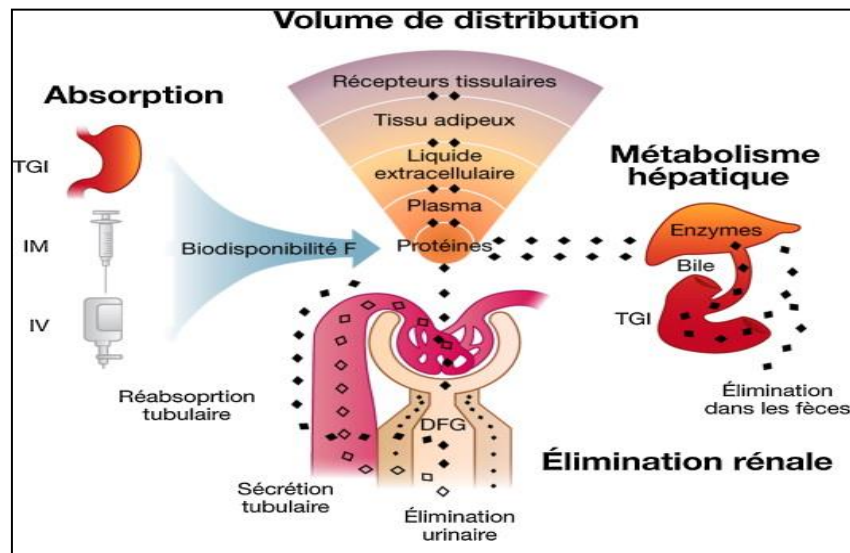


Figure 9. Schéma explicatif du profil ADME (Canault, 2018)

2.1. Absorption

L'absorption correspond à l'ensemble des phénomènes intervenant dans le transfert du principe actif médicamenteux depuis son site d'administration jusqu'à la circulation sanguine pour assurer une meilleure biodisponibilité (Rein et *al.*, 2013). Cette étape du devenir de médicament chez l'homme est essentielle à étudier car elle peut être à l'origine d'une variabilité importante de la réponse aux médicaments notamment par le biais d'interactions médicamenteuses significatives (Clayton et *al.*, 2009).

Le passage des médicaments à travers la muqueuse gastro-intestinale fait intervenir tous les mécanismes de passage transmembranaire surtout la diffusion passive où seule la fraction liposoluble et non ionisée traverse la muqueuse digestive, de nature lipoprotéique, par simple diffusion (Schreiber, 1992). En réalité, l'intestin grêle représente le lieu de résorption principal pour la plupart des médicaments, et ceci pour plusieurs raisons :

- surface de contact considérable
- microvillosités développés
- irrigation et mouvements importants.

Les autres régions du tube digestif interviennent assez peu dans l'absorption.

2.2. Distribution

La distribution correspond au processus de répartition du médicament dans l'ensemble des tissus et organes. Depuis le site d'entrée et après résorption, le médicament est distribué dans la circulation générale : les substances sont transportées par le sang dans les différents tissus de

l'organisme. On résume sous le terme « distribution » le transport du médicament au niveau sanguin (phase plasmatique) puis sa diffusion dans les tissus (phase tissulaire) (Kok-Yong et Lawrence, 2015)

2.2.1. Interaction avec les protéines plasmatiques du sang

Certaines protéines plasmatiques possèdent la propriété de fixer des substances endogènes mais également les produits exogènes comme les médicaments. Il en résulte la formation d'un complexe protéine-médicament menant à la distinction du médicament sous forme libre et sous forme liée (López-Yerena et *al.*, 2020). La liaison médicament-protéine est réversible, elle répond à la loi d'action de masse :

Médicament libre + protéine plasmatique \leftrightarrow médicament lié à la protéine

Seule la forme libre du médicament est active pharmacologiquement, la forme liée en est inactive et ne peut diffuser pour atteindre son lieu d'action. Différentes protéines plasmatiques sont impliquées dans la fixation des médicaments :

- l'albumine
- l' α 1 glycoprotéine acide
- les lipoprotéines
- la γ globuline

L'albumine et l' α 1-glycoprotéine acide sont les deux principales protéines impliquées dans la fixation des médicaments. Cette fixation dépend des caractéristiques acido-basiques des médicaments (Bteich, 2019).

2.2.2 Volume de distribution

Le volume de distribution (VD) est le volume théorique dont la dose totale d'un médicament devrait être uniformément distribuée pour donner la même concentration dans le plasma sanguin. Plus ce volume est élevé, plus le médicament est distribué dans les tissus plutôt que dans le plasma (Lobell et Sivarajah, 2003)

2.2.3. Perméabilité da la barrière hémato-encéphalique

Dans le cerveau précisément au niveau de la barrière hémato-encéphalique (HE), les capillaires sont constitués de cellules endothéliales très serrées. De plus, les astrocytes (constituant la névroglie) sont particulièrement riches en lipides et entourent les neurones et les vaisseaux sans laisser de place au liquide interstitiel. Cet ensemble joue un rôle de barrière

limitant la diffusion des médicaments. En pratique, la diffusion est d'autant plus intense que la substance est de faible poids moléculaire, liposoluble et sous forme non ionisée. Par ailleurs, à ce niveau, des phénomènes de transport actif ou de sécrétion contrôlent également le passage des médicaments (Kaplan et *al.*, 2020).

2.3. Métabolisme

Le métabolisme d'un médicament correspond à sa transformation par une réaction enzymatique en un ou plusieurs composés, dits métabolites qui peuvent être pharmacologiquement actifs, inactifs ou parfois toxiques. Le métabolisme est une des phases de l'élimination d'un médicament : les différentes étapes du métabolisme conduisent à la formation de substances hydrosolubles plus facilement éliminées par les milieux aqueux que sont les urines, la bile, la salive ou la sueur (Huttunen, 2011). Il est important de noter que le métabolisme des médicaments n'aboutit pas forcément à son inactivation. De nombreux tissus peuvent réaliser le métabolisme des médicaments : foie, rein, poumon, intestin...

Le foie en raison de sa vascularisation et de sa richesse en enzymes joue un rôle primordial par rapport aux autres organes. L'activité des cytochromes (CYP) peut être changée sous l'action de substances inhibitrices, qui vont provoquer une réduction du métabolisme et donc une élévation des concentrations du médicament (Ogu et *al.*, 2000).

2.4. Elimination ou clairance

L'étape finale du devenir du médicament est son élimination de l'organisme ou excrétion. Le processus d'excrétion concerne le médicament sous forme inchangée et ses métabolites. Toute altération du fonctionnement de l'organe responsable de l'élimination se traduit par une diminution de l'élimination et un risque d'accumulation (Lin et *al.*, 2003). L'élimination des médicaments et de ses métabolites est principalement réalisée par la voie urinaire et la voie biliaire.

2.5. Toxicité

Les effets médicamenteux indésirables peuvent être considérés comme une forme de toxicité; cependant, l'intoxication est le plus souvent liée à une ingestion excessive (accidentelle ou intentionnelle) ou à une élévation des concentrations sanguines ou à une augmentation des effets du médicament se produisant aux posologies habituelles (Mahnik et *al.*, 2007). Le terme

effet indésirable est imprécis, souvent utilisé pour indiquer des effets non souhaités du médicament apparaissant aux doses thérapeutiques.

❖ Hépatotoxicité

Le premier passage de médicament se fait à travers le foie pour atteindre la circulation générale. L'hépatotoxicité est aussi un paramètre important pour apprécier la toxicité d'une substance.

3. Prédiction des propriétés pharmacodynamiques par le Docking moléculaire

3.1. Définition

Le Docking ou l'amarrage est une approche informatique qui permet de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et la structure d'une protéine. Elle se divise en deux étapes :

Etape 1. Au cours de laquelle le ligand est positionné à l'emplacement préféré de la protéine

Etape 2. Au cours de laquelle les interactions d'énergie potentielle entre le ligand et la protéine sont évaluées.

Les méthodes utilisées pour ces deux étapes diffèrent en fonction du programme de Docking utilisé (François, 2014). Le Docking est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre afin d'obtenir le complexe le plus stable. Elle est fréquemment utilisée dans l'étude des cibles moléculaires des médicaments et dans la réduction des essais expérimentaux. En générale il y a deux approches ; l'un basée sur la complémentarité des surfaces et l'autre sur le calcul de l'énergie du complexe.

3.2. Principe du Docking

Le problème le plus important pour l'étape du Docking est de traverser l'espace conformationnel aussi efficacement que possible en fonction du nombre de degrés de liberté de translation, de rotation et des conformations potentielles du ligand pour éviter les calculs que les machines ne peuvent résoudre ou ne peuvent le faire que dans des délais extrêmement longs (Laouar, 2015).

3.3. Outils du Docking moléculaire

Les logiciels de Docking sont des outils utiles en pharmacie et en médecine, car la plupart des principes actifs sont des petites molécules (ligand) conçues pour interagir sur le plan

moléculaire avec leurs protéines cibles (récepteur), pour agir sur les voies biologiques dans lesquelles ces dernières sont impliquées (McGann, 2011).

3.3.1. Autodock

L'étape de docking moléculaire est réalisée grâce au sous-programme AutoDock. Est une suite d'outils de docking automatisés. Il est conçu pour prédire la façon avec laquelle les petites molécules, telles que des substrats ou des médicaments candidats, se lient à un récepteur de structure 3D connue.

3.3.1.1. Autodock vina

AutoDock Vina est une nouvelle génération de logiciel d'accueil du MGL (Molecular Graphics Laboratory). Il réalise des améliorations significatives de la précision moyenne des prédictions de mode de liaison, AutoDock Vina ne nécessite pas de choisir les types d'atomes et de pré-calculer les cartes de grille pour eux. Au lieu de cela, il calcule les grilles en interne, pour les types d'atomes nécessaires, et il le fait pratiquement instantanément.

3.3.1.2. Autodock tools

AutoDockTools, (ADT), permet entre autres de définir quelles liaisons seront traitées comme rotatives dans le ligand et d'analyser les ancrages (Bezière, 2008).

3.4. Type de Docking moléculaire

3.4.1. Docking rigide

Le ligand et le récepteur qu'est une protéine sont tous les deux considérés comme étant rigides. Seuls les 6 degrés de liberté de translation et rotation sont explorés pour le ligand, le subir des translations et rotations dans chacune des trois dimensions. La recherche conformationnelle commence en énumérant toutes les translations et rotations possible avec au minimum 1 Å et 1,5 Å de RMSD, respectivement, entre chaque changement. Chaque pose sans clash est notée à l'aide d'une fonction de score. Les poses ayant les meilleurs scores sont affinées par le programme qui teste les rotations et translation proches.

3.4.2. Docking semi-flexible

Lorsque l'espace conformationnel des ligands est exploré, le nombre de degrés de liberté de l'espace de recherche peut être conséquent dans le cas de molécule très flexible. D'autres algorithmes dits de fragmentation sont employés pour construire de façon incrémentielle le

ligand au sien du site actif de la protéine, l'espace des conformations du ligand est alors restreint au voisinage d'un ensemble initial d'états simplifiés. Cette stratégie de recherche par construction se présente sous diverses variantes (Kuntz et *al.*, 1982).

3.4.3. Docking flexible

Lorsque les méthodes de Docking prennent en compte la flexibilité du ligand, deux étapes sont effectuées successivement pendant toute la durée du Docking :

Etape 1 : correspond à une exploration de l'espace conformationnel de manière à retrouver parmi les conformations proposées les conformations bioactives.

Etape 2 : une fonction de score évalue ces conformations (Kollman et *al.*, 2000). Il existe plusieurs types d'algorithmes de recherche conformationnelle.

3.5. Scoring

3.5.1. Principe

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique suivant (Marie Brut, 2009) :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

L'établissement d'une bonne fonction de score est un problème important du Docking. Il arrive souvent que la solution évaluée comme étant la plus probable ne soit pas la forme native attendue. Ceci serait dû au fait que le complexe natif n'est pas forcément celui qui présente la plus grande surface d'accès, ou encore le plus grand nombre de liaisons hydrogéné disponible (Lazar 2017).

3.5.2. Fonction de score

La procédure de Docking permet de générer une liste de complexe représentant les modes d'associations favorables entre le ligand et le récepteur macromoléculaire, ensuite l'évaluation des complexes pour trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire au mieux le mode d'association réel. L'association entre protéine et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques :

- Les interactions hydrophobes
- Les interactions électrostatiques

- Les liaisons hydrogènes

3.6. Propriétés pharmacodynamiques

La pharmacodynamie (PD) s'intéresse à l'effet d'une substance étrangère introduite dans l'organisme (un xénobiotique), autrement dit à la réponse d'un système biologique à l'utilisation d'un médicament dans notre situation. Un médicament possède dans l'organisme une ou plusieurs cibles d'action qui peuvent être plus ou moins bien identifiées sur le plan moléculaire (Dhal et *al.*, 2010). L'interaction du médicament avec sa cible se traduit par un ou plusieurs effets qui peuvent être mesurables ou non.

La pharmacodynamique est l'étude de l'interaction entre une substance active (généralement un médicament) et les récepteurs qui se trouvent dans l'organisme (Katzung et *al.*, 2004). Il s'agit de savoir comment le corps et les cellules cibles (les récepteurs) réagissent au principe actif et si on obtient l'effet recherché. C'est une science indispensable pour adapter les traitements médicamenteux administrés à un malade. En effet, en sachant comment le corps répond à telle ou telle substance, il est possible de modifier le traitement. La pharmacodynamie correspond également à la mesure de l'effet d'un médicament dans l'organisme qui dépend de la dose du médicament reçue (Benedetti et *al.*, 2011).

Un médicament provoque un ou plusieurs effets pharmacodynamiques pour des doses qui peuvent être différentes, il possède :

1. Un effet principal utilisé en thérapeutique
2. Des effets secondaires (latéraux) qui sont utiles ou indifférents ou gênants ou nuisibles.
3. Pharmacodynamique : également qualifiée de pharmacodynamie

La pharmacodynamique concerne l'étude de l'action des principes actifs des substances médicamenteuses sur le corps humain. Plus précisément, elle observe et caractérise les différents effets entre une substance active et les récepteurs visés (D'alessandro et *al.*, 2022). Ce domaine est particulièrement utile pour adapter les traitements thérapeutiques en fonction du but recherché. En effet, un principe actif est transporté par le système sanguin jusqu'au lieu où il doit agir (Kutter et *al.*, 2010). L'association de cette substance active avec un récepteur, une cellule ou une enzyme engendre la réponse du corps face à la cible. En résumé, la pharmacodynamie est une branche de la pharmacologie qui étudie les effets sur les êtres vivants de toute molécule chimique quelle qu'en soit l'origine (naturelle ou synthétique) (Albert, 2012).

Chapitre 03 :

Chapitre 03 :

Matériels et Méthodes

1. Matériel végétale

Les parties aériennes (graines, tiges, feuilles et fleurs) sont récoltées durant le printemps de l'année 2020 (mars 2020) au stade de floraison dans la région de Khenchela, située dans le nord-Est de l'Algérie, à 470 km à l'est d'Alger et 100 km ($35^{\circ} 25' 55''$ Nord, $7^{\circ} 08' 40''$ Est) (Fig. 10). L'identification a été réalisée au laboratoire de biotechnologie, eau, environnement et santé par Dr. Khabtane Abd El Hamid, enseignant-chercheur à l'université Abbés Leghrou, Khenchela. Après collecte, les échantillons sont rincés à l'eau distillée et séchés à l'abri de la lumière. Le matériel végétal séché est broyé par un broyeur mécanique de marque Moulinex.

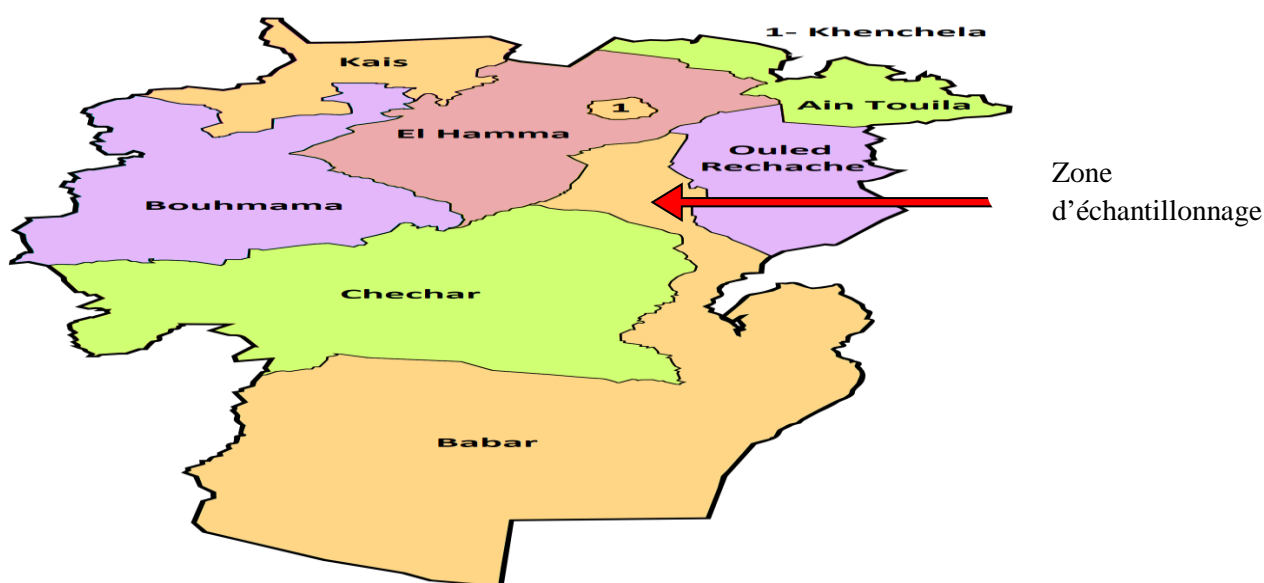


Figure 10. Zone d'échantillonnage

2. Extraction des métabolites secondaire

2.1. Extraction par macération et fractionnement

Les extraits méthanoliques sont préparés selon la méthode décrite par Boutefnouchet et *al.* (2020) avec quelques modifications. 50 g de chacune (feuilles, tiges, fleurs, graines) sont soumis à une macération dans 500 ml du mélange méthanol/eau (8: 2, V/V) sous agitation continue pendant 48h à l'ombre et à température ambiante. Après filtration sur papier filtre, le méthanol est évaporé sous pression réduite à 40°C dans un rotavapeur (BÜCHI). L'extrait, obtenu par évaporation, a subi un fractionnement. Ainsi et après évaporation à 40°C , l'extrait est dissout dans l'eau distillée puis laissé décanter une nuit. Ensuite, il est lavé par le dichlorométhane. La phase aqueuse récupérée est extraite trois fois successives par l'acétate d'éthyle. Cette dernière est à son tour collectée, tandis que la phase aqueuse résiduelle est reprise

par le *n*-BuOH (l'extrait butanolique) (Fig. 11). Tous les extraits ainsi que la phase aqueuse sont récupérés et évaporés sous pression réduite à 40°C dans un rotavapeur (BÜCHI) et stockés à l'obscurité à 4°C.

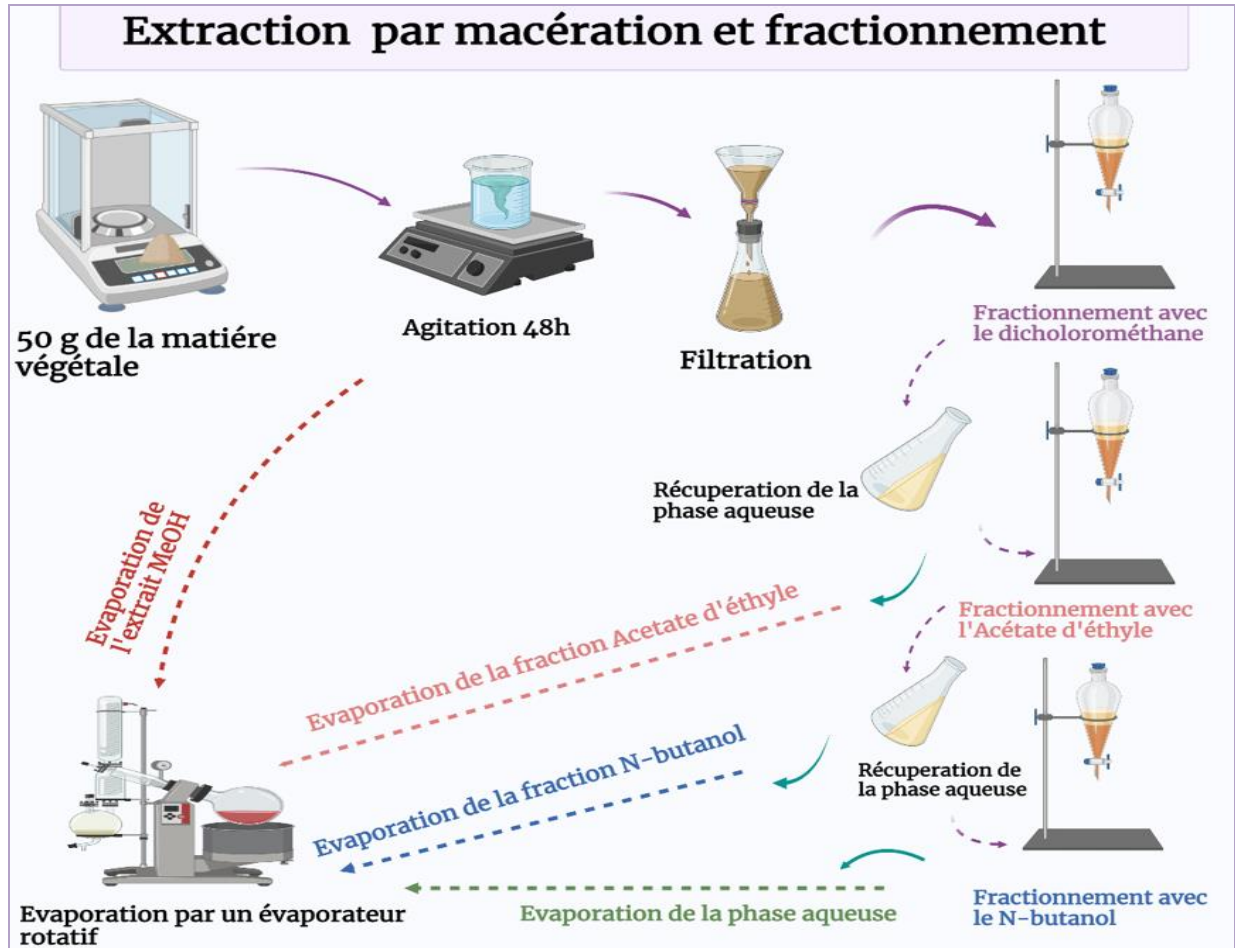


Figure 11. Protocole d'extraction des métabolites secondaires de *Tamarix africana* par macération et fractionnement

2.2. Extraction des tanins

L'extraction des tanins est réalisée selon la méthode décrite par Makkar et Hagerman (2000). 200 mg de chaque échantillon sont incubés dans un bain à ultrasons avec 10 ml d'acétone à 70% pendant 20 min. les échantillons sont ensuite centrifugés à 3000g et 4°C pendant 10 min. Le surnageant est récupéré et ensuite évaporé par un évaporateur rotatif et stocker à 4°C (Fig. 12).



Figure 12. Protocole d'extraction des tanins.

2.3. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction a déterminé selon la formule suivante (Su et *al.*, 2006) :

$$R(\%) = \frac{m}{m_0} \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

m : Masse en gramme de l'extractum sec récupéré.

m₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

3. Analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires du *Tamarix africana*

3.1. Analyse qualitative par le screening phytochimique

Les groupes chimiques présents dans les échantillons sont caractérisés par des réactions spécifiques, les résultats sont exprimés selon l'intensité de la couleur comme suit :

réaction franchement positive (+++), réaction positive (+), réaction moyennement positive (+/-), réaction négative (-).

3.1.1. Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence selon le protocole décrit par Banso et Adeyemo (2006) avec quelques modifications. L'extractum méthanolique (1,5g + 10 ml de méthanol

à 80%) est supplémenté de quelques gouttes de de chlorure ferrique (5%). L'apparition d'une coloration bleu-noire est synonyme de la présence des tanins galliques et bleu-verte celles des tanins cathéchiques.

3.1.2. Recherche des flavonoïdes

La présence des flavonoïdes est révélée par l'ajout à 5 ml de l'extrait méthanolique, 1ml d'acide chlorydrique concentré (HCl, 37%) et 0,5 g de tournure de magnésium. L'apparition d'une coloration rose-rouge après 3min témoigne de la présence des flavonoïdes (Cavé, 1993).

3.1.3. Recherche des anthocyanes

Pour leur caractérisation, les anthocyanes sont au préalable extraits puis mis en évidence. L'opération d'extraction consiste à mélanger 10g de la plante sèche dans 100 ml d'eau distillée sous agitation pendant 1h. Après filtration, le milieu réactionnel est composé ee 2 ml de l'extrait, 5 ml de l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄, 72%) et 5ml d'ammoniac (NH₄OH). L'apparition d'une coloration rose-rouge virant vers le bleu-violacée indique la présence des anthocyanes Debray et Jacquemin (1971) ; Paris et Moysé (1969).

3.1.4. Recherche des coumarines

Les coumarines sont révélés comme suit : 1g d'échantillon est introduit dans un tube puis additionné par 1ml d'eau distillée. L'ensemble est recouvert avec un papier imbibé d'hydroxyde de sodium (NaOH, 10%) puis porté a ébullition. L'émission d'une fluorescence jaune sous ultrat-violet à 366 nm indique la présence des coumarines (Rizk et *al.*, 1982).

3.1.5. Recherche des Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont caractérisés par le réactif de Mayer et Wagner selon le procédé décrit par Abdullahi et *al.* (2013) et Joshi et *al.* (2013) avec quelques modifications. 2g d'échantillon sont mélangés avec 50 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄ dilué à 50%), agités pendant 24h et filtrés. Deux tubes sont aïsni préparés : le 1er tube contient 1ml du macérat + 5 gouttes de réactif de Mayer et le second contient 1ml du macérat + 5 gouttes de réactif de Wagner. L'apparition d'une turbidité/précipité après 15 min indique la présence des alcaloïdes.

3.1.6. Recherche des Stérols et Stéroïdes

La détection des stérols et stéroïdes consiste à évaporer 10 ml d'extrait méthanolique à sec puis à le solubiliser avec 10ml de chloroforme anhydre et 5 ml d'acide acétique anhydre. Enfin, quelques gouttes d'acide sulfurique concentré sont additionnées. L'apparition d'une coloration violacée virant au vert indique la présence des stérols et stéroïdes (Trease et Evans, 1987).

3.1.7. Recherche des triterpènes

Les triterpènes sont révélés par usage de 10ml d'extrait méthanolique évaporé est repris dans un mélange d'acide acétique anhydre et du chloroforme (5/5, V/V). Après filtration, quelques gouttes d'acide sulfurique concentré sont ajoutées. L'apparition d'une coloration verte violette indique la présence des triterpènes (Trease et Evans, 1987).

3.1.8. Recherche des saponosides

La réaction de détection des saponosides consiste à faire dissoudre 2 g d'échantillon dans 100 ml d'eau distillée. La solution est portée à ébullition pendant 30 min puis refroidit et filtrée. Des dilutions sont préparées comme il est indiqué dans le tableau 3. Après agitation vigoureuse pendant 15 secondes, l'apparition d'une mousse persistante dans le 10^{ème} tube dont la hauteur est supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (Dohou *et al.*, 2003)

Tableau 3. Préparation des dilutions

Extrait(ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L'eau (ml)	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

3.1.9. Recherche des composés réducteurs

Pour la détection des composés réducteurs, 1 ml d'extrait méthanolique est ajouté à 1 ml d'eau distillée puis 20 gouttes de la liqueur de Fehling sont rajoutées. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (Trease et Evans, 1987).

4. Etude quantitative

4.1. Dosage des polyphénols totaux

La concentration des composés phénoliques totaux est mesurée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu selon la méthodologie décrite par Singleton et Rossi (1965). 20 µl de chaque échantillon (1 mg/1 ml de méthanol) sont mélangés avec 100 µl de réactif Folin Ciocalteu et 75 µl de solution de carbonate de sodium (20%). Le test est réalisé sur des microplaques de 96 puits (Müller *et al.*, 2010). La microplaque est laissée à température ambiante pendant deux heures dans l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 765 nm par un lecteur de microplaques. La concentration des phénols totaux est calculée en utilisant l'équation dérivée d'une courbe tracée avec l'acide gallique comme référence ($y = 0,0035x + 0,1044$; $R^2 = 0,996$) (**Fig. 13**). Les

résultats sont exprimés en grammes d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (g GAE / mg).

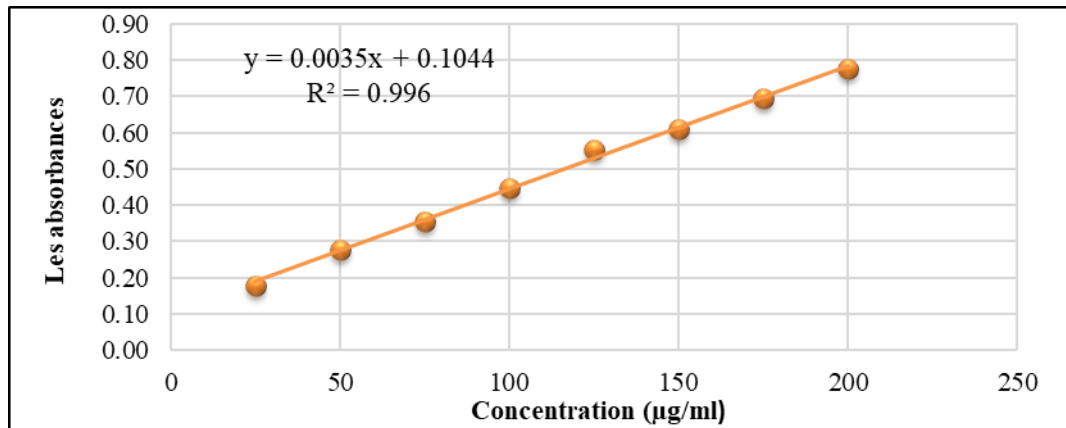


Figure 13. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur totale en flavonoïdes dans les extraits est mesurée à l'aide d'un test colorimétrique au chlorure d'aluminium avec quelques modifications tel que défini par Topçu et *al.* (2007). 100 µl de chaque extrait (1mg/ml) sont combinés avec 100µl d'AlCl₃. L'absorbance est déterminée à 415 nm après 15 min d'incubation dans l'obscurité. La concentration de flavonoïdes est calculée en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage et la quercétine comme référence ($y = 0,0048x$; $R^2 = 0,987$) (**Fig. 14**) et les résultats sont exprimés en g d'équivalent de quercétine par mg d'extrait (g QE / mg).

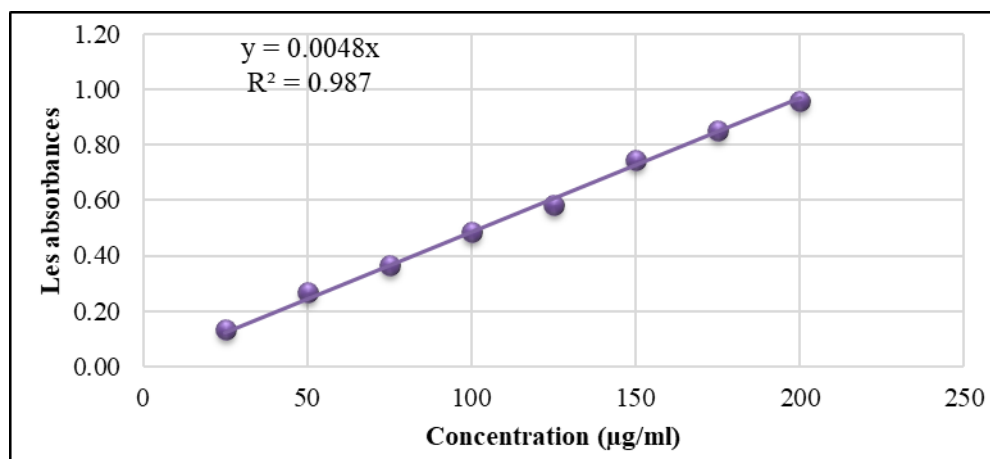


Figure 14. Courbe d'étalonnage de la quercétine.

4.3. Dosage des tanins condensés

La teneur en tanins condensés est déterminée sur une microplaque à 96 puits selon la méthode de la vanilline (Saci et *al.*, 2020). 25 µl de chaque échantillon sont transférés sur une microplaque et mélangés avec 150 µl de vanilline et 75 µl d'acide chlorhydrique. Après 15 minutes, l'absorbance est mesurée à 500 nm en utilisant un lecteur de microplaques. Les résultats sont exprimés en g de catéchine par mg d'extrait (g CE / mg d'extrait) sur la base de la courbe avec la catéchine comme standard ($y = 0.0026x + 0.0303$; $R^2 = 0.984$) (**Fig. 15**).

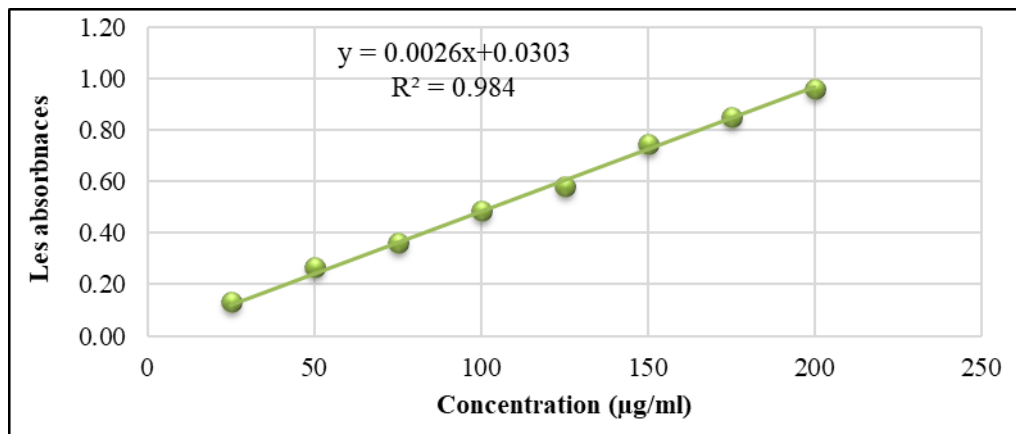


Figure 15. Courbe d'étalonnage de la catéchine.

4.4. Dosage des tanins hydrolysables

Ce test est basé sur l'utilisation de la méthode de l'iodate de potassium. Dans une plaque à 96 puits, un volume de 50 µl de l'extrait (1 mg/ml) est mélangé avec 150 µl d'iodate de potassium à 2,5%. Après 15 minutes, l'absorbance est mesurée à 550 nm avec un lecteur de microplaques. Le standard est l'acide tannique ($0,0003x + 0,3452$; $R^2 = 0,9913$) (**Fig. 16**) et les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide tannique (TAE)/100 g de poids sec (Pierson et *al.*, 2015).

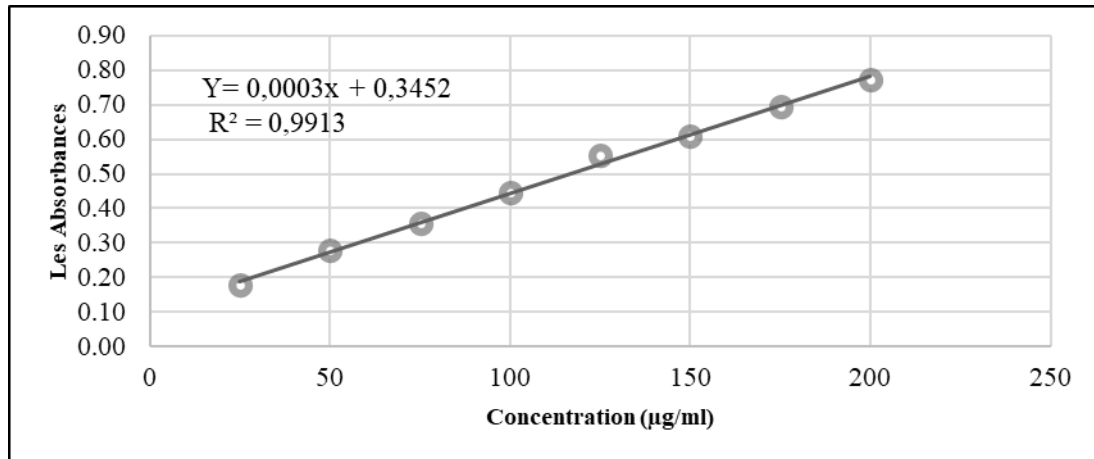


Figure 16. Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

5. Analyse du contenu phénolique de Tamarix par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)

5.1. Préparation des extraits pour l'analyse LC-MS

Les extraits sont préparés dans le méthanol (1 mg/ml) selon la méthode décrite par Karan *et al.* (2021)

5.2. Instruments et conditions chromatographiques pour l'analyse LC-MS

Les analyses chromatographiques sont réalisées dans le laboratoire d'analyse des résidus alimentaires de l'unité de détection et d'analyse des résidus alimentaires du centre d'application et de recherche scientifique et technologique de l'université Tokat Gaziosmanpaşa en Turquie. Les conditions de fonctionnement de l'appareil sont indiquées dans le **tableau 4**.

Tableau 4. Conditions de fonctionnement de la chromatographie

Appareil	LC- MS Shimadzu 8050
Phase mobile A	Eau distillée + formiate d'ammonium 5 mM
Phase mobile B	Méthanol + formiate d'ammonium 5 mM
Débit de la phase mobile	0,4 ml/min
Colon	C18 Inertsil ODS-4; 3µm; 2.1x150mm
Programme de gradient	Temps (min) %A %B 0-8 5 95

	8.01-125 95		
	12.01-14.99	95	5
Température de la colonne	40°C		
Volume d'injection	20 µL		
Température du gaz MS	300°C		
Débit de gaz MS	10 L/min		
Pression du nébuliseur	270 kPa		
Température ambiante	20°C ±1		

6. Etude préclinique des propriétés pharmacocinétiques des molécules *in silico*

6.1. Détermination des structures et SMILES

Les différentes molécules contenues dans les extraits de *Tamarix africana* et identifiées par LC-MS sont reprises afin de déterminer et prédire *in silico* leurs propriétés pharmacocinétiques. Pour cela, les SMILES des différentes molécules sont récupérées à partir de la base des données PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Consulté le 10/03/2022).

6.2. Détermination des propriétés physicochimiques des molécules

Le serveur SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) (Consulté le 12/03/2022) est utilisé pour la prédiction des propriétés physico-chimiques à savoir la lipophilie, la taille, la polarité, l'insolubilité, l'insaturation et la flexibilité des composés phénoliques identifiés par l'analyse chromatographique (LC-MS) (Diana et *al.*, 2017).

6.3. Prédiction de la pharmacocinétique des molécules par le profil ADMET

Les propriétés pharmacocinétiques et de toxicité des composés sont prédits à l'aide de la nouvelle plateforme en ligne admetSAR 2.0 (<http://lmm.d.ecust.edu.cn/admetSar2/>) (Consulté 16/04/2022) (Yang et *al.*, 2019). Les influences possibles de ces composés sont testées sur différents paramètres, principalement, l'absorption intestinale humaine (AIH), la biodisponibilité (HOB), la pénétration de la barrière hémato-encéphalique (BHE), la perméabilité des cellules Caco-2, localisation subcellulaire, interaction avec la glycoprotéine P et le cytochrome P450 (CYP450), mutagénicité, cancérogénicité, corrosion oculaire, irritation oculaire, hépatotoxicité, liaison aux récepteurs des œstrogènes, androgènes, hormones thyroïdiennes, glucocorticoïde,

toxicité pour l'abeille domestique, poissons et crustacés aquatiques, biodégradation, solubilité dans l'eau, liaison aux protéines plasmatiques, et la toxicité orale aiguë.

6.4. Prédiction des propriétés pharmacologiques (activité biologique)

Les propriétés pharmacologiques et les activités biologiques potentielles des composés sont prédites à l'aide du serveur web en ligne PASS (<http://www.way2drug.com/passonline/>) (Consulté le 17/03/2022). Ce serveur est basé sur deux probabilités, P_a et P_i , dans lesquelles P_a représente la probabilité que le composé soit actif et P_i représente la probabilité que le composé soit inactif avec des valeurs allant de zéro à un. Le type de modèle $P_a > P_i$ a été utilisé par défaut car il s'agit du modèle le plus largement accepté pour étudier les activités (Lagunin et *al.*, 2000).

6.5. Prédiction des cibles thérapeutiques

Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) (Consulté le 25/03/2022) est utilisé pour estimer les cibles macromoléculaires les plus probables d'une petite molécule, supposée bioactive. Ce serveur permet d'avoir des probabilités sur les cibles thérapeutiques qui peuvent être des oxydoréductase, lyases, protéases, des récepteurs membranaires, des récepteurs nucléaires, des facteurs de transcriptions, des transporteurs électrochimiques, cytochromes P450 (Diana et *al.*, 2019).

6.6. Prédiction de la cytotoxicité

Sur la base de la formule structurale de chaque composé obtenu précédemment, l'effet cytotoxique possible des composés sur les cellules tumorales humaines est étudié *in silico* en utilisant les services web CLC-Pred (<http://www.way2drug.com/cell-line/>) (Consulté le 01/04/2022) (Cell Line Cytotoxicity Predictor) (Lagunin et *al.*, 2018).

6.7. Prédiction de l'inhibition vis-à-vis des virus

Le serveur *AntiVir-Pred* (<http://www.way2drug.com/antivir/>) (Consulté le 21/04/2022) permet de prédire si un composé chimique peut inhiber l'activité de 66 protéines de 56 virus à une concentration de 10000 nM ou moins. Le score pour chaque activité est exprimé sous la forme d'une valeur de confiance qui représente la différence entre les probabilités d'inhiber et de ne pas inhiber la protéine en question. Plus la valeur de confiance est élevée, plus la probabilité que la prédiction soit vraie est grande. Seules les activités avec $P_a > P_i$ (confiance > 0) sont considérées comme possibles pour un composé particulier. Il est nécessaire de rappeler que la probabilité P_a reflète la similarité de la molécule en cours de prédiction avec les structures des

molécules, qui sont les plus typiques dans un sous-ensemble « d'actifs » de l'ensemble d'entraînement. Par conséquent, il n'y a généralement pas de corrélation directe entre les valeurs de Pa et les caractéristiques quantitatives des activités (Poroikov et *al.*, 2019).

7. Etude des propriétés pharmacodynamiques par le Docking moléculaire

Les structures 3D de l'AChE, de la BChE, α -amylase, l'uréase de *Helicobacter pylori* et la Tyrosinase sont obtenues à partir de la Protein Data Bank (PDB) avec les identifiants ID : 4EY6, 6EQ, 5EMY, 6QSU, 5M8M respectivement. Les structures des 9 composés phénoliques de *Tamarix africana* ont été obtenues au format SMILES à partir de la base de données PubChem, puis transférées en structures 3D à l'aide du programme Chimera 1.15. Les structures des récepteurs enzymatiques et des ligands phénoliques sont préparées à l'aide d'outils Chimera en éliminant les molécules co-cristallisées, en ajoutant les atomes d'hydrogène manquant, et en minimisant leur énergie. Enfin, toutes les structures optimisées sont enregistrées sous format Mol2, prêtes pour le processus d'amarrage. Le programme Autodock Vina a été utilisé pour le docking moléculaire en spécifiant une boîte de grille autour des sites actifs des enzymes cibles où se trouvent les inhibiteurs co-cristallisés. Pour la validation des résultats du docking moléculaire, les inhibiteurs de références Galantamine, Acarbose, Thio-urée et l'acide kojique sont testés vis-à-vis les protéines respectives AChE, BChE, α -amylase, uréase de *Helicobacter pylori* et Tyrosinase ont été sélectionnés comme premiers ligands à être ancrés, seules les molécules ayant des énergies de liaison inférieures à celles des molécules de références sont considérées comme actives. La visualisation des interactions établies au sein des complexes récepteur-ligand ancrés est réalisée à l'aide du package Discovery Studio.

8. Etude des activités pharmacologiques des extraits *in vitro*

8.1. Préparation des dilutions

Pour préparer une série de dilutions, les différents extraits sont dissous dans le méthanol, 500 μ l de la solution mère sont mélangés avec 500 μ l du méthanol. Ainsi, une série de dilution est effectuée (Fig. 17).

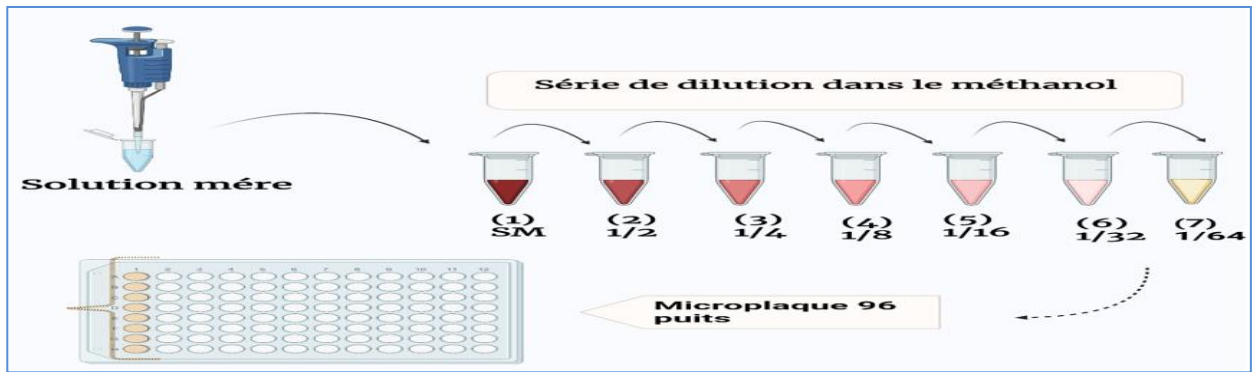


Figure 17. Préparation des dilutions des extraits dans le méthanol.

8.2. Activité antioxydante

Pour évaluer le pouvoir antioxydant des différents extraits obtenus à partir des différentes parties de *Tamarix africana*, plusieurs tests sont utilisés, à savoir le test de piégeage du radical DPPH•, le test de réduction du radical-cation ABTS^{•+}, le test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC), le test de pouvoir réducteur (FRAP), le test de piégeage de Galvinoxyle (GOR), l'inhibition du blanchiment à l'acide β -carotène-linoléique, le pouvoir antioxydant réducteur du permanganate et le test de phénanthroline.

8.2.1. Test de piégeage du radical DPPH•

❖ Principe

Le radical DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) est stable à température ordinaire et présente une couleur violette bien caractéristique due à la présence d'électron impair de l'atome d'azote dans le DPPH. Les antioxydants présents dans l'échantillon (polyphénols, tanins...) le réduisent entraînant une décoloration en jaune. De manière générale, il existe deux mécanismes permettant aux antioxydants de piéger le DPPH•. Le premier est un processus direct d'absorption de l'atome hydrogène et le second est un processus de transfert d'électrons concerté par les protons (Fig. 18) (Wang et al., 2003). Cette réaction se déroule à température ambiante et à l'obscurité, afin d'éviter tout risque de dégradation des molécules thermosensibles et photosensibles. L'absorbance est mesurée à 517 nm.

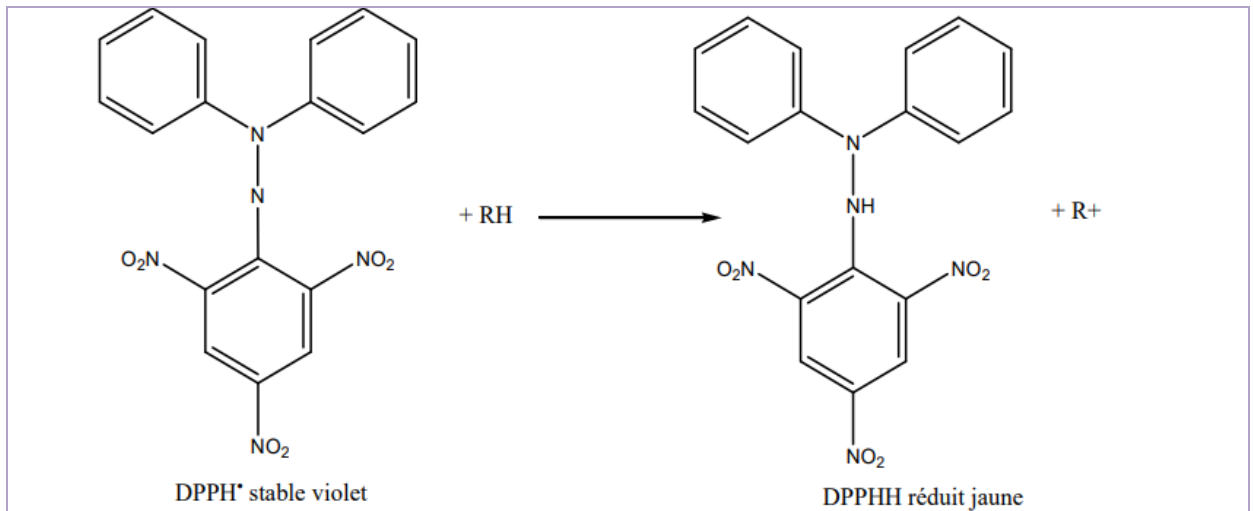


Figure 18. Mécanisme de réduction du radical DPPH• par un antioxydant (Gülçin, 2012).

❖ Mode Opératoire

La capacité antioxydante de chaque extrait a été évaluée selon la procédure (Blois, 1958). 40 µl de chaque extrait à différentes concentrations sont mis en microplaque 96 puits en présence de 160 µl d'une solution de DPPH préparée à l'avance en dissolvant 6 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance est estimée à 517 nm contre un blanc (DPPH / méthanol). Les résultats sont exprimés comme une concentration d'inhibition de 50% (IC₅₀) et comparés aux standards qui sont le butylhydroxyanisole (BHA) et butylhydroxytoluène (BHT). La capacité de piégeage du radical DPPH est calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$I (\%) = (A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{Contrôle}}$$

I% : Le pourcentage d'inhibition.

A_{Contrôle} : Absorbance de la solution DPPH sans extrait.

A_{Échantillon}: Absorbance en présence d'extrait ou d'étalon

8.2.2. Réduction des radicaux cationiques ABTS^{•+}

❖ Principe

Cette méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique coloré ABTS^{•+}, qui peut être préalablement formé par l'oxydation d'ABTS (2,2-azinobis-(3-éthylbenzthiazoline-6 -sulfonique)) de couleur bleu. L'ajout d'antioxydants à ce radical suit un mécanisme de transfert d'électrons (Re et al., 1999), qui se visualise comme une décoloration

correspondant au moment où le radical ABTS est réduit (Fig. 19). Le degré de décoloration permet d'évaluer le pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS, qui est déterminé en fonction de la concentration en antioxydant et du temps de réaction (Kuskoski et *al.*, 2005). Ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à la longueur d'onde appropriée à 734 nm.

❖ **Mode opératoire**

Ce processus de piégeage d'ABTS \cdot^+ est réalisé en utilisant la méthode de Re et *al.* (1999). 40 μ l de chaque concentration sont mis en réaction avec 160 μ l d'une solution ABTS. L'absorbance est lue à 734 nm après 10 minutes. Le pourcentage d'inhibition est calculé de la même manière que décrit dans le dosage des radicaux DPPH. Les omposés BHT et BHA sont utilisés comme standards.

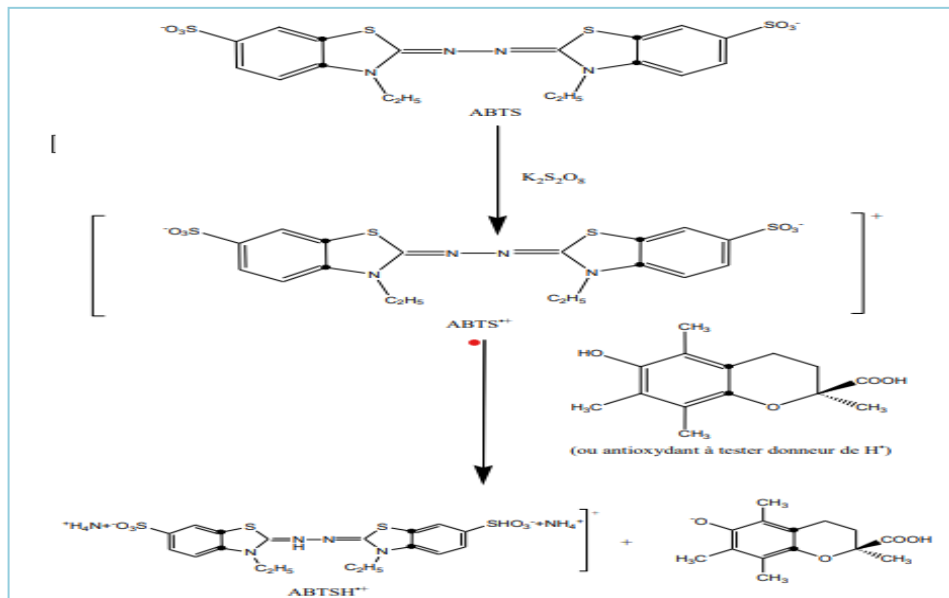


Figure 19. Formation et piégeage du radical ABTS \cdot^+ par un antioxydant donneur de H \cdot (Gülçin, 2012).

8.2.3. Capacité antioxydante réductrice cuivrique (CUPRAC)

❖ **Principe**

La méthode CUPRAC (*Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity*) est basée sur la mesure l'absorbance du complexe cuivre- néocuproïne [Cu $^{2+}$ -Nc 2] formé en raison de la réaction redox entre un antioxydant et le complexe cuivre-néocuproïne. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne est réduit produisant ainsi un complexe

chromogène de Cu^{+} -Nc, cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450 nm (Apak *et al.*, 2004) (**Fig. 20**)

❖ **Mode opératoire**

La capacité de l'extrait à réduire les ions cuivre est selon le protocole de Güçlü *et al.* (2004). Un volume de 40 μl de chaque échantillon est déposé dans un puit avec 50 μl de CuCl_2 , auxquels 50 μl de néocuproïne et 60 μl d'acétate d'ammonium sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 450 nm après incubation pendant 1h. Le potentiel de réduction des extraits est équivalent à celui du BHA et du BHT. Les résultats sont révélés comme $A_{0,5}$ (mg/ml).

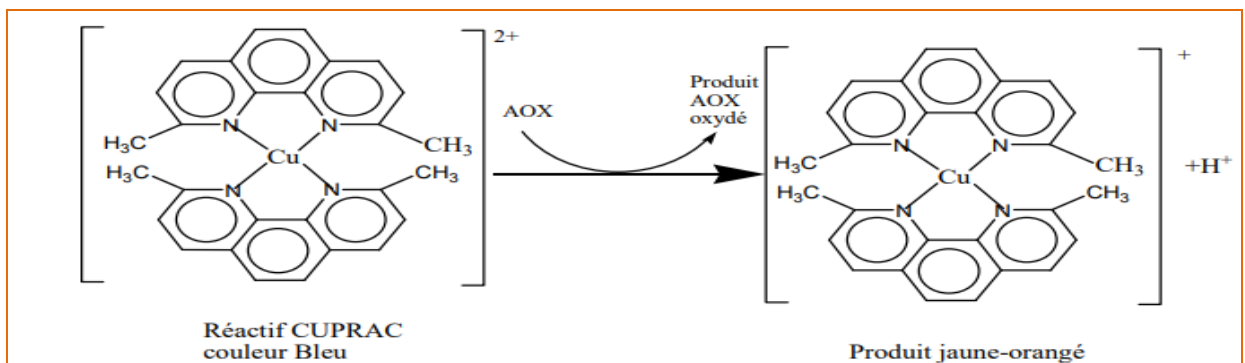


Figure 20. Réduction du complexe chromogène de Cu^{2+} -Nc₂ (Özyürek *et al.*, 2011).

8.2.4. Pouvoir réducteur (FRAP)

❖ **Principe**

Le test FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur l'aptitude des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en fer ferreux (Fe^{+2}) et la formation de ferrocyanure de potassium ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) (**Fig. 21**) (Pellegrini *et al.*, 2003). Ainsi, la formation de ce complexe montre l'aptitude de réducteur qui détermine le pouvoir d'un composé à se comporter comme un antioxydant (Singh et Kumar, 2019). Le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers une couleur bleue/verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant (Chou *et al.*, 2003) est mesurée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance est directement reliée à l'augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

❖ **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur des extraits est testé en utilisant la procédure décrite par Oyaizu (1986). 10 µl de chaque échantillon est combiné avec 40 µl de tampon phosphate (pH = 6,6) et 50 µl de ferricyanure de potassium, puis incubés à 50°C pendant 20 minutes. Enfin, 50 µl d'acide trichloroacétique, 40 µl d'eau et 10 µl de chlorure ferrique FeCl₃ sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 700 nm. L'acide ascorbique, l'acide tannique et l'α-tocophérol sont utilisés comme standards.

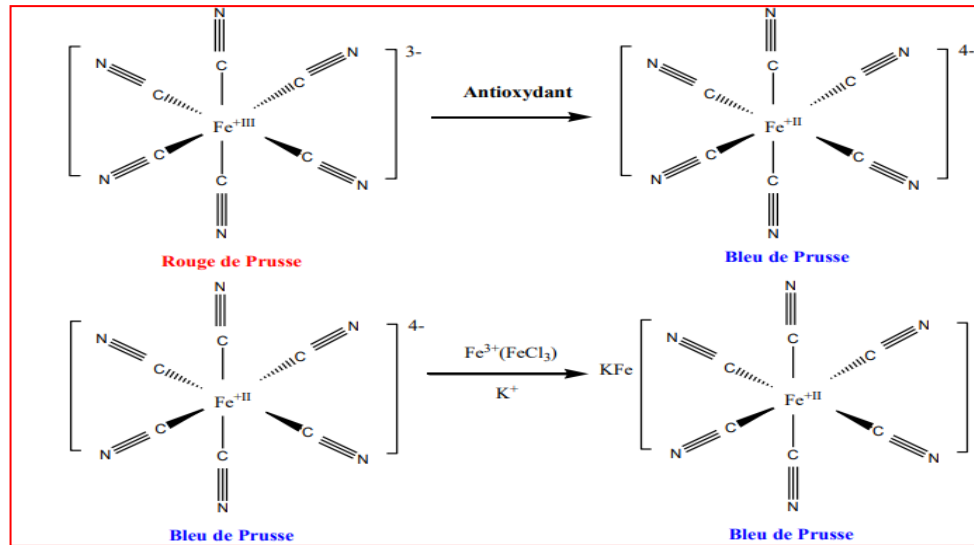


Figure 21. Mécanisme réactionnel du test FRAP (Gülçin, 2012).

8.2.5. Test de piégeage de Galvinoxyle (GOR)

❖ Principe

Galvinoxyl est un radical organique libre de stabilité chimique exceptionnelle (Altwicker, 1967). Il est recommandé pour les études des composants donneurs d'électron et d'hydrogène (Shi et *al.*, 2001). La méthode du piégeage du radical libre Galvinoxyl est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à réduire le radical stable du galvinoxyl (Gox•). En effet, en présence de donneurs d'hydrogène, le radical libre Gox• est réduit à GoxH (**Fig. 22**) (Barzegar et Moosavi-Movahedi, 2011).

❖ Mode opératoire

L'activité du test de piégeage des radicaux Galvinoxyle (GOR) est déterminée selon la méthode de Shi et *al.* (2001). 40 µl de chaque extrait à différentes concentrations sont mis dans une microplaque de 96 puits en présence de 160 µl de la solution radicalaire Galvinoxyl. Après

120 min d'incubation, l'absorbance est déterminée à 428 nm. Le BHT et le BHA sont utilisés comme références.

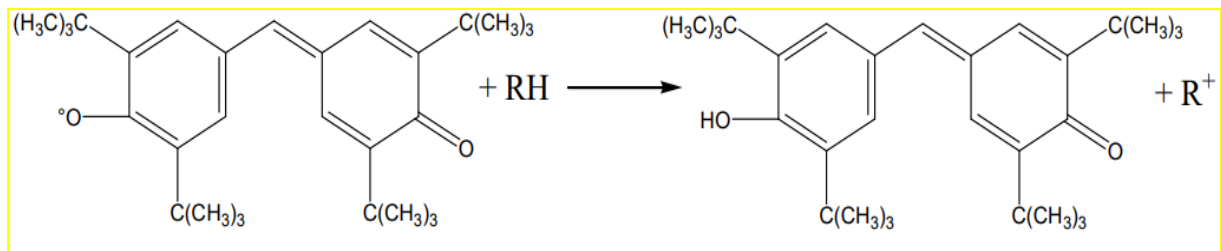


Figure 22. Réduction du radical libre Gox• en GoxH (Shi et *al.*, 2001).

8.2.6. Inhibition du blanchiment à l'acide β -carotène-linoléique

❖ Principe

L'acide linoléique en émulsion aqueuse est oxydé. L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes et des hydroperoxydes de diènes conjugués qui vont oxyder le β -carotène, afin d'entraîner son blanchissement (perte de sa couleur rouge). Le taux de blanchissement du β -carotène peut être ralenti en présence d'antioxydant. Celui-ci pourrait neutraliser les radicaux libres générés par l'acide linoléique et prévenir l'oxydation du β -carotène (Tepe et *al.*, 2005). La mesure de l'activité antioxydante suit la diminution de la densité optique en fonction du temps. En effet la décoloration du β -carotène résulte du piégeage des radicaux formés au cours de l'auto-oxydation de l'acide linoléique, ce qui a pour effet de diminuer la conjugaison

❖ Mode opératoire

L'activité de blanchiment à l'acide β -carotène-linoléique de nos extraits est évaluée en selon le protocole de Marco (1968). Une solution de 0,5 mg de β -carotène dissoute dans 1 ml de chloroforme est mélangée avec 25 μ l d'acide linoléique et 200 μ l de Tween 40. Une fois le chloroforme évaporé sous vide, 50 ml de peroxyde d'hydrogène sont appliqués avec une agitation intense. L'absorbance de la solution est entre 0,8 à 9 nm. Ensuite, 160 μ l de cette solution sont ajoutés à 40 μ l de chaque échantillon. Le dispositif d'émulsion est incubé à 50°C pendant 2h. Le BHA et le BHT sont inclus comme standard. Le blanchiment du β -carotène est déterminé en utilisant l'équation suivante :

$$AA (\%) = [1 - (AH_0 - AH_t) / (AC_0 - AC_t)] \times 100$$

AA (%) : activité antioxydante

AH₀ AH_t : valeur de l'absorbance de la teneur en β-carotène en présence de l'extrait mesurée à t₀ et t₁₂₀ min.

AC₀ AC_t : valeur de l'absorbance de la teneur en β-carotène la présence du contrôle négatif mesurée à t₀ et t₁₂₀ min.

8.2.7. Test de la phénanthroline

❖ Principe

C'est un autre test pour évaluer l'activité antioxydante dans ce cas il s'agit de la réduction de fer. Elle est basée sur la formation du complexe ferreux-phénanthroline en présence des polyphénols (**Fig. 23**) qui a une coloration rouge. L'absorbance est mesurée à 510 nm (Szydłowska-Czerniak et *al.*, 2008).

❖ Mode opératoire

La procédure définie par Szydłowska-Czerniak et *al.* (2008) est utilisée. Une microplaque à 96 puits est remplie avec 10 µl de chaque échantillon à des concentrations variables. 50 µl de FeCl₃ (0,2%) sont ajoutés après 30 µl de phénanthroline (0,5%). La dernière étape consiste à ajouter 110 µl de méthanol. L'incubation a eu lieu dans l'obscurité pendant 20 minutes à 30°C. L'absorbance de la solution est mesurée à 510 nm. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards.

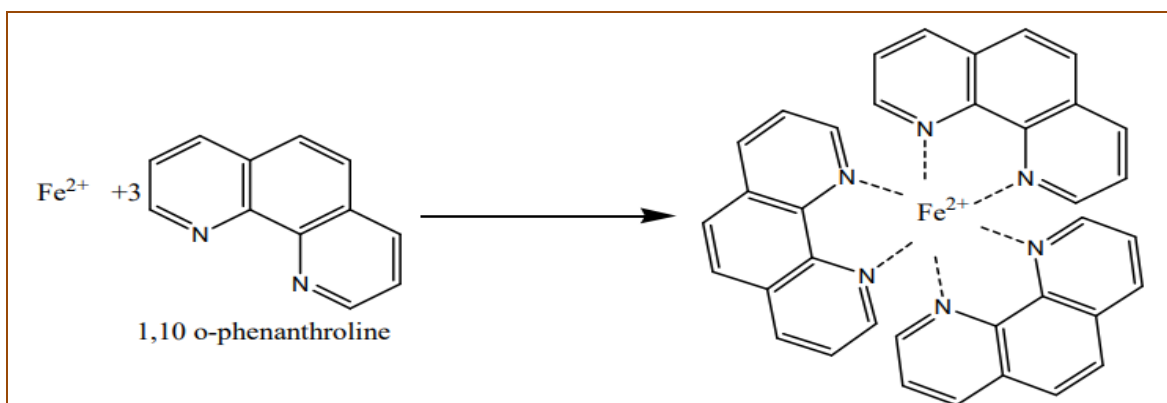


Figure 23. Formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline (Apak et *al.*, 2007).

8.2.8. Pouvoir antioxydant réducteur du permanganate (Prac)

❖ Principe

Le permanganate de potassium, KMnO_4 , est un agent oxydant puissant. Le permanganate, MnO_4^- est d'une couleur violet foncé intense. Si l'ion violet du permanganate est réduit en ions incolores Mn^{+2} , la solution passe du violet foncé à une couleur rose pâle. Le processus est basé sur les réactions d'oxydoréduction en présence d'un antioxydant dans l'échantillon. La réduction du permanganate nécessite des conditions acides en présence d'acide sulfurique, ce qui entraîne une décoloration de l'échantillon (Cacig et *al.*, 2006).

❖ Mode opératoire

Ce test est effectué selon la méthodologie d'Eftimová et *al.* (2018). Dans des microplaques à 96 puits, 130 μl de KMnO_4 sont introduits avec 60 μl de H_2SO_4 . A ce mélange 10 μl de chaque échantillon à différentes concentrations sont introduits. L'absorbance de la solution est mesurée après 5 min à 535 nm. Le Trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme standards.

8.3. Activité anti-enzymatique

Le potentiel d'inhibition des enzymes par les extraits est évalué en utilisant différentes enzymes, notamment : α -amylase, acétylcholinestérase, buthyrylcholinestérase, uréase, tyrosinase

8.3.1. Activité Anti-Alzheimer

8.3.1.1. Inhibition du cholinestérase

❖ Principe

Les cholinestérases (AChE) et (BChE) sont des enzymes responsables de la dégradation de l'acétylcholine (**Fig. 24**), neurotransmetteur du système cholinergique qui est impliqué spécialement dans les activités cognitives. L'inhibition de ces enzymes va procréer une réduction du turnover de l'acétylcholine et, en conséquence, elle va augmenter les effets cholinergiques. Dans la maladie d'Alzheimer (MA), les cellules nerveuses se détériorent progressivement. Les anticholinestérasiques diminuent l'activité de l'AChE, BChE qui seront surexprimées dans le cas pathologique et détruisant l'acétylcholine au niveau synaptique. Les anticholinestérasiques visent à restaurer la concentration normale de l'acétylcholine dans les zones touchées par la maladie, en

retardant sa rupture et sa dégradation pour améliorer la neurotransmission. Ce test est appelé aussi méthode de la détermination quantitative des peptides par le sulfhydryle (-SH). Le test d'Ellman est basé sur le clivage de l'acétylthiocholine par l'AChE pour produire de la thiocholine. Cette dernière va réagir avec le 5,5'-dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un anion de couleur jaune (Ellman et *al.*, 1961) (**Fig. 24**). En présence d'un inhibiteur enzymatique, cette réaction permet d'étudier les paramètres cinétiques et par la suite de quantifier l'inhibition exprimée par son IC₅₀ (concentration diminuant l'activité enzymatique de moitié).

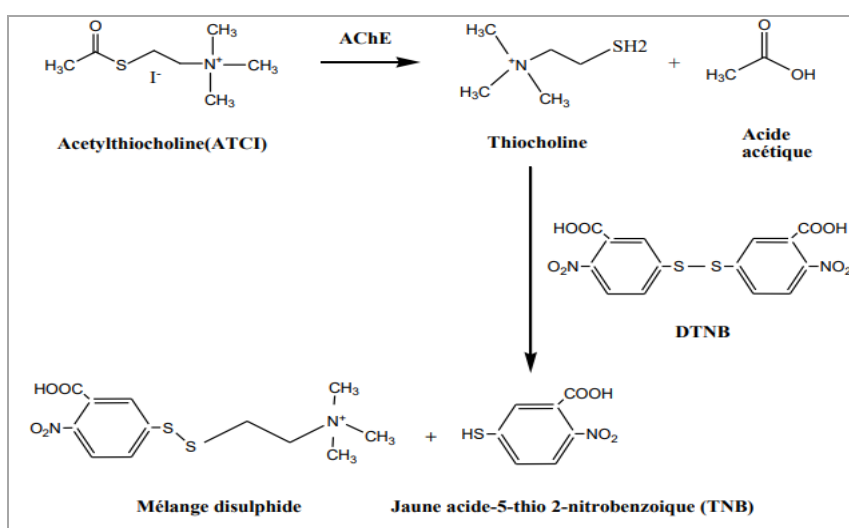


Figure 24. Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman (Ellman et *al.*, 1961).

❖ Mode opératoire

Les extraits des feuilles de *Tamarix africana* avec différentes fractions sont évalués *in vitro* contre l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE) en utilisant la méthode d'Ellman et *al.* (1961). 10 µl de l'échantillon à différentes concentrations sont incubés à 25°C pendant 15 minutes avec 150 µl de tampon phosphate de sodium (pH= 8,0) et 20 µl de solution d'acétylcholinestérase ou de butyrylcholinestérase. Après cela, 10 µl de DTNB et 10 µl de substrat, iodure d'acétylthiocholine ou iodure de butyrylthiocholine sont ajoutés. L'absorbance de la solution est estimée à 415 nm. Le standard de la réaction est la galantamine. Le pourcentage d'inhibition de l'AChE ou du BChE est calculé en comparant les taux de réaction de l'échantillon à un échantillon blanc en utilisant la formule :

$$\text{Inhibition de (AChE) ou (BChE)\%} = (E - S) / E \times 100$$

E : activité enzymatique sans extrait.

S : Activité de l'enzyme en présence de l'extrait

8.3.2. Test d'inhibition de l'uréase

❖ Principe

L'uréase catalyse l'hydrolyse de l'urée en dioxyde de carbone (CO₂) et en ammoniac. Les conséquences de cette hydrolyse est l'augmentation du pH suite à la production de NH₃, comme produit de dégradation. La présence de *H. pylori* dans le milieu acide de l'estomac dépend fortement de l'activité de l'enzyme uréase. Une caractéristique unique de l'infection à *H. pylori* est sa persistance en raison de l'activité tampon de l'enzyme uréase. L'enzyme transforme le milieu de l'estomac en un environnement favorable pour les bactéries en neutralisant l'acide gastrique par hydrolyse de l'urée pour former du dioxyde de carbone (CO₂) et ammoniac (NH₃) (Kuwahara et al., 2000)

❖ Mode opératoire

L'activité inhibitrice de l'uréase est déterminée en utilisant la méthode à l'indophénol pour mesurer la production d'ammoniac, comme défini par Taha et al. (2018) avec quelques modifications. 25 µl de solution d'uréase, 10 µl d'échantillon et 50 µl de solution d'urée sont combinés dans une microplaque à 96 puits et incubés à 30°C pendant 15 minutes. Après cela, chaque puits est supplémenté par 45 µl de réactif phénol et 70 µl de réactif alcalin. Après 50 minutes, l'absorbance est mesurée à 630 nm en utilisant la thiourée comme inhibiteur standard. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'enzyme (%). L'équation suivante est utilisée pour quantifier l'activité d'inhibition de l'uréase :

$$\text{Inhibition uréase\%} = [(A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{Contrôle}}] * 100$$

A_{contrôle} : les absorbances du milieu réactionnel, en l'absence de l'échantillon testé

A_{Echantillon} : les absorbances du milieu réactionnel, en présence de l'échantillon testé

8.3.3. Activité dermato-protectrice

8.3.3.1. Test d'inhibition de la tyrosinase

❖ Principe

La tyrosinase présente des activités monophénolase et diphénolase qui catalysent l'hydroxylation de la L-tyrosine en L-DOPA et l'oxydation de la L-DOPA en dopaquinone. Ce dernier peut subir une polymérisation non enzymatique pour donner des pigments foncés (Ebanks et al., 2007). Chez l'homme, la surexpression de la tyrosinase entraîne une

surproduction de mélanine dans la peau, ce qui peut déclencher des effets d'hyperpigmentation tels que des taches de vieillesse et un mélanome (Yamaguchi et *al.*, 2007). Les inhibiteurs de la tyrosinase capables d'inhiber la biosynthèse de la mélanine sont actuellement utilisés dans divers agents d'hyperpigmentation (Saqib et *al.*, 2007)

❖ Mode opératoire

Selon la technique de Deveci et *al.* (2018), la fonction inhibitrice de l'enzyme tyrosinase est évaluée par spectrophotométrie en utilisant la L-DOPA comme substrat. 10 µl de différentes concentrations de l'échantillon sont combinés avec 150 µl de tampon phosphate de sodium (pH= 6,8) et 20 µl de solution de tyrosinase dans un tampon phosphate et incubés à 37°C pendant 10 minutes. Ensuite, 20 µl de L-DOPA (5 mM) sont ajoutés pour démarrer la réaction. Les absorbances sont mesurées à 475 nm après 10 minutes d'incubation à 37°C. L'acide kojique est utilisée comme inhibiteur standard. Le pourcentage d'inhibition est calculé de la même manière que décrit dans le test d'inhibition de l'uréase.

8.3.3.2. Facteur de protection solaire (FPS)

❖ Principe

Les effets nocifs du rayonnement solaire sont causés principalement par la région des ultraviolets (UV) du spectre, qui peut être divisé en trois régions UVA, UVB, et UVC . Le rayonnement UVC est filtré par l'atmosphère avant d'atteindre la terre. Les UVB ne sont pas complètement filtrés par la couche d'ozone et sont responsables des dommages causés par les coups de soleil. UVA atteignent les couches les plus profondes de l'épiderme et du derme et provoquent le vieillissement prématuré de la peau. L'efficacité d'un écran solaire est généralement exprimée par le facteur de protection solaire (FPS) qui est défini comme l'énergie UV nécessaire pour produire une érosion minimale (Durta et *al.*, 2004)

❖ Mode opératoire

L'effet de la protection solaire est évalué par la méthode de Mansur et *al.* (1986). Les absorbances sont estimées à des intervalles de 5 nm commençant à 290 nm et se terminent à 320 nm. L'expérimentation est répétée en triplet. Le SPF est mesuré en utilisant la formule ci-dessous:

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

E (λ): le spectre d'effet érythémal

I (λ): le spectre d'intensité solaire, déterminé par Sayre et *al.* (1979)

Abs (λ): absorbance du produit de protection solaire

CF: Facteur de correction (= 10)

8.3.4. Test de l'activité antidiabétique

8.3.4.1. Inhibition de α -amylase

❖ Principe

L' α -amylase est une enzyme digestive, produite par les glandes salivaires et les glandes pancréatiques. C'est l'un des endo-amylases les plus significatives qui hydrolyse les liaisons α (1-4) glycosidiques à l'intérieur des chaînes de l'amidon pour donner des molécules de maltose (disaccharides de α -glucose) (**Fig. 25**). Cette enzyme est principale pour l'absorption et la digestion de l'amidon intégré dans la nourriture. Ceci peut être une cible pour le traitement du diabète type 2 (Kazeem et *al.*, 2013). L'acarbose est un médicament bien connu, utilisé comme inhibiteur de l'enzyme α -amylase. Il retarde la digestion d'hydrate de carbone et diminue le niveau postprandial de glucose plasmatique (Chiasson et *al.*, 2002). Cependant, il possède des effets indésirables tels que la diarrhée, les obstructions gastro-intestinales et l'ulcération (Furman, 2017). Des inhibiteurs de l' α -amylase d'origine naturelle tels que les tanins, les flavonoïdes et les composés phénoliques des plantes sont suggérés comme une approche alternative pour la prévention et le traitement de la maladie du diabète type 2 avec sans ou peu de risque d'effets secondaires (Khan et *al.*, 2018).

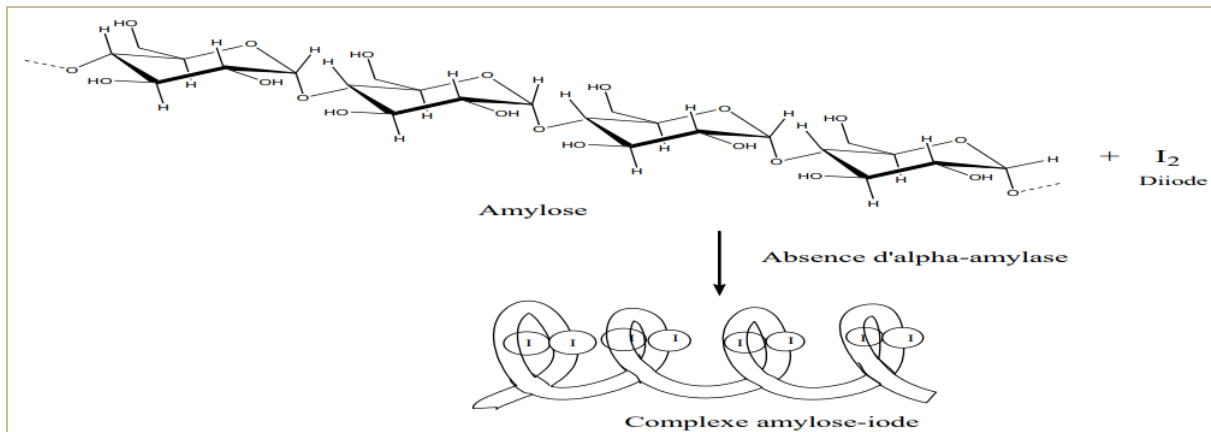


Figure 25. Formation du complexe amylose-iodine en absence de l' α -amylase (Boursier, 2005).

❖ Mode opératoire

L'activité inhibitrice de l' α -amylase est déterminée par la méthode de Zengin *et al.* (2014) avec quelques modifications. Sur une microplaque de 96 puits, un volume de 25 μ l d'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 50 μ l d'une solution d' α -amylase (1UI), puis incubé pendant 10 min à 37°C. Ensuite, 50 μ l d'amidon (0,1%) sont additionnés. Le mélange est incubé une autre fois pendant 10 minutes à 37°C. Après incubation, 25 μ l d'acide hypochlorique (1M) et 100 μ l d'iodure de potassium iode sont ajoutés. La lecture de l'absorbance est réalisée à 630 nm. L'acarbose est utilisé comme standard. Le pourcentage d'inhibition de l' α -amylase est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = 1 - [(A_c - A_e) - (A_s - A_b)] / (A_c - A_e)$$

Ac : Absorbance [Amidon + IKI + HCl + Vol de solvant d'extrait + Vol tampon Enzyme].

Ae : Absorbance [Enzyme + Amidon + IKI + HCL+ Vol de solvant d'extrait].

As : Absorbance [Enzyme + Extrait + Amidon + IKI + HCl].

Ab : Absorbance [Extrait + IKI + 125 μ l de tampon].

9. Test des nanoparticules d'argent (SNP)

❖ Principe

Dans un premier temps, la réduction des différentes espèces Ag^+ conduit à la formation d'atomes d'argent (Ag^0) qui est suivie par l'agglomération en clusters oligomériques. Ces clusters conduisent finalement à la formation de particules d'Ag colloïdales (Kapoor *et al.*, 1994) (**Fig. 26**) . En plus des agents réducteurs conventionnels, divers extraits végétaux et biologiques sont utilisés comme réducteurs pour la synthèse de SNP (Foroug *et al.*, 2010)

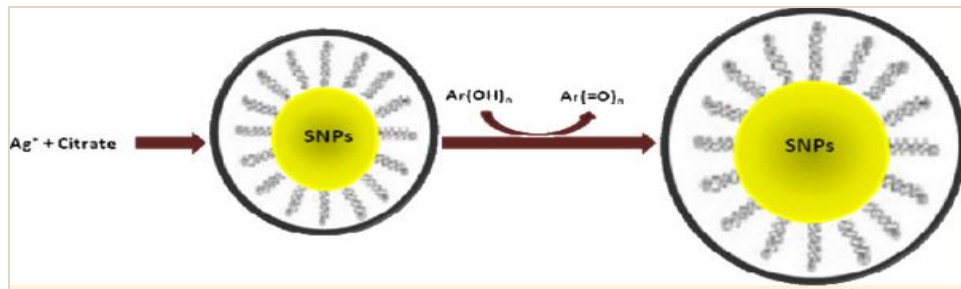


Figure 26. mécanisme de réduction des nanoparticules d'argent (Özyürek et *al.*, 2012).

❖ **Mode opératoire**

L'activité des nanoparticules d'argent est évaluée selon la méthode rapportée par Özyürek et *al.* (2012). 40 µl d'échantillon à différentes concentration sont mélangés avec 130 µl de solution de SNP et 50 µl d'eau sont ajoutés. Les absorbances sont mesurées à 423 nm après incubation à 25°C pendant 30 minutes. Le trolox est utilisé comme standard.

10. Test de cytotoxicité

10.1. Test de létalité des larves Artémia

❖ **Principe**

Afin de déterminer les éventuels effets cytotoxiques et les propriétés antitumorales des extraits des tests préliminaires de toxicité des produits naturels été réaliser. En effet, plusieurs études ont montré que les extraits ou composés cytotoxiques peuvent être des agents antitumoraux efficaces dans le traitement du cancer (Meyer et *al.*, 1982). L'essai de létalité des crevettes de saumure (*Artémia salina*) (**Fig. 27**) est considéré comme une méthode utile pour l'évaluation préliminaire de la toxicité des produits naturels. Il est non seulement rapide et pratique, mais peu coûteux aussi (Sarah et *al.*, 2017), c'est un test préliminaire pour vérifier l'effet antitumoral des substances d'origine des plantes (Ali Siddiq et *al.*, 2001). Le principe de cette activité repose sur le pouvoir des extraits ou bien des molécules à tuer les larves d'Artémia et le nombre de crevettes vivantes est compté.



Figure 27. Larve *Artémia Salina* sous microscopie optique grossissement x10.

❖ Mode opératoire

La cytotoxicité des extraits a été étudiée en utilisant un essai biologique de létalité des larves d'*Artémia* selon Meyer et *al.* (1982) avec une légère modification. *Artemia salina* ont été éclos à l'aide d'œufs dans un récipient de forme conique (1 L), rempli d'eau de mer artificielle stérile (préparée avec du sel de mer 35 g / L) sous aération constante et à la lumière pendant 48 h. Les larves d'*Artemia* actif exempt de coquilles d'œuf est extrait de la partie la plus légère de la chambre d'éclosion après l'éclosion et utilisé dans le test (Krishnaraju et *al.* 2005). Dans des microplaques à 96 puits, dix (10) larves d'*Artemia* ont été ajoutés avec (80 μ l) d'eau de mer et (20 μ l) de chaque extrait à différentes concentrations (4-0,5 mg / ml). La microplaque a été maintenue à une température de 28 ° C pendant 24 h sous la lumière. Le nombre de larves qui ont survécu après 24 heures a été compté, et la mortalité globale et le pourcentage de mortalité pour chaque dose ont été calculés. Le bichromate de potassium a été utilisé comme étalon.

11. Etude statistique

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm SD (n=3). L'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à sens unique suivie d'un test de Dunnett multiple en utilisant GraphPad Prism version 8 (Californie, USA). Les résultats ont été considérés comme hautement significatifs à $p < 0,001$.

Chapitre 04 :

Chapitre 04 :

Résultats

1. Rendement d'extraction des métabolites secondaires

Les rendements d'extraction des différents extraits de *Tamarix africana*, obtenus par affrontement dans des solvants de polarités croissantes [méthanol (MeOH), acétone, acétate d'éthyle (AE), *n*-butanol (*n*-BuOH)], sont rapportés dans le **tableau 5**. Il ressort que l'extrait méthanolique des feuilles est celui qui présente le rendement le plus élevé (44,16%) alors que l'extrait acétonique des fleurs donne le plus faible rendement (1%). En outre, il s'avère que le méthanol est le solvant par excellence pour la dissolution des composés phénoliques (28,64 %). Il est suivi par ordre décroissant par l'eau (14,88%), le *n*-butanol (10,31%), l'acétate d'éthyle (2,29%) et l'acétone (1,29%). La même tendance est observée pour les différentes parties de la plante.

Tableau 5. Rendement d'extraction des métabolites secondaires à partir des feuilles, fleurs, tiges et graines de *Tamarix africana* en (%)

	MeOH	AE	<i>n</i> -BuOH	Aqueux	Acétone
Feuilles (%)	44,16	2,16	16,24	23,24	1,19
Fleurs (%)	34,02	2,56	10,03	16,74	1
Tiges (%)	19,03	2,34	8,56	8,53	1,66
Graines (%)	17,38	2,12	6,44	11,02	1,34
S.E.M	28,64	2,29	10,31	14,88	1,29

Extrait méthanolique : **MeOH**; Extrait acétate d'éthyle : **AE**; extrait *n*-butanol : ***n*-BuOH**; **S.E.M** : Erreur type de la moyenne

2. Analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires de *Tamarix africana*

2.1 Analyse qualitative par le screening phytochimique

Les tests de caractérisation phytochimique permettent de déterminer la famille chimique d'appartenance d'un métabolite. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé des différentes parties aériennes de *Tamarix africana* sont

représentés dans le **tableau 6**. Il met en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins et des saponosides avec des intensités variables (concentrations). Tandis que, les anthocyanes et les alcaloïdes sont absents dans les différentes parties étudiées. Alors que les triterpènes, les stérols et les stéroïdes sont présents dans les feuilles et les graines. En revanche, ils sont absents dans les fleurs et les tiges. De plus les composés réducteurs sont retrouvés dans toutes les parties de la plante à l'exception des tiges. Enfin, les coumarines sont également présentes dans les fleurs et les feuilles, et absents dans les tiges et les graines.

Tableau 6. Résultats du screening phytochimique des métabolites secondaires dans les différentes parties (feuilles, fleurs, tiges et graines) de *Tamarix africana*.

	Feuilles	Fleurs	Tiges	Graines
Tanins	++++	+++	++++	++++
Flavonoïdes	++++	++++	++	+++
Anthocyanes	-	-	-	-
Alcaloïdes	-	-	-	-
Triterpènes	++	-	-	+
Saponoside	+	+	++	+
Composés réducteurs	+++	++	-	++
Coumarine	+/-	+	-	-
Stérols et stéroïdes	+	-	-	+

2.2 Etude quantitative

2.2.1. Dosage des composés phénoliques

Les résultats de l'analyse quantitative des composés phénoliques extraits des différentes parties de *Tamarix africana* sont illustrés dans le **tableau 7**. Il révèle que les teneurs en polyphénols totaux varient entre $237,33 \pm 2,11 \mu\text{g EAG/mg}$ et $899,29 \pm 2,22\mu\text{g EAG/mg}$. La fraction *n*-BuOH s'avère la plus riche en phénols totaux comparativement aux différentes

fractions. De même, la fraction *n*-BuOH des feuilles présente la teneur la plus élevée en polyphénols $899,29 \pm 2,22 \mu\text{g EAG/mg}$. Tandis que la fraction aqueuse des graines présente la teneur la plus faible $237,33 \pm 2,11 \mu\text{g EAG/mg}$.

Les données obtenues de dosage des flavonoïdes totaux indiquent que les teneurs sont comprises entre $90,27 \pm 1,90 \mu\text{g EQ/mg}$ et $416,38 \pm 2,22 \mu\text{g EQ/mg}$. Les fractions AE et *n*-BuOH des différentes parties étudiées présentent les teneurs les plus élevées en flavonoïdes totaux (**tab.7**). La concentration la plus élevée est observée dans les fleurs pour la fraction AE $416,38 \pm 2,22 \mu\text{g EQ/mg}$. Cependant, leur extrait aqueux est le pauvre en flavonoïdes $90,27 \pm 1,90 \mu\text{g EQ/mg}$.

La teneur en tanins condensés varie de $1,00 \pm 0,33 \mu\text{g EC/mg}$ et $15,34 \pm 1,35 \mu\text{g EC/mg}$. Par ailleurs, l'extrait acétonique des différentes parties étudiées montrent la teneur la plus élevée en tanins condensés, précisément, pour les tiges $15,34 \pm 1,35 \mu\text{g EC/mg}$ (**Tab. 7**). Alors que, la valeur la plus faible est enregistrée pour la fraction aqueuse des fleurs $1,00 \pm 0,33 \mu\text{g EC/mg}$. Pour les tanins hydrolysables, sont essentiellement des leucocyanidines, les teneurs varient de $209,33 \pm 1,23 \mu\text{g EAT/mg}$ et $810,98 \pm 4,90 \mu\text{g EAT /mg}$. La teneur la plus élevée en tanins hydrolysables est notée pour la fraction acétate d'éthyle des tiges $810,98 \pm 4,90 \mu\text{g EAT /mg}$. Par ailleurs, la fraction aqueuse des feuilles montre la teneur la plus faible en tanins hydrolysables $209,33 \pm 1,23 \mu\text{g EAT /mg}$ (**Tab. 7**).

Tableau 7 Contenu phénolique des fractions de *Tamarix africana*.

Parties de la plante	Composés phénoliques	Solvants d'extraction					S.E.M.
		MeOH	AE	<i>n</i> -BuOH	Aqueux	Acétone	
Feuilles	PT (µg EAG/mg)	508,41 ± 3,09	813,41 ± 2,98	899,29 ± 2,22	262,62 ± 2,21	576 ± 3,98	2598,93
	FT (µg EQ/mg)	161,38 ± 1,39	299,92 ± 2,31	239,58 ± 2,24	199,09 ± 1,49	113,61 ± 2,20	922,69
	TC (µg EC/mg)	2,37 ± 0,18	7,03 ± 1,15	3,83 ± 1,20	1,05 ± 0,00	12,34 ± 1,80	16,74
	TH (µg EAT/mg)	487,33 ± 2,12	723,11 ± 2,90	712,90 ± 3,36	209,33 ± 1,23	455,33 ± 2,13	517,6
Fleurs	PT (µg EAG/mg)	447,52 ± 1,09	743,8 ± 1,44	847,62 ± 2,33	300,17 ± 3,66	420,08 ± 3,90	551,83
	FT (µg EQ /mg)	99,56 ± 2,60	416,38 ± 2,22	271,18 ± 1,65	90,27 ± 1,90	104,93 ± 1,66	196,46
	TC (µg EC /mg)	1,02 ± 0,25	6,52 ± 1,20	4,34 ± 1,33	1,00 ± 0,33	9,44 ± 1,10	4,46
	TH (µg EAT/mg)	433,10 ± 3,18	800,67 ± 4,55	729,17 ± 2,99	310,08 ± 2,90	410,66 ± 3,05	536,73
Tiges	PT (µg EAG/mg)	634,48 ± 3,90	861,05 ± 2,89	896,21 ± 3,65	482,92 ± 2,87	703 ± 3,88	2876,12
	FT (µg EQ /mg)	188,95 ± 1,56	334,93 ± 2,53	399,06 ± 3,00	117,15 ± 2,06	266,03 ± 3,09	261,22
	TC (µg EC /mg)	8,83 ± 0,76	9,73 ± 1,09	5,88 ± 1,54	1,03 ± 0,41	15,34 ± 1,35	8,16
	TH (µg EAT/mg)	581,33 ± 4,08	810,98 ± 4,90	740,87 ± 3,65	310,08 ± 2,90	533,77 ± 2,00	595,40
Graines	PT (µg EAG/mg)	361,64 ± 2,99	825,47 ± 2,34	849,88 ± 3,66	237,33 ± 2,11	366,94 ± 1,98	2347,70
	FT (µg EQ /mg)	107,77 ± 2,89	238,4 ± 2,11	253,19 ± 1,34	113,74 ± 1,09	90,76 ± 2,00	160,71
	TC (µg EC /mg)	3,79 ± 0,98	8,44 ± 1,05	6,52 ± 1,00	1,98 ± 0,10	9,29 ± 0,55	6,04
	TH (µg EAT/mg)	322,27 ± 2,22	590,99 ± 2,06	785,93 ± 2,97	210,37 ± 1,93	253,67 ± 2,15	432,64

Les valeurs sont la moyenne ± SD de trois mesures. Les composés phénoliques totaux sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique/mg d'extrait. Les flavonoïdes totaux sont exprimés en mg d'équivalents de quercétine/mg d'extrait. Les tanins condensés totaux sont exprimés en mg d'équivalents de catéchine/mg d'extrait. Les tanins hydrolysables totaux sont exprimés en mg d'équivalents d'acide tannique/mg d'extrait. **PT** : polyphénols totaux; **FT** : flavonoïdes totaux ; **TC** : tanins condensés ; **TH** : tanins hydrolysables; **S.E.M** : Erreur type de la moyenne ; **en rouge** les teneurs les plus faible

2.2.2. La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)

Le profil chimique ainsi que la concentration des composés phénoliques dans les feuilles de *Tamarix africana*, déterminé par l'analyse LC-MS, sur la base des modèles de fragmentation MS, de la masse à haute résolution, des spectres UV et du temps de rétention sont rapportés dans le **tableau 8** et **Annexe 01**. Neufs (09) substances phénoliques sont identifiées dans les extraits et fractions des feuilles de *Tamarix africana* parmi les 34 standards phytochimiques utilisés. Toutes les molécules ont été caractérisées et quantifiées. Il est à remarquer que l'Apigénine (flavones) est présente dans tous les extraits. Cependant, la tangéritine (flavone polyméthoxylé) se trouve uniquement dans l'extrait acétonique. Il est également à constater que certains composés sont répartis spécifiquement dans certains solvants comme la diosmine (flavone) retrouvée dans les extraits méthanol, acétate d'éthyle et acétone. Il est de même pour les composés : la wogonine, la rutine, l'apigenin-7-O-glucoside identifiés exclusivement dans la fraction *n*-butanol. La même tendance est observée pour la quercétine (flavonol) et ses dérivés la quercétine-3-glycoside identifiés respectivement dans les fractions aqueuse et acétonique, et les fractions acétate d'éthyle, l'acétone et le *n*-BuOH. De plus, ces deux derniers solvants permettent la solubilisation de la néohespéridine.

Tableau 08. Identification et quantification des composés phénoliques dans différentes fractions des feuilles de *Tamarix africana* analysé par LC-MS

NO	Substances phénoliques	Temps de rétention (min)	MeOH (ppb)	AE (ppb)	<i>n</i> -BuOH (ppb)	Aqueous (ppb)	Acétone (ppb)
01	Tangéritine	9,088	ND	ND	ND	ND	0,0101
02	Rutine	6,512	ND	ND	0,3674	ND	ND
03	Apigénine 7-O Glucoside	6,796	ND	ND	0,1038	ND	ND
04	Quercétine	7,561	ND	ND	1,917	0,506	0,86
05	Diosmine	6,734	0,0735	0,079	ND	ND	0,087
06	Quercétine-3-Glucoside	6,573	ND	0,037	0,9799	ND	0,12
07	Néohespéridine	6,453	ND	ND	0,0608	ND	0,307

08	Apigénine	8,023	0,066	0,055	0,4448	0,09	0,179
09	Wogonine	8,627	ND	ND	0,1542	ND	ND
10	Acide Gentisique	2,895	ND	ND	ND	ND	ND
11	Acide Chlorogénique	3,658	ND	ND	ND	ND	ND
12	Naringénine	7,441	ND	ND	ND	ND	ND
13	Kamempférol	7,943	ND	ND	ND	ND	ND
14	Acide protocatéchuique	2,855	ND	ND	ND	ND	ND
15	Acide Gallique	1,149	ND	ND	ND	ND	ND
16	AcideBenzoïque 4-OH	4,403	ND	ND	ND	ND	ND
17	4-OH Benzaldéhyde	5,429	ND	ND	ND	ND	ND
18	Taxifoline	5,993	ND	ND	ND	ND	ND
19	Diosmet	8,084	ND	ND	ND	ND	ND
20	Acide Cafique	2,776	ND	ND	ND	ND	ND
21	Naringine	6,292	ND	ND	ND	ND	ND
22	Polydatine	5,851	ND	ND	ND	ND	ND
23	Fiséline	7,078	ND	ND	ND	ND	ND
24	Galangine	8,808	ND	ND	ND	ND	ND
25	Acide P-Coumarique	4,747	ND	ND	ND	ND	ND
26	Acide Férulique	3,884	ND	ND	ND	ND	ND
27	Hespéridine	6,392	ND	ND	ND	ND	ND
28	Biochanine A	8,628	ND	ND	ND	ND	ND
29	Acide Salicylique	4,384	ND	ND	ND	ND	ND
30	Gardenin-B	9,46	ND	ND	ND	ND	ND
31	Acide Sinapique	4,145	ND	ND	ND	ND	ND

32	Resvératrol	6,655	ND	ND	ND	ND	ND
33	Acide Cinnamique	5,469	ND	ND	ND	ND	ND
34	Acide Vanillique	2,223	ND	ND	ND	ND	ND

ND : non détecter ; **ppb** : partie par milliard

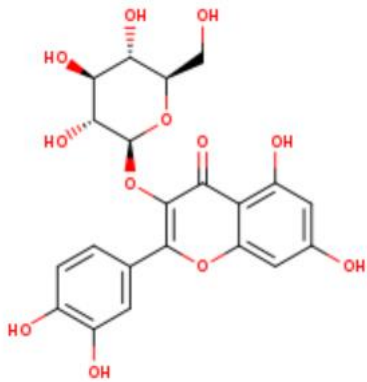
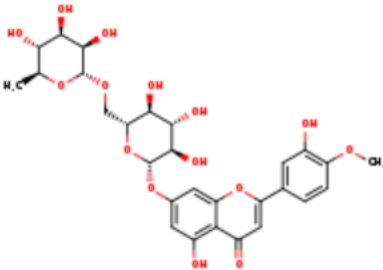
La quercétine-3-glucoside, la diosmine, l'apigénine, la rutine, l'apigenin-7-O-glucoside, la wogonine, la quercétine, la néohespéridine, tangéritine sont les composés phénoliques qui se répartissent dans la plupart des extraits et fractions des feuilles de la plante *Tamarix africana*. Ces molécules sont probablement les molécules bioactives qui seront responsables des activités pharmaco-biologiques qui vont faire l'objet d'une étude *in silico* des différentes propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

3. Etude *in silico* des propriétés pharmacocinétiques des molécules identifiées dans les feuilles de la plante *Tamarix africana*

3.1. Détermination des structures et SMILES

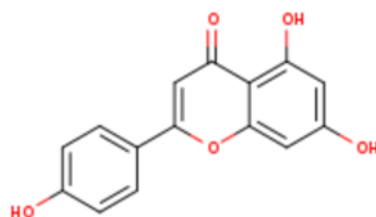
Le **tableau 9** montre la formule moléculaire, la structure et le SMILE canonique correspondants de chaque composé identifié par LC-MS.

Tableau 09. Génération des SMILES des composés identifiés par LC-MS.

Composés	Formule moléculaire	Structure	Canonical SMILES
Phénoliques			
Quercétine-3-glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂		<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)OC4C(C(C(C(O4)CO)O)O)O)O)O</chem>
Diosmine	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅		<chem>CC1C(C(C(C(O1)OCC2C(C(C(C(O2)OC3=CC(=C4C(=C3)O C(=CC4=O)C5=CC(=C(C=C5)OC)O)O)O)O)O)O)O)O</chem>

Apigénine

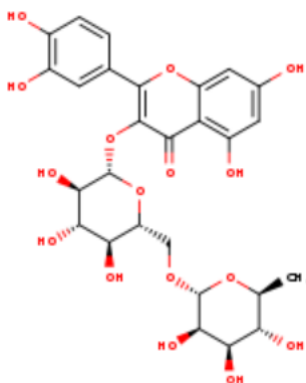
C₁₅H₁₀O₅



C1=CC(=CC=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O

Rutine

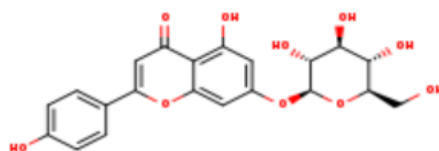
C₂₇H₃₀O₁₆



CC1C(C(C(C(O1)OCC2C(C(C(C(O2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)O)O)O)O)O

Apigénine-7-O-Glucoside

C₂₁H₂₀O₁₀

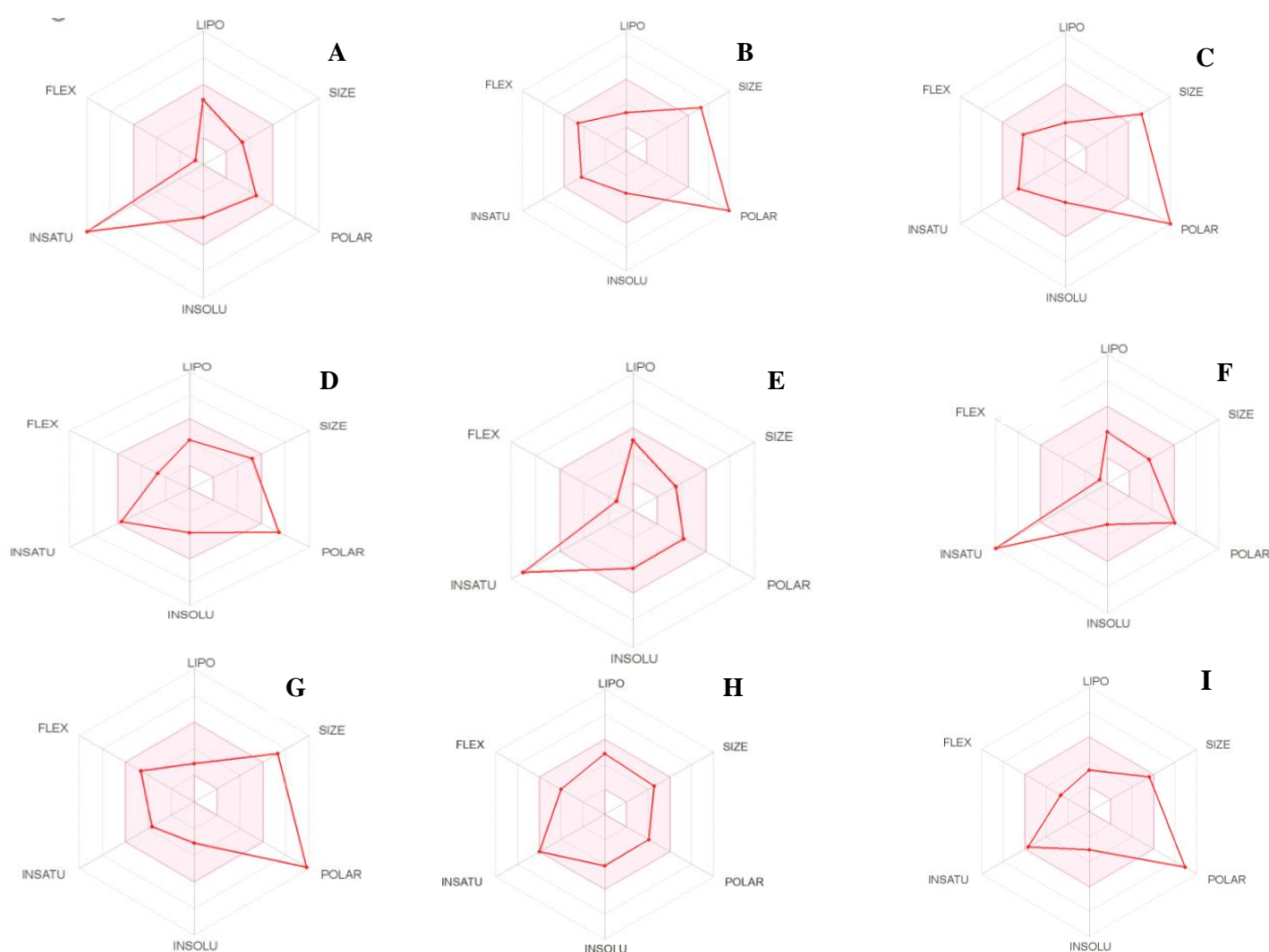


C1=CC(=CC=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)OC4C(C(C(O4)CO)O)O)O)O

Wogonine	$C_{16}H_{12}O_5$		<chem>COC1=C(C=C(C2=C1OC(=CC2=O)C3=CC=CC=C3)O)O</chem>
Quercétine	$C_{15}H_{10}O_7$		<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
Néohespéridine	$C_{28}H_{34}O_{15}$		<chem>CC1C(C(C(C(O1)OC2C(C(C(OC2OC3=CC(=C4C(=O)CC(OC4=C3)C5=CC(=C(C=C5)OC)O)O)CO)O)O)O)O)O</chem>
Tangéritine	$C_{20}H_{20}O_7$		<chem>COC1=CC=C(C=C1)C2=CC(=O)C3=C(O2)C(=C(C(=C3OC)OC)OC)OC</chem>

3.2. Détermination des propriétés physicochimiques des molécules

La figure 28 et le tableau 10 montrent les propriétés physicochimiques des différentes molécules identifiées. Il ressort que certaines propriétés comme la polarité, l'insaturation et la taille sont des facteurs limitant de la biodisponibilité de certaines molécules. Selon le caractère de la liposolubilité, l'apigénine, la wogonine et la tangeritine sont des molécules hautement lipophiles. Cette lipophilie diminue par substitution comme dans le cas de l'apigénine-7-O-glucoside. Il est également à noter que la polarité et la flexibilité des différentes molécules sont élevées. La diosmine et la rutine sont hautement polymérisées en termes de poids moléculaires.



LIPO : lipophilie, **SIZE** : taille, **POLAR** : polarité, **INSOLU** : insolubilité, **INSATU** : insaturation, **FLEX** : flexibilité. A: Apigénine; B: Diosmine; C: Rutine; D: Apigénine-7-O-glucoside; E: Wogonine; F: Quercétine; G: Neohésperdine; H: Tangéritine; I: quercétine-3-glucoside. La zone colorée correspond à l'espace physicochimique approprié pour la biodisponibilité orale

Figure 28. Prédiction des propriétés physicochimiques des composés testés.

Tableau 10. Propriétés physicochimiques *in silico* de composés phénoliques de *Tamarix africana*

Propriétés physicochimiques						
	La lipophilie	Taille	Polarité	Insolubilité	Insaturation	Flexibilité
	- 0.7 < XLOGP3 < +5.0	150g/mol < PM < 500g/mol	20 A ^{o2} < TPSA < 130 A ^{o2}	0 < Log S < 6	0.25 < Fraction csp3 < 1	0 < Num. liaison rotatives < 9
Apigénine	3.02	270.24	90.90	-3.94	0.00	1
Diosmine	0.14	608.54	238.20	-3.51	0.46	7
Rutine	-0.33	610.52	269.43	-3.30	0.44	6
Apigénine-7-O-glucoside	1.81	432.38	170.05	-3.78	0.29	4
Wogonine	3.49	284.26	79.90	-4.23	0.06	2
Quercétine	1.54	302.24	131.36	-3.16	0.00	1
Néohespéridine	-0.47	610.56	234.29	-3.07	0.54	7
Tangéritine	3.04	372,37	76,36	-4.11	0,25	6
Quercétine-3-glucoside	0.36	464.38	210.51	-3.04	0.29	4

TPSA : la surface totale polaire ; PM : poids moléculaire, csp3 : nombre de carbone hybride sp³

3.3. Prédiction du profil ADMET des molécules

Les propriétés pharmacocinétiques des différents composés (absorption, distribution, métabolisme, élimination et la toxicité, ADMET) sont rapportées dans le **tableau 11**. Les prédictions indiquent que tous les composés étudiés peuvent être absorbés par l'intestin humain. Il ressort également que la wogonine est la seule capable d'être administrée par voie orale (Per Os). En outre, seulement l'apigénine et la wogonine ayant la capacité de franchir la barrière hémato-encéphalique. Il est important de signaler que les données de modélisation révèlent que les différents composés n'ont aucune affinité pour glycoprotéine P (P-gp), à l'exception de la diosmine et la wogonine qui peuvent jouer les rôles de substrat et d'inhibiteur, respectivement. La perméabilité Caco-2 est positive pour l'apigénine, la wogonine et la tangéritine. Toutes les molécules présentent un volume de distribution optimale.

L'élimination ou la voie d'excrétion principale des différentes molécules est le rein ; Leur clairance rénale est importante. Ce qui sous-entend que leur demi-vie est importante. L'aspect de toxicité des molécules indiquent qu'elles sont légèrement toxiques (classe III). Cette toxicité est plus prononcée au niveau hépatique et cardiaque (cas de la rutine). De même cette molécule et la quercétine-3-glucoside peuvent présenter des risques de mutagénicité.

En termes d'écotoxicité, les molécules ne présentent pas de toxicité sur les abeilles ni sur les crustacées aquatiques, par ailleurs, ils ne sont pas biodégradables et peuvent présenter une certaine toxicité pour les poissons aquatiques.

Selon les critères d'évaluation de la toxicité ($>0,477$), ils s'avèrent que les doses tolérées des différentes molécules pour une administration humaine sont élevées.

La totalité des molécules représentent d'excellents ligands pour les récepteurs des œstrogènes, androgènes, thyroïdiens et des glucocorticoïdes.

Tableau 11. Prédiction des propriétés pharmacocinétique des composés phénoliques de *Tamarix africanain silico* par le profil ADMET

Paramètres/Composés	Quercétine-3-glucoside	Diosmine	Apigénine	Rutine	Apigénine-7-O-Glucoside	Wogonine	Quercétine	Néohespérđine	Tangéřtine
Absorption									
Biodisponibilité orale humaine	BOH-	BOH-	BOH-	BOH-	BOH-	BOH+	BOH-	BOH-	BOH-
Barrière hémato-encéphalique	BHE-	BHE-	BHE+	BHE-	BHE-	BHE+	BHE-	BHE-	BHE-
Absorption intestinale humaine	AIH+	AIH+	AIH+	AIH+	AIH+	AIH+	AIH+	AIH+	AIH+
Perméabilité Caco-2	Caco-2-	Caco-2-	Caco-2+	Caco-2-	Caco-2-	Caco-2+	Caco-2-	Caco-2-	Caco-2+
Inhibiteur de la P-glycoprotéine	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Non
Substrat de la P-glycoprotéine	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Distribution									
Localisation subcellulaire	Mitochondries	Mitochon dries	Mitochondries	Mitochon dries	Mitochondries	Mitochondries	Mitochondries	Mitochondries	Mitochondries

Liaison aux protéines plasmatiques	Optimale	Optimale	Non	Optimale	Optimale	Optimale	Optimale	Optimale	Non
(Optimale <90%)									
VD (optimale :0,71-2.83 L/kg)	1.846	1.428	0.822	1.663	0.825	0.757	0,876	0.744	0.609
Métabolisme									
Substrat du CYP3A4	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Non
Substrat du CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Substrat du CYP2C9	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibiteur du CYP1A2	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Non	Oui
Inhibiteur du CYP3A4	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non
Inhibiteur du CYP2C19	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui
Inhibiteur du CYP2C9	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Non	Non	Non
Inhibiteur du CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Excrétion									
Clairance (>15 ml/min/kg : élevée ; 5-15 ml/min/kg : modérée ; <5 ml/min/kg : faible).	Modéré	Modéré	Faible	Faible	Modéré	Faible	Faible	Faible	Elevé

Chapitre 4 : Résultats

T1/2 (court ; si <3h)	Moyen	Moyen	Long	Long	Moyen	Long	Long	Long	Court
Toxicité									
Toxicité orale aiguë	Class III	Class III	Class III	Class III	Class III	Class III	Class II	Class III	Class III
Toxicité aiguë par voie orale chez le rat (LD50) (mol/kg)	Faible	Faible	Faible	Moyenne	Moyenne	Faible	Faible	Faible	Moyenne
Max. dose tolérée (humaine) (log mg/kg/jour) (élevé ; si >0,477)	0,455	0,565	0,452	0,515	0.151	0,499	0,367	0.437	0,432
Bloqueurs hERG (Toxicité cardiaque)	Inactif	Inactif	Inactif	Actif	Inactif	Inactif	Inactif	Inactif	Inactif
Hépatotoxicité	Hépatotoxique	Hépatotoxique	Hépatotoxique	Hépatotoxique	Hépatotoxique	Hépatotoxique	Hépatotoxique	Hépatotoxique	Hépatotoxique
Néphrotoxicité	Non néphrotoxique	Non néphrotoxique	Non néphrotoxique	Non néphrotoxique	Non néphrotoxique	Non néphrotoxique	Non néphrotoxique	Non néphrotoxique	Non néphrotoxique
Toxicité mitochondriale	Toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Toxique	Toxique	Non toxique	Non toxique
Toxicité pour la reproduction	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Non toxique

Chapitre 4 : Résultats

Toxicité respiratoire	Toxique	Non toxique	Non toxique	Toxique	Non toxique	Toxique	Toxique	Non toxique	Non toxique
Toxicité AMES (pour la mutagénicité)	Mutagène	Non mutagène	Non mutagène	Mutagène	Non mutagène	Non mutagène	Non mutagène	Non mutagène	Non mutagène
Cancérogénicité	Non cancérogène	Non cancérogène	Non cancérogène	Non cancérogène	Non cancérogène	Non cancérogène	Non cancérogène	Non cancérogène	Non cancérogène
Corrosion oculaire	Non corrosive	Non corrosive	Non corrosive	Non corrosive	Non corrosive	Non corrosive	Non corrosive	Non corrosive	Non corrosive
Irritation de l'œil	Non irritant	Non irritant	Irritant	Non irritant	Non irritant	Irritant	Irritant	Non irritant	Non irritant
Sensibilisation cutanée	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Toxicité de Tetrahymena pyriformis	Toxique	Non Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique
Liaisons									
Liaison aux récepteurs des œstrogènes	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Liaison aux récepteurs androgènes	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
Liaison aux récepteurs	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui

thyroïdiens									
Liaison aux récepteurs des glucocorticoïdes	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
Ecotoxicité									
Toxicité des abeilles	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique
Biodégradation	Non biodégradable	Non biodégradable	Non biodégradable	Non biodégradable	Non biodégradable	Non biodégradable	Non biodégradable	Non biodégradable	Non biodégradable
Toxicité aquatique des crustacés	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique
Toxicité aquatique des poissons	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Non toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique

3.4. Prédiction des propriétés pharmacologiques (activité biologique)

Les propriétés pharmacologiques probables des molécules identifiées sont prédites selon leur score biologique possible à l'aide du serveur web en ligne PASS. L'ensemble des résultats recueillis est représenté dans le **tableau 12**. Ce dernier montre que tous les composés possèdent des propriétés pharmacologiques intéressantes. Les résultats indiquent que les activités prédites corroborent parfaitement avec ceux évalués *in vitro*. A titre d'exemple, il a été montré que nos extraits présentent des activités antidiabétiques, anti uréase, Anti-Helicobacter pylori et anti tyrosinase. Ces mêmes activités sont révélées par PBS avec des scores très élevés.

Tableau 12. Prédiction des propriétés pharmacologiques (activité biologique) *in silico* des composés phénoliques de *Tamarix africana*

Molécules	Pa	Pi	Propriétés pharmacologiques (activité biologique)
Quercétine-3-glucoside	0,794	0,001	Blanchisseur de peau
	0,723	0,003	Anti-infectieux
	0,596	0,002	Traitement du syndrome respiratoire aigu sévère
Diosmine	0,904	0,004	Stimulant de la caspase 3
	0,668	0,008	Inhibiteur d'alpha-amylase
	0,349	0,007	Inhibiteur de la topoisomérase I
Apigénine	0,924	0,002	Inhibiteur de la peroxydase
	0,688	0,003	Inhibiteur de la tyrosinase
	0,617	0,005	Anticancérigène
Rutine	0,796	0,002	Traitement du syndrome respiratoire aigu sévère
	0,528	0,019	Antidiabétique
	0,341	0,010	Inhibiteur de la topoisomérase I
Apigénine-7-O-Glucoside	0,839	0,002	Antioxydant
	0,599	0,010	Agent de blocage neuromusculaire de l'acétylcholinestérase
	0,503	0,010	Agent cicatrisant
Wogonine	0,720	0,002	Les inhibiteurs de SGLT2

	0,603	0,004	Inhibiteur d'uréase
	0,487	0,005	Anti-Helicobacter pylori
Quercétine	0,872	0,002	Antioxydant
	0,690	0,004	Traitement du syndrome respiratoire aigu sévère
	0,588	0,004	Inhibiteur de synthèse de mélanine
Néohespéridine	0,991	0,001	Piégeur de radicaux libres
	0,931	0,005	Stimulant de la caspase 3
	0,877	0,002	Inhibiteur de l'alpha glucosidase
Tangéritine	0,715	0,004	Piégeur de radicaux libres
	0,634	0,004	Hépatoprotecteur
	0,590	0,005	Antiviral (grippe)

Pa : Probabilité d'activité. **Pi** : Probabilité d'inactivité

3.5. Prédiction des cibles thérapeutiques

Comme le montre le **tableau 13**, ces composés peuvent être actifs sur différentes classes d'enzyme tels que les lyases, les hydrolases, les kinases, les isomérases et les oxydoréductases, différents récepteurs, des transporteurs électrochimiques, cytochrome P450 et récepteurs nucléaires.

Tableau 13. Prédiction des cibles thérapeutiques *in silico* des composés phénoliques de *Tamarix africana*

Molécules	Cible thérapeutique	Classe de la cible	Probabilités
Quercétine-3-Glucoside	Aldose réductase	Enzyme	0,267
	Anhydrase carbonique II	Lyase	0,267
	Acétylcholinestérase	Hydrolase	0,200
Diosmine	TNF-alpha	Protéine sécrétée	0,267
	Acétylcholinestérase	Hydrolase	0,133
	Récepteur adrénergique alpha 2a	Récepteur couplé aux protéine de la famille AG	0,067
Rutine	Acétylcholinestérase	Hydrolase	0,333

	Récepteur adrénergique alpha 2	Récepteur couplé aux protéine de la famille AG	0,267
	Xanthine déshydrogénase	Oxydoréductase	0,200
Apigénine	Acétylcholinestérase	Hydrolase	0,200
	Récepteur alpha des oestrogènes	Récepteur nucléaire	0,200
	ADN topoisomérase I	Isomérase	0,133
Apigénine-7-O-Glucoside	Sous unité alpha catalytique de la protéine kinase dépendante de AMPc	Kinase	0,200
	Antigène de différenciation lymphocytaire CD38	Enzyme	0,133
	Récepteur opioïde delta	Récepteur couplé aux protéine de la famille AG	0,133
Wogonine	Récepteur de facteur de croissance des cellules souches	Kinase	0,400
	Butyrylcholinestérase	Hydrolase	0,200
	p-glycoprotéine 1	Transport primaire actif	0,130
Quercétine	Récepteur de l'insuline	Kinase	0,400
	Thrombine	Protéase	0,200
	Cytochrome P450 1B1	Cytochrome P450	0,133
Néohespéridine	Anhydrase carbonique III	Lyase	0,460
	Cotransport sodium/glucose 1	Transport électrochimique	0,260
	Tyrosinase	Oxydoréductase	0,067
Tangéritine	Récepteur delta opioïde	Récepteur couplé aux protéine de la famille AG	0,333
	Cyclooxygénase-2	Oxydoréductase	0,267
	Aldose réductase	Enzyme	0,133

3.6. Prédiction de la cytotoxicité

La capacité de chaque composé à induire une cytotoxicité sur la lignée cellulaire tumorale a été étudiée par usage du serveur CLC-Predet (**Tab. 14**). Les données indiquent clairement que les composés identifiés expriment une cytotoxicité modérée sur la majorité des lignées cellulaires évaluées dans cette présente étude.

Tableau 14. Prédiction de la cytotoxicité *in silico* des composés phénoliques de *Tamarix africana*

Molécules	Lignée cellulaire	Tissu	Type de tumeur	Pa	Pi
Quercétine-3-Glucoside	Leucémie promyéloblastique (HL-60)	Hématopoïétique et lymphoïde	Leucémie	0,563	0,021
	Mélanome métastatique (SK-MEL-1)	La peau	Mélanome	0,550	0,015
	Cancer du poumon (NCI-H838)	Poumon	Carcinome	0,504	0,048
Diosmine	Adénocarcinome du côlon (Caco-2)	Côlon	Adénocarcinome	0,651	0,003
	Carcinome du sein (MCF7)	Sein	Carcinome	0,398	0,084
Rutine	Mélanome métastatique (SK-MEL-1)	La peau	Mélanome	0,536	0,020
	Glioblastome (BNS-75)	Système nerveux	Glioblastome	0,453	0,027
	Carcinome gastrique (SGC-7901)	Estomac	Carcinome	0,340	0,025
Apigénine	Oligodendrogliome (Hs 683)	Cerveau	Gliome	0,587	0,029
	Carcinome de la vessie (J82)	Voies urinaires	Carcinome	0,576	0,044
	Sarcome du corps utérin (MES-SA)	Utérus	Sarcome	0,454	0,067
Apigénine-7-O-Glucoside	Adénocarcinome du sein (MDA-MB-453)	Le sein	Adénocarcinome	0,564	0,098
	Hépatoblastome (HepG2)	Foie	Hépatoblastome	0,358	0,047
	T-lymphoïde (H9)	Tissu hématopoïétique	Leucémie	0,342	0,036

et lymphoïde					
Wogonine	Lignée cellulaire épithéliale du carcinome de la prostate (CWR22R)	Prostate	Carcinome	0,340	0,013
	Adénocarcinome gastrique (AGS)	Estomac	Adénocarcinome	0,314	0,030
	Carcinome du cortex surrénalien (NCI-H295R)	Cortex surrénalien	Carcinome	0,310	0,072
Quercétine	Sarcome du corps utérin (MES-SA)	Utérus	Sarcome	0,493	0,072
	Oligodendrogliome (Hs 683)	Cerveau	Gliome	0,458	0,079
	Adénocarcinome du côlon (LS174T)	Côlon	Adénocarcinome	0,394	0,038
Néohespéridine	Adénocarcinome ovarien (OVCAR-5)	Ovaire	Adénocarcinome	0,345	0,069
	Carcinome rénal (TK-10)	Rein	Carcinome	0,338	0,040
	Leucémie aiguë lymphoblastique B de l'adulte (NALM-6)	Tissu hématopoïétique et lymphoïde	Leucémie	0,394	0,040
Tangéritine	Oligodendrogliome (Hs 683)	Cerveau	Gliome	0,662	0,014
	Carcinome pancréatique (YAPC)	Pancréas	Carcinome	0,383	0,126
	Adénocarcinome gastrique (AGS)	Estomac	Adénocarcinome	0,321	0,019

3.7. Prédiction de l'inhibition des virus

La recherche antivirale est une discipline encore récente et le nombre de molécules disponibles pour lutter contre les infections virales demeure insuffisant. La capacité des molécules identifiées à inhiber les récepteurs de fixation (protéines virales), prédite par la plateforme Way2drug, est illustrée dans **le tableau 15**. Il ressort que la plupart des molécules ont une activité antivirale contre la famille des coronavirus. En outre, d'autres activités antivirales sont également prédites et la plus intéressante est celle correspondant au virus du SIDA.

Tableau 15. Prédiction de l'inhibition des virus *in silico* des composés phénoliques de *Tamarix africana*

Molécules	Virus	Cibles protéiques	Confiance
Quercétine-3-glucoside	Virus varicelle-zona (souche Dumas) (HHV-3) (herpèsvirus humain 3)	Thymidine kinase	0,8721
	Coronavirus du SRAS	Réplique polyprotéine 1ab	0,6559
Diosmine	Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2	Réplique polyprotéine 1ab	0,9766
	Virus de l'immunodéficience humaine 2	Intégrase du virus de l'immunodéficience humaine de type 2	0,4396
Apigénine	Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2	Réplique polyprotéine 1ab	0,9001
	Virus de l'immunodéficience humaine 2	Intégrase du virus de l'immunodéficience humaine de type 2	0,7260
	Virus varicelle-zona (souche Dumas) (HHV-3) (herpèsvirus humain 3)	ADN polymérase	0,5573
Rutine	Virus de la dengue de type 2	Polyprotéine du génome	0,4376
Apigénine-7-O-glucoside	Virus de l'immunodéficience humaine de type 1 groupe M sous- type B (isolat BH10) (VIH-1)	Gag-Pol polyprotéine	0,9280
Wogonine	Virus de la vaccine (souche Western Reserve) (VACV) (virus de la vaccine (soucheWR))	ADN polymérase	0,9673
	Coronavirus du SRAS	Réplique polyprotéine 1ab	0,5795

	Herpèsvirus humain 6A (souche Uganda-1102) (HHV-6 variante A) (Human Blymphotropic virus)	ADN polymérase de l'herpèsvirus humain 6	0,5770
Quercétine	Coronavirus du SRAS	Réplique polyprotéine 1ab	0,7063
	Coxsackievirus B3 (souche Nancy)	Polyprotéine du génome	0,5780
	Virus de l'herpès simplex (type 1 / souche 17)	ADN polymérase de l'herpèsvirus humain 1	0,4379
Néohespéridine	Virus de la grippe A	Neuraminidase	0,7205
Tangéritine	Coronavirus lié au syndrome respiratoire du Moyen-Orient (isolat UnitedKingdom/H123990006/2012) (Betacoronavirus England 1) (Humancoronavirus EMC)	Réplique polyprotéine 1ab	0,8103
	Virus du sarcome de Rous (souche Prague C) (RSV-PrC)	Intégrase du virus du sarcome de Rous	0,7101
	Virus de la dengue de type 2 (souche Thaïlande/16681/1984) (DENV-2)	Protéine NS3 du virus de la dengue de type 2	0,6470

4. Prédiction des propriétés pharmacodynamiques des composés phénoliques de *Tamarix africana* par le docking moléculaire

4.1. Prédiction des propriétés pharmacodynamiques des molécules vis-à-vis les enzymes

Les résultats du docking moléculaire des composants phénoliques identifiés dans les feuilles de *Tamarix africana* contre les cinq enzymes cibles sont résumés dans les **Tableaux 16** et **17** et représentés dans la **Figure 29**. Pour l'enzyme AChE et BChE, des scores de -9.8 Kcal/mol et -9.5 Kcal/mol, sont enregistrés pour l'inhibiteur de référence é « Galantamine ». Les résultats montrent que pour les deux enzymes AChE et BChE, 07 et 08 composants phénoliques ont donné des valeurs d'énergie de liaison inférieures ou égales au score de référence (**Tab. 16**), reflétant leur forte interaction avec les résidus clés des sites catalytiques des deux ChEs. Comme conséquences de cette forte interaction, un blocage de l'activité biologique cholinergique

normale est provoqué par l'occupation des acides aminés catalytiques, empêchant ainsi la fixation des neurotransmetteurs.

Pour l'enzyme AChE, l'apigénine-7-O-glucoside a montré l'énergie de liaison la plus importante qui est de -11.0 Kcal/mol (**Tab. 16 et 17**) ce qui lui qualifie du ligand le plus stable lors de son interaction avec l'enzyme AChE. L'apigenin 7-O-glucoside interagit avec le site catalytique en formant différents types d'interactions, dont 08 liaisons d'hydrogène avec les résidus Val294, Phe338, His447, Trp86, Asp74, Tyr337, Tyr341 et Tyr124 et deux liaisons hydrophobiques avec les résidus Trp286, Tyr341 (**Tab. 17 ; Fig. 29**). En plus cette molécule interagit avec l'enzyme en formant des attractions de types Van der Waals fortifiant d'avantage sa liaison au sein de la poche catalytique de l'enzyme.

Concernant l'enzyme BChE, le meilleur score est noté pour la diosmine avec une énergie de liaison de -10.3 Kcal/mol (**Tab. 16 et 17**). Ce ligand se lie avec Ala328, His438, Glu197, Tyr128, Asn83, Thr120, Ser287 et Asn289 par des liaisons Hydrogènes. En plus, le Phe329 fournit une interaction hydrophobe à cette molécule au sein de la poche catalytique de BChE. D'autre part, ce ligand forme de multiple interactions Van der Waals (**Tab. 17 ; Fig. 29**).

Pour l'enzyme α -amylase, l'inhibiteur de référence, l'acarbose a donné une énergie de liaison de -7.5 Kcal/mol. Huit composants phénoliques ont montré une très bonne interaction au sein du site catalytique de l'enzyme en donnant des scores inférieures à celui de la molécule de référence (**Tab. 16**). Par ailleurs, avec un score de -9.6 Kcal/mol, le Néohespéridine semble être le ligand avec la plus forte liaison moléculaire. Cette molécule a interagi avec l'enzyme en formant cinq liaisons d'hydrogène avec Ile235, Thr163, His299, Asp300 et Asp197, il assure également deux liaisons hydrophobes avec His201 et Lys200 (**Tab. 17 ; Fig. 29**).

Les résultats du docking de l'enzyme Uréase de *H. pylori* montrent que quatre composants phénoliques respectivement ont donnés des valeurs d'énergie de liaison inférieures ou égales au score de référence qui est la thio-urée avec une énergie de liaison de -4.1 Kcal/mol (**Tab. 16**). Le meilleur score est noté pour la Wogonine avec une énergie de liaison de -6.7 Kcal/mol (**Tab. 16 et 17**). Ce ligand se lie avec quatre liaisons Hydrogène Cys321, Ala365, Asp362, His248. Par ailleurs, Cys321, Ala169, Met366, His248 fournissent des interactions hydrophobes à cette molécule au sein de la poche catalytique de l'uréase de *H. pylori*. D'autre part, ce ligand forme de multiple interaction Van der Waals sur les résidus Gln364, Asn168, Asp223, His221, His322, Glu222, Arg338, Gly280, Gly279. Enfin, Met317 donc ils assurent des interactions électrostatiques avec le site catalytique de l'enzyme (**Tab. 17 ; Fig. 29**).

Pour l'enzyme Tyrosinase l'inhibiteur de référence l'acide kojique a donné une énergie de liaison de -5.8 Kcal/mol. Tous les composants phénoliques ont montré une très bonne

interaction au sein du site catalytique de l'enzyme en donnant des scores inférieures à celui de la molécule de référence (**Tab. 16**). Par ailleurs, l'apigénine avec un score de -7.8 Kcal/mol, semble être le ligand avec la plus forte liaison moléculaire. Cette molécule a interagi avec l'enzyme en formant quatre liaisons d'hydrogène avec Thr391, Ser394, Arg374, Arg321, il assure également deux liaisons hydrophobes avec Leu382, His381 et de multiples interactions de type Van der Waals (**Tab. 17 ; Fig. 29**)

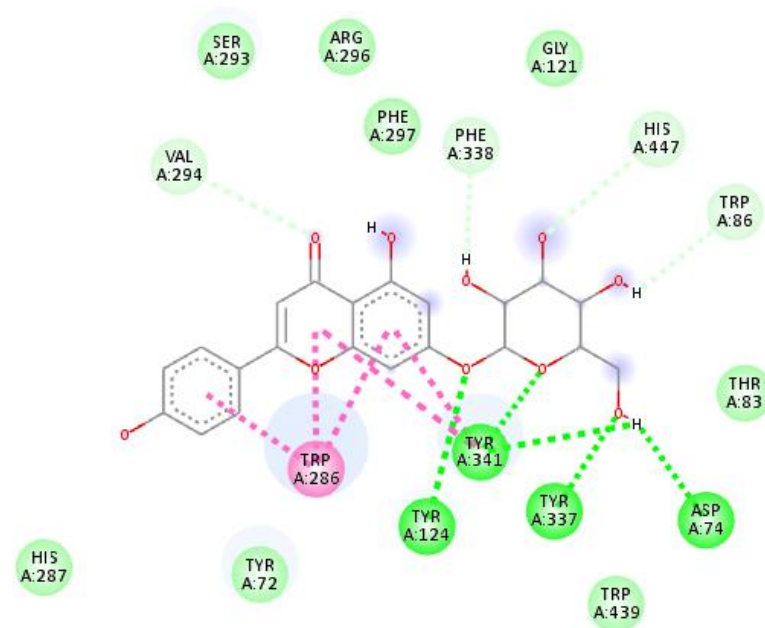
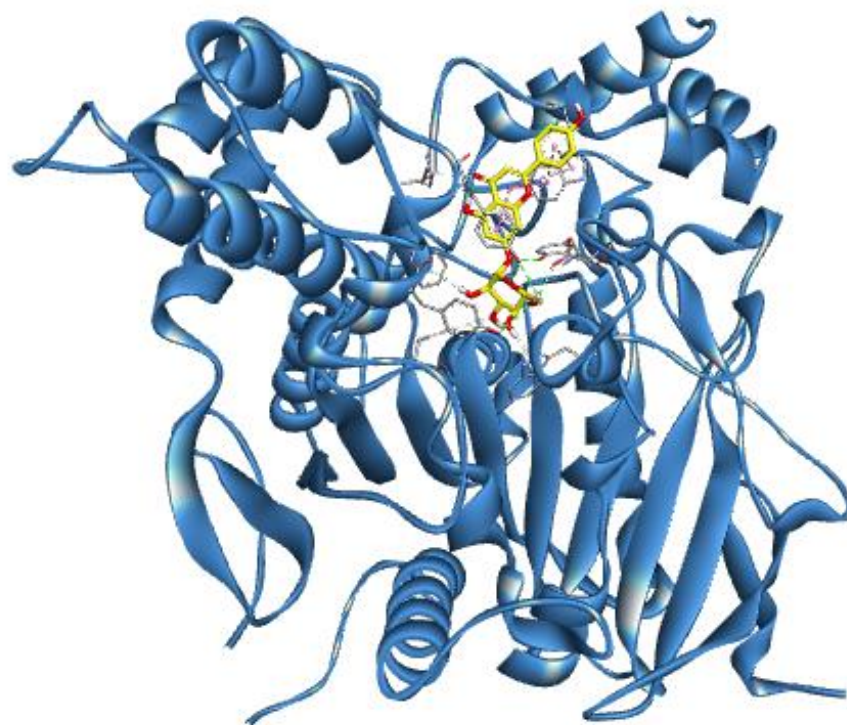
Tableau 16. Energie de liaison en Kcal/mol des composants phénoliques de la plante *Tamarix africana* avec les enzymes cibles examinées

		Les enzymes cibles				
		AChE	BChE	α -amylase	Uréase de <i>H. pylori</i>	Tyrosinase
Molécules de référence	Galantamine (référence)	-9.8	-9.5	-	-	-
	Acarbose (référence)	-	-	-7.5	-	-
	Thiourée (référence)	-	-	-	-4.1	-
	Acide kojique (référence)	-	-	-	-	-5.8
Composés phénoliques	Quercétine-3-glucoside	-8.1	-9.7	-8.9	-0.1	-7.0
	Diosmine	-10.8	-10.3	-9.4	+3.1	-6.4
	Apigénine	-10.4	-9.6	-8.7	-5.3	-7.8
	Rutine	-9.8	-9.7	-8.5	+6.0	-7.2
	Apigénine 7-O-glucoside	-11.0	-9.7	-8.3	+0.8	-7.7
	Wogonine	-10.3	-9.7	-8.1	-6.7	-7.3
	Quercétine	-9.8	-9.5	-9.0	-5.3	-7.2
	Néohesperidine	-10.2	-10.2	-9.6	+3.5	-6.1
Tangéritine	-9.1	-7.6	-7.9	-4.6	-6.3	

Tableau 17. Les interactions établis entre les meilleurs des ligands phénoliques de *Tamarix africana* avec leurs cibles enzymatiques

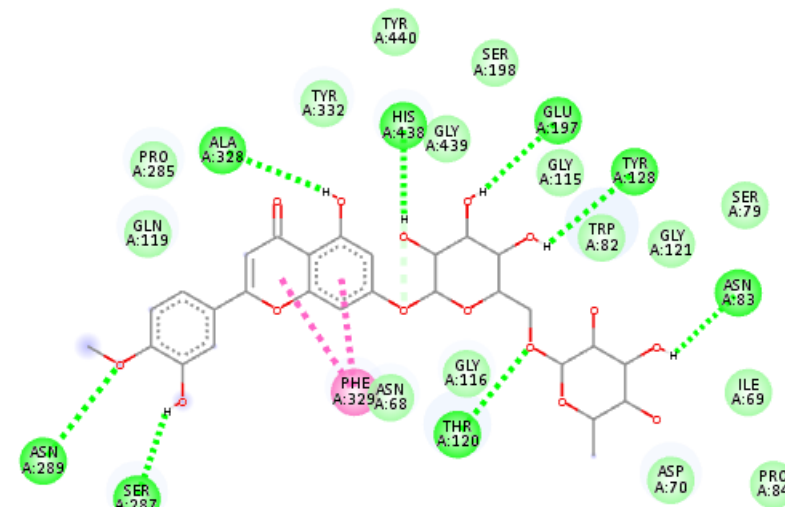
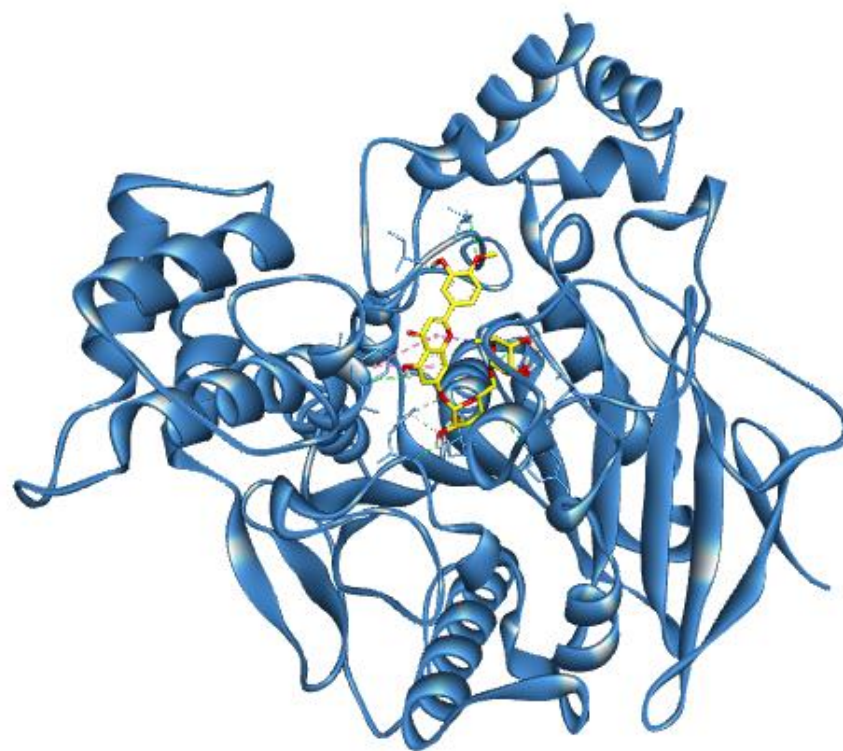
	Energie de liaison (Kcal/mol)	Interactions Hydrogènes	Interactions Hydrophobes	Interactions de Van der Waals	Interactions Electrostatiques
AChE-Apigénine 7-O-glucoside	-11.0	Val294, Phe338, His447, Trp86, Asp74, Tyr337, Tyr341, Tyr124	Trp286, Tyr341	Ser293, Arg296, Phe297, Gly121, Thr83, Trp439, Tyr72, His287	-
BChE-Diosmine	-10.3	Ala328, His438, Glu197, Tyr128, Asn83, Thr120, Ser287, Asn289	Phe329	Ser79, Ile69, Pro84, Asp70, Gly121, Trp82, Gly115, Ser198, Gly439, Tyr440, Tyr332, Pro285, Gln119	-
Alpha amylase-Neohéperidine	-9.6	Ile235, Thr163, His299, Asp300, Asp197	His201, Lys200	Tyr151, His305, Arg195, Gly306, Trp58, Tyr62, Tyr59, His101, Leu165, Leu162, Ala198, Val234	-
Uréase-Wogonine	-6.7	Cys321, Ala365, Asp362, His248	Cys321, Ala169, Met366, His248	Gln364, Asn168, Asp223, His221, His322, Glu222, Arg338, Gly280, Gly279	Met317
Tyrosinase-Apigénine	-7.8	Thr391, Ser394, Arg374, Arg321	Leu382, His381	Gly389, His377, His215, His192, Phe400, Pro395, Asn378	-

Ala : alanine ; Arg : Arginine ; Asn : Asparagine ; Cys : Cystéine ; Gln : Glutamine ; Glu : Acide glutamique ; Gly : Glycine ; His : Histidine ; Ile : Isoleucine ; Leu : Leucine ; Lys : Lysine ; Met : méthionin ; Phe : Phénylalanine ; Pro : Proline ; Ser : Sérine ; Thr : Thréonine ; Trp : Tryptophane ; Tyr : Tyrosine ; Val : Valine .



- Interactions**
- van der Waals
 - Conventional Hydrogen Bond
 - Carbon Hydrogen Bond
 - Pi-Donor Hydrogen Bond
 - Pi-Pi Stacked

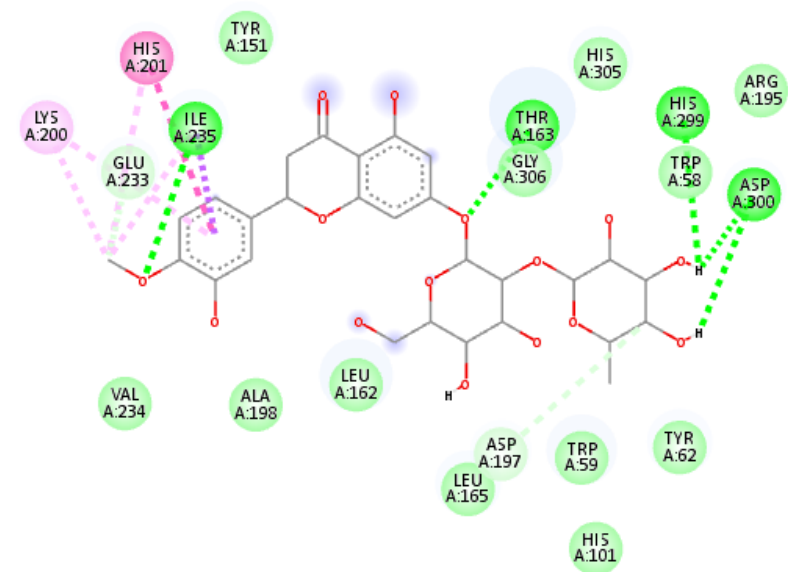
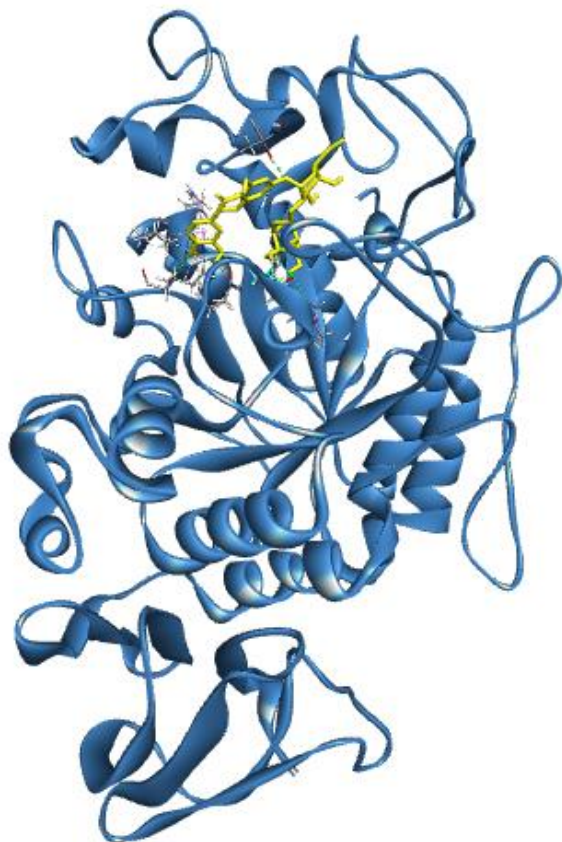
AChE-Apigénine 7-O-glucoside



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Pi-Pi Stacked

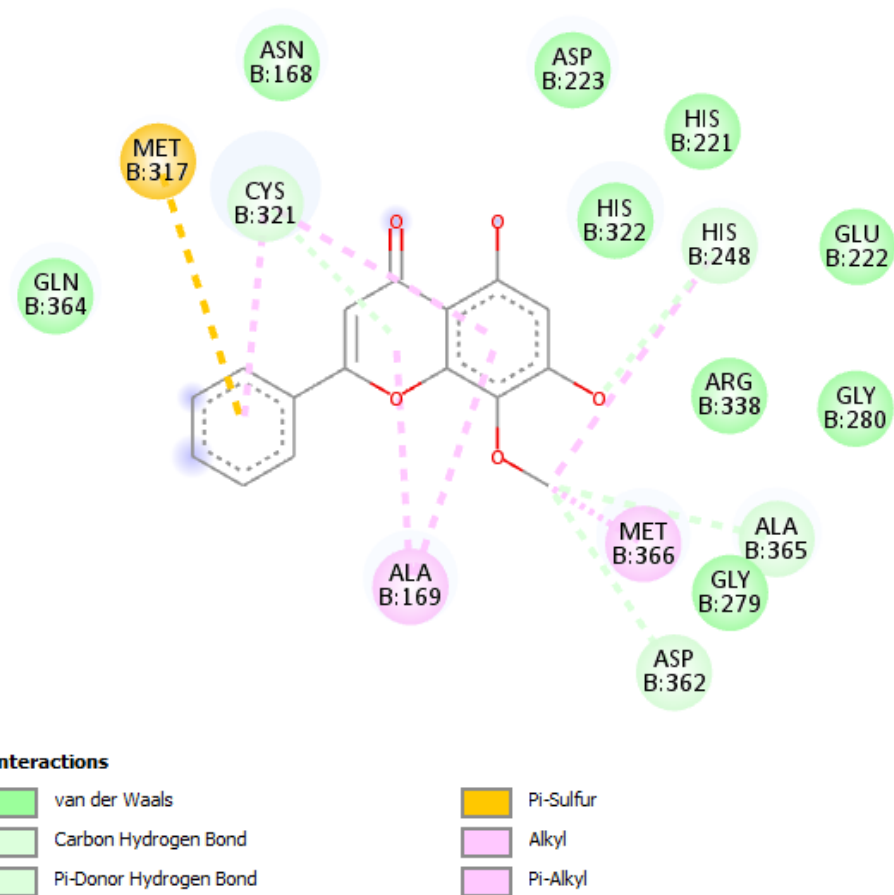
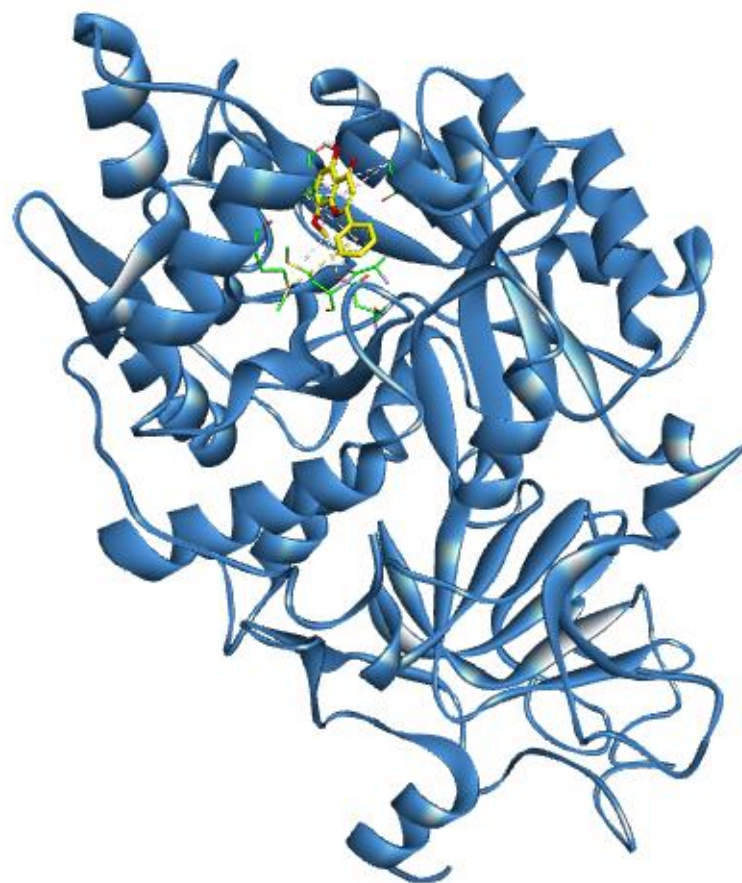
BChE-Diosmine



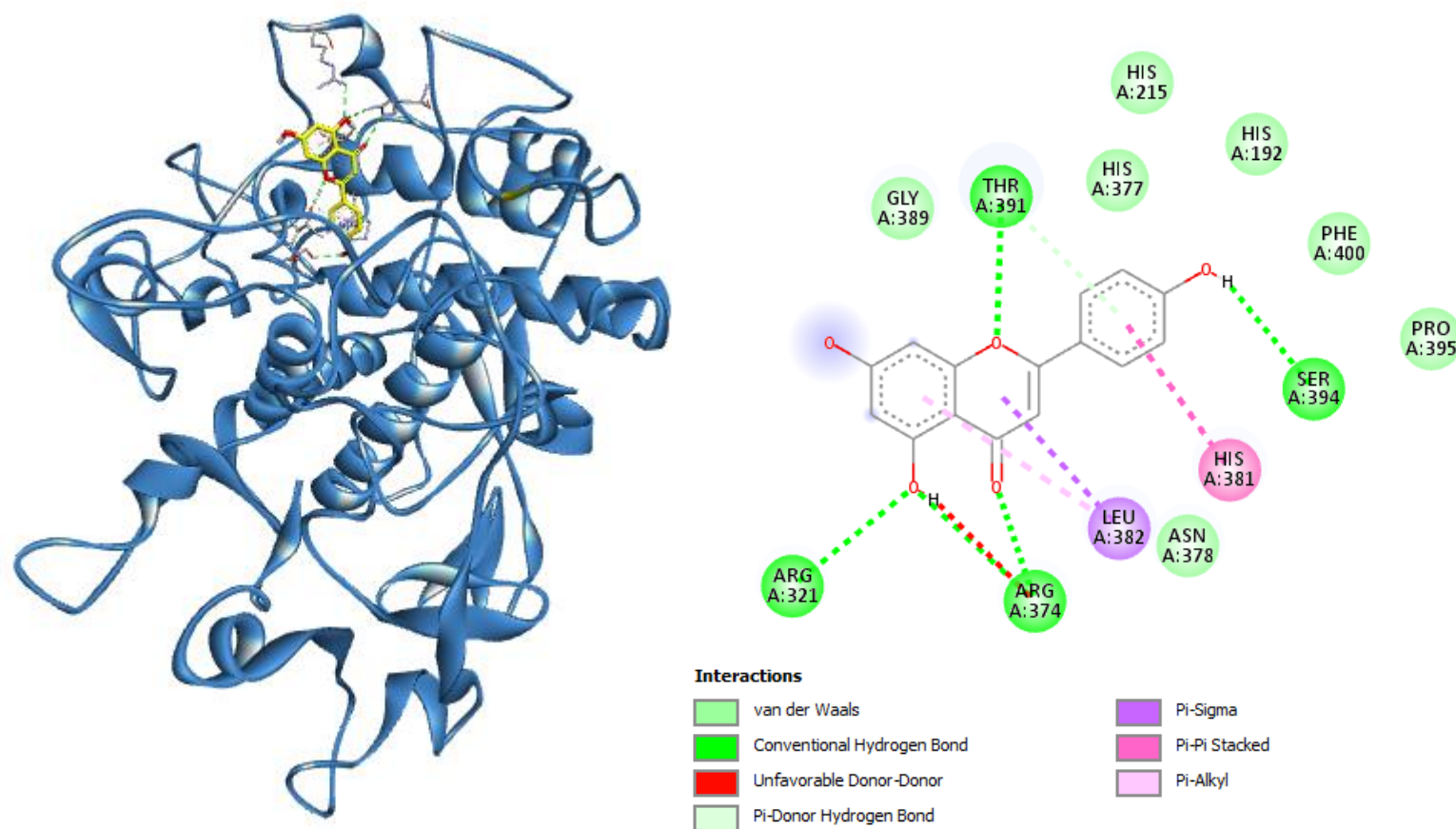
Interactions

- | | |
|---|---|
| van der Waals | Pi-Pi T-shaped |
| Conventional Hydrogen Bond | Alkyl |
| Carbon Hydrogen Bond | Pi-Alkyl |
| Pi-Sigma | |

Alpha amylase- Néohepéridine



Uréase-Wogonine



Tyrosinase-Apigénine

Figure 29. Illustrations 3D et 2D montrant les interactions entre les meilleurs ligands et leurs cibles enzymatiques respectivement

4.2. Prédiction des propriétés pharmacodynamiques des molécules vis-à-vis le Sars-Cov 2 et étude de l'effet anticancéreux

Les résultats du docking moléculaire contre la cible du Sars-Cov 2 avec les composants phénoliques de *Tamarix africana* sont résumés dans les **Tableaux 18** et 19 et illustrés dans le **Figure 30**. L'inhibiteur de référence nommé inhibiteur N3 de l'enzyme protéase de virus Sars-cov 2 a présenté un score énergétique de -8.6Kcal/mol. Les résultats montrent que six composants phénoliques ont donné des valeurs d'énergie de liaison inférieures ou égales au score de référence (**Tab. 19**), reflétant leur forte interaction avec les résidus clés du site catalytique de l'enzyme. Comme conséquences de cette forte interaction, un blocage de l'activité biologique protéasique normale est provoqué par l'occupation des acides aminés catalytiques, empêchant ainsi la fixation des ligands.

Pour l'enzyme protéase du Sars-Cov 2, la rutine a montré l'énergie de liaison la plus importante qui est de -8.6Kcal/mol (**Tab. 18** et **19**) ce qui lui qualifie du ligand le plus stable lors de son interaction avec l'enzyme. La rutine interagit avec le site catalytique en formant différents types d'interactions, dont 05 liaisons d'hydrogène avec Asn142, His163, Cys145, Met165, Tyr54 et une liaison hydrophobique avec résidus Met49, et une interaction électrostatique avec le résidu Cys145 (**Tab. 19 ; Fig. 30**). En plus cette molécule interagit avec l'enzyme en formant des attractions de types Van der Waals fortifiant d'avantage sa liaison au sein de la poche catalytique de l'enzyme.

Concernant l'étude de l'effet anticancéreux, selon les résultats obtenus pour les topoisomérases I et II et CDK-2, les composants donnent tous des scores supérieurs à ceux des références, donc les composants ne sont pas efficaces contre ses enzymes. Par ailleurs pour la kinase 6 dépendante de la cycline (CDK-6) 1XO2 le meilleur score a été noté pour l'apigénine avec une énergie de liaison de -10,5 Kcal/mol par rapport à la référence Fisetin - 10,4 Kcal/mol (**Tab. 18** et **19**). Ce ligand se lie avec Val101, Lys43, Glu61, His100 par des liaisons Hydrogène. En plus, les résidus Ala41, Leu152, Val27, Ala162, Lys43, Ile19 fournissent des interactions hydrophobes à cette molécule au sein de la poche catalytique. D'autre part, ce ligand forme de multiple interactions type Van der Waals (**Tab. 19 ; Fig. 30**).

Pour la caspase-3, l'inhibiteur de référence dérivé de l'isoquinoléine-1,3,4-trione a donné une énergie de liaison de -6,5 Kcal/mol. Par ailleurs, avec un score de -7,5 Kcal/mol, le Néohesperidine semble être le ligand avec la plus forte liaison moléculaire. Cette molécule a interagi avec l'enzyme en formant cinq liaisons d'hydrogène avec Thr166, Arg164, Ser120, Ser205, Ala162, il assure également onze liaisons hydrophobes avec Glu167, Gly202, Gly165, Gly122, His121, Arg64, Arg207, GLN161, Tyr204, Ile126, Tyr203, et une interaction électrostatique avec Glu123 (**Tab.19 ; Fig.30**)

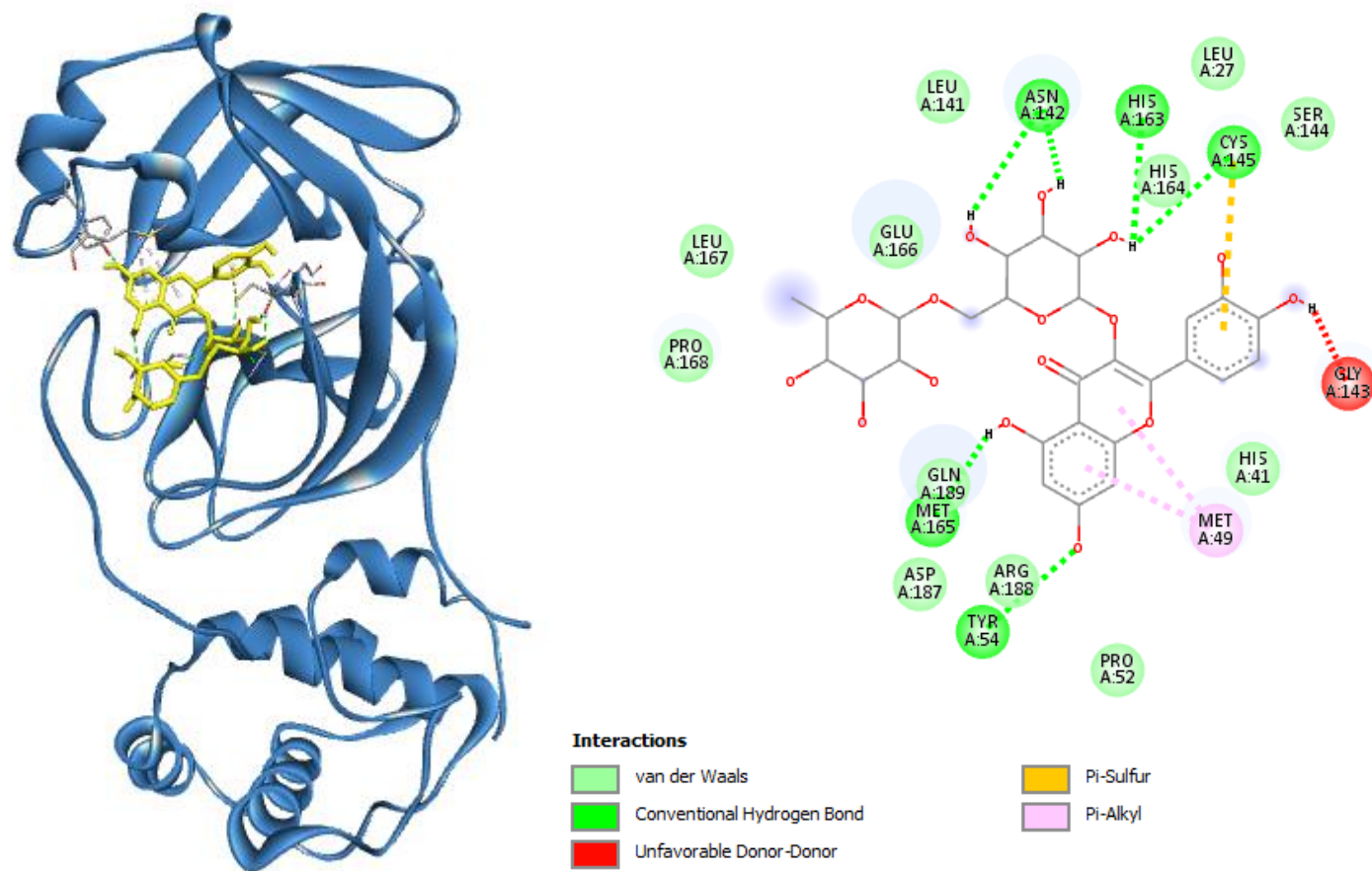
Tableau 18. Energie de liaison en Kcal/mol des composants phénoliques de la plante *Tamarix africana* avec les cibles du Sars-Cov2 et le cancer

		Cible de l'activité anti-Sars-Cov2		Cibles de l'activité anti-cancéreuse			
		COVID-19 main protease (6LU7)	Caspase-3 (3DEK)	cyclin-dependent kinase 2 (CDK-2)3EZV	cyclin-dependent kinase 6 (CDK-6) 1XO2	topoisomerase-I (Topo I) (1T8I)	Topoisomerase-II (Topo II) (3Qx3)
Molécules de référence	Inhibiteur N3	-7.4	-	-	-	-	-
	Dérivé Isoquinoline-1,3,4-trione	-	-6.5	-	-	-	-
	Indazole	-	-	-11.0	-	-	-
	Fisetin	-	-	-	-10.4	-	-
	Camptothecin	-	-	-	-	-5.5	-
	Ethoposide	-	-	-	-	-	-5.3
Composés phénoliques	Quercétine-3-glucoside	-8.4	-6.1	-8.3	-8.3	-4.1	-4.5
	Diosmine	-8.5	-6.9	-9.2	-6.0	-4.3	-5.0
	Apigénine	-7.7	-6.1	-9.0	-10.5	-4.1	-4.5
	Rutine	-8.6	-6.6	-8.1	-4.7	-5.0	-4.5
	Apigénine 7-O-glucoside	-7.7	-6.7	-8.6	-8.1	-4.6	-4.8
	Wogonine	-7.3	-5.7	-9.2	-10.4	-4.4	-4.4
	Quercétine	-7.4	-6.2	-8.8	-10.2	-4.7	-4.6
	Néohespéridine	-7.7	-7.5	-9.1	-5.9	-4.9	-5.0
Tangéritine	-6.8	-6.2	-7.7	-6.3	-4.2	-4.0	

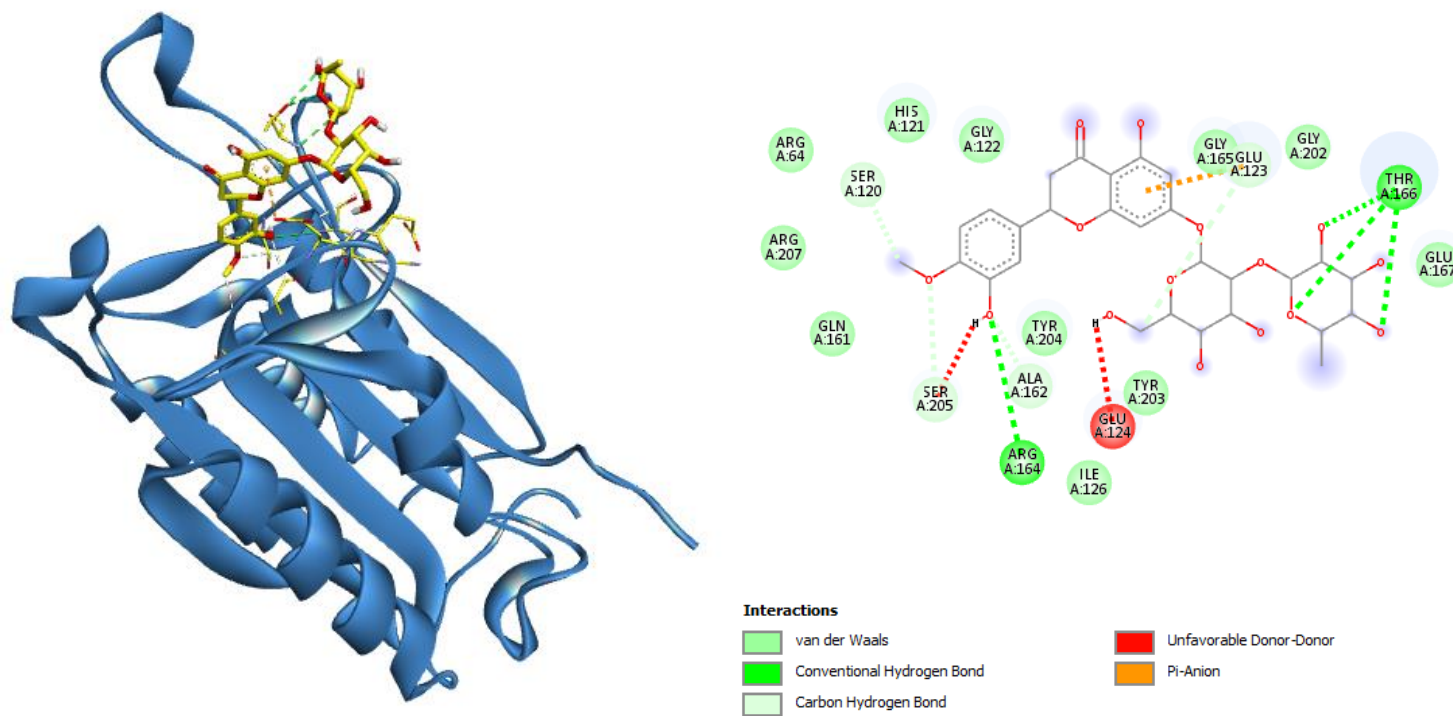
Tableau 19. Les interactions établis entre les meilleurs des ligands phénoliques de *Tamarix africana* avec les cibles du Sars-Cov2 et les cancers

	Energies de liaisons (Kcal/mol)	Interactions hydrogénéés	Interactions Hydrophobes	Interactions de Van der Waals	Interactions Electrostatiques
COVID-19 main protéase-Rutine	-8.6	Asn142, His163, Cys145, Met165, Tyr54	Met49	Leu27, Ser144, His164, Leu141, Glu166, Leu167, Pro168, Gln189, Asp187, Arg188, Pro52	Cys145
Caspase-3- Néohespéridine -	-7.5	Thr166, Arg164, Ser120, Ser205, Ala162	-	Glu167, Gly202, Gly165, Gly122, His121, Arg64, Arg207, GLN161, Tyr204, Ile126, Tyr203	Glu123
CDK-6-Apigénine	-10.5	Val101, Lys43, Glu61, His100	Ala41, Leu152, Val27, Ala162, Lys43, Ile19	Gln103, Glu99, Asp104, Val77, Asp163, Phe98, Phe164	-

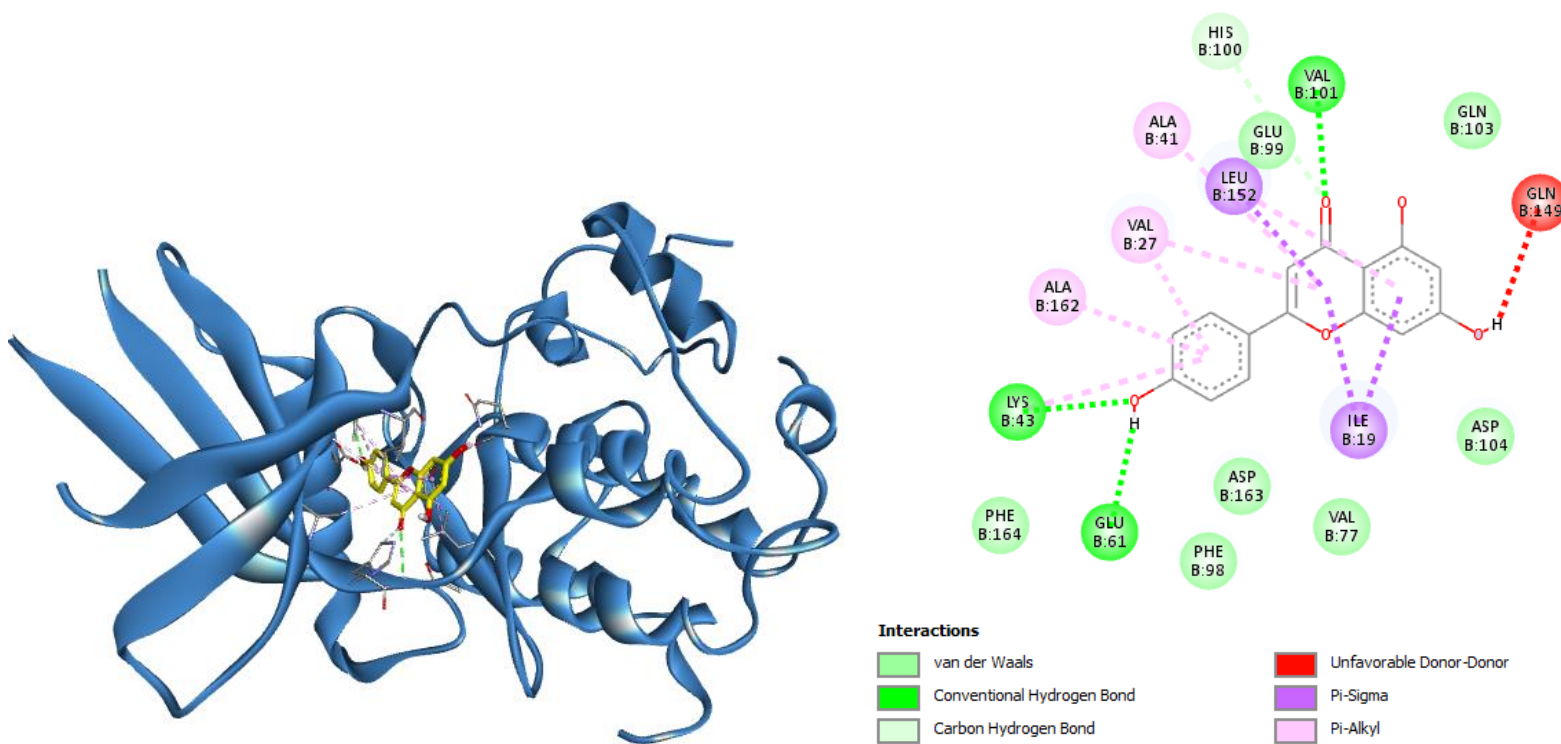
Ala : alanine ; Arg : Arginine ; Asn : Asparagine ; Cys : Cystéine ; Gln : Glutamine ; Glu : Acide glutamique ; Gly : Glycine ; His : Histidine ; Ile : Isoleucine ; Leu : Leucine ; Lys : Lysine ; Met : méthionin ; Phe : Phénylalanine ; Pro : Proline ; Ser : Sérine ; Thr : Thréonine ; Trp : Tryptophane ; Tyr : Tyrsine ; Val : Valine



Les interactions de la protéase principale du virus Sars-Cov 2 et la rutine



Néohepéridine -Caspase-3



Apigénine-CDK-6

Figure 30. Illustrations 3D et 2D montrant les interactions entre les meilleurs ligands et leurs cibles

5. Etude des activités pharmacologiques des extraits *in vitro*

5.1. Activité antioxydante

La capacité antioxydante des extraits et fractions des feuilles de *Tamarix africana* est évaluée à l'aide de huit méthodes présentant différents mécanismes et les résultats sont présentés dans les **Tableaux 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 et 27** sous forme de valeurs de pourcentage d'inhibition. Tandis que le **tableau 28** montre les valeurs de IC_{50} et $A_{0.5}$. L'ensemble des réactions entreprises est justifié par un mode d'action. Ainsi, pour évaluer l'activité anti-radicalaire des extraits, le DPPH., l'ABTS+ et le GOR. sont utilisés comme radicaux synthétiques pour évaluer l'effet anti-radicalaires. Alors que l'essai de phénanthroline, le pouvoir réducteur et le test de CUPRAC sont utilisés pour évaluer la capacité des extraits à réduire les ions de fer et de cuivre respectivement. Le système β -carotène/acide linoléique est utilisé pour évaluer la capacité des antioxydants à protéger contre la peroxydation des lipides. Enfin la capacité d'un antioxydant à réduire le permanganate est évalué en présence de l'ion permanganate MnO_4^- qui est un très bon oxydant.

5.1.1. Test de piégeage du radical DPPH \cdot

Dans cette étude, l'activité antiradicalaire des différents extraits et fractions des feuilles de *Tamarix africana* est évalué en déterminant les concentrations inhibitrices à 50 % (IC_{50}). Les résultats, exprimés en pourcentage et comparativement à un antioxydant standard (BHA, BHA), sont représentés dans le **tableau 20**. Il indique clairement que la capacité antioxydante est dose-dépendante avec un pourcentage d'inhibition élevé de $89,09 \pm 1,01\%$ pour la fraction *n*-BuOH à la concentration maximale testée 50 μ g/ml. Tandis que le pourcentage d'inhibition le plus faible est noté pour la fraction acétate d'éthyle $87,06 \pm 0,52 \%$. Par ordre décroissant, l'activité de piégeage du radicale libre DPPH exprimée en IC_{50} est comme suit : la fraction *n*-BuOH $IC_{50} = 2,91 \pm 0,08 \mu$ g/ml suivie par l'extrait acétonique $IC_{50} = 3,13 \pm 0,23 \mu$ g/ml, la fraction acétate d'éthyle $IC_{50} = 5,68 \pm 0,06 \mu$ g/ml, l'extrait MeOH $IC_{50} = 7,80 \pm 0,11 \mu$ g/ml et la fraction aqueuse $IC_{50} = 11,49 \pm 0,83 \mu$ g/ml (**Tab. 28**).

Tableau 20. Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) des extraits et fractions des feuilles de *Tamarix africana* dans le test DPPH

Extraits/ Fractions/ Standards	Pourcentage d'inhibition DPPH (%)						
	Concentration (µg/mL)						
	0,78125 µg	1,5625µg	3,125µg	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg
BHT	20,09±2,33	31,30±1,37	37,71±3,01	47,54±0,13	62,16±2,11	77,60±0,83	88,33±0,38
BHA	8,52±1,67	3,97±1,92	12,94±4,21	26,68±0,18	47,12±2,95	68,69±1,17	83,69±0,54
MeOH	0,16±0,53 ^{ab}	11,22±0,64 ^{ab}	15,60±0,54 ^a	42,27±0,38 ^{cc}	75,78±0,38 ^a	87,55±0,08 ^a	87,62±0,15 ^a
AE	2,83±0,60 ^{ab}	15,58±0,18 ^a	27,74±0,82 ^b	54,18±0,60 ^{ab}	81,71±1,38 ^b	86,97±0,60 ^b	87,06±0,52^a
n-BuOH	16,17±1,09 ^{ab}	32,36±1,02 ^a	52,35±1,25 ^{ab}	87,62±1,26 ^a	88,05±0,83 ^b	88,69±0,56 ^b	89,09±1,01^{ab}
Aqueux	1,95±0,81 ^b	9,31±0,76 ^b	15,09±0,08 ^{ab}	25,76±2,21 ^a	53,42±2,72	82,83±0,68 ^a	87,42±0,51 ^{ab}
Acétone	4,03±0,18 ^{ns}	17,36±1,21 ^a	31,34±1,66 ^b	80,21±1,12 ^b	85,86±0,18 ^b	88,64±0,28 ^a	SAT

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnett multiple. Niveau de signification p < 0,001 ; extraits vs. Différentes substances standard ; ^ap < 0,001 est statistiquement significatif par rapport au butylated hydroxyanisole (BHA), ^bp < 0,001 au butylated hydroxytoluene (BHT), NA : non actif. ns : non significatif, SAT : saturation, MeOH : extrait méthanolique, AE : fraction acétate d'éthyle, n-BuOH : fraction n-butanolique.

5.1.2. Réduction des radicaux cationiques ABTS^{•+}

Les résultats de réduction des radicaux cationiques des extraits des feuilles de *Tamarix africana* sont illustrés dans le **tableau 21**. Il ressort que le pouvoir antioxydant des extraits et leurs fractions est également dose-dépendante avec un pourcentage d'inhibition élevé 93,80 ± 1,09% pour la fraction n-BuOH à la concentration maximale testée 50 µg/ml, tandis que le pourcentage d'inhibition le plus faible est noté pour l'extrait acétonique 90,44 ± 0,49%. Les résultats du test de piégeage de cation ABTS^{•+}, ont révélé par ordre décroissant exprimée en IC₅₀ est comme suit que ; l'extrait MeOH montre une IC₅₀ très faible IC₅₀=2.01±0.11 µg/ml, suivie par la fraction AE IC₅₀= 4.34±0.03 µg/ml, n-BuOH IC₅₀=4.73 ± 0.56 µg/ml, la fraction aqueuse IC₅₀= 7.08 ± 0.21 µg/ml et l'extrait acétonique IC₅₀= 43.10±0.72 µg/ml. Les valeurs obtenues étaient relativement proches à celles des standards BHA IC₅₀=1.29±0.30 µg/ml, BHT IC₅₀=1.81±0.10 µg/ml (**Tab. 28**).

Tableau 21 Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) des extraits et fractions de *Tamarix africana* dans le test ABTS^{•+}

Extraits/ Fractions/ Standards	Pourcentage d'inhibition ABTS ^{•+} (%)						
	Concentration (µg/mL)						
	0,78125 µg	1,5625µg	3,125µg	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg
BHT	35,61±0,75	58,56±3,22	75,57±8,07	92,29±1,60	93,15±0,19	94,06±0,63	97,31±0,26
BHA	31,47±1,60	34,13 ±1,31	40,28±2,88	49,71±0,12	63,72±2,02	78,52±0,80	96,81±0,37
MeOH	4,91±0,01 ^{ce}	10,71±0,11 ^{ce}	55,19 ±2,71 ^{cd}	88,59±0,54 ^a	91,35±0,86 ^b	92,04±0,57 ^a	92,48±0,00 ^a
AE	9,59±2,75 ^{ab}	18,62±2,40 ^{ab}	37,41±0,26 ^{ab}	70,36±0,17 ^b	92,86±0,10 ^{ab}	93,03±0,49 ^b	93,20±0,10 ^b
n-BuOH	6,65±1,49 ^{ce}	8,13±0,96 ^{cd}	26,89±1,81 ^{ce}	53,58±2,79 ^{ns}	90,40±0,63 ^a	91,80±0,97 ^b	93,80±1,09^{ab}
Aqueux	8,49±0,17 ^{cde}	13,68±0,43 ^b	26,68±1,57 ^{cd}	39,78±0,80 ^a	87,80±2,20 ^d	92,20±0,17 ^c	92,37±0,17 ^b
Acétone	7,09±0,46 ^b	17,36±1,93 ^{ab}	31,15±1,38 ^{cd}	57,22±0,59 ^d	87,31±0,92 ^b	90,19±2,54 ^{ce}	90,44±0,49^{ab}

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Niveau de signification p < 0,001 ; extraits vs. Différentes substances standard ; ap < 0,001 est statistiquement significatif par rapport au butylated hydroxyanisole (BHA), bp < 0,001 au butylated hydroxytoluene (BHT), NA : non actif. ns : non significatif, SAT : saturation, MeOH : extrait méthanolique, AE : fraction acétate d'éthyle, n-BuOH : fraction n-butanolique.

5.1.3. Capacité antioxydante réductrice cuivrique (CUPRAC)

Le test de CUPRAC est une réaction de réduction du complexe cuivre-néocuproïne [Nc₂-Cu²⁺], les absorbances ont évoluées de manière dose-dépendante et le dosage de cette réaction est mesuré à titre de valeurs A_{0.5} des extraits et fractions de *Tamarix africana* ainsi que les standards BHA et BHT. Cependant, le résultat obtenu dans le test montre l'extrait MeOH était plus efficace avec un taux d'absorbance maximum de 1,54 ± 0,16, alors que l'extrait acétonique a montré l'absorbance la plus faible 0,50 ± 0,11 pour les mêmes concentrations testées (50 µg/ml) (Tab. 22). Il est également intéressant de signaler que la fraction n-BuOH possède une excellente activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne A_{0.5}=10,41 ± 0,43 µg/ml, suivie par la fraction AE avec A_{0.5}=11,13 ± 2,65 µg/ml, l'extrait acétonique A_{0.5}= 12,91 ± 1,21 µg/ml l'extrait MeOH A_{0.5}= 13,94 ± 0,72 µg/ml, et enfin la fraction aqueuse A_{0.5}=17,19 ± 0,92 µg/ml. (Tab. 28).

Tableau 22 Capacité antioxydante (Absorbances) et $A_{0.5}$ des extraits et fractions de *Tamarix africana* dans le test du test CUPRAC.

Extraits/ Fractions/ Standards	Les absorbances du test CUPRAC						
	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)						
	0,78125 μg	1,5625 μg	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg
BHT	0,23 \pm 0,01	0,32 \pm 0,01	0,48 \pm 0,03	0,76 \pm 0,02	1,08 \pm 0,05	1,56 \pm 0,08	2,20 \pm 0,03
BHA	0,33 \pm 0,02	0,60 \pm 0,04	0,91 \pm 0,02	1,35 \pm 0,07	2,03 \pm 0,09	2,91 \pm 0,37	3,60 \pm 0,19
MeOH	0,13 \pm 0,01 ^{ab}	0,15 \pm 0,01 ^{ce}	0,21 \pm 0,03 ^a	0,30 \pm 0,01 ^{ab}	0,46 \pm 0,05 ^a	0,79 \pm 0,05 ^c	1,54\pm0,16^{cd}
AE	0,17 \pm 0,01 ^c	0,23 \pm 0,03 ^{ce}	0,25 \pm 0,02 ^{cde}	0,35 \pm 0,05 ^{cde}	0,56 \pm 0,08 ^{cd}	0,86 \pm 0,04 ^{ce}	1,37 \pm 0,11 ^{ab}
n-BuOH	0,17 \pm 0,01 ^{ab}	0,20 \pm 0,01 ^{cd}	0,25 \pm 0,02 ^{ab}	0,37 \pm 0,01 ^b	0,57 \pm 0,02 ^{ce}	0,86 \pm 0,07 ^{cde}	1,35 \pm 0,12 ^{ce}
Aqueux	0,13 \pm 0,01 ^{cd}	0,16 \pm 0,01 ^{ab}	0,20 \pm 0,03 ^{cd}	0,27 \pm 0,03 ^{cde}	0,41 \pm 0,01 ^{ab}	0,66 \pm 0,02 ^{ab}	1,01 \pm 0,05 ^b
Acétone	0,16 \pm 0,04 ^d	0,18 \pm 0,02 ^{cd}	0,22 \pm 0,00 ^a	0,31 \pm 0,04 ^{abc}	0,48 \pm 0,05 ^d	0,85 \pm 0,02 ^{ce}	0,50\pm0,11^{ab}

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Niveau de signification $p < 0,001$; extraits vs. Différentes substances standard ; ^a $p < 0,001$ est statistiquement significatif par rapport au butylated hydroxyanisole (BHA), ^b $p < 0,001$ au butylated hydroxytoluene (BHT), NA : non actif. ns : non significatif, SAT : saturation, MeOH : extrait méthanolique, AE : fraction acétate d'éthyle, n-BuOH : fraction n-butanolique.

5.1.4. Pouvoir réducteur (FRAP)

Le suivi de cette activité est basé sur l'aptitude des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) de couleur jaune en fer ferreux (Fe^{+2}) de couleur bleu verte en mesurant les valeurs de $A_{0.5}$ et par comparaison avec les standards acide ascorbique, acide tannique et α -tocophérol. Les résultats obtenus montrent que les absorbances ont évoluées de manière dose-dépendante. Cependant, le résultat obtenu dans le test montre la fraction AE était plus efficace avec un taux d'absorbance maximum de $2,63 \pm 0,19$, alors que l'extrait acétonique a montré l'absorbance la plus faible $0,93 \pm 0,09$ pour les mêmes concentrations testées (50 $\mu\text{g/ml}$) (**Tab. 23**). Les extraits et fractions de *Tamarix africana* ont une capacité de réduire le fer. Le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par la fraction n-BuOH avec une valeur $A_{0.5} = 1,72 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$, suivie par fraction acétate d'éthyle $A_{0.5} = 2,73 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$, l'extrait MeOH $A_{0.5} = 3,93 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$ et l'extrait acétonique $A_{0.5} = 4,91 \pm 0,42 \mu\text{g/ml}$. Néanmoins, l'activité la plus faible est attribuée à la fraction aqueuse avec $A_{0.5} = 6,44 \pm 0,32 \mu\text{g/ml}$ mais qui reste relativement importante par rapport à α -tocophérol ou $A_{0.5} = 34,93 \pm 2,38 \mu\text{g/ml}$ (**Tab. 28**).

Tableau 23 Capacité antioxydante (Absorbances) et A_{0.5} des extraits et fractions de *Tamarix africana* dans le test du pouvoir réducteur (FRAP)

Extraits/ Fractions/ Standards	Les absorbances du test pouvoir réducteur (FRAP)						
	Concentration (µg/mL)						
	0,78125 µg	1,5625 µg	3,125 µg	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg
Alpha tocophérol	NA	NA	0,11±0,00	0,16±0,00	0,21±0,03	0,35±0,03	0,73±0,03
Acide tannique	NA	0,10±0,05	0,28±0,02	0,78±0,06	1,02±0,07	1,24±0,18	0,86±0,6
Acide ascorbique	0,09±0,00	0,11±0,00	0,16±0,01	0,33±0,04	0,76±0,16	2,02±0,23	3,87±0,27
MeOH	0,17±0,00 ^a	0,21±0,02 ^c	0,28±0,01 ^{ce}	0,46±0,04 ^{ce}	0,69±0,07 ^{cd}	1,06±0,08 ^{ab}	1,44±0,23 ^{ab}
AE	0,14±0,01 ^a	0,19±0,02 ^{ce}	0,35±0,06 ^{ce}	0,50±0,03 ^a	1,08±0,06	1,56±0,05 ^c	2,63±0,19^a
<i>n</i>-BuOH	0,18±0,01 ^{ab}	0,25±0,05 ^{ab}	0,40±0,05 ^a	0,86±0,03 ^{ab}	1,00±0,04 ^{ce}	1,32±0,09 ^{cd}	1,82±0,52 ^{ce}
Aqueux	0,16±0,03 ^{ce}	0,17±0,01 ^{ce}	0,24±0,02 ^{ce}	0,29±0,01 ^{ab}	0,49±0,08 ^{ab}	0,89±0,05 ^a	1,15±0,03 ^c
Acétone	0,12±0,01 ^{ab}	0,19±0,03 ^{cd}	0,26±0,03 ^{ce}	0,37±0,04 ^{ns}	0,60±0,04	0,91±0,09 ^{ab}	0,93±0,09^a

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Niveau de signification p < 0,001 ; extraits vs. Différentes substances standard ; ^ap < 0,001 est statistiquement significatif par rapport au butylated hydroxyanisole (BHA), ^bp < 0,001 au butylated hydroxytoluene (BHT), ^cp < 0,001 à l'acide ascorbique, ^ep < 0,001, à l'α-tocophérol, ^dp < 0,001 à l'acide ascorbique, ^ep < 0,001 à l'acide tannique, NA : non actif. ns : non significatif, SAT : saturation MeOH : extrait méthanolique, AE : fraction acétate d'éthyle, *n*-BuOH : fraction *n*-butanolique.

5.1.5. Test de piégeage de Galvinoxyle (GOR)

L'étude de cette activité basée sur la mesure de la capacité d'une substance à réduire le radical stable de galvinoxyl (Gox•) ; en comparaison avec les concentrations inhibitrices (IC₅₀) de deux antioxydants standards (BHA et BHT). Les résultats montrent que les extraits et leurs fractions évoluaient de manière dose-dépendante (**Tab. 24**), contre le radical libre GOR• avec un pourcentage d'inhibition élevé 82,49 ± 1,05% pour la fraction acétate d'éthyle à la concentration maximale testée 50 µg/ml, tandis que le pourcentage d'inhibition le plus faible est noté pour l'extrait acétonique 72,76 ± 0,03 %. En revanche, les extraits et fractions de *Tamarix africana* ont montré un piégeage radicalaire intéressant contre le radical GOR• avec une valeur d'IC₅₀ très faible IC₅₀=3,17 ± 0,09 µg/ml pour l'extrait acétonique suivie par l'extrait MeOH IC₅₀=5,99 ± 0,22 µg/ml, la fraction aqueuse IC₅₀= 7,44 ± 0,75 µg/ml, la fraction AE IC₅₀= 7,84 ± 0,20 µg/ml.

Par ailleurs, l'activité la plus faible est notée pour la fraction *n*-BuOH IC₅₀=8,92 ± 0,11 µg/ml (Tab. 28).

Tableau 24 Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) des extraits et fractions de *Tamarix africana* dans le test GOR•

Extraits/ Fractions/ Standards	Pourcentage d'inhibition du radical GOR• (%)						
	Concentration (µg/mL)						
	0,78125 µg	1,5625 µg	3,125 µg	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg
BHT	27,66±1,62	39,11±2,34	58,67±0,94	69,65±0,04	70,02±0,50	72,44±0,23	73,61±0,10
BHA	25,99±2,56	39,15±0,88	46,67±0,27	62,27±1,40	71,46±0,29	73,25±0,41	73,78±0,17
MeOH	NA	NA	7,99±1,03 ^{cde}	30,82±1,61 ^c	69,21±0,52 ^{cd}	72,71±0,24 ^a	74,70±1,20 ^{ab}
AE	2,65±0,58 ^{ce}	4,73±0,10 ^c	13,89±1,19 ^{ab}	45,12±0,45 ^b	73,31±0,95 ^{ce}	77,68±1,63 ^b	82,49±1,05^a
<i>n</i>-BuOH	3,23±0,23 ^{cd}	9,82±0,77 ^{ce}	14,98±0,17 ^c	40,76±2,06 ^{cd}	67,65±0,86 ^{ab}	74,24±1,01 ^{ce}	76,22±0,90 ^b
Aqueux	NA	NA	3,50±1,63 ^{cde}	28,58±0,09 ^c	55,67±1,43 ^{cd}	76,22±1,22 ^c	77,71±0,11 ^{ce}
Acétone	7,88±0,67 ^{ce}	8,27±0,91 ^d	21,67±0,49 ^a	69,73±0,11 ^b	71,51±1,21 ^{ce}	72,73±0,25 ^a	72,76±0,03^{ab}

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnett multiple. Niveau de signification p < 0,001 ; extraits vs. Différentes substances standard ; ^ap < 0,001 est statistiquement significatif par rapport au butylated hydroxyanisole (BHA), ^bp < 0,001 au butylated hydroxytoluene (BHT), NA : non actif. ns : non significatif, SAT : saturation, MeOH : extrait méthanolique, AE : fraction acétate d'éthyle, *n*-BuOH : fraction *n*-butanolique.

5.1.6. Inhibition du blanchiment de l'acide β-carotène-linoléique

Les antioxydants transfèrent des atomes d'hydrogène aux peroxydes formés au cours de l'oxydation de l'acide linoléique et les convertit en hydroperoxydes laissant les molécules de β-carotène intactes et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β-carotène. D'après les résultats, les extraits et les fractions de *Tamarix africana* testés inhibent d'une manière hautement significative l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β-carotène. En effet, la fraction acétate d'éthyle présente le plus grand effet inhibiteur vis-à-vis de la peroxydation lipidique à la concentration 50 µg/ml avec un pourcentage d'inhibition 99,67 ± 0,00 %, alors que, l'extrait MeOH a montré le pourcentage d'inhibition le plus faible 71,21 ± 1,95 % (Tab. 25). L'extrait acétonique a montré l'activité antioxydante la plus élevée IC₅₀= 3,13 ± 0,23 µg/ml, suivi par la fraction AE IC₅₀= 4,22 ± 0,02 µg/ml, la fraction *n*-BuOH IC₅₀=19,01 ± 0,12 µg/ml et la fraction aqueuse IC₅₀= 21,87 ± 1,28 µg/ml. Cependant, l'extrait MeOH montré une activité plus faible IC₅₀=31,90 ± 0,71 µg/ml (Tab. 28).

Tableau 25 Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) et des extraits et fractions de *Tamarix africana* dans le test du blanchiment de l'acide β -carotène-linoléique

Extraits/ Fractions/ Standards	Inhibition du blanchiment de l'acide β -carotène-linoléique (%)						
	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)						
	0,78125 μg	1,5625 μg	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg
BHT	63,76 \pm 0,43	72,52 \pm 0,81	81,14 \pm 0,84	86,0,9 \pm 1,04	87,52 \pm 4,24	91,67 \pm 0,52	94,11 \pm 0,40
BHA	65,55 \pm 0,80	74,24 \pm 0,24	84,23 \pm 1,14	90,11 \pm 0,68	94,59 \pm 0,77	96,09 \pm 0,02	97,35 \pm 1,08
MeOH	NA	10,76 \pm 0,50 ^{cd}	11,62 \pm 1,29 ^c	20,13 \pm 0,46 ^c	26,52 \pm 1,02 ^c	42,66 \pm 0,95 ^c	71,21\pm1,95^{ab}
AE	19,00 \pm 0,68 ^{cd}	23,75 \pm 0,47 ^{cd}	37,98 \pm 1,10 ^c	70,88 \pm 1,28 ^{ce}	88,90 \pm 2,09 ^{ns}	93,76 \pm 1,93 ^{ce}	99,67\pm0,00^a
n-BuOH	9,77 \pm 0,97 ^{ce}	16,46 \pm 1,20 ^{cde}	18,47 \pm 0,28 ^c	25,33 \pm 1,32 ^b	37,80 \pm 0,22 ^b	61,39 \pm 0,01 ^a	87,27 \pm 1,70 ^{ab}
Aqueux	0,81 \pm 1,95 ^{ns}	9,31 \pm 0,76 ^c	15,09 \pm 0,08 ^c	25,76 \pm 1,21 ^{ab}	53,42 \pm 2,72 ^{ns}	82,83 \pm 0,68 ^b	87,42 \pm 0,51 ^a
Acétone	4,03 \pm 0,18 ^{cde}	17,36 \pm 1,21 ^d	31,34 \pm 1,66 ^c	80,21 \pm 1,12 ^{ce}	85,86 \pm 0,18 ^b	88,64 \pm 0,28 ^{ab}	SAT

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnett multiple. Niveau de signification $p < 0,001$; extraits vs. Différentes substances standard ; ^a $p < 0,001$ est statistiquement significatif par rapport au butylated hydroxyanisole (BHA), ^b $p < 0,001$ au butylated hydroxytoluene (BHT), NA : non actif. ns : non significatif, SAT : saturation, MeOH : extrait méthanolique, AE : fraction acétate d'éthyle, n-BuOH : fraction n-butanolique.

5.1.7. Test de la phénanthroline

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe^{+2} - phénanthroline de couleur rouge-orangé est formé. Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs de $A_{0.5}$ des extraits de la plante et celles des standards BHA et BHT. Les résultats obtenus par cette activité montrent que tous les extraits sont révélés capables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} - phénanthroline. Les résultats obtenus montrent que les absorbances ont évoluées de manière dose-dépendante. Cependant, le résultat obtenu dans le test montre que l'extrait MeOH était plus efficace avec un taux d'absorbance maximum de $1,28 \pm 0,12$, alors que la fraction n-BuOH a montré l'absorbance la plus faible $0,54 \pm 0,00$ pour les mêmes concentrations testées (50 $\mu\text{g/ml}$) (**Tab. 26**). A partir du Tableau, l'extrait MeOH a le pouvoir réducteur le plus important $A_{0.5}=0,20 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$ suivi par l'extrait acétonique $A_{0.5}=0,75 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$, la fraction AE $A_{0.5}=0,28 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$ et la fraction aqueuse $A_{0.5}=1,52 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$. Tandis que l'activité la plus faible est notée pour la fraction n-BuOH $A_{0.5}=10,44 \pm 0,20 \mu\text{g/ml}$ (**Tab. 28**)

Tableau 26 Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) et A_{0.5} des extraits et fractions de *Tamarix africana* dans le test de la phénanthroline

Extraits/ Fractions/ Standards	Les absorbances du test de la phénanthroline						
	Concentration (µg/mL)						
	0,78125 µg	1,5625 µg	3,125 µg	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg
BHT	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01
BHA	0,49±0,01	0,59±0,01	0,73±0,02	0,93±0,01	1,25±0,04	2,10±0,05	4,89±0,06
MeOH	0,43±0,09 ^{ce}	0,51±0,04 ^c	0,59±0,10 ^{ab}	0,60±0,07 ^b	0,67±0,04 ^{ab}	0,97±0,14 ^b	1,28±0,12^{ab}
AE	0,44±0,03 ^c	0,46±0,02 ^{ce}	0,51±0,02 ^{cde}	0,56±0,05 ^c	0,62±0,08 ^{ce}	0,79±0,08 ^b	1,20±0,11 ^{ce}
n-BuOH	0,26±0,01 ^a	0,30±0,01 ^a	0,37±0,01 ^{ab}	0,39±0,02 ^{ab}	0,39±0,01 ^{ab}	0,41±0,00 ^a	0,54±0,00^a
Aqueux	0,40±0,01 ^{ab}	0,45±0,01 ^a	0,47±0,00 ^a	0,49±0,00 ^a	0,61±0,04 ^{ce}	0,84±0,07 ^b	1,25±0,22 ^{ab}
Acétone	0,43±0,00	0,52±0,02 ^{ce}	0,52±0,00 ^a	0,53±0,02 ^{ab}	0,54±0,07 ^{cd}	0,73±0,03 ^{bc}	1,06±0,05 ^{abc}

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnett multiple. Niveau de signification p < 0,001 ; extraits vs. Différentes substances standard ; ^ap < 0,001 est statistiquement significatif par rapport au butylated hydroxyanisole (BHA), ^bp < 0,001 au butylated hydroxytoluene (BHT), ^cp < 0,001 à l'acide ascorbique, ^ep < 0,001, à l'α-tocophérol, ^dp < 0,001 à l'acide ascorbique, ^ep < 0,001 à l'acide tannique, NA : non actif. ns : non significatif, SAT : saturation MeOH : extrait méthanolique, AE : fraction acétate d'éthyle, n-BuOH : fraction n-butanolique.

5.1.8. Capacité de l'antioxydant réducteur de permanganate (Prac)

Permanganate de potassium est un réactif redox-actif. Il est utilisé pour évaluer la capacité antioxydante totale des extraits bruts ou des produits synthétiques. L'ion MnO₄⁻ a été observé comme étant un pro-oxydant dans le milieu alcalin, il est relativement non toxique et pourrait être mesuré spectrophotométriquement. La décoloration de la solution de permanganate indique une augmentation du pouvoir réducteur des antioxydants. L'activité de piégeage de permanganate de potassium des différents extraits et fractions est exprimée sous forme d'IC₅₀ et comparée avec l'acide ascorbique et le Trolox comme standards (**Tab. 27**). Les résultats de l'activité antioxydante ont montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé était 91,48 ± 0,25 % pour la fraction aqueuse à la concentration 50 µg/ml, tandis que le pourcentage d'inhibition le plus faible était de 55,68 ± 0,90 % pour l'extrait MeOH. La fraction aqueuse présente la meilleure capacité de piégeage de KMnO₄ avec une IC₅₀ = 5,68 ± 0,04 µg/ml suivie par la fraction AE IC₅₀ = 14,65 ± 0,45 µg/ml, la fraction n-BuOH IC₅₀ = 16,57 ± 0,48 µg/ml, l'extrait acétonique IC₅₀ = 17,17 ± 0,53 µg/ml. D'autre part l'extrait MeOH a montré l'activité la plus faible en terme d'IC₅₀ IC₅₀ = 20,97 ± 2,11 µg/ml (**Tab. 28**).

Tableau 27. Capacité antioxydante (pourcentage d'inhibition %) et IC₅₀ des extraits et fractions de *Tamarix africana* dans le test de réduction de permanganate (Prac)

Extraits/ Fractions/ Standards	Capacité de l'antioxydant réducteur de permanganate (Prac) (%)						
	Concentration (µg/mL)						
	0,78125 µg	1,5625 µg	3,125 µg	6,25µg	12,5µg	25µg	50µg
Acide ascorbique	35,61±0,75	58,56±3,22	75,57±8,07	92,29±1,60	93,15±0,19	94,06±0,63	97,31±0,26
Trolox	31,47±1,60	34,13 ±1,31	40,28±2,88	49,71±0,12	63,72±2,02	78,52±0,80	96,81±0,37
MeOH	10,99±0,01 ^c	18,20±0,30 ^d	27,20±1,01 ^{cd}	35,45±0,24 ^c	40,56±0,60 ^{ab}	43,04±1,40 ^{cde}	55,68±0,90^{ab}
AE	23,59±1,75 ^d	28,22±0,09 ^a	37,41±0,26 ^{ab}	41,16±0,07 ^a	49,86±0,19 ^{ab}	60,43±0,19 ^{ab}	70,74±1,58 ^{bc}
n-BuOH	23,65±1,49 ^c	25,35±1,12 ^d	26,89±1,81 ^{ce}	27,89±0,84 ^{ac}	32,09±0,62 ^a	40,02±0,74 ^b	66,67±1,17 ^{ab}
Aqueux	38,49±0,17 ^c	43,20±0,24 ^b	49,68±1,06 ^c	56,10±0,09 ^a	75,10±1,20 ^c	83,20±0,37 ^c	91,48±0,25^b
Acétone	27,09±0,46 ^b	30,36±0,93 ^a	37,67±1,23 ^{cd}	42,22±0,59 ^c	49,31±0,92 ^b	56,19±1,04 ^{ce}	72,92±1,68 ^{ab}

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test deDunnet multiple. Niveau de signification p< 0,001 ; extraits vs. Différentes substances standard ; ^ap< 0,001 est statistiquement significatif par rapport a l'acide ascorbique, ^bp< 0,001 au Trolox, ^cp< 0,001 à l'acide ascorbique, NA : non actif. ns : non significatif, SAT : saturation, MeOH : extrait méthanolique, AE : fraction acétate d'éthyle, n-BuOH : fraction n-butanolique.

Tableau 28. Capacité antioxydante des extraits et fractions de *Tamarix africana* en valeurs de IC₅₀ et A_{0,5}

Extraits/ Fractions/ Standards	Capacité antioxydante des extraits et fractions							
	DPPH	ABTS	β-carotène	GOR	Prac	Pouvoir réducteur	CUPRAC	Phénanthroline
	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	A _{0,50} (µg/mL)	A _{0,50} (µg/mL)	A _{0,50} (µg/mL)
MeOH	7,80 ± 0,11 ^{bc}	2,01 ± 0,11 ^{ns}	31,90 ± 0,71 ^{ab}	5,99 ± 0,22 ^b	20,97 ± 2,11 ^f	3,93 ± 0,22 ^{cd}	13,94 ± 0,72 ^{ab}	0,20 ± 0,08 ^b
AE	5,68 ± 0,06 ^{bc}	4,34 ± 0,03 ^{ab}	4,22 ± 0,02 ^{ab}	7,84 ± 0,20 ^{ab}	14,65 ± 0,45 ^d	2,73 ± 0,16 ^{cde}	11,13 ± 2,65 ^a	0,75 ± 0,23
<i>n</i> -BuOH	2,91 ± 0,08 ^{abc}	4,73 ± 0,56 ^{ab}	19,01 ± 0,12 ^{ab}	8,92 ± 0,11 ^{ab}	16,57 ± 0,48 ^{df}	1,72 ± 0,05 ^{cde}	10,41 ± 0,43 ^a	10,44 ± 0,20 ^{ab}
Aqueux	11,49 ± 0,83 ^a	7,08 ± 0,21 ^{ab}	21,87 ± 1,28 ^{ab}	7,44 ± 0,75 ^b	5,68 ± 0,04 ^{df}	6,44 ± 0,32 ^c	17,19 ± 0,92 ^{ab}	1,52 ± 0,13 ^a
Acétone	3,13 ± 0,23	43,1 ± 0,72 ^{ac}	3,13 ± 0,23 ^{bc}	3,17 ± 0,09 ^a	17,17 ± 0,53 ^{df}	4,91 ± 0,42 ^b	12,91 ± 1,21 ^a	0,28 ± 0,05 ^b
BHA	6,14 ± 0,41	1,81 ± 0,10	1,05 ± 0,03	5,38 ± 0,06	NT	8,41 ± 0,67	5,35 ± 0,71	0,93 ± 0,07
BHT	12,99 ± 0,41	1,29 ± 0,30	0,91 ± 0,01	3,32 ± 0,18	NT	>50	8,97 ± 3,94	2,24 ± 0,17
Acide tannique	NT	NT	NT	NT	NT	5,39 ± 0,91	NT	NT
Alpha tocophérol	NT	NT	NT	NT	NT	34,93 ± 2,38	NT	NT
Trolox	NT	NT	NT	NT	1,81 ± 0,03	NT	NT	NT
Acide ascorbique	NT	NT	NT	NT	23,44 ± 1,16	9,01 ± 1,46	NT	NT

5.2. Activité anti-enzymatique

5.2.1 Activité Anti-Alzheimer

5.2.1.1. Inhibition de la Cholinestérase

La capacité des échantillons à inhiber les cholinestérases est évaluée par une approche *in vitro*. L'effet inhibiteur des extraits et fractions de *Tamarix africana* contre l'AChE et la BChE s'est révélé être dose-dépendant. L'activité anticholinestérasique est évaluée par le pourcentage d'inhibition de l'AChE et du BChE à diverses concentrations (**Tab. 29-30**). Les valeurs IC_{50} sont comparées à celles de la galanthamine, considérée comme standards dans cette étude (**Figure 31**). Les effets inhibiteurs les plus forts des extraits et des fractions de *Tamarix africana* sur l'AChE et le BChE ont été observés à (200 $\mu\text{g/ml}$). Cependant, l'effet de *Tamarix africana* sur l'AChE semble être plus puissant, avec un pourcentage maximal d'inhibition de (76.25 \pm 0.17 %) pour l'extrait MeOH. Alors que la fraction AE a montré le pourcentage d'inhibition le plus faible (64.37 \pm 0.76 %) à la même dose par rapport à la galanthamine (94.77 \pm 0.34%). La fraction *n*-BuOH a démontré un potentiel élevé d'inhibition du BChE (89.17 \pm 0.43 %) à la concentration de (200 $\mu\text{g/ml}$). Par ailleurs l'extrait acétonique montre le pourcentage d'inhibition le faible (77.72 \pm 0.14 %), qui est proche à celle du standards (78.95 \pm 0.58%) (**Tab. 29-30**). L'extrait MeOH a montré une inhibition significative contre l'AChE avec une IC_{50} (9.46 \pm 0.12 $\mu\text{g/ml}$) qui était proche de la galanthamine (6.27 \pm 1.15 $\mu\text{g/ml}$), tandis que la valeur IC_{50} la plus basse est pour la fraction *n*-BuOH (124.95 \pm 0.58 $\mu\text{g/ml}$). D'autre part la fraction *n*-BuOH a présentée l'effet inhibiteur le plus élevé contre le BChE avec une valeur IC_{50} de (7.01 \pm 0.28 $\mu\text{g/ml}$), qui est inférieur à celle du galanthamine (34.75 \pm 1.99 $\mu\text{g/ml}$). Cependant, la fraction AE a présenté l'effet inhibiteur le plus faible (85.42 \pm 1.77 $\mu\text{g/ml}$) (**Fig. 31**).

Tableau 29 Inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) par les extraits et fractions des feuilles de *Tamarix africana*

Extraits/ Fractions/ Standards	Inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) (%)						
	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)						
	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg
Galanthamine	35,93 \pm 2,28	43,77 \pm 0,00	68,50 \pm 0,31	80,69 \pm 0,41	85,78 \pm 1,63	91,80 \pm 0,20	94,77 \pm 0,34
MeOH	33,21 \pm 0,72 ^c	37,96 \pm 0,04 ^b	43,43 \pm 2,12 ^{ns}	47,12 \pm 1,31 ^c	60,52 \pm 0,72 ^{ab}	69,85 \pm 1,48 ^{cd}	76,25 \pm 0,17 ^a
AE	NA	9,05 \pm 0,50 ^{ac}	21,71 \pm 1,69 ^{ab}	25,67 \pm 0,18 ^a	26,68 \pm 0,28 ^{ab}	51,40 \pm 0,63 ^{ab}	64,37\pm0,76^{bc}
<i>n</i>-BuOH	13,09 \pm 0,27 ^c	23,49 \pm 0,27 ^c	28,09 \pm 0,07 ^c	32,35 \pm 0,32 ^{ns}	35,35 \pm 0,72 ^a	46,45 \pm 0,53 ^b	77,88\pm0,19^{ab}
Aqueux	30,78 \pm 0,17 ^c	38,48 \pm 0,16 ^b	81,89 \pm 0,68 ^c	57,92 \pm 1,91 ^a	67,09 \pm 0,13 ^b	74,27 \pm 0,08 ^c	74,57 \pm 0,38 ^b

Acétone	37,09±0,60 ^b	42,80±0,93 ^a	46,31±0,08 ^{cd}	47,22±0,11 ^b	59,80±1,56 ^b	64,79±1,37 ^{ce}	66,06±0,10 ^{ab}
----------------	-------------------------	-------------------------	--------------------------	-------------------------	-------------------------	--------------------------	--------------------------

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD(n=3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Niveau de signification ^ap< 0,05, ^bp<0,01, ^cp< 0,001 est statistiquement significatif par rapport à la Galantamine, MeOH : extrait méthanolique, n-BuOH : fraction n-butanol, AE : acétate d'éthyle, ns est non significatif, NA : non actif.

Tableau 30 Inhibition de labuthyrylcholinestérase (BChE) par les extraits et fractions des feuilles de *Tamarix africana*

Extraits/ Fractions/ Standards	Inhibition de la buthyrylcholinestérase (BChE) (%)						
	Concentration (µg/mL)						
	3,125 µg	6,25µg	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg
Galantamine	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13± 2,60	63,87± 2,85	73,57± 0,77	78,95± 0,58
MeOH	40,21±0,02 ^c	47,06±0,14 ^d	62,97 1,82 ^b	71,22±0,83 ^c	76,84±0,96 ^b	82,76±0,55 ^a	87,44±0,00
AE	NA	NA	NA	15,50±0,00 ^a	23,61±1,37 ^c	54,58±0,60 ^{ab}	79,22±0,99 ^{bc}
n-BuOH	43,09±0,27 ^c	50,49±0,17 ^c	58,19±1,07 ^c	65,35±1,32 ^{cd}	71,69±0,12 ^a	81,51±2,02 ^{ab}	89,17±0,43^{ab}
Aqueux	10,78±0,16 ^c	29,48±0,76 ^b	36,34±0,23 ^c	49,95±1,90 ^a	68,08±0,25 ^b	78,60±0,08 ^c	81,94±0,75 ^b
Acétone	29,45±0,19 ^a	32,78±0,69	37,09±0,60 ^b	45,81 ±0,58 ^c	54,97±3,06 ^c	69,05±1,44 ^{ce}	77,72±0,14^{ab}

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD(n=3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Niveau de signification ^ap< 0,05, ^bp<0,01, ^cp< 0,001 est statistiquement significatif par rapport à la Galantamine, MeOH : extrait méthanolique, n-BuOH : fraction n-butanol, AE, acétate d'éthyle, ns est non significatif, NA : non actif.

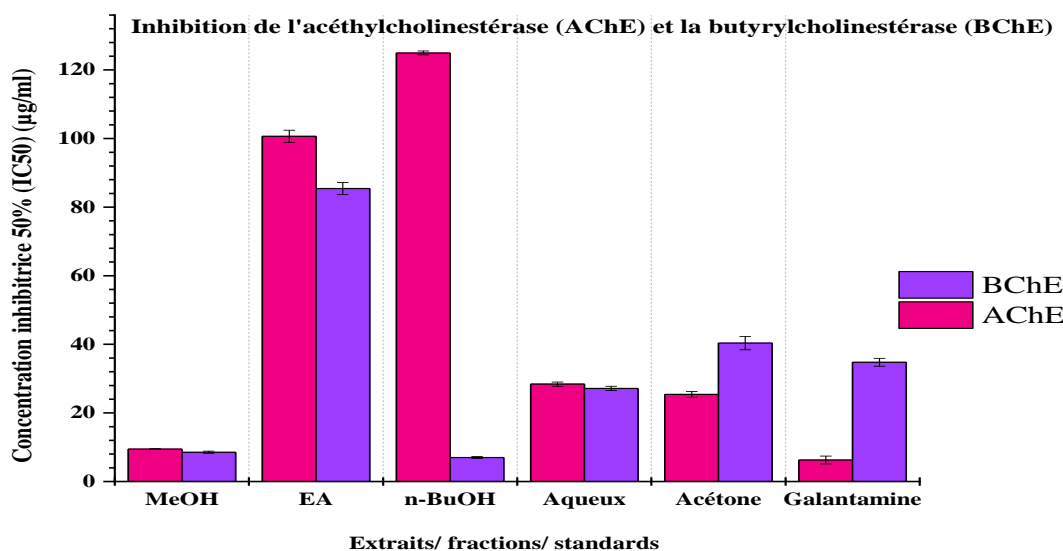


Figure 31. Valeurs des IC₅₀ d'inhibition de l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase par les différents extraits et fractions des feuilles de *Tamarix aAfricana*. Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ±SD (n=3).

5.3. Activité anti-uréase

L'effet inhibiteur des extraits et fractions de *Tamarix africana* contre l'enzyme uréase a été étudié *in vitro* à différentes concentrations. La capacité d'inhibition s'est avérée être dose-dépendante (**Tab. 31**). *Tamarix africana* semble être plus puissant contre l'uréase avec un pourcentage maximal d'inhibition (200 µg/ml). À la même dose, l'extrait MeOH a montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé contre l'uréase (86.33±0.95 %) qui est proche à celui de la thiourée (98,90±0.05%). Par ailleurs le pourcentage d'inhibition le plus faible était pour la fraction aqueuse (57.89±1.59%). L'extrait MeOH inhibe l'uréase de manière significative avec une IC₅₀ de (10.81±1.25µg/ml) (**Fig. 32**), qui est inférieur à la thiourée (11.57 ± 0.68µg/ml). La fraction aqueuse, a eu l'effet inhibiteur le plus faible (63.88± 3.62µg/ml).

Tableau 31 Inhibition de l'uréase par les extraits et fractions des feuilles de *Tamarix africana*

Extraits/ Fractions/ Standards	Inhibition de l'uréase (%)						
	Concentration (µg/mL)						
	3,125 µg	6,25µg	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg
Thiourée	4,49±0,78	19,85±2,74	55,64±4,24	94,17±0,15	98,42±0,19	98,49±0,41	98,90±0,05
MeOH	45,01±0,12 ^c	48,06±0,44 ^d	52,89 ±0,85 ^b	60,89±0,67 ^a	67,60±1,19 ^b	85,11±0,09 ^a	86,33±0,96^{ab}
AE	24,15±0,56 ^c	30,56±0,00 ^a	36,89±1,03 ^{cd}	49,90±0,10 ^a	55,01±0,37 ^{cde}	63,76±0,04 ^{ab}	66,89±1,15 ^{bc}
<i>n</i>-BuOH	43,09±0,27 ^c	49,49±0,10 ^c	57,10±0,07 ^c	60,71±0,08 ^{cd}	66,02±1,33 ^a	74,82±1,53 ^{ab}	82,40±2,71 ^{ac}
Aqueux	18,90±0,06 ^c	25,89±0,16 ^b	31,23±0,66 ^c	38,30±0,49 ^a	43,17±0,97 ^d	50,10±1,24 ^c	57,89±1,59^b
Acétone	40,40±1,32 ^a	42,88±1,90 ^d	44,80±0,37 ^b	54,23±0,92 ^{cd}	55,03±2,23 ^{cd}	60,20±2,80 ^{ce}	72,31±1,75 ^{ab}

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n=3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Niveau de signification ^ap<0,05, ^bp<0,01, ^cp<0,001 est statistiquement significatif par rapport à la thiourée, ^ep<0,01, ^fp<0,001 est statistiquement significatif par rapport à la thiourée, MeOH : extrait méthanolique, *n*-BuOH : fraction *n*-butanol, AE, acétate d'éthyle ns est non significatif, NA : non actif.

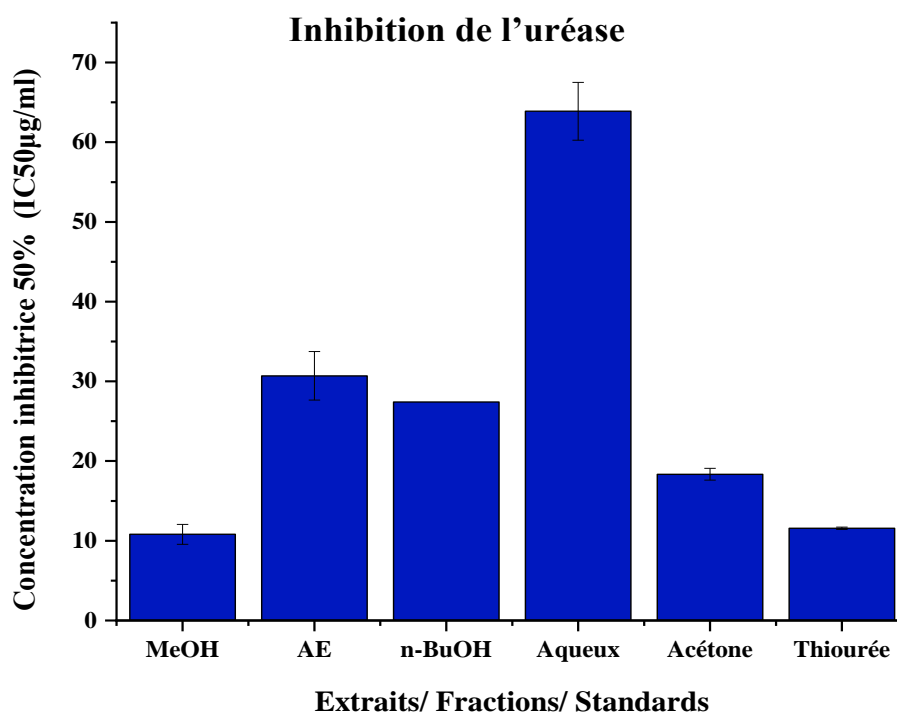


Figure 32. Valeurs des IC₅₀ d'inhibition de l'uréase par les différents extraits et fractions de *Tamarix africana*. Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).

5.4. Activité dermato-protectrice

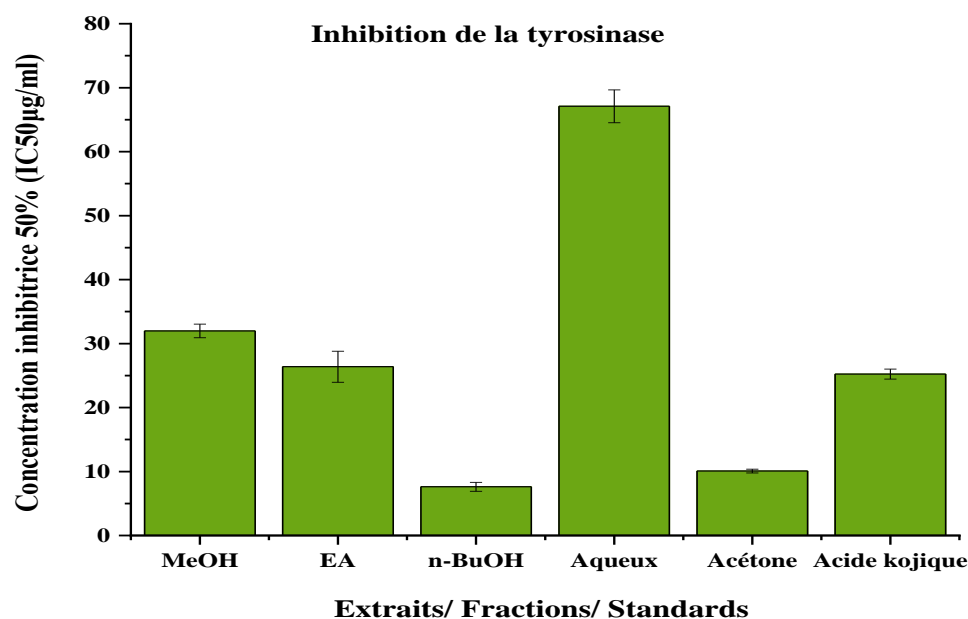
5.4.1. Activité anti-tyrosinase

En revanche, les extraits et fractions de *Tamarix africana* sont testés *in vitro* pour leurs capacités à inhiber la tyrosinase à différentes concentrations. La capacité d'inhibition étant dépendante de la dose, ils ont inhibé la tyrosinase plus efficacement que l'acide kojique comme les montres (**Fig. 33**) (**Tab. 32**). En outre, la fraction *n*-BuOH a donné le plus haut pourcentage d'inhibition ($68.69 \pm 0.20\%$) à la concentration (200 µg/ml) qui relativement supérieur à celle du standards ($66.95 \pm 2.24\%$). La fraction aqueuse a donné le pourcentage d'inhibition le plus faible contre la tyrosinase ($52.35 \pm 0.00\%$). L'activité anti-enzymatique a été rapportée en terme d'IC₅₀ présentées dans la **Figure 33**. La fraction *n*-BuOH a donné la plus faible IC₅₀ (IC₅₀ = $7.61 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$) qui est largement inférieur par rapport à l'acide kojique ($25.23 \pm 0.78 \mu\text{g/ml}$), alors que l'IC₅₀ la plus élevée était pour la fraction aqueuse ($67.09 \pm 2.56 \mu\text{g/ml}$).

Tableau 32 Inhibition de la tyrosinase par les extraits et fractions des différentes parties de *Tamarix africana*

Extraits/ Fractions/ Standards	Inhibition de la tyrosinase (%)						
	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)						
	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg
Acide kojique	6,91 \pm 0,75	19,22 \pm 0,75	36,29 \pm 2,92	49,46 \pm 2,24	58,32 \pm 0,37	64,36 \pm 0,65	66,95 \pm 2,24
MeOH	37,96 \pm 0,54 ^d	40,99 \pm 0,89 ^a	46,80 \pm 1,18 ^{cd}	48,22 \pm 1,79 ^c	49,52 \pm 0,81 ^{ab}	51,19 \pm 0,67 ^{ab}	59,85 \pm 1,79 ^{ab}
AE	42,53 \pm 0,00 ^a	47,11 \pm 0,57 ^a	48,92 \pm 1,70 ^{ab}	49,08 \pm 0,57 ^a	50,50 \pm 0,65 ^{ab}	51,86 \pm 0,49 ^{ab}	52,84 \pm 0,65 ^{ac}
n-BuOH	46,52 \pm 0,82 ^c	49,63 \pm 0,41 ^c	50,03 \pm 0,94 ^c	57,47 \pm 0,00 ^a	58,54 \pm 0,61 ^a	61,58 \pm 0,25 ^b	68,69\pm0,20^{ab}
Aqueux	43,66 \pm 0,56 ^c	44,95 \pm 0,43 ^b	45,52 \pm 0,49 ^c	46,51 \pm 0,99 ^a	48,93 \pm 0,25 ^{ab}	50,92 \pm 1,23 ^c	52,35\pm0,00^a
Acétone	39,76 \pm 0,43 ^b	42,00 \pm 0,00 ^a	47,81 \pm 0,18 ^{cd}	49,58 \pm 1,39 ^c	52,65 \pm 1,63 ^c	54,98 \pm 1,06 ^b	56,39 \pm 0,00 ^a

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Niveau de signification ^ap< 0,05, ^bp<0,01, ^cp< 0,001 est statistiquement significatif par rapport à l'acide kojique, ^dp< 0,05, ^ep<0,01, ^fp< 0,001 est statistiquement significatif par rapport à l'acide kojique, MeOH : extrait méthanolique, n-BuOH : fraction n-butanol, AE, acétate d'éthyle ns est non significatif.

**Figure 33.** Valeurs des IC₅₀ d'inhibition de la tyrosinase par les différents extraits et fractions de *Tamarix africana*. Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).

5.4.2. Facteur de protection solaire (FPS)

L'effet photoprotecteur de *Tamarix Africana* a également été évalué en utilisant le facteur de protection solaire (FPS), et comme le montre le **Tableau 33**. Selon les critères du facteur de

protection solaire de la Commission européenne (**Tab. 34**), les extraits et fractions de *Tamarix africana* avaient un FPS élevé (entre 30 et 50).

Tableau 33 Calcul du facteur de protection solaire (FPS) des extraits et fractions des feuilles de *Tamarix africana*

Les valeurs de FPS						
Longueur d'onde λ (nm)	EE (λ)x I(λ) (normalisé)	Acétate d'éthyle	Acétone	Aqueux	n-BuOH	MeOH
290	0,0150	0,51±0,02	0,48±0,04	0,49±0,02	0,48±0,01	0,47±0,01
295	0,0817	2,74±0,12	2,77±0,07	2,85±0,20	2,67±0,06	2,77±0,10
300	0,2874	9,47±0,21	9,74±0,12	9,82±0,70	9,71±0,28	9,91±0,47
305	0,3278	10,84±0,37	11,40±0,82	11,05±0,26	10,96±0,62	11,60±0,65
310	0,1864	6,34±0,43	6,20±0,06	6,06±0,09	6,23±0,34	6,23±0,11
315	0,0837	2,74±0,07	2,82±0,03	2,91±0,21	2,92±0,20	2,89±0,23
320	0,0180	0,60±0,01	0,62±0,03	0,59±0,03	0,61±0,03	0,58±0,00
Total	1	33,24±1,23	34,03±1,17	33,77±1,5	33,58±1,5	34,45±1,5

Tableau 34. Recommandation de la Commission européenne sur les catégories des produits solaires

Catégorie indiquée	Facteur de protection indiqué	Facteur de protection solaire mesuré
Protection faible	6	6 – 9,9
	10	10 – 14,9
Protection moyenne	15	15 – 19,9
	20	20 – 24,9
	25	25 – 29,9
Protection haute	30	30 – 49,9
	50	50 – 59,9
Protection très haute	50+	60 ≤

5.5. Activité antidiabétique

5.5.1. Inhibition de l' α -amylase

L'activité anti-diabétique des extraits et fractions de *Tamarix africana* est évalué via leurs capacités à inhiber l'enzyme alpha-amylase. Les extraits et fractions de *Tamarix africana* ont inhibé l' α -amylase à la concentration mesurée de 400 $\mu\text{g/ml}$, avec des pourcentages d'inhibition de (90.25 \pm 1.89%) pour la fraction *n*-BuOH par rapport à l'acarbose (90.56 \pm 2.9%), alors que la fraction acétate d'éthyle montre le pourcentage d'inhibition le plus faible (42.53 \pm 0.00 %) (**Tab. 35**). De même la fraction *n*-BuOH montre la meilleure activité en terme d'IC₅₀ avec une valeur inférieure à celle du standards (280.90 \pm 2.00 $\mu\text{g/ml}$), par rapport à (284,33 \pm 0,06 $\mu\text{g/ml}$) pour l'acarbose (**Tab. 35**).

Tableau 35 Inhibition de l'enzyme α -amylase et IC₅₀ des extraits et fractions de *Tamarix africana*

Extraits/ Fractions/ Standards	Inhibition de l'enzyme α -amylase (%)							
	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)							
	0,78125 μg	1,5625 μg	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Acarbose	39,90 \pm 1,09	44,90 \pm 2,00	55,89 \pm 1,56	69,09 \pm 1,00	80,90 \pm 1,56	88,89 \pm 1,90	90,56 \pm 2,90	284,33 \pm 0,06
MeOH	28,90 \pm 0,06 ^c	30,89 \pm 0,16 ^b	37,23 \pm 0,66 ^c	39,30 \pm 0,49 ^a	47,17 \pm 0,97 ^c	52,10 \pm 1,04 ^c	56,19 \pm 1,09 ^b	898,78\pm2,00^c
AE	19,80 \pm 0,89 ^b	24,49 \pm 1,87 ^a	29,48 \pm 1,00 ^b	33,89 \pm 0,67 ^a	35,57 \pm 1,09 ^a	39,80 \pm 2,90 ^c	42,53 \pm 0,00 ^a	>400
<i>n</i>-BuOH	49,90 \pm 0,66 ^b	50,00 \pm 0,44 ^a	59,90 \pm 1,90 ^c	72,90 \pm 1,00 ^c	79,09 \pm 1,20 ^a	82,90 \pm 2,09 ^a	90,25 \pm 1,89 ^a	280,90\pm2,00^b
Aqueux	20,88 \pm 0,90	29,77 \pm 0,09 ^b	37,89 \pm 1,90 ^c	43,66 \pm 0,56 ^c	44,95 \pm 0,43 ^b	45,52 \pm 0,49 ^c	46,51 \pm 0,99 ^a	>400
Acétone	38,96 \pm 0,43 ^b	42,10 \pm 0,55 ^a	46,81 \pm 0,38 ^c	49,33 \pm 0,19 ^c	52,05 \pm 1,45 ^c	57,98 \pm 1,00 ^b	66,39 \pm 0,20 ^a	568,77 \pm 1,90 ^{bc}

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n = 3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Le niveau de signification ^ap<0,05, ^bp<0,01, ^cp<0,001 est statistiquement significatif par rapport à l'acarbose MeOH : extrait méthanolique, *n*-BuOH : fraction n-butanol, AE, acétate d'éthyle

5.6. Test de réduction des nanoparticules d'argent (SNP)

L'activité de réduction des nanoparticules d'argent par les extraits et fractions est évaluée par spectrophotométrie à 423 nm, en suivant la réduction de l'Ag⁺ en nanoparticules d'argent sphérique. Dans ce test les résultats ont été comparés par rapport au Trolox. Les résultats sont présentés dans **la figure 34-35**. Les résultats des absorbances était importante à la concentration maximale 25 $\mu\text{g/ml}$ ou la fraction AE a montrée l'absorbance la plus élevé 2.63 \pm 0.19 et l'extrait acétonique a montré l'absorbance la plus faible 0,93 \pm 0.09 par rapport au trolox 3.89 \pm 0.09. La réduction des nanoparticules d'argent par les extraits et fractions de *Tamarix africana* a évalué de manière dose dépendante. Les résultats obtenus par cette activité montrent que la fraction *n*-BuOH a

présenté la meilleure activité avec une valeur ($A_{0.50} = 2.58 \pm 0.31 \mu\text{g/ml}$) par rapport au trolox ($A_{0.50} = 2.50 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$). En revanche, l'extrait acétonique montre l'activité la plus faible avec une $A_{0.5}$ la plus élevé ($A_{0.50} = 14.8 \pm 0.58 \mu\text{g/ml}$).

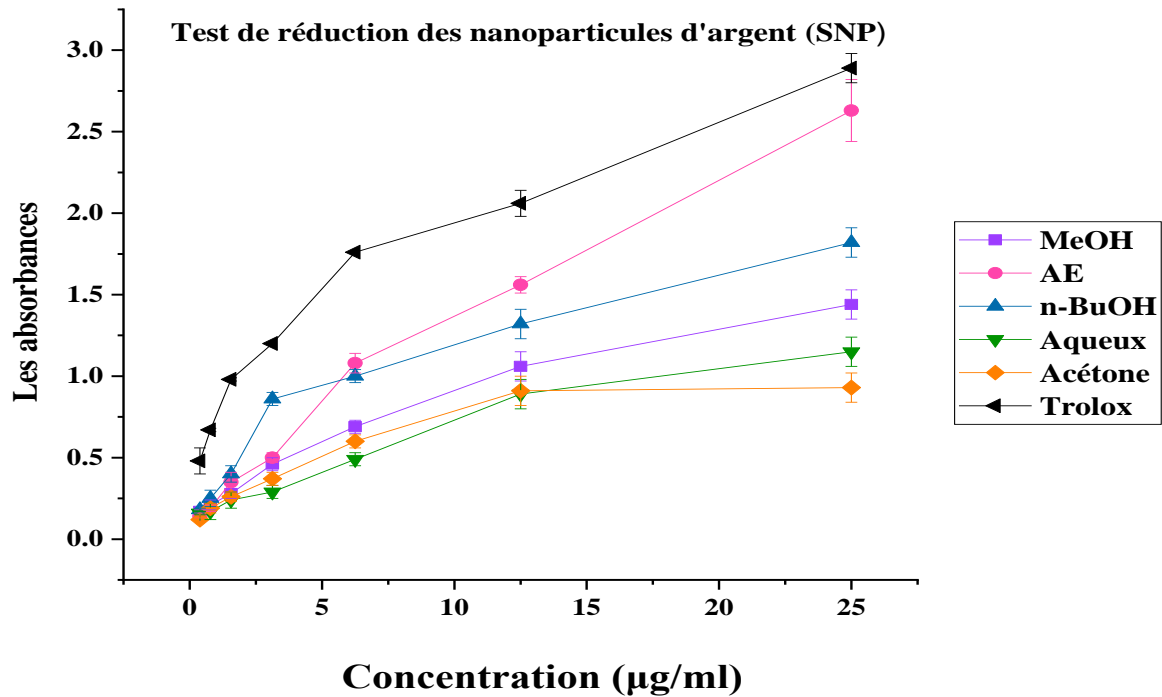


Figure 34. Les absorbances des extraits et fractions de *Tamarix africana*. Le trolox est utilisé comme standards. Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).

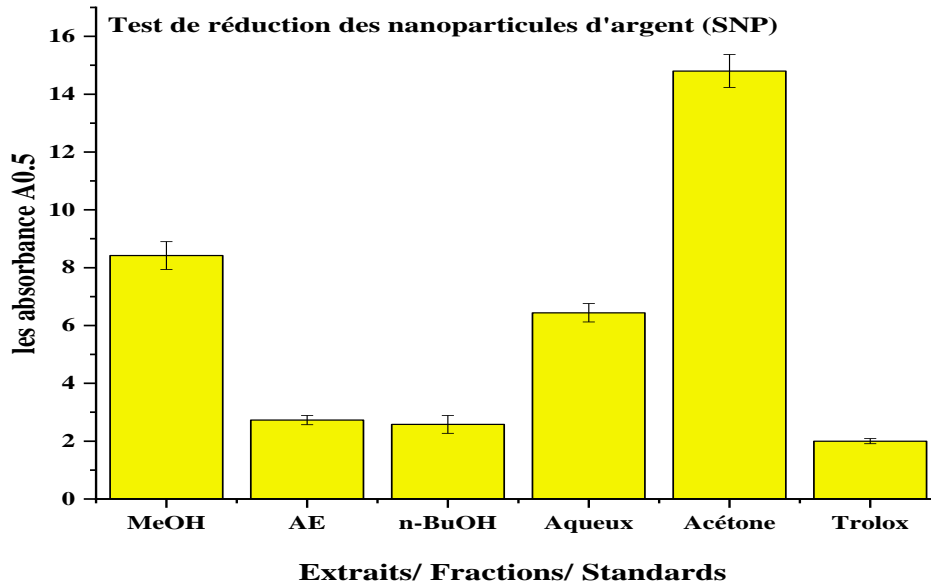


Figure 35. Valeurs des $A_{0.5}$ de réduction des nanoparticules d'argent par les différents extraits et fractions de *Tamarix africana*. Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).

5.7. Test de cytotoxicité

5.7.1. Test de létalité des larves *Artémia*

Dans ce travail, la cytotoxicité des extraits et fractions de *Tamarix africana* est testée, en utilisant l'espèce de crevette de saumure (*Artemia salina*). Les résultats présentés dans la **figure 36** montrent que les extraits et fractions de *Tamarix africana* présentent une bonne activité cytotoxique à l'exception de la fraction aqueuse qui présente une activité modérée. Le **tableau 36** montre les doses létales médianes (DL_{50}) de l'activité cytotoxique contre les larves *Artémia Salina* des extraits et fractions *Tamarix africana* et du standard où la fraction *n*-BuOH montre le meilleur effet cytotoxique avec une DL_{50} égale à $69.56 \pm 1.67 \mu\text{g/ml}$, en comparaison avec le potassium dichromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) ou la DL_{50} égale $20,09 \mu\text{g/ml}$. Selon le rapport de Meyer et al., (1982), les extraits des plantes qui ont une $DL_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$, sont regardés toxiques, alors que les produits qui ont une $DL_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$ sont considérés non toxiques. Donc d'après les résultats obtenus les différentes extraits et fractions de *Tamarix africana* sont toxiques vis-à-vis de *A. salina*.

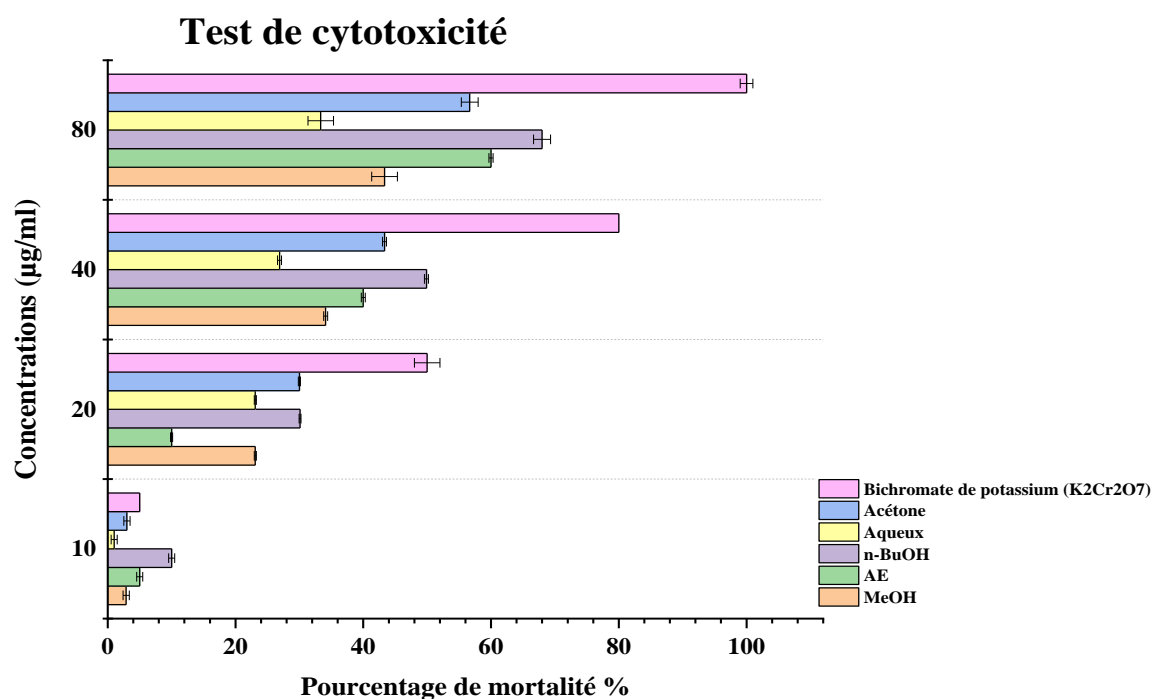


Figure 36. Pourcentage de mortalité des larves d'*A. salina* en présence des extraits et fractions de *africana* et le standard bichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n=3).

Tableau 36. Les doses létales médianes (DL₅₀) de l'activité cytotoxique contre les larves *Artémia Salina* des extraits et fraction *Tamarix africana* et du standard.

Extraits/ fractions/ standards	MeOH	Acétate d'éthyle	n-BuOH	Aqueux	Acétone	Bichromate de potassium	DL ₅₀ µg/ml
Feuilles	>2000	198,56±2,45 ^a	69,56±1,67 ^c	>2000	78,90±1,99 ^c	20,12±1,03	

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD (n=3). ANOVA à sens unique suivie du test de Dunnet multiple. Niveau de signification : ^ap< 0,05, ^bp<0,01, ^cp< 0,001 est statistiquement significatif par rapport au dichromate de potassium, MeOH : extrait méthanolique, n-BuOH: fraction n-butanol, AE, la fraction acétate d'éthyle, DL₅₀ : la dose létale médiane

Chapitre 05 :

Discussion générale

Discussion générale

Les plantes synthétisent et produisent une large gamme de biomolécules, appelées métabolites secondaires à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et autres. Elles sont classées en différents groupes en fonction de leur structure et de leur polarité. Elles présentent différents effets biologiques et pharmacologiques considérables sur le corps humain (Abubakar et Haque, 2010).

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales ne cesse de croître vu leurs bienfaits sur la santé humaine. De ce fait, les travaux de recherche se sont orientés vers la découverte et l'isolement de nouvelles molécules « médicaments » à partir de ressources naturelles. Dans ce contexte, notre étude s'est orientée vers l'exploration du potentiel thérapeutique d'une plante très utilisée dans la médecine traditionnelle et qui fait partie du terroir algérien ; il s'agit de la plante *Tamarix africana* collectée de la région de Khenchela.

Les rendements d'extraction des composés phénoliques de *Tamarix africana* par voie liquide-liquide dans différents solvants de polarité croissants sont comparables à ceux rapportés par d'autres chercheurs sur diverses espèces de *Tamarix* tels que *T. africana* et *T. gallica*. Concernant l'espèce *T. gallica*, le rendement de l'extrait MeOH est de 20,61% et celui de l'extrait aqueux est de 14,83% (Boudjema et al., 2020). De plus, les rendements obtenus pour les différentes fractions de la plante sont plus au moins différents de ceux cités dans la bibliographie. Ainsi dans leurs travaux, Chekroun-Bechlaghem et al. (2019) notent des rendements de 7,45%, 0,30% et 0,26% respectivement pour l'extrait MeOH, la fraction AE et l'extrait acétonique des feuilles de *T. africana* de la région de Tlemcen. De même, ces auteurs rapportent des rendements de 7,96%, 0,34% et 0,41% pour l'extrait méthanolique, AE et l'extrait acétonique des tiges de cette même espèce, respectivement. Une autre étude publiée par Khabtane et al. (2017) a montré que les rendements des extractions à partir des fleurs de *T. africana* est de 26,31 % pour l'extrait MeOH, suivis par l'extrait en phase aqueuse (19,29%), et les extraits d'acétate d'éthyle avec 0,87%, ce qui est en parfait accord avec les résultats trouvés pour *T. africana* dans notre étude. Les différences observées entre les différentes études peuvent être attribuées à des paramètres distincts tels que : la région de récolte, la composition du sol et l'effet du climat (zone aride, semi-aride...).

Le criblage phytochimique de *Tamarix africana* a permis de déceler la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires dont principalement les flavonoïdes, les saponines, les triterpènes, les tanins et les composés réducteurs. Ceci est en parfait accord avec des travaux antérieurs de Benabdellah et al. (2014) et Chekroun-Bechlaghem et al. (2019) réalisés sur la même espèce récoltée dans les régions de Tlemcen et Bordj Bou Arreridj. Ces travaux ont également montré la richesse de ces espèces en tanins, flavonoïdes,

Discussion générale

saponines et d'autres terpènes. Il est également très important de noter que les espèces de *Tamarix* contiennent plusieurs acides phénoliques et un nombre considérable de flavonoïdes ont été isolés de différentes espèces de *Tamarix*.

L'activité antioxydante est généralement associée à la présence des composés phénoliques, particulièrement, les flavonoïdes et les tanins (Zeng et al., 2011). Ces derniers pour *Tamarix spp.* sont en grande partie extraits dans l'eau, ou les solutions hydroalcoolique et hydroacétonique. Ces composés sont majoritairement représentés par les gallotannins et les ellagitannins. Ces composés polyphénoliques sont qualifiés de biomolécules vu leurs caractéristiques biologiques (Bahramsoltani et al., 2020). Nos résultats confirment les conclusions apportées par Cirillo et al. (2016) que *Tamarix articulata* est une source importante de composés phénoliques naturels. Ces mêmes constatations sont partagées par Tabet et al., (2018) pour la même espèce pour laquelle ils notent qu'elle est riche en contenus phénoliques et flavonoïdes, et pourrait potentiellement être une source de divers phyto-composés.

Le dosage quantitatif réalisé sur les espèces de *Tamarix* indique des niveaux élevés de tanins, de flavonoïdes et de polyphénols (Benabdellah et al., 2014 ; Chekroun-Bechlaghem et al., 2019 ; Boudjema et al., 2020 ; Hulkko et al., 2022). Ce constat est parfaitement en accord avec les résultats obtenus dans cette étude. La richesse qualitative et quantitative de *Tamarix* lui confère un potentiel pharmacologique avéré (Zeng et al., 2011). Il est important de signaler que dans cette étude la concentration des flavonoïdes extraits des fleurs (extrait acétate d'éthyle) est 30 fois supérieur ($416,38 \pm 2,22 \mu\text{g EQ /mg}$) à celle mesurée par Khabtane et al. (2017) ($14,33 \pm 3,15 \mu\text{g EQ/mg}$). Cependant, pour le même extrait et cette fois-ci pour les feuilles, nos résultats sont inférieurs à ceux rapportée par Benabdellah et al. (2014).

L'analyse LC-MS a révélé la présence des composés secondaires dotés d'activité réductrice tels que la rutine, la quercétine, la diosmine, l'apigénine et le quercétine-3-glycoside qui sont des flavonoïdes. Ces composés et d'autres produits naturels peuvent piéger les radicaux libres et contrôler l'expression de la voie antioxydante afin de protéger contre le stress oxydatif et de réduire le risque de diabète, d'obésité, de maladies du système nerveux et d'autres maladies chroniques. Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative de *Tamarix africana* par LC-MS sont dispersés entre les différents travaux de recherche. A titre d'exemple, Chekroun-Bechlaghem et al. (2019) enregistrent la présence de 16 composés phénoliques comprenant 6 acides phénoliques (acide gallique, acide chlorogénique, acide caféique, acide *p*-coumarique, ester diméthyl allylique de l'acide ester et ester phénolique de

Discussion générale

l'acide caféique) et 10 flavonoïdes (chrysin, rutine, myricétine, Quercétine, Génistéine, Kaempférol, Apigénine, Kaempférol-3-O-glucoside, Quercétine-3-O-arabonoside et Galangine). En revanche, Tabet et *al.* (2018), ont identifiées par HPLC-DAD 8 composés dans l'extrait MeOH de *T. articulata* à savoir : l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide vanillique, l'acide caféique, la vanilline, l'acide *p*-coumarique, la rutine et la naringine. Ces discordances sont dues principalement aux standards utilisés dans les différentes techniques.

La majorité des flavonoïdes caractérisés dans nos extraits ont une activité biologique signalée par la littérature. Il s'agit essentiellement de leur potentiel antioxydant. C'est le cas de la quercétine, l'apigénine et la diosmine (Xu et *al.*, 2019 ; Tian et *al.*, 2021 ; Camarda et *al.*, 2007). Il a également été proposé que la diosmine soit un candidat nouveau et prometteur pour le traitement des maladies du système nerveux telles que la maladie d'Alzheimer (AD) et la maladie de Parkinson (PD) et d'autres lésions cérébrales (Mirshekar et *al.*, 2017). En outre, la rutine possède des propriétés antioxydantes importantes qui peuvent conduire dans un avenir proche à un large éventail d'applications pharmacologiques telles que la capacité d'inhibition de la tyrosinase et peut inhiber sélectivement la première étape de la synthèse de la mélanine qui implique l'hydroxylation des monophénols en *o*-diphénols (Sharma et *al.*, 2013). La glucosylation de certains flavonoïdes génère des dérivés dont les activités biologiques sont différentes et plus prononcées. A titre d'exemple l'apigénine-7-O-glucoside (AP7Glu) un dérivé de l'apigénine est un flavonoïde naturel stable dont la solubilité est supérieure à celle de la molécule mère. Il présente une large gamme d'activités biologiques, il est maintenant utilisé pour traiter les états inflammatoires tels que les infections des voies respiratoires supérieures (Bhaskaran et *al.*, 2010). Récemment, il a été démontré que l'AP7Glu a des effets neuro-protecteurs (Habib et *al.*, 2022), des propriétés anti-apoptotiques et antioxydantes dans de nombreuses maladies (Kumar et Bhat, 2012).

La wogonine est une flavone qui peut fournir une neuroprotection contre les lésions cérébrales induites par le stress oxydatif (Hong et *al.*, 2018). La wogonine protège les neurones du stress oxydatif (Zhang et *al.*, 2018). La néohespéridine, est un glycoside de flavanone naturel. Il a été démontré que ce composé inhibe le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ pour induire la cytotoxicité dans les cellules tumorales neuroendocriniennes (PC₁₂) (Hwang et *al.*, 2008). Cette molécule est également capable d'inhiber la fibrillogénèse amyloïde qui peut provoquer une neurotoxicité (Chakraborty et *al.*, 2021).

Discussion générale

La néohespéridine est un glycoside de flavanone bien connu pour sa capacité antioxydante et un large éventail d'effets biologiques, y compris l'anti-inflammation, la neuroprotection, la protection gastrique et les propriétés anticancéreuses (Wang et *al.*, 2018).

La tangéritine, est une flavone polyméthoxylée possède un certain nombre d'activités biologiques précieuses telles que des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, neuroprotectrices et antiasthmatiques (Tang et *al.*, 2018 ; Wang et *al.*, 2018). En outre, ce composé a montré un grand potentiel pour le traitement de cancers, notamment les cancers de cerveau, du sein et de l'estomac (Chen et *al.*, 2014 ; Sundaram et *al.*, 2014 ; Dong et *al.*, 2014), et peuvent être utilisés pour le traitement d'un certain nombre de maladies neurodégénératives (Taheri et *al.*, 2019). Cette molécule a également montré un effet hépatoprotecteur sur les dommages oxydatifs induits par l'hydroperoxyde de tert-butyle dans les cellules du foie (HepG2) (Liang et *al.*, 2018). Il a été révélé que le TGN diminue significativement les niveaux de ROS et de MDA, et l'expression de la fibronectine et du collagène IV, alors qu'elle augmente l'activité SOD. Il a été constaté que ces effets protecteurs sont en partie médiés par l'inhibition de la voie de signalisation ERK et montre un effet important dans le traitement de diabète (Chen et *al.*, 2018).

Etude préclinique et prédiction des propriétés pharmacocinétiques des molécules *in silico*

Le succès d'un médicament est déterminé non seulement par une bonne efficacité mais aussi par un profil ADMET c'est-à-dire l'absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité acceptable. Aujourd'hui, il est reconnu que l'utilisation de la méthode computationnelle d'ADMET, en combinaison avec des prédictions *in vivo* et *in vitro*, le plus tôt possible dans le processus de la découverte de médicaments, permet de réduire le nombre de problèmes de sécurité (Merlot, 2010).

L'une des principales étapes de la conception d'un médicament consiste à l'évaluation des propriétés pharmacocinétiques, ADMET d'un médicament candidat (Tsaïoun et *al.*, 2016). L'analyse ADMET à l'aide d'un modèle animal est coûteuse et compliquer d'où le recours à la modélisation moléculaire dans le but est de prédire les propriétés chimiques, les propriétés pharmacocinétiques (ADME) et la toxicité des composés (Moroy et *al.*, 2012).

Les propriétés physicochimiques des différentes molécules étudiées révèlent une lipophilie élevée ce qui signifie que ces composés peuvent facilement traverser les membranes biologiques pour se lier aux récepteurs (enzymes) correspondants afin de générer

Discussion générale

l'effet pharmacologique désiré (Tamaian et *al.*, 2015), mais elle aura également une répercussion positive sur la pharmacocinétique et le métabolisme de ces composés. Cependant, une flexibilité moléculaire réduite, mesurée par le nombre de liaisons rotatives, et une faible surface polaire ou un nombre total de liaisons hydrogène (somme des donneurs et des accepteurs) se révèlent être des prédicteurs importants d'une bonne biodisponibilité orale, indépendamment du poids moléculaire. Le fait qu'en moyenne le nombre de liaisons rotatives et la surface polaire ou le nombre de liaisons hydrogène ont tendance à augmenter avec le poids moléculaire peut expliquer en partie le succès du paramètre de poids moléculaire dans la prédiction de la biodisponibilité orale (Vaber et *al.*, 2002). Une flexibilité comparable a été observée dans les composés étudiés. Ces informations sont cruciales, car les propriétés de polarité et de flexibilité élevées peuvent augmenter la biodisponibilité orale du composé, l'aidant à atteindre le site d'action thérapeutique (Kaim et *al.*, 2014). En raison de leurs caractères lipophile ces molécules sont moyennement solubles dans l'eau, néanmoins, ce caractère est très important sur le plan pharmacologique car seule la substance lipophile qui peut diffuser facilement à travers les membranes cellulaires et donc elle va atteindre la cible thérapeutique.

Le profil ADMET a été prédit en utilisant le serveur admetSAR. Tout d'abord, l'absorption correspond à l'ensemble des phénomènes intervenant dans le transfert du principe actif médicamenteux depuis son site d'administration jusqu'à la circulation sanguine. Cette étape du devenir du médicament chez l'homme est essentielle à étudier car elle peut être à l'origine d'une variabilité importante de la réponse aux médicaments notamment par le biais d'interactions médicamenteuses significatives (Alagga et Gupta, 2022).

Nos résultats prouvent que les composés étudiés avaient une absorption intestinale humaine (AIH) plus élevée, ce qui indique que les composés étudiés sont bien absorbés par le tractus intestinal lorsqu'ils sont administrés par voie orale, augmentant ainsi leur chance d'atteindre leurs cibles, ce qui est avantageux dans les essais cliniques, en particulier pendant le processus de développement de médicaments (Nisha et *al.*, 2016).

L'imperméabilité de la barrière hémato-encéphalique BHE à de nombreuses molécules est due aux contacts étroits entre les cellules endothéliales, qui forment les protéines occludines et les molécules d'adhésion. Toutes les molécules étudiées (à l'exception de l'apigénine et la wogonine) ne peuvent pas traverser la BHE, elles peuvent donc avoir un effet périphérique et leur toxicité sur le système nerveux central est faible (Zorkina et *al.*, 2020). La pénétration de l'apigénine et la wogonine à travers la BHE était significativement plus élevée

Discussion générale

que celle des autres molécules, en raison de leurs faibles poids moléculaires, ces deux composés sont donc des candidats prometteurs pour le développement de médicaments du système nerveux central (SNC) plus efficaces pour le traitement des maladies du SNC (Pardridge, 2003 ; Upadhyay, 2014).

D'autre part, les données obtenues ont indiqué que les composés ne pouvaient pas être des substrats de la glycoprotéine P (P-gp), excluant la possibilité d'une inhibition de l'activité de la P-gp, ce qui pourrait impliquer que les composés sont susceptibles de protéger les organes sensibles des composés toxiques (le côlon, l'intestin grêle, les canaux pancréatiques, les canaux biliaires, les tubules proximaux des reins et la glande surrénale) (Edwards et *al.*, 2005), et les empêchant de pénétrer dans le cytosol et de les expulser vers l'extérieur. Ainsi, il améliore également la sécrétion de métabolites et de xénobiotiques dans la bile, l'urine et la lumière du tractus gastro-intestinal (Amin et *al.*, 2013). Daina et *al.* (2017) ont signalé que l'une des principales fonctions d'un substrat ou d'un inhibiteur de la P-gp est de protéger le système nerveux central des cancers multi-résistants qui peuvent se développer à la suite de la surexpression du substrat de la P-gp dans les cellules tumorales.

Les molécules sont distribuées dans la circulation générale, ils sont transportés par le sang dans les différents tissus de l'organisme. Le terme « distribution » signifie le transport des molécules au niveau sanguin (phase plasmatique) puis sa diffusion dans les tissus (phase tissulaire). Il existe un nombre important de protéines plasmatiques. Les principales protéines impliquées dans la fixation protéique sont l'albumine, l' α -1-glycoprotéine, les lipoprotéines et les globulines (Da Silva, 2018). Les molécules étudiées présentent pour la plupart des interactions optimales avec les protéines plasmatiques. Cette fixation aux protéines plasmatiques est importante, car seul les molécules sous leur forme libre sont actives et pouvant atteindre leur cible membranaire ou intracellulaire. La forme liée agit comme une réserve qui ne traverse pas les membranes (Delmas et Lin, 2011).

Le volume de distribution est défini comme un déterminant majeur de la demi-vie et de la fréquence d'administration d'un médicament (Smith et *al.*, 2015). Les molécules étudiées présentent des volumes de distribution optimaux ce qui signifie que la liaison aux protéines plasmatiques est faible ce qui entraîne une augmentation de la fraction plasmatique libre entraînant une augmentation du volume de distribution et une demi-vie d'élimination plus courte (Keller et *al.*, 1984). Par ailleurs, plus le volume de distribution est important, plus il est probable que le médicament se retrouve dans les tissus de l'organisme. Plus le volume de

Discussion générale

distribution est petit, plus il est probable que le médicament soit confiné au système circulatoire (Smith et *al.*, 2015).

En ce qui concerne le métabolisme, qui se définit principalement par des transformations par des enzymes, en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs assurés par les isoformes de cytochrome CYP450, qui sont des enzymes présentes dans divers tissus et qui interviennent dans le métabolisme de substances endogènes et exogènes (Maksymchuk et Kashuba, 2019). Tous les composés testés peuvent être considérés comme des non-substrats des isoformes 2C9 et 2D6 du cytochrome P450. Cela signifie que l'influence des composés sur l'activité du CYP450 dépend du type d'isoformes testées. Il a également été observé que les composés quercétine-3-glucoside, diosmine, rutine, apigénine-7-O-glucoside et la néohespéridine ne peuvent pas inhiber les isoformes 3A4, 2C9, 2C19 et 2D6 du CYP450.

En effet, l'inhibition enzymatique entrave la biotransformation ou la clairance de toutes les molécules cliniquement utilisées y compris plusieurs agents anticancéreux, ce qui entraîne des niveaux plasmatiques plus élevés qui influencent le résultat thérapeutique et augmentent les risques d'effets indésirables. Ainsi, l'inhibition des CYP peut entraîner la toxicité ou le manque d'efficacité d'un médicament (Kalra, 2007 ; Kumar et *al.*, 2012)

L'étape finale de devenir de ces molécules est leurs éliminations de l'organisme ou excrétion. Le processus d'excrétion concerne le médicament sous forme inchangée et ses métabolites (Cummings et *al.*, 1967). Les paramètres influençant l'excrétion sont, la clairance qui correspond à la capacité de l'organisme à épurer la molécule après avoir atteint la circulation générale. Elle correspond au volume de plasma épuré par unité de temps, en général par heure. La clairance totale cumule la clairance rénale, hépatique et la clairance par d'autres organes de métabolisme, et la demi-vie d'élimination qui correspond au temps nécessaire pour que la concentration plasmatique soit diminuée de moitié. La demi-vie dépend du volume de distribution et de la clairance (Horde et Gupta, 2022). L'apigénine, la wogonine et quercétine ont une clairance faible et un $T_{1/2}$ long, ce qui nécessite leurs administrations en une seule dose. Ceci peut être due à leurs effets inhibiteurs exercés sur le CYP450 3A4 qui est responsable du métabolisme et de la clairance des molécules. La tangéritine a montré une clairance élevée et un $T_{1/2}$ court en raison d'une polarité et d'une flexibilité élevée, et en raison d'un phénomène de dynamique moléculaire élevé, qui contribue également à une augmentation non négligeable du processus de clairance rénale, ce qui a été prouvé en utilisant des rats et une approche de docking (Kim et *al.*, 2014). Ceci engendre que

Discussion générale

cette dernière ne peut pas être toxique car il y'aura pas une accumulation de la molécule, par ailleurs pour assurer un effet thérapeutique meilleur, elle doit être administrer en plusieurs doses (Allen et *al.*, 2006).

La toxicité orale aiguë est considérée comme un paramètre crucial pour déterminer les effets indésirables à court terme d'un médicament lorsqu'il est administré en une seule dose (Walum, 1998). Les molécules étudiées ne sont pas toxiques pour la plupart, ne sont pas cancérigènes et ont une toxicité orale de type III (légèrement toxique) ; ils pourraient être utilisés dans l'étape d'optimisation de la découverte de médicaments (Onawole et *al.*, 2017).

Les données ont également révélé que les composés peuvent avoir une forte interaction avec les récepteurs d'œstrogènes, d'androgènes, d'hormones thyroïdiennes et de glucocorticoïdes, ce qui suggère que ces composés peuvent imiter l'activité des hormones d'origine de ces récepteurs (Sakkiah et *al.*, 2018), ceci peut être une clé pour l'élaboration de nouveaux médicaments avec une grande affinité pour les récepteurs déjà mentionnés (Yu et *al.*, 2018), ou même de faciliter l'interaction des médicaments avec ces récepteurs via un effet synergique (Sykes et *al.*, 2020).

La prédiction de l'écotoxicité a révélé que tous les composés ont exprimé une toxicité élevée sur les poissons, tandis que les composés ont été considérés comme non toxiques pour les abeilles domestiques. Cela pourrait signifier que ces composés peuvent être utiles pour le processus de développement de nouvelles substances qui peuvent limiter efficacement la procédure de la reproduction de certaines variétés de poissons nuisibles comme le poisson-globe, considéré comme mortel pour l'homme en raison de son puissant effet venimeux généré par la neurotoxine tétrodontoxine (TTX) (Madejska et *al.*, 2021).

La prédiction des propriétés pharmacologiques a montré que la l'apigénine-7-O-glucoside, la quercétine, la néohéspéridine et la tangeritine pourraient être des agents piègeurs des radicaux libres et des antioxydants potentiels avec des probabilités $P_a = 0,839$, $P_a=0,872$, $P_a=0,991$, $P_a=0,715$, respectivement, sachant que dans de nombreuses maladies, le stress oxydatif est reconnu comme étant un facteur secondaire à l'établissement de la pathologie et contribue à créer des complications immunitaires ou vasculaires. De ce fait, ces molécules pourraient être de bon candidat pour le développement de compléments alimentaires, pour la prévention des maladies liées au stress oxydative, à titre d'exemple ; différents types de cancers, des pathologies oculaires (cataracte et dégénérescence maculaire), des maladies neurodégénératives (ataxies, sclérose latérale, maladie d'Alzheimer), des maladies cardio-vasculaires (Bitew et *al.*, 2021).

Discussion générale

Il est intéressant de souligner que la rutine, la wogonine, la néohespéridine et la diosmine pourraient être des agents antidiabétiques potentiels, avec des probabilités $P_a=0,528$, $P_a=0,720$, $P_a=0,877$ et $P_a=0,668$ respectivement. En particulier par l'inhibition de la sodium/glucose cotransporteur 2 (SGLT2), qui est une protéine permettant la réabsorption du glucose par le tubule rénal proximal, ce qui entraîne une augmentation de l'élimination de glucose dans les urines ce qui permet d'abaisser la glycémie. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Khan et kamal (2019) qui ont montré que la wogonine est utilisée pour le traitement du diabète sucré. De plus la néohespéridine a montré un effet inhibiteur contre l'enzyme α -glucosidase, ce qui peut améliorer la fonction des cellules bêta pancréatiques afin de réduire les niveaux anormaux de glucose dans le sang et améliorer la sensibilité à l'insuline (Patel *et al.*, 2012). Une étude récente a montré qu'un extrait riche en néohespéridine a inhibé l' α -amylase avec une $IC_{50} = 4,20 \mu\text{g/ml}$ inférieur à celle de l'acarbose $IC_{50} = 54,99 \mu\text{g/ml}$ (Tunis *et al.*, 2016). Dubey et ses collaborateurs (2021) ont conclu que la diosmine présente un puissant effet inhibiteur contre l' α -amylase.

En outre, les données ont également révélé que quercétine-3-glycoside, l'apigénine et la quercétine ($P_a = 0,794$), ($P_a = 0,688$) et ($P_a=0,588$) respectivement, peuvent avoir un effet inhibiteur sur la synthèse de la mélanine, par l'inhibition de la tyrosinase donc ils entraînent un blanchiment de la peau. Ces molécules peuvent être utilisées en dermo-cosmétique pour le développement des crèmes éclaircissantes. Fan et ses collaborateurs (2017) ont démontré que la quercétine, un composé flavonoïde, s'est avérée inhiber à la fois les activités monophénolase et diphenolase de la tyrosinase, et son inhibition contre l'activité diphenolase était de manière réversible et compétitive avec une valeur IC_{50} de $(3,08 \pm 0,74)$. La quercétine liée à la tyrosinase par une interaction hydrophobe, a ainsi entraîné un changement conformationnel de la tyrosinase.

La diosmine, l'apigénine, la rutine et la néohespéridine peuvent exercer un important effet anti-carcinogène ($P_a = 0,904$), ($P_a=0,617$), ($P_a=0,341$) et ($P_a=0,931$) respectivement, soit en stimulant la caspase 3 (une protéase qui induit la mort cellulaire par apoptose) ou par l'inhibition de la topoisomérase I (enzyme qui assure le bon déroulement de la condensation et de la décondensation des chromosomes au cours de la division cellulaire). Ces molécules peuvent neutraliser les effets d'un agent cancérigène ou inhiber le développement du cancer (Benavente-Garcia et Castillo, 2008). Selon une étude publiée par Adel *et al.* (2022), dans un travail réalisé sur des souris, ils ont observé que l'apigénine pouvait réduire la durée de vie des cellules cancéreuses en cas de cancer du sein, ce qui bloque la diffusion tumorale. De plus, cette substance augmente la sensibilité aux traitements anticancéreux.

Discussion générale

De plus, nos résultats ont révélé que quercétine-3-glycoside, l'apigénine et la quercétine ($P_a= 0,596$), ($P_a= 0,796$) et ($P_a=0,690$) respectivement, pourraient être des puissants agents pour le traitement du syndrome respiratoire aigu sévère et de bons candidats pour le développement de médicaments contre le virus Sars-Cov2. Des études antérieures ont montré que la quercétine réduit l'entrée du virus dans la cellule en bloquant le récepteur ACE2, ainsi elle réduit le niveau d'interleukine-6 chez les patients atteints du SRAS (Bastaminejad et Bakhtiyari, 2021). La rutine, un composé naturel, a montré un effet inhibiteur sur la principale protéase et d'autres protéines clés dans le cycle de vie du COVID-19. L'utilisation d'un produit naturel comme traitement a ses avantages par rapport aux médicaments synthétiques en termes de réduction des effets secondaires (Al-Zahrani, 2020).

L'uréase *Helicobacter pylori* dégrade l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac, ce qui neutralise l'environnement acide de l'estomac, ce qui entraîne une désensibilisation de la capacité de détection du pH de l'estomac. Ces mécanismes facilitent la survie de *H. pylori* dans l'environnement acide de l'estomac. La réponse immunitaire à *H. pylori* peut déclencher la génération d'une quantité excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui peuvent endommager les membranes cellulaires, les protéines et l'ADN en raison du stress oxydatif. Par conséquent, l'inhibition de l'uréase et le piégeage des ROS seraient de bonnes stratégies pour le traitement des maladies liées à *H. pylori* (Lee et al., 2017). De ce fait, la wogonine identifiée dans les extraits de *Tamarix africana* peut avoir un effet inhibiteur de l'uréase ($P_a=0,603$), et un effet inhibiteur de *Helicobacter pylori* ($P_a=0,487$), ce composé pourrait faire l'objet des études ultérieures pour le développement des médicaments contre *Helicobacter pylori*.

La prédiction des cibles thérapeutiques les plus probables des molécules étudiées, est fondée sur une combinaison de similarité 2D et 3D avec une bibliothèque de 370 000 molécules actives connues sur plus de 3000 protéines de différentes espèces (Daina et al., 2019). La quercétine-3-glycoside cible de manière non négligeable ($P_a = 0,219$) l'enzyme aldose réductase, ce qui suggère que ce composé pourrait participer à la régulation de l'activité de cette enzyme. L'aldose réductase catalyse la réduction du glucose en sorbitol dans la voie des polyols. Le sorbitol, s'accumule dans la cellule, créant ainsi un effet osmotique et donc une hydratation des tissus. Cela peut sous-tendre, au moins en partie, certaines complications du diabète (Caramori et al., 2003). L'aldose réductase, est présente dans tous les tissus cibles des complications diabétiques. Ces tissus comprennent les reins, le cristallin, les péricytes de la paroi capillaire rétinienne, l'endothélium vasculaire et le nerf

Discussion générale

périphérique (cellules de Schwann). Plusieurs flavonoïdes inhiberaient l'enzyme aldose réductase. La quercétine est l'inhibiteur d'aldose réductase le plus prometteur et est utilisée comme contrôle positif dans de nombreuses études (Yves, 2012)., ce qui est en accord avec nos résultats.

La diosmine cible les facteurs de nécrose tumorale alpha ($P_a = 0,133$). Ce composé pourrait participer comme une biothérapie pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques tel que la maladie de Crohn (maladie inflammatoire chronique des intestins) et la polyarthrite rhumatoïde (Lesuis et *al.*, 2012)

L'apigénine-7-O-glucoside, l'apigénine et la rutine ciblent l'enzyme clé acétylcholinestérase ($P_a=0,599$, $P_a = 0,200$, $P_a= 0,333$) respectivement, de manière non négligeable, ce qui suggère que ces composés pourraient participer activement à la régulation de l'activité de cette enzyme connue pour son rôle important dans la transmission cholinergique en facilitant l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) (Pohanka et *al.*, 2011).

L'apigénine-7-O-glycoside cible la sous unité alpha catalytique de la protéine kinase dépendante de l'AMPc ($P_a=0,200$), ce composé pourrait participer à l'activation de la protéines kinase dépendante conduisant à une augmentation de la contraction cardiaque en phosphorylant les acteurs clés du couplage excitation-contraction (Zima et *al.*, 2014).

La wogonine cible de manière importante ($P_a= 0,400$), les récepteurs des facteurs de croissance des cellules souches, ce qui entraîne l'activation de la prolifération cellulaire et / ou la différenciation (Shenoy et *al.*, 2014).

La quercétine cible de façon importante les récepteurs de l'insuline ($P_a=0, 400$), stimulant ainsi sa libération, ce qui engendre la diminution de la glycémie (Okimura et *al.*, 2019).

La néohéspéridine cible l'anhydrase carbonique III ($P_a= 0,460$), ce qui suggère que ce composé pourrait participer à la régulation de l'anhydrase carbonique engendrant par inhibition de son activité, une diminution de la pression intraoculaire (PIO) qui est un facteur de risque majeur dans la pathogénie des altérations du nerf optique et de la perte du champ visuel d'origine glaucomateuse (Krishnamurthy et *al.*, 2008).

La tangéritine cible le récepteur delta opioïde ($P_a= 0,333$), très largement distribués dans le cerveau. Ces récepteurs modulent plusieurs fonctions dont la réponse à la douleur, au stress et le contrôle des émotions. La tangéritine pourrait être un bon candidat en particulier dans le domaine du traitement de la douleur (Marie, 2009).

Discussion générale

Les plantes ont montré au fil du temps que leur abondance en composés bioactifs, notamment les flavonoïdes, les tanins et les saponines, qui ont un effet cytotoxique puissant, ils peuvent inhiber la prolifération de plusieurs lignées cellulaires tumorales (Mehdinezhad et al., 2016). Ces classes de métabolites secondaires ont été précédemment identifiées dans *Tamarix africana* (Bahramsoltani et al., 2019). La capacité de chaque composé à induire une cytotoxicité sur les lignées cellulaires tumorales a été étudiée à l'aide du serveur CLC-Pred, et les données ont clairement indiqué que les quatre composés testés avaient un effet cytotoxique modéré sur la majorité des lignées cellulaires.

En effet, la quercétine-3-glycoside a présenté un effet cytotoxique modeste contre la Leucémie promyéloblastique (HL-60) ($P_a = 0,563$), ce qui pourrait s'avérer prometteur dans le traitement des maladies liées à l'hématopoïèse, puisque dans une situation de leucémie, la moelle osseuse est remplacée par des tumeurs ce qui empêche la production régulière de lymphocytes B ou T et peut causer une anémie à long terme (Raetz et Teachey, 2016 ; Dinner et Liedtke, 2018)

La diosmine a montré un effet cytotoxique non négligeable sur adénocarcinome du côlon (Caco-2), avec $P_a = 0,651$. Ces résultats sont très importants car le cancer du côlon est l'un des cancers les plus répandus dans le monde. Bien que la chimiothérapie soit l'un des traitements les plus utilisés pour le cancer du côlon, elle présente certains inconvénients, notamment la toxicité des cellules normales et la résistance progressivement accrue des cellules cancéreuses (Turan et al., 2018).

La rutine a présenté un effet cytotoxique modeste contre la lignée cellulaire de Mélanome métastatique de la peau (SK-MEL-1) avec $P_a = 0,536$, il représente 10 à 15 % de toutes les tumeurs, et se développe plus profondément dans la peau plus rapidement que les autres types. La rutine peut être un bon candidat pour le traitement du cancer de la peau (Schadendorf et al., 2015).

L'apigénine et la tangéritine ont présenté un effet cytotoxique contre la lignée cellulaire de Oligodendrogliome (Hs 683) du cerveau avec $P_a = 0,587$ et $P_a = 0,662$ respectivement. Le glioblastome (GBM), selon la classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), est le gliome primaire le plus meurtrier chez les adultes. Plusieurs études ont montré que les patients atteints de GBM ont une faible survie (Lacroix et al., 2001 ; Sanai et al., 2011). La prévalence du GBM est de 26 000 cas, avec un taux de mortalité de 15 000 cas par an en Europe. 15 000 cas par an aux États-Unis, et une incidence de deux à trois cas pour 100 000 adultes par an. GBM représente 52 % de toutes les tumeurs cérébrales primaires aux

Discussion générale

États-Unis (Robles et *al.*, 2015). L'apigénine peut être un bon candidat pour le traitement du cancer du cerveau.

Le cancer du sein est actuellement la tumeur maligne la plus fréquente et la première cause de mortalité par cancer chez la femme. C'est une maladie complexe et hétérogène. Cette hétérogénéité se retrouve au niveau histologique, phénotypique et moléculaire. Il demeure une maladie mal connue, et les classifications cliniques et histologiques actuelles ne permettent pas de prédire totalement les paramètres pronostiques et prédictifs de réponse aux traitements, ce qui est source de traitements inappropriés (Guedouar et *al.*, 2020). L'apigénine-7-O-glycoside montre un effet cytotoxique sur l'adénocarcinome du sein (MDA-MB-453) avec $P_a=0,564$, ce qui pourrait s'avérer prometteur dans le traitement du cancer de sein.

Le cancer de la prostate se situe au 1^{er} rang des cancers chez l'homme, nettement devant les cancers du poumon et du côlon-rectum. Il représente 25 % de l'ensemble des cancers incidents masculins. Ce cancer survient dans environ 66 % des cas chez des hommes âgés de 65 ans et plus (Miller et *al.*, 2016). La wogonine a montré un effet cytotoxique modeste contre la lignée cellulaire épithéliale du carcinome de la prostate (CWR22R) avec $P_a=0,340$.

Chaque année, près de 3000 femmes développent un cancer du col de l'utérus et 1000 femmes en meurent. Le cancer du col de l'utérus est attribuable dans la grande majorité des cas à une infection persistante par un papillomavirus humain (HPV) à haut-risque, infection très fréquente, transmissible par contact sexuel (Gottlieb et *al.*, 2014). La quercétine a présenté une cytotoxicité contre le sarcome du corps utérin (MES-SA) avec un $P_a= 0, 493$.

Le cancer de l'ovaire est la 9^{ème} cause de cancer chez la femme, le nombre de nouveaux cas diagnostiqués en 2020 en France est estimé à 5320. Les 3935 décès recensés pour l'année 2020 en font, en France, la 5^{ème} cause de mortalité par cancer (Ferlay et *al.*, 2021). Par conséquent, la nerhésipridine est cytotoxique sur les adénocarcinome ovarien (OVCAR-5) avec un $P_a=0,345$.

Lors de la pandémie de COVID-19, qui a acquis une pertinence et une importance particulières. Le développement de médicaments antiviraux à large spectre hautement efficaces, à faible toxicité et à faible coût, est l'un des problèmes majeurs de la virologie et de la pharmacie depuis de nombreuses années (Pedrosa et *al.*, 2020).

Les médicaments antiviraux synthétiques agissent plus rapidement et fournissent, en règle générale, l'effet thérapeutique maximal. Cependant, ils présentent l'inconvénient d'un

Discussion générale

grand nombre de contre-indications et de réactions secondaires, ainsi que d'une dépendance et d'un risque d'infection (Ryu et *al.*, 2017). L'industrie pharmaceutique se tourne aujourd'hui vers de nouvelles solutions antivirales telles que les peptides, qui constituent un nouveau champ d'exploration pour la thérapie. Les médicaments antiviraux à base de plantes ont un large spectre d'action (en plus de l'effet antiviral, ils ont un effet anti-inflammatoire, antioxydant et anti-inflammatoire (Hamed et *al.*, 2015). Par ailleurs nos molécules montrent un spectre d'action très large ciblant l'enzyme protéase principale, qui est indispensables pour la réplication virale surtout ceux de la famille des coronavirus, ceci peut être due à leurs structures, leurs degrés de polymérisation et leurs richesses en groupements hydroxyle (Besednova et *al.*, 2021). Une étude récente publier par Wink et *al.* (2020) a montré que les tanins sont connus comme de puissants inactivateurs de protéines, y compris de protéines virales en formant plusieurs liaisons hydrogènes et ioniques lorsqu'ils interagissent avec une eux. De plus, les polyphénols se lient aux protéines de l'enveloppe virale, empêchant l'agent pathogène d'interagir avec la cellule hôte.

L'étude *in silico* est réalisé en mettant une molécule en docking pour prédire son activité avec l'enzyme cible sélectionnée. Le docking est une tentative d'harmoniser le ligand, une petite molécule, dans le site actif de la cible, qui est une grande molécule protéique (Ekowati et *al.*, 2018). Les résultats du test *in silico* se présentent sous la forme de valeurs d'énergie de liaison, ou du score Moldock (MDS). L'énergie de liaison indique la quantité d'énergie nécessaire à la formation d'une liaison entre le ligand et la protéine. Plus l'énergie de liaison est faible, plus la liaison est stable. Si la liaison du ligand avec le récepteur est stable, on peut prédire que l'activité sera plus forte (Somer, 2004).

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative dynamique caractérisée par l'absence de neurotransmission cholinergique liée à l'âge. La MA résulte d'un dérèglement du système cholinergique principalement due à la baisse des taux d'acétylcholine, et la transmission des signaux dans le cortex cérébral est sérieusement affectée (Chen et *al.*, 2017). Au cours de la transmission des signaux nerveux biologiques, l'acétylcholine entre les synapses du cerveau est dégradée par le cholinestérase. Il existe deux types de cholinestérases, l'une étant l'AChE et l'autre le BChE. La fonction biologique de deux cholinestérases est d'hydrolyser l'acétylcholine, ce qui affecte finalement la conduction normale des signaux nerveux (Pang et *al.*, 2017). Par conséquent, l'inhibition des enzymes responsable de la dégradation de l'acétylcholine au niveau synaptique entraine une restauration de la concentration d'acétylcholine au niveau synaptique ce qui permet de rétablir la neurotransmission cholinergique (Gao et *al.*, 2021). Dans l'Alzheimer, les inhibiteurs des

Discussion générale

cholinestérases ont été développés comme traitement de première ligne pour les symptômes de la maladie (Ferreira-Vieira et *al.*, 2016). En comparaison au standard galantamine, l'apigénine-7-O-glucoside et la diosmine ont montré les énergies de liaison les plus faibles, témoignant de leur forte activité inhibitrice contre les deux enzymes AChE et BChE. Des études cristallines ont montré que la Ser203 et la His447 sont les deux principaux acides aminés impliqués dans les propriétés catalytiques de l'AChE. Ces deux acides aminés sont situés dans la poche d'oxyanion et sont parmi les résidus catalytiques clés, qui comprennent également Glu202, Tyr33 et Trp86. Les acides aminés Trp236, Phe338, Phe297, et Phe295, sont quant à eux situés dans la poche de liaison à la choline (Brus et *al.*, 2014 ; Li et *al.*, 2021). Nos résultats affirment que l'apigénine-7-O-glucoside a montré des interactions hydrogènes, hydrophobes et des interactions de Van Der Waals avec ces acides aminés, reflétant ainsi son potentiel inhibiteur.

Pour les deux enzymes cibles AChE et BChE, les résultats du docking moléculaire ont démontré que les énergies de liaison les plus faibles sont attribués aux flavones glycosylées. La glycosylation a probablement augmenté l'hydrophilie, augmentant ainsi les interactions hydrogène entre les flavones et ses enzymes cibles (Remya et *al.*, 2014). Les deux phytoconstituants l'apigénine-7-O-glucoside et la diosmine avaient la plus faible énergie de liaison contre l'AChE et le BChE, ce qui en fait un bon candidat en neurothérapie et dans d'autres thérapies cognitives (Young et *al.*, 2014).

L' α -amylase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse des polymères d' α -D-glucose. Cette enzyme est sécrétée essentiellement par le pancréas exocrine et les glandes salivaires, où elle est responsable de l'hydrolyse des amidons en libérant, selon les substrats, maltose, maltotriose, et dextrine. Dans certains cas pathologiques, des niveaux anormaux de l' α -amylase ont été produit suite à des affections des glandes salivaires et pancréatiques, ce qui induit une dégradation intense de l'amidon et donc une augmentation de la glycémie (Obiro et *al.*, 2008). La néohesperidine a montré un effet inhibiteur important contre l'enzyme α -amylase en produisant l'énergie de liaison la plus faible. L'inhibition de l' α -amylase bloque le processus de la dégradation des oligosaccharides, stoppant la digestion des carbohydrates, permettant ainsi de contrôler le niveau du glucose dans le sang chez les diabétiques (Narkhede et *al.*, 2011). Une étude antérieure menée par Shen et *al.* (2013) a montré l'effet antidiabétique de la néohesperidine, qui est dû à la richesse de la néohesperidine en de nombreux groupement fonctionnel OH, qui pourraient favoriser la formation de liaisons H entre ce flavonoïde et les résidus de l'alpha-amylase, favorisant l'hypothèse d'une éventuelle activité antidiabétique de cette molécule.

Discussion générale

L'uréase catalyse l'hydrolyse de l'urée pour produire de l'ammoniac et du dioxyde de carbone (Mobley et *al.*, 1991). Les recherches sur cette enzyme ont pris de l'ampleur depuis la découverte d'*Helicobacter pylori* comme agent causal de la gastrite humaine. Elle joue sans aucun doute un rôle central dans la pathogénie de *H. pylori*. L'hydrolyse de l'urée avec production d'ammoniac peut permettre la survie de cet organisme sensible aux acides dans la muqueuse gastrique. L'ammoniac généré par l'hydrolyse de l'urée peut également produire de graves effets cytotoxiques dans la muqueuse gastrique. L'inhibition de l'uréase par des composés spécifiques pourrait apporter une contribution précieuse au traitement des infections causées par des bactéries productrices d'uréase (Follmer et *al.*, 2010).

La wogonine a montré un score de liaison faible avec l'uréase, ce qui est en accord avec une étude approfondie de Yu et *al.* (2014) qui ont conclu qu'une relation structure-activité a révélé que le 4'-hydroxyle a donné aux flavones un avantage pour la liaison avec l'uréase. De plus, les groupes sulfhydryles des acides aminés du site actif de l'enzyme, en particulier celui de la Cys321, fait de ces résidus clés des cibles préférentielles dans l'inhibition de l'uréase par le wogonine. Cette molécule peut donc avoir un bon potentiel en tant qu'inhibiteur d'uréase pour le traitement de l'infection à *Helicobacter pylori*, principal responsable des troubles gastro-intestinaux. Cela peut aider les scientifiques à développer de nouveaux médicaments pour traiter les ulcères gastriques et duodénaux, et certains types de cancers (Konieczna et *al.*, 2012).

L'enzyme tyrosinase est une oxydase fonctionnelle qui est largement répandue dans la nature. Elle est la principale enzyme de la synthèse de la mélanine et participe également à la désignation de la couleur des cheveux et de la peau des mammifères (Taslimi, 2020). La mélanogénèse est un mécanisme physiologique qui aboutit à la production de pigments de mélanine, lesquels jouent un rôle important dans la prévention des lésions cutanées dues au soleil. La synthèse de mélanine dans la peau humaine est donc un mécanisme de défense primaire contre les rayons UV. En revanche, l'hyperpigmentation, tels que les taches de vieillesse, le mélasme et les sites de lésions actiniques sont des perturbations qui peuvent avoir lieu suite à la surproduction de la mélanine (Kwong et *al.*, 2017). Ainsi, l'ajustement de la synthèse de la mélanine par l'intermédiaire de l'inhibition de la tyrosinase est un sujet d'étude commun dans le contexte de la prévention de l'hyperpigmentation (Garcia-Jimenez et *al.*, 2017). L'apigénine a montré un résultat important contre la tyrosinase avec l'énergie de liaison la plus faible. Si et *al.* (2011) ; Wang et *al.* (2014) ont rapporté que les groupes hydroxyle en C3 et C5 de ce flavonone interagissaient avec His377 situé dans le site actif de la tyrosinase. Dans ces études, l'apigénine a inhibé de façon réversible l'activité catalytique de

Discussion générale

la tyrosinase d'une manière mixte, et a eu un effet synergique significatif sur cette inhibition. L'apigénine s'insérait dans la cavité hydrophobe pour interagir avec certains résidus situés dans la poche du site actif de la tyrosinase. En conséquence, l'apigénine pourrait être un inhibiteur prometteur pour empêcher la formation de mélanine en raison de son insertion dans le site actif de l'enzyme occupant le centre catalytique pour éviter l'entrée du substrat. Sur la base des rapports ci-dessus ainsi que la structure hydroxyle phénolique de l'apigénine, nous avons émis l'hypothèse que l'apigénine peut être un bon candidat pour le traitement des troubles pigmentaires et le développement des crèmes éclaircissantes en dermatologie cosmétique (Xiong *et al.*, 2016 ; Taslimi, 2020).

Bien que les études de vaccination contre le COVID-19 soient presque terminées, l'importance de développer des médicaments antiviraux contre ce virus devient évidente si l'on considère les mutations que le virus peut subir et les problèmes qui peuvent survenir au cours du processus de vaccination. Les recherches futures devraient porter sur les processus métaboliques de ce composé et ses effets sur le SARS-CoV-2 *in vitro* et *in vivo* (Ali, 2021).

Plusieurs documents indiquent que la protéase principale de SARS CoV-2 (SARS CoV-2 Main protease) pourrait être utilisée à des fins de criblage pour prédire l'affinité de liaison de médicaments approuvés, d'inhibiteurs naturels, d'antioxydants et ceux en cours d'essais cliniques (Wang 2020). Il est rapporté que deux interactions de liaisons hydrogène avec le centre catalytique (sous-site S1) des protéases cibles sont plus avantageuses, plutôt qu'une seule (Zhang *et al.*, 2020). Le rôle du Glu166 est considéré comme étant critique pour la dimérisation de deux protomères et contribue à la formation de la poche S1 du site de liaison du substrat (Nguyen *et al.*, 2020). Récemment Nguyen *et al.* (2020) ont également dévoilé le fait que Gly143, Cys145, Glu166, et His163 de protéase principale sont les résidus qui peuvent former une liaison hydrogène et des fragments moléculaires très favorables pour le développement de nouvelles molécules inhibiteurs de la protéase principale du SRAS-CoV-2. En tenant compte de ces constatations et sur la base de nos résultats de docking moléculaire, la rutine a montré des interactions moléculaires très intéressantes. Cette molécule peut ainsi être utilisée pour concevoir des nouveaux médicaments antiviraux efficaces contre le SRAS-CoV-2.

Une étude *in silico* réalisée par Srivastava *et al.* (2020) démontre que la stabilité de la liaison à l'intérieur de la protéase principale du SRAS-CoV-2 est due principalement aux interactions établies avec les acides aminés His41, Gly143, Gln189, Glu166, Cys145, Thr25, Asn142, Met49, et Pro168 présents dans le site actif de cette enzyme, qui interviennent en

Discussion générale

formant des interactions non covalentes avec les ligands inhibiteurs (Srivastava *et al.*, 2020), ce qui est cohérent avec notre observation.

Aujourd'hui, de nombreuses catégories de médicaments anticancéreux commerciaux ciblant la réplication de l'ADN et la ségrégation des chromosomes afin d'arrêter la division cellulaire ont montré des effets secondaires négatifs sur les cellules saines (Ren *et al.*, 2011). Par conséquent, le développement d'une thérapie anticancéreuse hautement efficace et à toxicité réduite est souhaitable. Pour découvrir de nouvelles voies susceptibles de remédier à ces problèmes, la kinase dépendante des cyclines de type 6 (CDK6) activée par la cycline D (cycD) qui dirige la prolifération cellulaire, au moins dans les cellules souches hématopoïétiques et les tissus au début du cycle cellulaire (progression G0-G1 et G1-S), est une cible attrayante pour des études expérimentales et théoriques (Harper et Adams, 2001). Dans ce contexte l'apigénine a montré un résultat important contre la CDK-6 avec une énergie de liaison de -10.5 Kcal/mol par rapport à la référence Fisetin (-10.4 Kcal/mol). Une étude antérieure a montré qu'il existe de nombreuses catégories d'inhibiteurs de CDK6 dont certains flavonoïdes avec différents nombres et positions de substitutions de groupes hydroxyle. L'apigénine réagit en entrant en compétition avec l'ATP dans le site de liaison de l'ATP dans la CDK6, et ainsi, l'activité kinase du complexe CDK6/cycD est stoppée. Cependant, dans le domaine C-terminal de CDK6, la stabilisation de Leu152 était principalement due à sa chaîne latérale hydrophobe et à des interactions de Van Der Waals favorables avec le cycle benzopyrène de l'inhibiteur (l'apigénine) (Khuntawee *et al.*, 2012). La compréhension au niveau moléculaire des interactions particulières entre les composés flavonoïdes et le complexe CDK6/cycD pourrait apporter des informations fondamentales pour aider à la conception et au développement de nouveaux agents anticancéreux puissants.

En ce qui concerne la caspase-3 l'inhibiteur de référence dérivé de l'isoquinoléine-1,3,4-trione a donné une énergie de liaison de -6.5 Kcal/mol. Par ailleurs, avec un score de -7.5 Kcal/mol, le néohespéridine semble être le ligand avec la plus forte liaison moléculaire.

Activités pharmaco-biologiques des extraits et fractions de *Tamarix africana*

Pouvoir antioxydant

Les propriétés antioxydantes sont fortement corrélées à un contenu phénolique élevé d'une plante, qui contribue grandement à la suppression des espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou des espèces réactives de l'azote (RNS) en bloquant les enzymes impliquées dans leur formation ou en régulant à la baisse l'expression de leurs gènes respectifs. Les polyphénols peuvent également améliorer la fonction cardiaque en diminuant

Discussion générale

considérablement la production de ROS et de RNS, minimisant ainsi les dommages aux cardiomyocytes et prévenant la nécrose ou l'apoptose de ces cellules (Mattera et al., 2017). Il est également intéressant de noter que les tanins qui sont considérés comme une classe de métabolite secondaire clé peuvent considérablement améliorer l'activité de plusieurs enzymes antioxydantes telles que la catalase, la Glutathion peroxydase (GPX) et la superoxyde dismutase (SOD) (Maisetta et al., 2019). En fait, les extraits de *Tamarix africana* se sont avérés dotés d'agents piègeurs élevés contre le DPPH, l'ABTS et le GOR. En présence de molécules antioxydantes, le DPPH ou l'ABTS⁺ ou le GOR peuvent accepter un électron ou un atome d'hydrogène du composé antioxydant et sont ainsi convertis en une molécule plus stable (Carmona-Jiménez et al., 2014 ; Zengin et Kiliç, 2018). De plus, chaque composé présent dans l'extrait peut agir indépendamment ou de manière synergique avec d'autres composés (Wink, 2015).

L'activité antiradicalaire de *Tamarix africana* est importante. Cette activité diffère cependant entre les extraits. Ainsi, l'extrait MeOH a montré un effet antioxydant important contre le radical cationique ABTS⁺ ($2,01 \pm 0,11 \mu\text{g/mL}$) et dans le test de la phénanthroline ($0,20 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$). Des résultats équivalents ont été rapportés par Ksouri et al. (2009) qui ont noté une activité antiradicalaire contre les radicaux libres ABTS⁺⁺ comparables à la nôtre. Ces auteurs ont rapporté une activité antioxydante contre le radical ABTS estimée par l'IC₅₀ de $316.7 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait MeOH des feuilles de *Tamarix gallica*.

Le test de la phénanthroline est considéré comme un test récent servant à l'évaluation de l'activité antioxydante possible d'un extrait ou bien d'une huile essentielle d'une plante (Bensaad et al., 2021). L'évaluation de la capacité antiradicalaire d'une espèce du genre *Tamarix* en utilisant cette approche a été réalisée pour la première fois, dans la présente étude. La fraction *n*-BuOH a révélé le meilleur résultat contre le radical DPPH ($2.91 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$), le test de pouvoir réducteur ($1.72 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$) et test de CUPRAC ($10.41 \pm 0.43 \mu\text{g/mL}$), ceci peut être dû à la présence de l'apigénine-7-O-glucoside et la quercétine-3-glucoside ou la substitution par un glucose les rend riche en groupement hydroxyle qui sont des donneurs de proton par excellence. Une étude menée par Chekroun-Bechlaghem et ses collaborateurs (2019) ont montré que l'extrait MeOH ($2.28 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$), l'extrait acétonique ($0.81 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) et la fraction AE des feuilles de *Tamarix africana* ont donné une bonne activité antiradicalaire contre DPPH^{*}. Une étude récente menée par Al-othman et al. (2020) a montré que l'extrait AE de *Tamarix aphylla* avait un bon effet antiradicalaire contre le radical DPPH^{*} avec une IC₅₀ de $15.10 \pm 0.87 \mu\text{g/mL}$. Une étude menée par Drabu et al. (2012) a montré que l'extrait MeOH de *Tamarix gallica* a révélé de bonnes propriétés antioxydantes dans le test de

Discussion générale

FRAP par des composés naturels dont les valeurs IC₅₀ rapportées étaient de 19.36 µg/mL. Une étude utilisant le test CUPRAC a révélé que la quercétine et l'épigallocatechine (flavonol) avaient des effets antiradicalaires considérables en participant activement avec leurs groupes OH à la réduction du Cu⁺² en Cu⁺ et en limitant ainsi la formation des radicaux libres (Apak et al., 2008). Ceci permettrait de contrôler la concentration sanguine de l'oxyde nitrique afin d'empêcher l'apparition de la peroxydation lipidique susceptible de perturber la fluidité et la perméabilité membranaire (Nishizawa et al., 2021).

L'extrait acétonique a donné des résultats importants contre le blanchiment de la β-carotène (IC₅₀=3.13±0.23 µg/mL). La richesse des plantes en tanins, saponines et terpènes surtout des espèces de la famille des Tamaricacées telles que *Tamarix gallica*, pourraient expliquer la capacité antiradicalaire de cette plante contre le blanchiment de β-carotène qui a exprimé une valeur IC₅₀ de 54.7 µg/mL (Ksouri et al., 2009). L'extrait acétonique a également montré un effet antioxydant important contre le radical GOR avec une valeur de l'IC₅₀ de 3.17±0.09 µg/mL. Le test GOR est considéré comme un bon test d'évaluation de l'activité antioxydante et la simplicité de sa réalisation font de lui l'un des tests les plus convoités de cette décennie (Dose et al., 2016). L'évaluation de l'activité antioxydante de *Tamarix africana* par ce test est considérée comme originale sur une espèce du genre *Tamarix*. La fraction aqueuse a montré un résultat important dans la réduction de permanganate (IC₅₀=5.68 ± 0.04 µg/mL). Par conséquent, la capacité des extraits et fractions de piéger le permanganate de potassium peut être expliquée par la présence de composés phénoliques totaux et des flavonoïdes. Les composés phénoliques sont connus pour leur potentiel de piégeage des radicaux libres en raison de la présence de groupes hydroxyles (Simić et al., 2007). Les mécanismes de réaction d'oxydation des phénols, dans les solutions alcalines sont mieux compris, mais ils sont plus complexes dans les solutions acides (Coploviciand Baldea, 2007). Une étude récente a rapporté que *Tamarix articulate* a montré une forte activité antioxydante qui pourrait être due aux composés phénoliques (Tabet et al., 2018). Chekroun-Bechlaghem et al. (2019), a établi que les composés polyphénoliques actuels trouvés dans les feuilles de *Tamarix africana* sont responsables de leurs propriétés antioxydantes. L'activité antioxydante améliorée des fractions par rapport aux extraits bruts peut être expliquée par la quantité et le caractère de chaque composant phénolique particulier, ce qui est en accord avec nos résultats.

De précédents tests *in vivo* ont révélé que les polyphénols peuvent augmenter les niveaux de catalase (CAT), de glutathion peroxydase (GSH-Px) et de superoxyde dismutase (SOD) sériques chez les rats, mais aussi diminuer la formation de malondialdéhyde (MDA)

Discussion générale

(Cotelle, 2001). En fait, les flavonoïdes peuvent bloquer les enzymes qui participent à la génération d'anions superoxydes comme la xanthine oxydase. La majorité des flavonoïdes fixent les métaux traces, qui sont vitaux dans le métabolisme de l'oxygène. Les ions libres de fer et de cuivre ont le potentiel de favoriser la génération de ROS via les réactions de Fenton et de Haber-Weiss qui produisent le dangereux radical hydroxyle (Ahmed *et al.*, 2017).

La rutine et la quercétine sont probablement parmi les agents antioxydants les plus puissants et plusieurs études, utilisant des souris et des rats comme modèle expérimental, ont rapporté que ces flavonoïdes peuvent réduire considérablement le stress oxydatif et la peroxydation lipidique (Igarashi and Ohmura, 1995 ; Magalingam *et al.*, 2013 ; Liu *et al.*, 2017). Cette réduction a été observée dans plusieurs tissus, notamment le cerveau, les reins et le foie ; en protégeant et en améliorant l'expression de gènes clés codant pour des protéines impliquées dans les processus antioxydants comme la glutathion S transférase α (GST α), la paraoxonase-1 (PON-1) et la glutamate-cystéine ligase (GCL). En conséquence, ces enzymes diminueront considérablement le taux plasmatique de malondialdéhyde (MDA) et le glutathion (GSH) considérés comme les principaux marqueurs du stress oxydatif (Al-Rejaie *et al.*, 2013).

Les acides phénoliques jouent également un rôle très important dans le renforcement des mécanismes antioxydatifs de l'organisme, ils agissent directement sur les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en réduisant considérablement leur production et en minimisant l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) (Pontiki *et al.*, 2014). Ainsi plusieurs mécanismes sont générés tels que l'activation de la transcription de certains gènes codant pour des enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxidase (GPx) et la superoxyde dismutase (SOD) via l'activation de l'élément de réponse cis-antioxydant (ARE) (Hu *et al.*, 2010).

Une autre étude a montré que la quercétine pouvait inhiber l'expression de la protéine d'adhésion aux cellules vasculaires de type 1 (VCAM-1) et E-sélectine, au niveau des cultures endothéliales en activant la voie de signalisation TLR-NF- κ B dans l'endothélium (Kleemann *et al.*, 2011), ce qui empêcherait le développement de plusieurs maladies liés à un stress oxydatif prolongé telles que l'athérosclérose, le cancer, le diabète, la polyarthrite rhumatoïde et les lésions de perfusion post-ischémique (Uchmanowicz, 2020).

Il a été démontré que certains composés naturels tels que la rutine et la quercétine pourraient stimuler certaines cellules nerveuses à réguler la réponse immunitaire et la réparation cellulaire. Ainsi, en renforçant la fonction immunitaire, les neurones avec d'autres types de cellules nerveuses augmentent leurs capacités à résister aux dommages et à se réparer

Discussion générale

(Grosso et *al.*, 2013). Le mécanisme moléculaire qui a été proposé pour expliquer cette réduction du stress oxydatif par ces deux composés, c'est la voie de signalisation Krox20 dont l'activation entrainerait une augmentation du GSH intracellulaire, ce qui abaisserait automatiquement les niveaux de ROS et la prévention de l'afflux de Ca^{2+} (Cui et *al.*, 2020 ; Ishige et *al.*, 2001). Ces flavonoïdes seraient aussi capables d'améliorer la neuroplasticité, ce qui renforcerait les processus d'apprentissage et de mémorisation du cerveau (Silva et *al.*, 2019).

Activité Anti-Alzheimer

Inhibition de la Cholinestérase

La maladie d'Alzheimer (AD) dépend entièrement de la déficience en antioxydants, en antiradicalaires et en composés réducteurs. L'inhibition d'un certain nombre d'enzymes endogènes est également importante dans la progression de cette neuropathologie (Goedert, 2015). La déplétion du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) par les cholinestérases est liée à l'étiologie de la maladie d'Alzheimer (Langyanai et *al.*, 2017). Aujourd'hui, l'utilisation d'inhibiteurs de l'AChE est la méthode de traitement la plus efficace (Tundis et *al.*, 2016).

Plusieurs extraits de plantes ou molécules isolées de plantes ont été rapportés comme étant une bonne alternative pour le traitement des maladies d'Alzheimer et de Parkinson. Premièrement, en raison de leur capacité à inhiber l'AChE et le BChE, deuxièmement, pour améliorer les propriétés cognitives des patients, et troisièmement, en raison de leur effet antioxydant, qui limite la progression rapide de la maladie en neutralisant les radicaux libres et en prévenant les lésions du tissu cérébral (Gali et Bedjou, 2019 ; Yakoubi et *al.*, 2021). Les plantes pourraient constituer une option viable pour le traitement des maladies neurodégénératives. Les substances naturelles trouvées dans les plantes, en particulier les phénoliques, ont démontré dans des recherches récentes qu'elles étaient pharmacologiquement bénéfiques (Phan et *al.*, 2019).

La capacité des extraits de *Tamarix africana* à inhiber l'AChE et BChE a été réalisée en utilisant une approche *in vitro*. L'extrait MeOH a eu un fort impact inhibiteur sur l'AChE ($9.46 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$), alors que la fraction *n*-BuOH a présentée l'effet inhibiteur important contre la BChE avec une valeur IC_{50} de ($7.01 \pm 0.28 \mu\text{g/ml}$). Ces résultats peuvent être expliqués par l'existence de substances chimiques dans les extraits qui sont responsables de l'inhibition de l'AChE et du BChE. Une autre étude menée par Mahfoudhi et *al.* (2016) sur l'extrait MeOH de *Tamarix aphylla* (L.) Kasrt, qui a montré un effet protecteur modérés contre l'acétylcholinestérase, mais aucun effet n'a été observé contre la butyrylcholinestérase, notant que acides gallique, caféique, *p*-coumarique, férulique et ellagique, kaempférol,

Discussion générale

quercétine, quercétine 3-O-galactoside et six dérivés de flavonol étaient présents dans ces plantes à des teneurs élevées, ce qui ne coïncide pas avec les résultats obtenus avec *Tamarix africana*. Cette activité modeste des extraits étudiés contre l'AChE peut être expliquée par l'antagonisme potentiel qui existe entre les substances identifiées. Il est également important à noter que qu'il existe de nombreux autres composés non identifiés (Nag et al., 2011).

De nombreuses études ont montré que des substances naturelles provenant de diverses sources peuvent supprimer les activités de l'AChE et du BChE, comme les polyphénols (Djermane et al., 2020). Ils préviennent potentiellement l'agrégation de la β -amyloïde (A) induite par l'acétylcholinestérase en inhibant la toxicité de la protéine β -amyloïde, qui est l'une des causes principales de la maladie d'Alzheimer puisque nous savons que la réduction de la population neuronale entraîne une perte progressive des capacités cognitives (Bensaad et al., 2021 ; Phan et al., 2019).

L'effet des ROS sur les phospholipides membranaires pourrait être néfaste puisque certaines modifications des phospholipides membranaires peuvent être à l'origine de la maladie d'Alzheimer (Nitsch et al., 1992). Les acides phénoliques ont un rôle très important dans le renforcement des mécanismes antioxydatifs, ce qui engendre leurs effets remarquables sur l'acétylcholinestérase (Mahfoudhi et al., 2014 ; Nguyen et al., 2016).

Les polyphénols tel que la vanilline est l'un des substances les plus prometteuses dans le traitement des maladies liées au système nerveux. Ainsi une étude menée par Lan et al. (2019), a montré que ce composé pouvait diminuer considérablement le volume de l'infarctus cérébral, ainsi que l'œdème cérébral et les dommages histomorphologiques chez le rat nouveau-né en atténuant considérablement les dommages oxydatifs. La vanilline préserverait même l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique ce qui la place comme candidat prometteur dans le traitement de l'encéphalopathie hypoxique-ischémique néonatale (Dhanalakshmi et al., 2015)

Activité anti-uréase

L'uréase est l'enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'urée pour générer de l'ammoniac. Elle est connue pour être le principal facteur impliqué dans la gastrite et l'ulcération gastrique. Cette production d'ammoniac dans l'estomac peut permettre la prolifération de plusieurs souches microbiennes pathogènes en raison de l'augmentation du pH qui crée un environnement parfait pour elles (Kosikowska et Berlicki, 2011). En outre, l'uréase est impliquée dans d'autres conditions pathologiques comme la pyélonéphrite, le coma hépatique et la formation de calculs urinaires (Shabana et al., 2010). Un grand nombre d'inhibiteurs de l'uréase ont été identifiés à partir de plantes, notamment des terpénoïdes, des polyphénols et

Discussion générale

des alcaloïdes agissant comme des molécules concurrentes du substrat (urée) ou en chélatant le cofacteur nickel (Hassan et Zemlicka, 2016).

L'extrait MeOH de *Tamarix africana* ont démontré une activité anti-uréase intéressante ($IC_{50}=10.81\pm 1.25\mu\text{g/ml}$), ce qui encourage son utilisation pour traiter les infections à *Helicobacter pylori* et les troubles associés. Une étude antérieure menée par Zaidi et al. (2012) a montré que l'extrait hydroéthanolique des parties aériennes de *Tamarix dioica* Roxb. ex Roth a montré un important effet bactéricide contre les isolats cliniques et les *Helicobacter pylori* standard avec 7,8-500 $\mu\text{g/ml}$ MBC > 500 $\mu\text{g/ml}$. A notre connaissance, aucun article n'a rapporté l'effet inhibiteur de l'uréase des extraits de *Tamarix L.*

Activité dermato-protectrice

Activité anti-tyrosinase

Les extraits de *Tamarix africana*, ont présenté un effet inhibiteur remarquable contre la tyrosinase. Celle-ci est l'enzyme clé dans la synthèse de la mélanine, un pigment responsable de la couleur de la peau, des yeux et des cheveux chez les mammifères. Cependant, une surexpression de la tyrosinase peut générer à long terme certains effets secondaires tels que l'hyperpigmentation, les rides et même le cancer de la peau (Asanuma et al., 2003 ; Parvez et al., 2007). Les inhibiteurs de la tyrosinase ont reçu beaucoup d'attention de la part de la communauté scientifique dans le traitement des maladies de la peau et des pathologies liées au système nerveux central (Zolghadri et al., 2019 ; Iraj et al., 2021). En outre, l'exposition aux UV peut générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des espèces réactives de l'azote (RNS), qui favorisent la mélanogenèse en activant la tyrosinase.

Ces espèces réactives augmentent les dommages à l'ADN et peuvent stimuler la croissance des mélanocytes. Par conséquent, les antioxydants et autres piègeurs de ROS peuvent contribuer à atténuer l'hyperpigmentation. La quantité et la position des substituants hydroxyle dans certains flavonoïdes peuvent modifier de manière significative l'inhibition de la tyrosinase : un plus grand nombre de groupes hydroxyle dans le cycle benzénique améliore son inhibition vis-à-vis l'enzyme, tandis que la méthylation ou la glycosylation ont l'effet inverse, probablement en raison de l'encombrement stérique (Sepehri et al., 2021). Une étude antérieure menée par Okombi (2005) a montré que les flavones et principalement la chrysin et l'apigénine ont révélé une activité importante sur la tyrosinase humaine et l'inhibition observée est spécifique. Il est important à noter que le groupement hydroxyle du noyau doit être positionné en 4' pour avoir une activité meilleure, lorsque que celui-ci est supprimé ou déplacé en 2' par exemple, on assiste à une baisse significative de l'activité (Okombi, 2005).

Discussion générale

Au meilleur de notre connaissance, nous rapportons ici pour la première fois l'activité inhibitrice de la tyrosinase par les extraits et fractions de *Tamarix africana*.

Facteur de protection au soleil « FPS »

La lumière du soleil est vitale pour tous les organismes vivants, en effet elle aide à réguler notre rythme circadien et elle offre la capacité de fabriquer de la vitamine D qui est un nutriment important permettant à l'os de fixer et d'absorber le calcium et le phosphore pour améliorer le processus de minéralisation (Mead, 2008). D'autre part, le soleil émet également d'autres catégories de rayons qui peuvent être nocifs comme le rayonnement UV à large spectre également appelé soleil cancérigène (D'Orazio et al., 2013). Les rayons UVA pénètrent dans les couches profondes de l'épiderme et du derme, provoquant un vieillissement rapide de la peau (Dutra et al., 2004). La protection de la peau est un moyen efficace de protection contre les dommages induits par les rayons UV. Divers composés synthétiques ont été utilisés comme photoprotecteurs, mais leur utilisation a été limitée en raison de leur toxicité potentielle chez l'homme.

Les substances naturelles ont été récemment considérées comme des ressources potentielles de protection solaire en raison de leur capacité d'absorption des UV et de leur activité antioxydante (Ebrahimzadeh et al., 2014). On pense que les substances phénoliques sont capables d'inhiber les dommages à l'ADN en agissant sur les cascades de signalisation sensibles à l'oxydoréduction. Les substances phénoliques peuvent être utiles pour supprimer la production de radicaux libres d'oxygène et la peroxydation lipidique induites par les UV, qui sont des événements majeurs impliqués dans des conditions pathologiques telles que le photovieillissement et le cancer de la peau (Strack et al., 1997). Il est bien connu que la protection contre les UV nécessite une activité antioxydante et les valeurs élevées du FPS ont été attribuées aux contenus phénoliques élevés des plantes. Les plantes ayant des concentrations élevées de flavonoïdes comme la rutine peuvent être utilisées pour réduire la production de radicaux libres d'oxygène induite par les UV (Kittiwannachot et al., 2008).

En effet, la Commission européenne a publié en 2006 une directive sur les catégories de produits solaires (Commission of the European Communities, 2006) ; et selon leurs facteurs de protection indiqués dans le Tableau 34, *Tamarix africana* pourrait être un bon candidat pour entrer dans la composition des crèmes solaires naturelles.

Des recherches récentes ont montré que l'acide tannique protège efficacement les cellules fibroblastiques L929 contre les rayons UVB en réduisant la production d'une enzyme cruciale connue sous le nom de métalloprotéinase-1 de la matrice (MMP-1) (Daré et al., 2020).

Discussion générale

Plusieurs recherches ont indiqué que les substances naturelles, en particulier les antioxydants tels que les flavonoïdes, les caroténoïdes et les acides phénoliques, peuvent agir comme catalyseurs photosynthétiques en phase lumineuse et protéger les cellules végétales de l'effet de piégeage des ROS (Rai et *al.*, 2007). Les composés flavonoïdes peuvent effectivement améliorer la synthèse de la mélanine et même traiter le mélanome via l'activation du facteur de transcription MiTF et d'autres enzymes clés, à savoir la dopachrometautomérase DCT2 et la protéine 1 liée à la tyrosinase (TYRP-1), ce qui entraîne une inhibition remarquable de la prolifération, de la migration et de l'invasion des cellules de mélanome (Liu-Smith et *al.*, 2016 ; Netcharoensirisuk et *al.*, 2021).

Activité antidiabétique

Inhibition de α -amylase

Le diabète de type 2 est l'une des maladies les plus graves de la décennie actuelle, et il peut être causé par une combinaison de conditions variables telles qu'un dysfonctionnement des cellules β pancréatiques, une résistance à l'insuline et/ou une diminution de la tolérance au glucose (Robertson et Harmon, 2007).

Plusieurs études réalisées dans le secteur de la biotechnologie ont rapporté que les plantes peuvent prévenir et traiter efficacement le diabète de type 2, en raison de leur richesse en flavonoïdes et acides phénoliques qui peuvent s'opposer au processus de stress oxydatif en particulier la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Pham-Huy et *al.*, 2008)

L'hypothèse par laquelle les plantes exercent leur impact anti-hyperglycémique pourrait être l'inhibition possible de l' α -glucosidase et de l' α -amylase dans l'intestin grêle, pour empêcher la dégradation des glucides complexes et donc interférer avec leur absorption (Hogan et *al.*, 2010).

Des recherches récentes ont montré que dans le modèle de rats diabétiques, qu'une réduction du processus de stress oxydatif augmenterait significativement la sensibilité à l'insuline (Tangvarasittichai, 2015), ce qui pourrait augmenter l'activité du transporteur GLUT4 (Le transporteur de glucose 4'), qui a pour fonction principale de favoriser l'absorption du glucose afin de réduire la glycémie à un taux physiologique (Navale et Paranjape, 2016). Une étude menée par Zierath et Wallberg-Henriksson (2002) a démontré que l'augmentation de GLUT4 pourrait être due à une augmentation importante de la voie de transduction du transport dans laquelle des séries de protéines vont agir via une cascade ; ces protéines sont respectivement la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K), la protéine kinase C (PKC) et les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR).

Discussion générale

Une étude *in vivo* récente réalisée sur *Tamarix aphylla* a révélé que l'extrait aqueux des parties aériennes peut réduire considérablement l'activité de l' α -amylase dans le diabète induit par la streptozotocine chez les rats. Ces résultats peuvent être attribués à la richesse de ces plantes en composés phénoliques, en flavonoïdes et en tannins (Habi et *al.*, 2017), ce qui est tout à fait cohérent avec nos résultats antérieurs.

Test des nanoparticules d'argent (SNP)

Les extraits et fractions de *Tamarix africana* ont montré des résultats importants dans la réduction des nanoparticules d'argent. Tous ces résultats démontrent que les substances présentes dans l'extrait de plante étaient efficaces pour la synthèse des nanoparticules d'Ag avec une efficacité biologique qui offre la possibilité de l'incorporer dans la composition des produits alimentaires et pharmaceutiques.

Les nanoparticules d'argents sont bien connues pour leur excellente capacité antibactérienne et leurs propriétés physiques propriétés supérieures et sont largement utilisées dans un nombre croissant d'applications allant des désinfectants domestiques aux dispositifs médicaux et les purificateurs d'eau (Deshmukh et *al.*, 2019).

Une étude récente mené par Banerjee et ses collaborateurs (2021) a montré que les AgNPs ont un potentiel biocide contre les bactéries à large spectre, y compris les bactéries Gram-négatives et Gram-positives. L'effet de l'AgNP sur la cellule repose sur plusieurs bases : adhésion à la surface de la paroi et de la membrane bactériennes, pénétration dans la cellule et perturbation des organites et des biomolécules intracellulaires, induction d'un stress oxydatif et modulation des voies de transduction du signal (Dakal et *al.*, 2016). L'adhésion et l'accumulation d'AgNPs à la surface des cellules ont été particulièrement observées pour les bactéries Gram-négatives. Il est probable que la paroi cellulaire plus épaisse des bactéries Gram-positives produise la pénétration des ions d'argent dans le cytoplasme, donc l'effet des AgNPs est plus prononcé chez les bactéries Gram-négatives que chez les bactéries Gram-positives (Chauhan et *al.*, 2016).

L'argent est connu pour ses propriétés antimicrobiennes et a été utilisé dans le domaine médical et il a également été démontré que les nanoparticules d'argent exercent une activité anti-VIH à un stade précoce de la réplication virale, très probablement en tant qu'agent virucide ou en tant qu'inhibiteur de l'entrée virale. Les nanoparticules d'argent se lient à la gp120 d'une manière qui empêche la liaison, la fusion et l'infectivité du virion CD4-dépendant, agissant comme un agent virucide efficace contre les virus acellulaires et virus associé aux cellules. En outre, les nanoparticules d'argent inhibent les étapes post-entrée du

cycle de vie du VIH-1 (Lara et al., 2010). Ces interactions métal-microbe se sont déjà avérées avoir un rôle bénéfique dans les applications nanobiotechnologiques.

Au meilleur de notre connaissance, nous rapportons ici pour la première fois l'activité de réduction des nanoparticules d'argent par les extraits et fractions de *Tamarix africana*.

Test de cytotoxicité

Cytotoxicité par le test de létalité des larves *Artémia*

Le test de létalité des crevettes de saumure est une technique adéquate et souvent utilisée pour détecter la toxicité générale des produits chimiques, le dépistage de la tératogénicité des médicaments, l'écotoxicologie des organismes biologiques (Ahmed et al., 2014), et diverses actions pharmacologiques. La corrélation entre le test de létalité des crevettes de saumure et l'inhibition de la croissance *in vitro* de lignées cellulaires tumorales humaines montrent la valeur de ce test biologique en tant qu'un outil de présélection pour la recherche des drogues antitumorales (Akter et al., 2012 ; Sarah et al., 2017).

En effet, les saponines trouvées précédemment dans le screening phytochimique ont été considérées comme des agents antiprolifératifs et anticancéreux potentiels ayant des propriétés cytotoxiques (Ayaz et al., 2016). Les saponines sont considérées comme des médicaments anticancéreux ayant divers modes d'action. Leurs effets cytotoxiques peuvent être attribués à l'induction de l'apoptose ou à la promotion de la mort cellulaire non apoptotique. Il existe plusieurs procédures bien connues qui aboutissent au même effet appelé "mort cellulaire", mais qui impliquent différents modes d'action, comme la stimulation de la mort cellulaire autophagique, la réduction de la génération de NO dans les cellules ou la désintégration de l'intégrité du cytosquelette (Podolak et al., 2010).

Une étude antérieure menée par Sakagami et ses collaborateurs (2000) ont montré que les tannins hydrolysables étaient plus efficaces contre les lignées cellulaires de carcinome spinocellulaire oral humain et de tumeur des glandes salivaires que contre les fibroblastes gingivaux humains normaux. Bien que l'acide gallique, un composant unitaire des tanins, ait été nettement moins efficace. En général, les composés dimères avaient une action cytotoxique plus forte que les composés monomères. Ces produits chimiques ont provoqué la mort cellulaire apoptotique, qui a été caractérisée par la fragmentation de l'ADN (déterminée par la technique TUNEL) et le clivage de la cytokératine 18 par la ou les caspases activées (démonstré par l'anticorps monoclonal M30).

Discussion générale

En outre, les flavonoïdes peuvent servir de mutagènes, de prooxydants et d'inhibiteurs d'enzymes, selon des recherches antérieures. Il a également été signalé que cette classe de métabolites secondaires est cytotoxique à des doses plus importantes et en présence d'agents catalysant l'oxydation tels que les ions de métaux de transition, ce qui a été prouvé contre les cellules de leucémie promyélocytaire humaine (HL60) (Skibola *et al.*, 2000).

Une étude précédente menée par Abaza *et al.* (2016) sur l'extrait MeOH de *Tamarix Aucheriana*, utilisant des cellules cancéreuses colorectales humaines *in vitro*, a rapporté que l'extrait MeOH diminue la croissance et la prolifération cellulaire, augmente l'apoptose, l'arrêt du cycle cellulaire aux phases S et G2/M, les inhibiteurs de la kinase dépendante de la cycline, réduit les ROS, l'activité de liaison de l'ADN de NF- κ B, l'effet synergique avec les anticancéreux conventionnels.

Une étude récente rapportée par Fellah *et al.* (2018), utilisant l'extrait d'acétate d'éthyle des parties aériennes de *Tamarix gallica L.* contre des cellules de tumeur cérébrale de rat (C6) et de carcinome du col de l'utérus humain (Hela) *in vitro*. Les résultats de cette équipe de recherche ont montré une diminution significative de la prolifération cellulaire de manière dose-dépendante.

De plus, Hassan *et al.* (2014) ont montré que l'extrait aqueux de *Tamarix nilotica* réduit la prolifération cellulaire, l'angiogénèse, avec une toxicité plus faible pour les cellules normales par rapport aux cellules cancéreuses, y compris les lignées cellulaires cancéreuses du sein humain (MCF-7) et du colon (HCT 116).

Conclusion et perspectives

L'industrie pharmaceutique fait face aujourd'hui à de nombreux challenges et l'apparition récente de la pandémie de la covid-19 a poussé la communauté scientifique à revoir son approche de la thérapie en se tournant vers des ressources plus naturelles, plus saines mais surtout plus respectueuses de l'écosystème, telles que les plantes qui représentent également une source pharmacologique inestimable. Ces progrès ont permis à beaucoup de médicaments de voir le jour et l'éradication de plusieurs épidémies.

Les plantes médicinales sont utilisées pour traiter diverses maladies, y compris le diabète, les maladies neurodégénératives et le cancer etc. Un grand nombre de plantes médicinales contiennent des composés présentant des propriétés thérapeutiques très importantes. L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. Pour permettre l'utilisation vaste des plantes médicinales dans la médecine moderne, la recherche et le développement de nouveau traitement est demandée. Cependant, l'information scientifique sur les activités biologiques des plantes médicinales, y compris *Tamarix africana* est encore insuffisante. De ce fait, on a inspiré cette étude, une demande très croissante pour revenir à la nature dans le but de chercher des soins de santé et de nouveau traitement est une autre motivation importante.

Notre travail est une contribution à l'étude d'identification et de caractérisation des composants dans les différents extraits et fractions de *Tamarix africana* en utilisant tout d'abord le screening phytochimique qui a fait ressortir une richesse en polyphénols, flavonoïdes et tannins suivie par une caractérisation par LC-MS, les résultats ont permis d'identifier 09 composés dans les différents extraits et fractions des feuilles.

L'étude préclinique s'est concentrée sur une prédiction des propriétés physicochimiques et le profil (ADMET) des différentes molécules identifiées. Différentes prédictions *in silico* réalisées dans cette étude ont révélé que certains composés récemment identifiés dans les extraits et fractions de cette plante pourraient être efficaces dans le traitement du diabète, des maladies cardiovasculaires, des troubles du système nerveux central, traitement des infections à *Helicobacter Pylori* et certains types de cancers. Ces composés peuvent également avoir des effets cytotoxiques puissants sur plusieurs lignées de cellules tumorales. De plus ces composés peuvent être actifs sur différentes classes d'enzyme tels que : les lyases, hydrolases, kinases, isomérases et oxydoréductases, sur différents récepteurs, des transporteurs électrochimiques, cytochrome P450 et récepteurs nucléaires. Néanmoins, tous les composés possèdent des propriétés pharmacologiques importantes. Par ailleurs, ces molécules sont très actives sur plusieurs classes de protéines virales.

Les résultats du Docking moléculaire sur les composés phénoliques de *Tamarix Africana* a montré sur le plan pharmacodynamique, l'interaction entre ces molécules et les cibles (enzymes). Pour l'enzyme AChE, l'Apigénine-7-O-glucoside a montré l'énergie de liaison la plus importante entraînant une forte interaction et un blocage de l'activité biologique normale par l'occupation des acides aminés du site catalytique, empêchant ainsi la fixation des neurotransmetteurs. Pour la BChE, la diosmine a donné la meilleure activité inhibitrice. Pour l'enzyme α -amylase, la Neohésperidine semble être le ligand avec la plus forte liaison moléculaire. Les résultats du docking de l'enzyme uréase de *H. pylori* montrent que le meilleur score a été noté pour la Wogonine. Tandis que l'apigénine semble être le ligand avec la plus forte liaison moléculaire pour l'enzyme tyrosinase.

Les résultats du docking moléculaire contre la protéase du Sars-Cov 2 (COVID-19) avec les composants phénoliques de *Tamarix africana*, la rutine a montré l'énergie de liaison la plus importante ce qui lui qualifie du ligand le plus stable lors de son interaction avec l'enzyme. Concernant l'étude de l'effet anticancéreux, selon les résultats obtenus pour les topoisomérases I et II et CDK-2, les composants donnent tous des scores supérieurs à ceux des références. De ce fait, les composants s'avèrent non efficaces contre ses enzymes. Par ailleurs pour la kinase 6 dépendante de la cycline (CDK-6) 1XO2, le meilleur score a été noté pour l'apigénine. Pour la caspase-3, la néohespéridine semble être le ligand avec la plus forte liaison moléculaire.

Les résultats des études *in vitro* confirment les prédictions *in silico*. Les extraits et fractions de *Tamarix africana* possèdent une capacité antioxydante élevée ce qui donne à cette plante la possibilité d'être utilisée comme additif dans l'industrie alimentaire pour fournir une bonne protection contre les dommages oxydatifs. Ce qui nous amène à considérer également que cette plante peut être utilisée comme traitement naturel pour remédier à plusieurs types de cancer et également comme un remède préventif pour certaines maladies qui résulte du stress oxydatif.

Les effets bénéfiques des extraits et fractions de *Tamarix africana* peuvent mener à son utilisation dans la prévention de certaines maladies neurodégénératives tel que la maladie d'Alzheimer, les composés identifiés dans *Tamarix africana* peuvent agir comme des cholinestérases en inhibant la dégradation de l'acétylcholine au niveau synaptique et donc améliorer la neurotransmission.

Les extraits et fractions de *Tamarix africana* ont démontraient au fil des années une activité anti-uréase intéressante, ce qui encourage son utilisation pour traiter les infections à *Helicobacter pylori* et les troubles associés. Ces mêmes extraits ont un effet dermato-protecteur intéressent révélé par son activité anti-tyrosinase importante, ce qui motive son utilisation pour traiter les maladies de la peau tel que l'hyperpigmentation et certains cancers de la peau. Cette

réflexion est consolidée par le FPS élevé (entre 30 et 50) enregistré dans notre étude. Ces observations sur l'effet inhibiteur de l'uréase et tyrosinase des extraits de *Tamarix africana* sont les premiers résultats rapportés dans la bibliographie. Concernant l'effet anti-diabétique observé des extraits et fractions *Tamarix africana*, les résultats ont montré une réduction considérable de la glycémie similaire à celui de l'acarbose. Toutes les extraits et fractions de *Tamarix africana* présentent une bonne activité sur la réduction des nanoparticules d'argent, ce qui encourage leurs utilisations comme agent antibactérien et antioxydant surtout dans l'industrie agro-alimentaire. De même, les différentes extraits et fractions de *Tamarix africana*, excepté les extraits aqueux et MeOH, sont toxiques vis-à-vis de l'*A. salina*. Ce qui permet de préconiser leur exploitation pour le traitement de certains types de cancers.

Cette étude ouvre des perspectives expérimentales qui devraient nous agréer d'avancer vers une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires participant dans les effets biologiques observés :

- ❖ Purifications des extraits et fractions de *Tamarix africana* afin d'identifier les molécules à l'origine des effets pharmacologiques.
- ❖ Caractérisation des molécules majoritaires par RMN.
- ❖ Evaluer les effets inhibiteurs des enzymes sur un modèle animal.
- ❖ Développer des crèmes antisolaires à base de plantes, douées d'une activité antioxydante
- ❖ Evaluation de l'effet anticancéreux des extraits sur des lignées cellulaires
- ❖ Valorisation des extraits en les utilisant comme additifs alimentaires.
- ❖ Etude *in vivo* de l'activité anti-uréase et anti-tyrosinase
- ❖ Etude de la toxicité de la plante étudiée est indispensable afin de déterminer si elles peuvent être utilisées pour la fabrication de médicaments.
- ❖ Vue le bon effet hypoglycémiant, des études approfondies sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des principes actifs serait utiles pour la détermination des doses préventives et thérapeutiques.
- ❖ Isolement des principes actifs responsables des activités pharmaco-biologiques et étude des formulations galénique possible pour l'administration humaine.

Références bibliographiques

Références bibliographies

A

- Abaza, M. S. I., Afzal, M., Al-Attayah, R. A. J., &Guleri, R. (2016). Methylferulate from *Tamarix aucheriana* inhibits growth and enhances chemosensitivity of human colorectal cancer cells: possible mechanism of action. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-17.
- AbouZid, S. and A. Sleem (2011). "Hepatoprotective and antioxidant activities of Tamarix nilotica flowers." *Pharmaceutical biology* 49(4): 392-395.
- Adel M, Zahmatkeshan M, Akbarzadeh A, Rabiee N, Ahmadi S, Keyhanvar P, Rezayat SM, Seifalian AM. Chemotherapeutic effects of Apigenin in breast cancer: Preclinical evidence and molecular mechanisms; enhanced bioavailability by nanoparticles. *Biotechnol Rep (Amst)*. 2022 Apr 12;34
- Ahmed, N. A., Radwan, N. M., AboulEzz, H. S., & Salama, N. A. (2017). The antioxidant effect of Green Tea Mega EGCG against electromagnetic radiation-induced oxidative stress in the hippocampus and striatum of rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 36(1), 63-73.
- Ali-Delille, L. (2013). *Les plantes médicinales d'Algérie*, Berti éditions.
- Allen, T. M., K Cheng, W. W., Hare, J. I., &Laginha, K. M. (2006). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lipidic nano-particles in cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 6(6), 513-523.
- Alnuqaydan, A.M., and Rah B. (2019). *Tamarix articulata* (t. *articulata*)-an important halophytic medicinal plant with potential pharmacological properties. *current phar. biot.* 20(4), 285-292.
- Al-Quran, S. (2005). "Statistical verification of folk medicinal potentiality of wild dicot aquatic plants in Jordan." *Am. J. of Environ. Sci* 1(1): 74-80.
- Altwicker, E. R. (1967). The chemistry of stable phenoxy radicals. *Chemical Reviews*, 67(5), 475-531.
- Al-Zahrani, A. A. (2020). Rutin as a promising inhibitor of main protease and other protein targets of Covid-19: In silico study. *Natural Product Communications*, 15(9), 1934578X20953951.
- Alzweiri, M., Al Sarhan, A., Mansi, K., Hudaib, M., & Aburjai, T. (2011). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Jordan, the Northern Badia region. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 27-35.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.

Ashour, O. M., Abdel-Naim, A. B., Abdallah, H. M., Nagy, A. A., Mohamadin, A. M., & Abdel-Sattar, E. A. (2012). Evaluation of the potential cardioprotective activity of some Saudi plants against doxorubicin toxicity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 67(5-6), 297-307.

Ayaz, M., Junaid, M., Ullah, F., Sadiq, A., Subhan, F., Khan, M. A., ... & Ahmad, S. (2016). Molecularly characterized solvent extracts and saponins from *Polygonum hydropiper* L. show high anti-angiogenic, anti-tumor, brine shrimp, and fibroblast NIH/3T3 cell line cytotoxicity. *Frontiers in pharmacology*, 7, 74.

B

Bahramsoltani, R., Kalkhorani, M., Zaidi, S. M. A., Farzaei, M. H., & Rahimi, R. (2020). The genus *Tamarix*: Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, 246, 112245.

Baker, H. G. (1972). "Seed weight in relation to environmental conditions in California." *Ecology* 53(6): 997-1010.

Banerjee, A., Das, D., Andler, R., & Bandopadhyay, R. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using exopolysaccharides produced by *Bacillus anthracis* PFAB2 and its biocidal property. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8), 2701-2709.

Barzegar, A., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2011). Intracellular ROS protection efficiency and free radical-scavenging activity of curcumin. *PloS one*, 6(10), e26012.

Bastaminejad S, Bakhtiyari S. Quercetin and its Relative Therapeutic Potential Against COVID-19: A Retrospective Review and Prospective Overview. *Curr Mol Med*. 2021;21(5):385-391. doi: 10.2174/1566524020999200918150630. PMID: 32957884.

Baum, B. (1978). "The genus *Tamarix* Israel Academy of Sciences and Humanities." Jerusalem. xii 209.

Benabdallah, H., Gharzouli, K., Khenouf, S., Amira, S., & Soufane, S. (2014). Phytochemical analysis and anti-lipid peroxidation activity of *Tamarix Africana* L. extracts. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 3(7), 278.

Benkelfat, K. (2020). Les ripisylves de la région de Tlemcen, cas des groupements à *Tamarix* L.

- Besednova, N. N., Andryukov, B. G., Zaporozhets, T. S., Kryzhanovsky, S. P., Fedyanina, L. N., Kuznetsova, T. A., ... & Shchelkanov, M. Y. (2021). Antiviral effects of polyphenols from marine algae. *Biomedicines*, 9(2), 200.
- Bitew, M., Desalegn, T., Demissie, T. B., Belayneh, A., Endale, M., & Eswaramoorthy, R. (2021). Pharmacokinetics and drug-likeness of antidiabetic flavonoids: Molecular docking and DFT study. *Plos one*, 16(12), e0260853.
- Blois, M. S. (1958). "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical." *Nature* 181(4617): 1199-1200.
- Boulos L (1999). *Flora of Egypt*. Al Hadara Publishing, Cairo, Egypt. Vol. 2, p 124.
- Brotherson, J. D. and D. Field (1987). "Tamarix: impacts of a successful weed." *Rangelands Archives* 9(3): 110-112.
- Bruneton J (1999). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales*. 3^{ème} édition. Lavoisier Technique & documentation. Paris
- Brus, B.; Košak, U.; Turk, S.; Pišlar, A.; Coquelle, N.; Kos, J.; Stojan, J.; Colletier, J.P.; Gobec, S. Discovery, Biological Evaluation, and Crystal Structure of a Novel Nanomolar Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor. *J. Med. Chem.* 2014, 57, 8167–8179
- Brut, M. (2009). *Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques: les Modes Statiques* (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).
- Bteich, M. (2019). An overview of albumin and alpha-1-acid glycoprotein main characteristics: highlighting the roles of amino acids in binding kinetics and molecular interactions. *Heliyon*, 5(11).

C

- Cacig, S. I., Szabo-Raluca, M. I., & Lupea, A. X. D. (2006). Spectrophotometric method for the study of the antioxidant activity applied on *Ziziphus jujuba* and *Hydrangea paniculata* aqueous extract. *Zbornik Matice srpske za prirodnu nauku*, (111), 87-93.
- Canault, B. (2018). *Développement d'une plateforme de prédiction in silico des propriétés ADME-Tox* (Doctoral dissertation, Orléans).
- Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free radical biology and medicine*, 22(5), 749-760.
- Caramori, M. L., & Mauer, M. (2003). Diabetes and nephropathy. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 12(3), 273-282.
- Cavé A. (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 2^{ème} Ed. Tec. Et Doc Ed lavoisier, Paris. 274-285.

- Chaturvedi, S., Drabu, S., & Sharma, M. (2012). Anti-inflammatory and analgesic activity of *Tamarix gallica*. *Int. J. Pharm. Sci*, 4, 653-658.
- Chauhan N., Tyagi AK, Kumar P., Malik A. Le potentiel antibactérien de *Jatropha curcas* a synthétisé des nanoparticules d'argent contre les agents pathogènes d'origine alimentaire. *De face. Microbiol.* 2016 ; 7 : 1–13. doi : 10.3389/fmicb.2016.01748.
- Chekroun-Bechlaghem, N., Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Mansour, S., Djebli, N., Bouakline, H., & Atik-Bekkara, F. (2021). Antimicrobial and anti-inflammatory activities of three halophyte plants from Algeria and detection of some biomolecules by HPLC-DAD. *Natural Product Research*, 35(12), 2107-2111.
- Chekroun-Bechlaghem, N., Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Gismondi, A., Nanni, V., Di Marco, G., ... & AtikBekkara, F. (2019). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Tamarix africana*, *Arthrocnemum macrostachyum* and *Suaeda*
- Chen F, Ma Y, Sun Z, Zhu X. Tangeretin inhibits high glucose-induced extracellular matrix accumulation in human glomerular mesangial cells. *Biomedicine Pharmacother* 2018;102:1077–83.
- Chen J, Zheng J, McClements DJ, Xiao H. Tangeretin-loaded protein nanoparticles fabricated from zein/ β -lactoglobulin: preparation, characterization, and functional performance. *Food Chem* 2014;158:466–72.
- Chen Y, Lin H, Yang H, Tan R, Bian Y, Fu T, Li W, Wu L, Pei Y, Sun H, Discovery of new acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors through structure-based virtual screening, *Rsc Adv.* 7 (2017) 3429–3438.
- Chou, S.-T., Chao, W.-W., and Chung, Y.-C. (2003). Antioxidative Activity and Safety of 50% Ethanolic Red Bean Extract (*Phaseolus radiatus* L. var. Aurea). *Journal of Food Science*. 68, 21-25.
- Cirillo, G., Curcio, M., Vittorio, O., Iemma, F., Restuccia, D., Spizzirri, U. G., ... & Picci, N. (2016). Polyphenol conjugates and human health: a perspective review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(2), 326-337
- Clayton, T. A., Baker, D., Lindon, J. C., Everett, J. R., & Nicholson, J. K. (2009). Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14728-14733.
- Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry*, 1(6), 569-590.

Crins, W. J. (1989). "The Tamaricaceae in the southeastern United States." *Journal of the Arnold Arboretum* 70(3): 403-425.

Cummings, A. J., Martin, B. K., & Park, G. S. (1967). Kinetic considerations relating to the accrual and elimination of drug metabolites. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 29(2), 136.

D

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.

Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Res.*, 47, W357–W364.

Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep*, 7, 42717.

Dakal TC, Kumar A., Majumdar RS, Yadav V. (2016). Base mécaniste des actions antimicrobiennes des nanoparticules d'argent. *De face. Microbiol.*

Daré, R. G., Nakamura, C. V., Ximenes, V. F., & Lautenschlager, S. O. (2020). Tannic acid, a promising anti-photoaging agent: Evidences of its antioxidant and anti-wrinkle potentials, and its ability to prevent photodamage and MMP-1 expression in L929 fibroblasts exposed to UVB. *Free Radical Biology and Medicine*, 160, 342-355.

Dassamiour, S.; Bensaad, M.S.; Hambaba, L.; Melakhessou, M.A.; Sami, R.; Al-Mushhin, A.A.M.; Aljahani, A.H.; Al Masoudi, L.M. In Silico Investigation of Some Compounds from the N-Butanol Extract of *Centaurea tougourensis* Boiss. & Reut.. *Crystals* 2022, 12, 355.

De Robles, P.; Fiest, K.M.; Frolkis, A.D.; Pringsheim, T.; Atta, C.; St Germaine-Smith, C.; Day, L.; Lam, D.; Jette, N. (2015). The worldwide incidence and prevalence of primary brain tumors: A systematic review and meta-analysis. *Neuro Oncol.* 17, 776–783

Depoërs P., 2002. La phytothérapie entre science et tradition, éditions Amarys et Inspir, Bruxelles, Belgique, 615.

Deshmukh SP, Patil SM, Mullani SB, Delekar SD. (2018). Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Mater Sci Eng C*

- Deveci, E., Tel-Çayan, G., & Duru, M. E. (2018). Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeocharis* and *Sideritis stricta*. *International journal of food properties*, 21(1), 771-783.
- Dinner, S., & Liedtke, M. (2018). Antibody-based therapies in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology 2014, the American Society of Hematology Education Program Book, 2018*(1), 9-15.
- Dong Y, Cao A, Shi J, Yin P, Wang L, Ji G. (2014). Tangeretin, a citrus polymethoxyflavonoid, induces apoptosis of human gastric cancer AGS cells through extrinsic and intrinsic signaling pathways. *Oncol Rep*.
- Drabu, S., Chaturvedi, S., & Sharma, M. (2012). Antioxidant Activity, Total Phenolic, And Flavonoid Content Of Aerial Parts Of *Tamarix Gallica*. *International journal of phytomedicine*, 4(2), 174.
- Dubey, K., Dubey, R., Gupta, R., & Gupta, A. (2021). Exploration of Diosmin to Control Diabetes and Its Complications-an in vitro and in silico Approach. *Current Computer-Aided Drug Design*, 17(2), 307-313.
- Dutra, C. D., & Saraf, S. (2010). In vitro sun protection factor determination of herbal oils used in cosmetics. *Pharmacognosy research*, 2(1), 22.
- Dutra, E. A., Oliveira, D. A. G. D. C., Kedor-Hackmann, E. R. M., & Santoro, M. I. R. M. (2004). Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 40, 381-385.

E

- Ebanks J P, Wickett R R , Boissy R E. (2009). Mécanismes régulant la pigmentation de la peau : la montée et la chute de la coloration du teint. *Journal international des sciences moléculaires*
- Ebrahimzadeh, M. A., Enayatifard, R., Khalili, M., Ghaffarloo, M., Saedi, M., & Charati, J. Y. (2014). Correlation between sun protection factor and antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some medicinal plants. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 13(3), 1041.
- E chigoya, Y., Mouly, V., Garcia, L., Yokota, T., & Duddy, W. (2015). In silico screening based on predictive algorithms as a design tool for exon skipping oligonucleotides in Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One*, 10(3),

Eftimová, Z., Eftimová, J., & Balážová, L. (2018). ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TOKAJ ESSENCE. *Potravinarstvo*, 12(1).

El Haouari, M., Assem, N., Changan, S., Kumar, M., Daştan, S. D., Rajkovic, J., ... & Sharifi-Rad, J. (2021). An Insight into Phytochemical, Pharmacological, and Nutritional Properties of *Arbutus unedo* L. from Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.

El Rhaffari, L. and A. Zaid (2004). "Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafialet)." Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savates.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.

Ertl, P., & Schuffenhauer, A. (2009). Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *Journal of cheminformatics*, 1(1), 1-11.

F

Fan, M., Zhang, G., Hu, X., Xu, X., & Gong, D. (2017). Quercetin as a tyrosinase inhibitor: Inhibitory activity, conformational change and mechanism. *Food Research International*, 100, 226-233..

Fellah, O., Hameurlaine, S., Gherraf, N., Zellagui, A., Ali, T., Abidi, A., ... & SahinYaglioglu, A. (2018). Anti-proliferative activity of ethyl acetate extracts of grown at different climatic conditions in Algeria. *Acta Scientifica Naturalis*, 5(2), 23-31.

Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2021).

Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International journal of cancer*, 149(4), 778-789.

Follmer, C. (2010). Ureases as a target for the treatment of gastric and urinary infections. *Journal of clinical pathology*, 63(5), 424-430.

Forni, C., Facchiano, F., Bartoli, M., Pieretti, S., Facchiano, A., D'Arcangelo, D., Jadeja, R. N. (2019). Beneficial role of phytochemicals on oxidative stress and age-related diseases. *BioMed research international*.

Forough, M., & Farhadi, K. (2010). Biological and green synthesis of silver nanoparticles. *Turkish journal of engineering and environmental sciences*, 34(4), 281-287.

Fredj, B. (2021). *Etude 3DQSAR, Dock ingmoléculaire et criblage ADMET pour des inhibiteurs potentiels de la Cathepsine B* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).

G

Gao, H., Jiang, Y., Zhan, J., & Sun, Y. (2021). Pharmacophore-based drug design of AChE and BChE dual inhibitors as potential anti-Alzheimer's disease agents. *Bioorganic Chemistry*, 114, 105149.

Gaskin, J. (2003). Tamaricaceae. Flowering Plants· Dicotyledons, Springer: 363-368.

Gaskin, J. F. and B. A. Schaal (2003). "Molecular phylogenetic investigation of US invasive Tamarix." *Systematic Botany* 28(1): 86-95.

Gleeson, M. P. (2008). Generation of a set of simple, interpretable ADMET rules of thumb. *Journal of medicinal chemistry*, 51(4), 817-834.

Gottlieb, S. L., Low, N., Newman, L. M., Bolan, G., Kamb, M., & Broutet, N. (2014). Toward global prevention of sexually transmitted infections (STIs): the need for STI vaccines. *Vaccine*, 32(14), 1527-1535.

Guedouar, Y., Bekkouche, Z., Tani, K., & Sahraoui, T. (2020). Évaluation de l'agressivité tumorale dans le cancer du sein chez la femme de moins de 40 ans de l'Ouest Algérien. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 29(4), 1358-1366.

Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*. 86, 345-391.

Gülçin, I., Gören, A.C., Taslimi, P., Alwasel, S.H., Kilic, O., & Bursal, E. (2020). anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of anatolian pennyroyal (menthapulegium)-analysis of its polyphenol contents by lc-ms/ms. *bio. and agri. biotech.*, 23, 101441.

H

Hadj Allal Fatima zohra. (2014). Contribution à l'étude du genre Tamarix: aspects botanique et Phyto-écologique dans la région de Tlemcen.

Hamed, I., Özogul, F., Özogul, Y., & Regenstein, J. M. (2015). Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 14(4), 446-465.

Hao, W., Wang, J., Zhang, Y., Wang, C., Xia, L., Zhang, W., & Ba, X. (2020). Enzymatically

inactive OGG1 binds to DNA and steers base excision repair toward gene transcription. *The*

FASEB journal, 34(6), 7427.

Harborne J. B., (1975). Flavonoid bisulphates and their co-occurrences with ellagic acid in the bixaceae, frankeniaceae and related families. *Phytochemistry*, 14: 1331-1337.

Harper, J. W., & Adams, P. D. (2001). Cyclin-dependent kinases. *Chemical reviews*, 101(8), 2511-2526.

Hassan, L.E.A. ;Khadeer Ahamed, M.B. ; Abdul Majid, A.S. ; Baharetha, H.M. ; Muslim, N.S. ; Nassar, Z.D. ; Abdul Majid, A.M.S. *Complement. Altern. Med.* **2014**, 14, 206

Hebi, M., Farid, O., Ajebli, M., Hidani, A. E., &Eddouks, M. (2017). Antidiabetic effect of *Rutamontana L.* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 28(3), 275-282.

Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A., &Seberg, O. (2007). Flowering plant families of the world (Vol. 88). Ontario: Firefly books.

Hogan, S., Zhang, L., Li, J., Sun, S., Canning, C., & Zhou, K. (2010). Antioxidant rich grape pomace extract suppresses postprandial hyperglycemia in diabetic mice by specifically inhibiting alpha-glucosidase. *Nutrition & metabolism*, 7(1), 1-9.

Hughes, J. D., Blagg, J., Price, D. A., Bailey, S., DeCrescenzo, G. A., Devraj, R. V., & Zhang, Y. (2008). Physiochemical drug properties associated with in vivo toxicological outcomes. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18(17), 4872-4875.

Hulkko, L. S., Chaturvedi, T., & Thomsen, M. H. (2022). Extraction and quantification of chlorophylls, carotenoids, phenolic compounds, and vitamins from halophyte biomasses. *Applied Sciences*, 12(2), 840.

Huttunen, K. M., Raunio, H., &Rautio, J. (2011). Prodrugs—from serendipity to rational design. *Pharmacological reviews*, 63(3), 750-771.

I

Ijbari, H., Sheidai, M., Mehrabian, A. R., Noormohammadi, Z., &Ghasemzadeh-Baraki, S. (2014). K-means clustering and STRUCTURE analyses of genetic diversity in *Tamarix L.* accessions. *Turkish journal of botany*, 38(6), 1080-1094.

J

Johnson, T. W., Dress, K. R., & Edwards, M. (2009). Using the Golden Triangle to optimize clearance and oral absorption. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19(19), 5560-5564.

K

- Kalaivani, T.; Rajasekaran, C.; Suthindhiran, K.; Mathew, L.(2011). *Evid. Based. Compl. Alternat. Med.*.
- Kaplan, L., Chow, B. W., & Gu, C. (2020). Neuronal regulation of the blood–brain barrier and neurovascular coupling. *Nature Reviews Neuroscience*, 21(8), 416-432.
- Kapoor, S., Lawless, D., Kennepohl, P., Meisel, D., & Serpone, N. (1994). Reduction and aggregation of silver ions in aqueous gelatin solutions. *Langmuir*, 10(9), 3018-3022.
- Karan, Y.B., Balkan, T., & Erenler, R. (2021). phenolic contents of different potato genotypes grown in the central northern region in turkey. *tur. j. of agri.-food sci. and tech.*, 9(8), 1606-1611.
- Karimi, J., and Walter, Z. (2015). The role of dynamic capabilities in responding to digital disruption: A factor-based study of the newspaper industry. *Journal of Management Information Systems*, 32(1), 39-81.
- Karker, M., De Tommasi, N., Smaoui, A., Abdelly, C., Ksouri, R., & Braca, A. (2016). New sulphated flavonoids from *Tamarix africana* and biological activities of its polar extract. *Planta Medica*, 82(15), 1374-1380.
- Kaye, S.; Lokki, A.I.; Hanttu, A.; Nissilä, E.; Heinonen, S.; Hakkarainen, A.; Lundbom, J.; Lundbom, N.; Saarinen, L.; Tynnenen, O.; et al. Upregulation of Early and Downregulation of Terminal Pathway Complement Genes in Subcutaneous Adipose Tissue and Adipocytes in Acquired Obesity. *Front. Immunol.* 2017, 8, 545.
- Khabtane, A. (2015). "Contribution a l'étude des caractères morphologiques, physiologiques et des marqueurs moléculaires pour l'évaluation du polymorphisme phénotypique et génétique des espèces du genre *Tamarix* dans différents écotopes de la zone steppique de KHENCHELA (EST ALGERIEN)."
- Khabtane, A., Zeraib, A., Aouidane, L., ALI, W., Belguidoum, F. Z., & Rahmoune, C. (2017). In vitro evaluation of the anti-microbial activity and the anti-oxidant activity of the flavonoids extracted from the flowers of the *Tamarix africana* Poir. *Int J Biosci*, 11, 417-426.
- Khan, S., & Kamal, M. A. (2019). Can wogonin be used in controlling diabetic cardiomyopathy?. *Current Pharmaceutical Design*, 25(19), 2171-2177.
- Khennouf, S., Benabdallah, H., Gharzouli, K., Amira, S., Ito, H., Kim, T.H., & Gharzouli, A.(2003). effect of tannins from *quercussuber* and *quercuscoccifera* leaves on ethanol-induced gastric lesions in mice. *j. of agri. and food chem.*, 51(5), 1469-1473

- Khuntawee, W., Rungrotmongkol, T., & Hannongbua, S. (2012). Molecular dynamic behavior and binding affinity of flavonoid analogues to the cyclin dependent kinase 6/cyclin D complex. *Journal of chemical information and modeling*, 52(1), 76-83.
- Kim, M. T., Sedykh, A., Chakravarti, S. K., Saiakhov, R. D., & Zhu, H. (2014). Critical evaluation of human oral bioavailability for pharmaceutical drugs by using various cheminformatics approaches. *Pharmaceutical research*, 31(4), 1002-1014.
- Kittiwannachot, P., Borisut, P., Wanasawas, P., Ponpanich, L., Rattanasuk, O., & Chulasiri, M. (2008). Antimutagenic potentials of hydroalcoholic herbal extracts towards UV-induced mutation. *Thai Journal of Toxicology*, 23(1), 27-27.
- Kok-Yong, S., & Lawrence, L. (2015). Drug distribution and drug elimination. *Basic pharmacokinetic concepts and some clinical applications*, 99-116.
- Kollman, P. A., Massova, I., Reyes, C., Kuhn, B., Huo, S., Chong, L., Cheatham, T. E. (2000). Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models. *Accounts of chemical research*, 33(12), 889-897.
- Korać, R. R., & Khambholja, K. M. (2011). Potential of herbs in skin protection from ultraviolet radiation. *Pharmacognosy reviews*, 5(10), 164.
- Krishnamurthy, V. M., Kaufman, G. K., Urbach, A. R., Gitlin, I., Gudiksen, K. L., Weibel, D. B., & Whitesides, G. M. (2008). Carbonic anhydrase as a model for biophysical and physical-organic studies of proteins and protein– ligand binding. *Chemical reviews*, 108(3), 946-1051.
- Krishnaraju, A. V., Rao, T. V., Sundararaju, D., Vanisree, M., Tsay, H. S., & Subbaraju, G. V. (2005). Assessment of bioactivity of Indian medicinal plants using brine shrimp (*Artemia salina*) lethality assay. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3(2), 125-134.
- Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., ... & Abdelly, C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical toxicology*, 47(8), 2083-2091.
- Kumar, M., Kapoor, S., Dhumal, S., Tkaczewska, J., Changan, S., Saurabh, V., ... & Bhuyan, D. J. (2022). Guava (*Psidium guajava* L.) seed: A low-volume, high-value byproduct for human health and the food industry. *Food Chemistry*, 132694.
- Kumar, R., Sahoo, S., Joanni, E., Singh, R. K., Tan, W. K., Kar, K. K., & Matsuda, A. (2019). Recent progress in the synthesis of graphene and derived materials for next generation

electrodes of high performance lithium ion batteries. *Progress in Energy and Combustion Science*, 75, 100786.

Kumari, M., & Jain, S. (2012). Tannins: An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Sciences ISSN*, 2277, 2502.

Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., & Ferrin, T. E. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, 161(2), 269-288.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25, 726-732.

Kuwahara, H., Miyamoto, Y., Akaike, T., Kubota, T., Sawa, T., Okamoto, S., & Maeda, H. (2000). Helicobacter pylori urease suppresses bactericidal activity of peroxynitrite via carbon dioxide production. *Infection and immunity*, 68(8), 4378-4383

L

Lacroix, M.; Abi-Said, D.; Fournay, D.R.; Gokaslan, Z.L.; Shi, W.; DeMonte, F.; Lang, F.F.; McCutcheon, I.E.; Hassenbusch, S.J.; Holland, E. (2001). A multivariate analysis of 416 154 patients with glioblastoma multiforme: Prognosis, extent of resection, and survival. *J. Neurosurg.* 95, 190–198.

Lagunin, A. A., Dubovskaja, V. I., Rudik, A. V., Pogodin, P. V., Druzhilovskiy, D. S., Glorizova, T. A. & Poroikov, V. V. (2018). CLC-Pred: A freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PloS one*, 13(1).

Lagunin, A., Ivanov, S., Rudik, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2013). DIGEP-Pred: web service for in silico prediction of drug-induced gene expression profiles based on structural formula. *Bioinformatics*, 29(16), 2062-2063.

Lagunin, A., Stepanchikova, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2000). PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics*, 16(8), 747-748.

Laouar, I. (2015). Etude des interactions Enzyme-Ligand. Cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.

Lara, H. H., Ayala-Nuñez, N. V., Ixtapan-Turrent, L., & Rodríguez-Padilla, C. (2010). Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *Journal of nanobiotechnology*, 8(1), 1-10.

Lauwers, L.; Bastiaens, H.; Remmen, R.; Keune, H. Fron. in Publ. Heal. 2020, 4, 82.

- Lee, B. W., Park, I. H., Yim, D., & Choi, S. S. (2017). Comprehensive evaluation of the anti-*Helicobacter pylori* activity of *Scutellariae radix*. *Natural Product Sciences*, 23(1), 46-52.
- Lefahal, M. (2014). "Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales Algériennes appartenant aux familles Plumbaginaceae, Tamaricaceae et Apiaceae."
- Lekouaghet, A., Boutefnouchet, A., Bensuici, C., Gali, L., Ghenaiet, K., & Tichati, L. (2020). In vitro evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extract and its fractions from *Leuzeaconifera* L. roots. *South African Journal of Botany*, 132, 103-107.
- Lesuis, N., Befrits, R., Nyberg, F., & van Vollenhoven, R. F. (2012). Gender and the treatment of immune-mediated chronic inflammatory diseases: rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease and psoriasis: an observational study. *BMC medicine*, 10(1), 1-9.
- Li, H., Tian, S., Li, Y., Fang, Q., Tan, R., Pan, Y., & Gao, X. (2020). Modern deep learning in bioinformatics. *Journal of molecular cell biology*, 12(11), 823-827
- Li, S., Li, A. J., Travers, J., Xu, T., Sakamuru, S., Klumpp-Thomas, C., & Xia, M. (2021). Identification of compounds for butyrylcholinesterase inhibition. *SLAS DISCOVERY: Advancing the Science of Drug Discovery*, 26(10), 1355-1364.
- Liang, F., Fang, Y., Cao, W., Zhang, Z., Pan, S., & Xu, X. (2018). Attenuation of tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative damage in HepG2 Cells by tangeretin: Relevance of the Nrf2-ARE and MAPK signaling pathways. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(25), 6317-6325.
- Lin, J., Sahakian, D. C., De Morais, S. M., Xu, J. J., Polzer, R. J., & Winter, S. M. (2003). The role of absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity in drug discovery. *Current topics in medicinal chemistry*, 3(10), 1125-1154.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.
- Liu-Smith, F., & Meyskens, F. L. (2016). Molecular mechanisms of flavonoids in melanin synthesis and the potential for the prevention and treatment of melanoma. *Molecular nutrition & food research*, 60(6), 1264-1274.
- Lobell, M., & Sivarajah, V. (2003). In silico prediction of aqueous solubility, human plasma protein binding and volume of distribution of compounds from calculated pKa and AlogP98 values. *Molecular diversity*, 7(1), 69-87.

- Loh, K. E., Chin, Y. S., Safinar Ismail, I., & Tan, H. Y. (2022). Rapid characterisation of xanthine oxidase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. Using metabolomics approach. *Phytochemical Analysis*, 33(1), 12-22.
- López-Yerena, A., Perez, M., Vallverdú-Queralt, A., & Escribano-Ferrer, E. (2020). Insights into the binding of dietary phenolic compounds to human serum albumin and food-drug interactions. *Pharmaceutics*, 12(11), 1123.

M

- Madejska, A., Michalski, M., & Osek, J. (2019). Marine tetrodotoxin as a risk for human health. *Journal of veterinary research*, 63(4), 579-586.
- Mahfoudhi, A., Grosso, C., Gonçalves, R.F., Khelifi, E., Hammami, S., Achour, S., Trabelsiyadi, M., Valentão, P., Andrade, P.B., & Mighri, Z. (2016). evaluation of antioxidant, anticholinesterase, and antidiabetic potential of dry leaves and stems in *tamarixaphylla* growing wild in tunisia. *chem. biodivers.* 13, 1747
- Mahnik, S. N., Lenz, K., Weissenbacher, N., Mader, R. M., & Fuerhacker, M. (2007). Fate of 5-fluorouracil, doxorubicin, epirubicin, and daunorubicin in hospital wastewater and their elimination by activated sludge and treatment in a membrane-bio-reactor system. *Chemosphere*, 66(1), 30-37.
- Makkar, H. P. and A. Hagerman (2000). "Quantification of tannins in tree foliage—A laboratory manual." FAO/IAEA Working Document, Vienna, Austria: 1-26.
- Manikandan, P., & Nagini, S. (2018). Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: a review. *Current drug targets*, 19(1), 38-54.
- Mansur, J. D. S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. D. A., & Azulay, R. D. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol*, 121-4.
- Marco, G. J. (1968). "A rapid method for evaluation of antioxidants." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 45(9): 594-598.
- Marie, N. (2009). Mécanismes moléculaires de la tolérance aux opiacés et aux cannabinoïdes. *Réanimation*, 18(7), 626-632.
- Martz, F. (2014). *Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques* (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
- Marwat, S. K. and F. Rehman (2011). "Medicinal folk recipes used as traditional phytotherapies in district Dera Ismail Khan, KPK, Pakistan." *Pak J Bot* 43(3): 1453-1462.
- McGann, M. (2011). FRED pose prediction and virtual screening accuracy. *Journal of chemical information and modeling*, 51(3), 578-596.

- Meot-Duros, L., Le Floch, G., & Magné, C. (2008). Radical scavenging, antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(2), 258-262.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. J., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45(05), 31-34.
- Miara, M.D., Bendif, H., Rebbas, K., Rabah, B., Hammou, M.A., Maggi, F., 2019. Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj BouArreridj (Northeast Algeria). *J. Herb. Med.* Doi: 10.1016/j.hermed.2019.100262
- Mikhailova, E. O. (2020). Silver nanoparticles: mechanism of action and probable bio-application. *Journal of functional biomaterials*, 11(4), 84.
- Miller, K. D., Siegel, R. L., Lin, C. C., Mariotto, A. B., Kramer, J. L., Rowland, J. H., ... & Jemal, A. (2016). Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA: a cancer journal for clinicians*, 66(4), 271-289.
- Mobley, H. L. T., Hu, L. T., & Foxall, P. A. (1991). Helicobacter pylori urease: properties and role in pathogenesis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 26(sup187), 39-46.
- Mohammedi, Z. and F. Atik (2011). "Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst."
- Mohammedi, Z. and F. Atik (2013). "Fungitoxic effect of natural extracts on mycelial growth, spore germination and aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus*." *Australian Journal of Crop Science* 7(3): 293.
- Moore, M. J., Soltis, P. S., Bell, C. D., Burleigh, J. G., & Soltis, D. E. (2010). Phylogenetic analysis of 83 plastid genes further resolves the early diversification of eudicots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(10), 4623-4628.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.

N

- N. Chekroun-Bechlaghem, N. Belyagoubi-Benhammou, L. Belyagoubi, A. Gismondi, V. Nanni, G. Di Marco, L. Canuti, A. Canini, I. A. El Hacı & F. Atik Bekkara (2019): Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Tamarix africana*, *Arthrocnemum macrostachyum* and *Suaeda fruticosa*, three halophyte species from Algeria, *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*,

- Nag, G.; De, B. (2011). Acetylcholinesterase inhibitory activity of Terminalia chebula, Terminalia bellerica and Emblica officinalis and some phenolic compounds. *Int. J. Pharm. Sci.* 3, 121–124.
- Nelroy E. Jackson, 1996, Chemical Control of Saltcedar (Tamarix ramosissima), Saltcedar Management Workshop, The Agricultural Group, Monsanto Company
- Netcharoensirisuk, P., Abrahamian, C., Tang, R., Chen, C. C., Rosato, A. S., Beyers, W., & Grimm, C. (2021). Flavonoids increase melanin production and reduce proliferation, migration and invasion of melanoma cells by blocking endolysosomal/melanosomal TPC2. *Scientific reports*, 11(1), 1-14.
- Nguyen D, Gao K, Chen J, Wang R, Wei G-W (2020) Unveiling the molecular mechanism of SARS-CoV-2 main protease inhibition from 92 crystal structures.

O

- Ogu, C. C., & Maxa, J. L. (2000, October). Drug interactions due to cytochrome P450. In *Baylor University Medical Center Proceedings* (Vol. 13, No. 4, pp. 421-423).
- Okimura, T., Jiang, Z., Liang, Y., Yamaguchi, K., & Oda, T. (2019). Suppressive effect of ascophyllan HS on postprandial blood sugar level through the inhibition of α -glucosidase and stimulation of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion. *International journal of biologicalmacromolecules*, 125, 453-458.
- Okombi, S. (2005). *Recherche et etude de molécules à activité antityrosinase et leur utilisation comme agents dépigmentants en dermocosmétique* (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- Oyaizu, M. (1986). "Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine." *The Japanese journal of nutrition and dietetics* 44(6): 307-315.
- Özyürek, M., Güçlü, K., and Apak, R. (2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *Trends in Analytical Chemistry*. 30, 652-664.
- Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., & Apak, R. (2012). Development of a silver nanoparticle-based method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols. *Analytical chemistry*, 84(18), 8052-8059.

P

- Pal, H.C.; Hunt, K.M.; Diamond, A.; Elmets, C.A.; Afaq, F. (2016). *Mini. Rev. Med. Chem.* 16, 953-79
- Pang, X., Fu, H., Yang, S., Wang, L., Liu, A. L., Wu, S., & Du, G. H. (2017). Evaluation of novel dual Acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors as potential anti-Alzheimer's disease

agents using pharmacophore, 3D-QSAR and molecular docking approaches. *Molecules*, 22(8), 1254.

Pavlov N. V., (1963). *Flora Kazakhstan*. Academ. Nauk. Kaz, USSR. 6 : 178- 188.

Pedrosa, R., P. Gaudêncio, S., & Vasconcelos, V. (2020). XVI international symposium on marine natural products| XI European conference on marine natural products.

Philippe A., 2007. La gemmothérapie « médecine des bourgeons, douce alternative » éditions Amyris, Belgique, 208p

Pierson, J.T., Curry, M.C., Shaw, P.N., Dietzgen, R.G., Gidley, M.J., Roberts-Thomson ,S.J., &Monteith, G.R. (2015). polyphenolic contents and the effects of methanol extracts from mango varieties on breast cancer cells. *food sci.and biotech.*, 24(1), 265-271.

Podolak, I., Galanty, A., &Sobolewska, D. (2010). Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochemistry Reviews*, 9(3), 425-474.

Poroikov, V. V., Filimonov, D. A., Glorizova, T. A., Lagunin, A. A., Druzhilovskiy, D. S., Rudik, A. V., &Pogodin, P. V. (2019). Computer-aided prediction of biological activity spectra for organic compounds: The possibilities and limitations. *Russian Chemical Bulletin*, 68(12), 2143-2154.

Q

Qadir, M. I., Abbas, K., Hamayun, R., & Ali, M. (2014). Analgesic, anti-inflammatory and anti-pyretic activities of aqueous ethanolic extract of *Tamarix aphylla*L.(Saltcedar) in mice. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(6).

Quezel, P. and S. Santa (1962). "New flora of Algeria and southern desert regions." *New flora of Algeria and southern desert regions*.

Quezel, P. and S. Santa (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*.

R

Raetz, E. A., &Teachey, D. T. (2016). T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Hematology 2014, the American Society of Hematology Education Program Book*, 2016(1), 580-588.

Rahman, S. M. (2009). *Food Properties Handbook*, 2nd Ed., CRC Press Boca Raton, Florida

Rai, R., & Srinivas, C. R. (2007). Photoprotection. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 73(2), 73-79.

Rasouli, H., Farzaei, M.H., &Khodarahmi, R. (2017). polyphenols and them benefits: a review. *int. j. food. prop.* 20, 1700-1741.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rein, M. J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S. K., & da Silva Pinto, M. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *British journal of clinical pharmacology*, 75(3), 588-602.
- Remya, C.; Dileep, K.V.; Tintu, I.; Variyar, E.J.; Sadasivan, C. Flavanone glycosides as acetylcholinesterase inhibitors: Computational and experimental evidence. *Indian J. Pharm. Sci.* 2014, 76, 567–570
- Ren, J., Singh, B. N., Huang, Q., Li, Z., Gao, Y., Mishra, P., ... & Jiang, S. W. (2011). DNA hypermethylation as a chemotherapy target. *Cellular signalling*, 23(7), 1082-1093
- Rouissi, N., Khelef, I. (2018). Contribution à étude des caractéristiques anatomiques des plantes spontanées des familles Zygophyllacées, Plumbaginacées, Tamaricacées.
- Ryu, W.-S. (2017). Virus Life Cycle. *Mol. Virol. Hum. Pathog. Viruses*, 5, 31–45
- Saci, F., Louaileche, H., Gali, L., & Bensouici, C. (2020). Changes in anticholinesterase, antioxidant activities and related bioactive compounds of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) during ripening stages. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), 937-945.

S

- Said, O., Khalil, K., Fulder, S., & Azaizeh, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of ethnopharmacology*, 83(3), 251-265.
- Saidana D., Mahjoub M., Boussaada Chriaa O. J., Che'raif I., Daami. M., Mighri Z., Helal A. N., (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of volatile compounds of *Tamarix boveana* (Tamaricaceae). *Microbiological Research* 163: 445- 455.
- Sakagami, H., Jiang, Y., Kusama, K., Atsumi, T., Ueha, T., Toguchi, M., ... & Yoshida, T. (2000). Cytotoxic activity of hydrolyzable tannins against human oral tumor cell lines—a possible mechanism. *Phytomedicine*, 7(1), 39-47.
- Sakkiah, S., Guo, W., Pan, B., Kusko, R., Tong, W., & Hong, H. (2018). Computational prediction models for assessing endocrine disrupting potential of chemicals. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 36(4), 192-218.
- Sanai, N., Polley, M. Y., McDermott, M. W., Parsa, A. T., & Berger, M. S. (2011). An extent of resection threshold for newly diagnosed glioblastomas. *Journal of neurosurgery*, 115(1), 3-8.

- Saqib F., Janbaz K H, Sherwani M K. (2015). Potentiel inhibiteur *in vitro* de l'extrait méthanolique de *Celosiaargentea* var. *Cristata* sur les enzymes tyrosinase, acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase. *Journal bangladais de pharmacologie*. 10 (2):449–454.
- Satish, A., Kumar, R. P., Rakshith, D., Satish, S., & Ahmed, F. (2013). Antimutagenic and antioxidant activity of *Ficus benghalensis* stem bark and *Moringa oleifera* root extract. *International Journal of Chemical and Analytical Science*, 4(2), 45-48.
- Schreiber, J. S. (1992). *Exposure to contaminants in breastmilk: A risk-benefit assessment*. State University of New York at Albany.
- Sehrawat, A. and S. Sultana (2006). "Tamarix gallica ameliorates thioacetamide–induced hepatic oxidative stress and hyperproliferative response in Wistar rats." *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry* 21(2): 215-223.
- Shanna, S. and V. Parmar (1998). "Novel constituents of Tamarix species." *Journal of scientific & industrial research* 57(12): 873-890.
- Sharifi-Rad, M., Lankatillake, C., Dias, D. A., Docea, A. O., Mahomoodally, M. F., Lobine, D., ... & Sharifi-Rad, J. (2020). Impact of natural compounds on neurodegenerative disorders: from preclinical to pharmacotherapeutics. *Journal of Clinical Medicine*, 9(4), 1061.
- Shen, W., & Lu, Y. H. (2013). Molecular docking of citrus flavonoids with some targets related to diabetes. *Bangladesh Journal of Pharmacology* 8(2), 156-170.
- Shenoy, A., & Blelloch, R. H. (2014). Regulation of microRNA function in somatic stem cell proliferation and differentiation. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15(9), 565-576.
- Shi, H., Noguchi, N., & Niki, E. (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. In *Methods in enzymology* (Vol. 335, pp. 157-166). Academic Press.
- Singleton, V. L. and J. A. Rossi (1965). "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." *American journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144-158.
- Skibola, C. F., & Smith, M. T. (2000). Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free radical biology and medicine*, 29(3-4), 375-383.
- Soltan, M. M. and A. K. Zaki (2009). "Antiviral screening of forty-two Egyptian medicinal plants." *Journal of ethnopharmacology* 126(1): 102-107.

- Srivastava V, Yadav A, Sarkar P (2020) Molecular docking and ADMET study of bioactive compounds of Glycyrrhiza glabra against main protease of SARS-CoV2. *Materials Today, Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.10.055> (Advance online publication)
- Strack, D. (1997). 10—Phenolic metabolism. *Academic Press: London, UK*, 387-416.
- Sultanova, N., Makhmoor, T., Abilov, Z. A., Parween, Z., Omurkamzinova, V. B., & Choudhary, M. I. (2001). Antioxidant and antimicrobial activities of *Tamarix ramosissima*. *Journal of ethnopharmacology*, 78(2-3), 201-205.
- Sundaram, R., Shanthi, P., & Sachdanandam, P. (2014). Effect of tangeretin, a polymethoxylated flavone on glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 21(6), 793-799.
- Sykes, D. A., Parry, C., Reilly, J., Wright, P., Fairhurst, R. A., & Charlton, S. J. (2014). Observed drug-receptor association rates are governed by membrane affinity: the importance of establishing “micro-pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships” at the β 2-adrenoceptor. *Molecular pharmacology*, 85(4), 608-617.
- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szłyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.

T

- Taha, M., Ullah, H., Al Muqarrabun, L. M. R., Khan, M. N., Rahim, F., Ahmat, N., ... & Khan, K. M. (2018). Bisindolylmethanethiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular modeling studies. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 26(1), 152-160.
- Taheri, F., Sepehri, G., Sheibani, V., & Sharififar, F. (2019). Amelioration of prenatal lead-induced learning and memory impairments by methanolic extract of *zataria multiflora* in male rats. *Basic and Clinical Neuroscience*, 10(2), 175.
- Taleb, H., Maddocks, S. E., Morris, R. K., & Kanekanian, A. D. (2016). Chemical characterisation and the anti-inflammatory, anti-angiogenic and antibacterial properties of date fruit (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of ethnopharmacology*, 194, 457-468.
- Tamaian, R., Moț, A., Silaghi-Dumitrescu, R., Ionuț, I., Stana, A., Oniga, O., & Tiperciuc, B. (2015). Study of the Relationships between the Structure, Lipophilicity and Biological Activity of Some Thiazolyl-carbonyl-thiosemicarbazides and Thiazolyl-azoles. *Molecules*, 20(12), 22188-22201.

- Tang, K., He, S., Zhang, X., Guo, J., Chen, Q., Yan, F., ... & Guo, Y. (2018). Tangeretin, an extract from Citrus peels, blocks cellular entry of arenaviruses that cause viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 160, 87-93.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90, 333–340.
- Tomas-Barberan F.A., Iniesta-Sanmartin E., Ferreres F., Tomas-Lorente F., Trowitzsch-Kienast W., Wray V., (1994). Trans-Coniferyl Alcohol 4-O-sulfate And Flavonoids Sulfates from *Tamarix* species. *Phytochemistry*, 29 (9): 3050-3051.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, 103(3), 816-822.
- Tsaioun, K., Blaauboer, B. J., & Hartung, T. (2016). Evidence-based absorption, distribution, metabolism, excretion (ADME) and its interplay with alternative toxicity methods. *Alternatives to Animal Experimentation: ALTEX*, 33(4), 343-358.
- Tundis, R., Bonesi, M., Sicari, V., Pellicanò, T. M., Tenuta, M. C., Leporini, M., & Loizzo, M. R. (2016). *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.: Chemical composition, antioxidant properties and hypoglycaemic activity via the inhibition of α -amylase and α -glucosidase enzymes. *Journal of Functional Foods*, 25, 477-485

U

- Ullah, R., Tariq, S. A., Khan, N., Sharif, N., Din, Z. U., & Mansoor, K. (2017). Antihyperglycemic effect of methanol extract of *Tamarix aphylla* L. Karst (Saltcedar) in streptozocin–nicotinamide induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(7), 619-623.
- Urfi T, Kalam, M., Mujahid, M., Badruddeen, J., Khalid, M., Khan, M. I., & Usmani, A. (2016). *Tamarix gallica*: For traditional uses, phytochemical and pharmacological potentials. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(1), 809-814.

V

- Valencia-Hernandez, L. J., Wong-Paz, J. E., Ascacio-Valdés, J. A., Chávez-González, M. L., Contreras-Esquivel, J. C., & Aguilar, C. N. (2021). Procyanidins: From Agro-Industrial Waste to Food as Bioactive Molecules. *Foods*, 10(12), 3152.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.

- Van De Waterbeemd, H., & Gifford, E. (2003). ADMET in silico modelling: towards prediction paradise. *Nature reviews Drug discovery*, 2(3), 192-204.
- Weber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem.*;45(12):2615-23.
- Villar, J. L., (2014). "The genus *Tamarix* (Tamaricaceae) in Crete (Greece)." *Willdenowia* 44(3): 321-326.

W

- Wang J (2020) Fast Identification of Possible Drug Treatment of Coronavirus Disease-19 (COVID-19) through Computational Drug Repurposing Study. *J Chem Inf Model* 60(6):3277–3286.
- Wang, M., Meng, D., Zhang, P., Wang, X., Du, G., Brennan, C., ... & Zhao, H. (2018). Antioxidant protection of nobiletin, 5-demethylnobiletin, tangeretin, and 5-demethyltangeretin from citrus peel in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(12), 3155-3160.
- Wang, L. F., Zhang, H. Y. (2003). A theoretical investigation on DPPH radical-scavenging mechanism of edaravone. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 13(21), 3789-3792.
- Wink, M. (2020). Potential of DNA intercalating alkaloids and other plant secondary metabolites against SARS-CoV-2 causing COVID-19. *Diversity*, 12(5), 175.

X

- Xiong, Z., Liu, W., Zhou, L., Zou, L., & Chen, J. (2016). Mushroom (*Agaricus bisporus*) polyphenoloxidase inhibited by apigenin: Multi-spectroscopic analyses and computational docking simulation. *Food Chemistry*, 203, 430-439.

Y

- Yamaguchi, Y., Brenner, M., & Hearing, V. J. (2007). The regulation of skin pigmentation. *Journal of biological chemistry*, 282(38), 27557-27561.
- Yang, H., Lou, C., Sun, L., Li, J., Cai, Y., Wang, Z., & Tang, Y. (2019). admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics*, 35(6), 1067-1069.

Younos, C., Soulimani, R., Seddiqi, N., Baburi, O., & Dicko, A. (2005). Étude ethnobotanique et historique des tamaris (*Tamarix* sp., Tamaricaceae) et leurs usages actuels en Afghanistan. *Phytothérapie*, 3(6), 248-251.

Yu, E., Xu, Y., Shi, Y., Yu, Q., Liu, J., & Xu, L. (2019). Discovery of novel natural compound inhibitors targeting estrogen receptor α by an integrated virtual screening strategy. *Journal of*

Molecular Modeling, 25(9), 1-11.

Yu, X.-D., Zheng, R.-B., Xie, J.-H., Su, J.-Y., Huang, X.-Q., Wang, Y.-H., ... Huang, P. (2015). *Biological evaluation and molecular docking of baicalin and scutellarin as Helicobacter pylori urease inhibitors. Journal of Ethnopharmacology*, 162, 69–78. doi:10.1016/j.jep.2014.12.041

Yusufoglu, H. S. and S. I. Alqasoumi (2011). "Anti-inflammatory and wound healing activities of herbal gel containing an antioxidant *Tamarix aphylla* leaf extract." *International Journal of Pharmacology* 7(8): 829-835.

Yves, M. B. (2012). *Rôle des aldose réductases dans la physiologie du tissu adipeux blanc: modèles génétiques murins perte et gain de fonction* (Doctoral dissertation, Clermont Université).

Z

Zain, M. E., Awaad, A. S., Al-Outhman, M. R., & El-Meligy, R. M. (2012). Antimicrobial activities of Saudi Arabian desert plants. *Phytopharmacology*, 2(1), 106-113. Zhang, J.-W., et al. (2018). "Epidermal characters of *Tamarix* L. (Tamaricaceae) from Northwest China and their taxonomic and palaeogeographic implications." *Journal of Palaeogeography* 7(2): 179-196.

Zeng, L.-B., Zhang, Z.-R., Luo, Z.-H., & Zhu, J.-X. (2011). Antioxidant activity and chemical constituents of essential oil and extracts of *Rhizoma Homalomenae*. *Food Chemistry*, 125(2), 456-463.

Zengin, G., Sarikurcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.

Zhang L, Lin D, Sun X, Curth U, Drost C, Sauerhering L, Becker S, Rox K, Hilgenfeld R (2020) Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of

improved α -ketoamide inhibitors. *Science* 368(6489):409–412. <https://doi.org/10.1126/science.abb3405> 179

Zhang, Y., Tsutsui, H., Yamawaki, N., Morii, Y., Nishihara, G. N., Itoi, S., & Takatani, T. (2021). Geographic variations in the toxin profile of the xanthid crab *Zosimus aeneus* in a single reef on ishigaki island, okinawa, Japan. *Marine Drugs*, 19(12), 670.

Zhao, D. B., Liu, X. H., Cui, S. Y., Wang, T., & Wang, H. Q. (2005). Separation and determination of six active components in two *Myricaria* plants by capillary chromatography. *Chromatographia*, 61(11), 643-646.

Zima, A. V., Bovo, E., Mazurek, S. R., Rochira, J. A., Li, W., & Terentyev, D. (2014). Ca handling during excitation–contraction coupling in heart failure. *PflügersArchiv-European Journal of Physiology*, 466(6), 1129-1137.

ANNEXES

ANNEXE 01

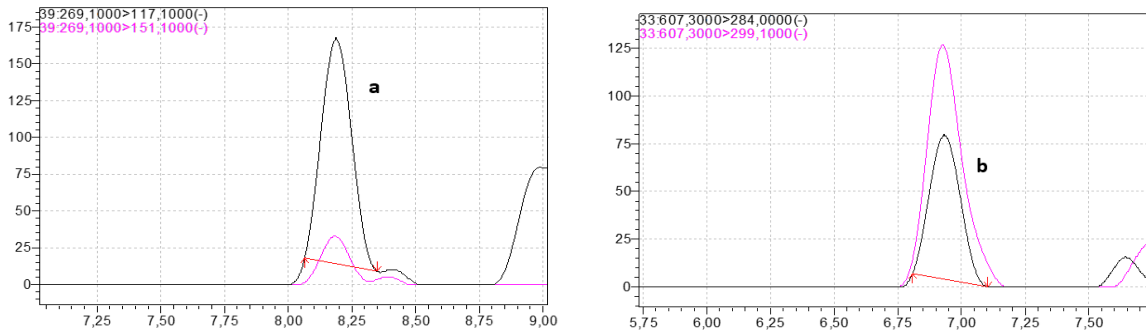


Figure 01. Chromatogrammes LC-MS de l'extrait MeOH de *Tamarix africana* (a : apigénine ; b : diosmine)

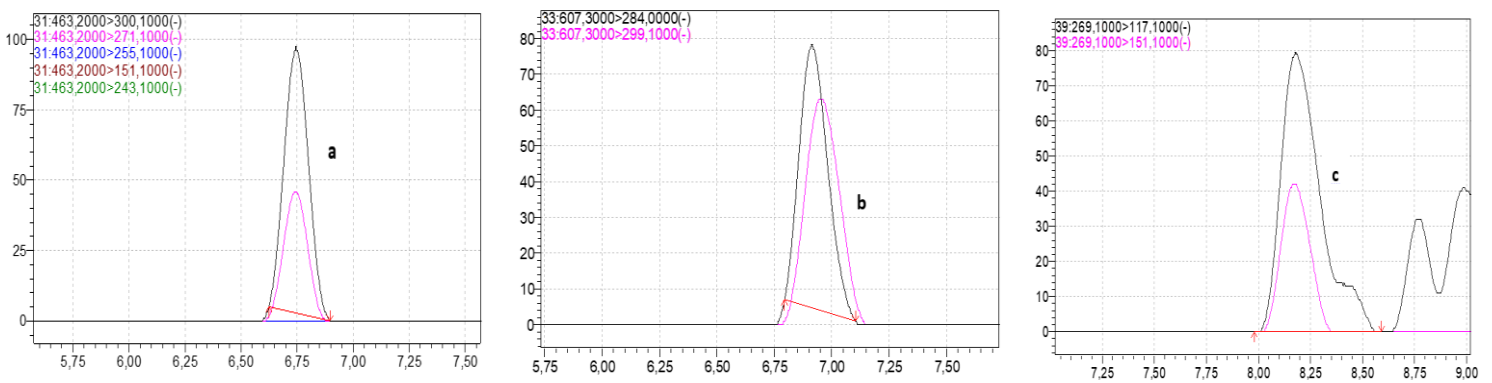
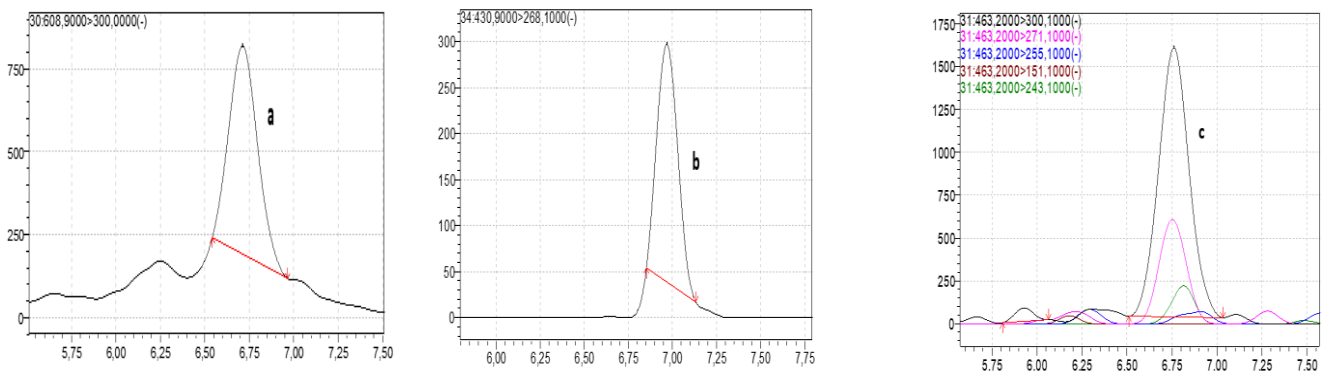


Figure 02. Chromatogrammes LC-MS de la fraction AE de *Tamarix africana* (a : diosmine ; b : quercétine-3- glucoside ; c : apigénine)



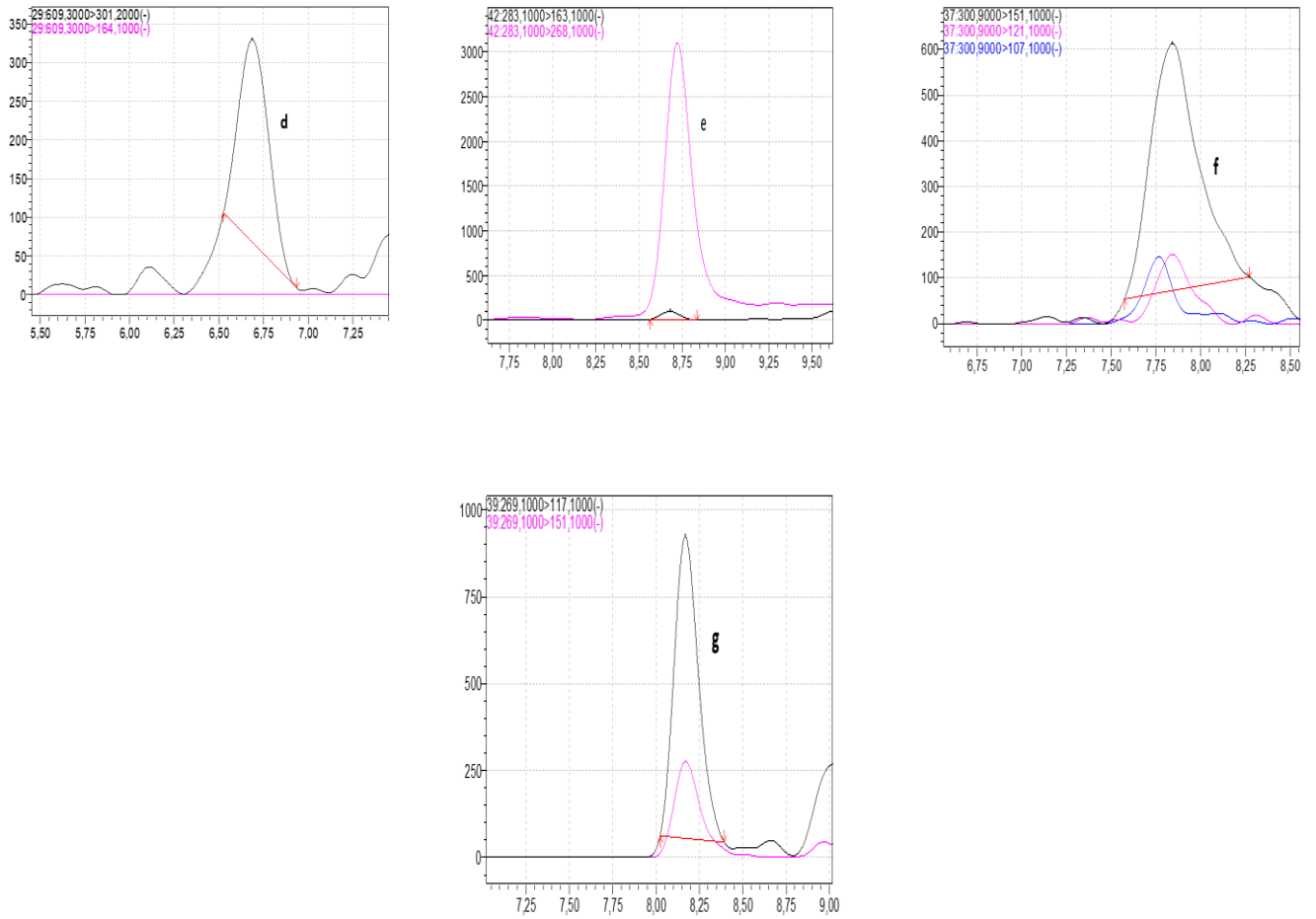


Figure 03. Chromatogrammes LC-MS de la fraction *n*-BuOH de *Tamarix africana* (a : rutine ; b : apigénine-7-O-glucoside ; c : quercétine-3-glucoside ; d : néohespéridine ; e : wogonine ; f : quercétine ; g : apigénine)

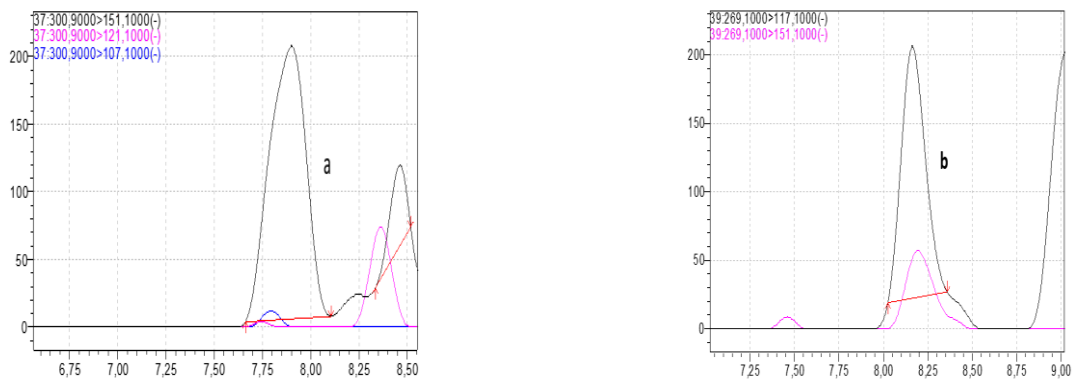


Figure 04. Chromatogrammes LC-MS de la fraction aqueuse de *Tamarix africana* (a : quercétine ; b : apigénine)

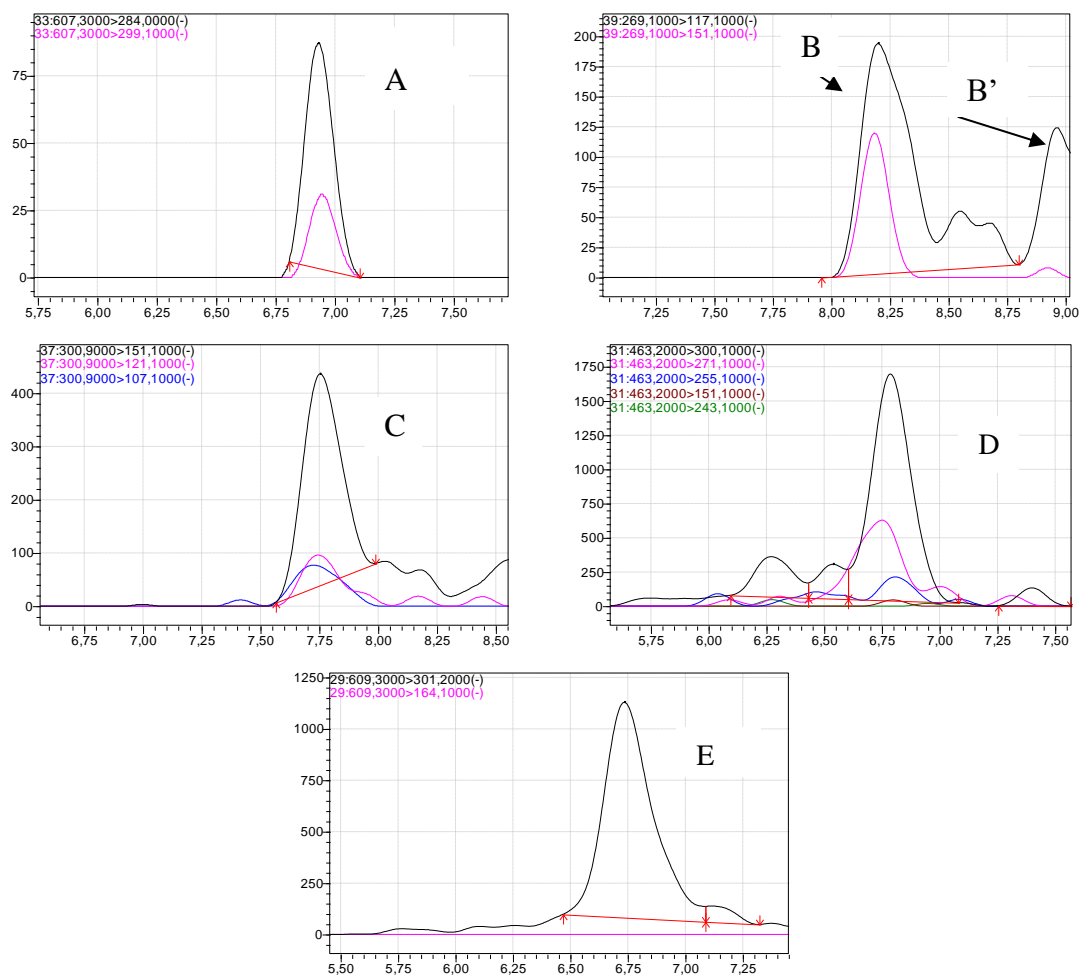


Figure 05. Chromatogrammes LC-MS de l'extrait acétonique de *Tamarix africana* (a : quercétine ; b : apigénine ; b' : tangerétine ; c : diosmine ; d : quercétine-3-glucoside ; e : néohespéridine)

Résumé

Ce travail vise à la caractérisation phytochimique des extraits acétonique, et méthanolique, et des fractions (acétate d'éthyle, *n*-butanol et aqueux) de *Tamarix africana*. L'analyse quantitative des composés phénoliques des différents extraits est réalisée par mesure spectrophotométrique et l'identification des composés par LC-MS. L'évaluation des activités biologiques est faite dans un premier temps par une approche bioinformatique (étude *in silico*). Elle consiste à prédire les propriétés pharmacocinétiques à savoir : les propriétés physicochimiques, le profil ADMET, les propriétés pharmacologiques, les cibles thérapeutiques, la cytotoxicité, le pouvoir antivirale (protéines virales). Les propriétés pharmacodynamiques des extraits sont évaluées par le docking moléculaire. L'étude préclinique des propriétés des molécules par l'approche bioinformatique est confirmée par une étude *in vitro* par l'évaluation des propriétés biologiques et pharmacologiques. L'effet antioxydant est évalué par les méthodes de : DPPH, ABTS+, Galvinoxyle, pouvoir réducteur, tests de blanchiment de la phénanthroline et de l'acide β -carotène-linoléique, réduction de permanganate. Le pouvoir d'inhibition des enzymes est également étudié contre : acétylcholinestérase (AChE), buthyrylcholinestérase (BChE), uréase, α -amylase et la tyrosinase. Le facteur de protection solaire, le test de réduction des nanoparticules d'argent et enfin la cytotoxicité *in vitro* ont été aussi déterminés.

L'analyse LC-MS a permis d'identifier et de quantifier les composés phénoliques suivants : La quercétine-3-glucoside, la diosmine, l'apigénine, la rutine, Apigénine-7-O-Glucoside, Wogonine, Quercétine, Néohespéridine sont les composés phénoliques majoritaires qui se répartissent dans la plupart des fractions des différentes parties de *Tamarix africana*. Les dosages ont montré une teneur importante de la plante en polyphénols et flavonoïdes. Tandis que, la plante s'avère plus riche en tanins hydrolysables. L'étude *in silico* a révélé que les composés testés pourraient être de bons candidats suite à leurs effets cytotoxiques significatifs contre plusieurs lignées cellulaires tumorales. En outre, les résultats du docking moléculaire montrent que ces composés pourraient également être efficaces dans le traitement de certaines maladies liées au diabète, aux pathologies de la peau, aux maladies cardiovasculaires et au système nerveux central. Les résultats de l'étude *in vitro* ont indiqué que les extraits et fractions de *Tamarix africana* présentent une activité antioxydante importante et un effet inhibiteur puissant contre l'AChE et le BChE ainsi que les enzymes uréase, tyrosinase et l' α -amylase. En outre, ces mêmes extraits et fractions ont des propriétés antioxydantes

importantes dans la réduction des nanoparticules d'argent. Le pouvoir cytotoxique des extraits et fractions vis-à-vis les larves d'*Artémia Salina* étaient significatif.

Sur la base de ces résultats, il est raisonnable de supposer que *Tamarix africana* peut être considérée comme un candidat potentiel pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires. Les composés bioactifs des plantes restent la meilleure alternative dans le cadre de découverte et de développement de médicaments.

Mot clés : Activités pharmaco-biologiques, Etude phytochimique, Etude *in silico*, Docking moléculaire, *Tamarix africana*.

Abstract

This work aims at the phytochemical characterization of acetone and methanol extracts and fractions (ethyl acetate, *n*-butanol and aqueous) of *Tamarix africana*. The quantitative analysis of phenolic compounds of the different extracts is done by spectrophotometric measurement and the identification of the compounds by LC-MS. The evaluation of the biological activities is done in a first step by a bioinformatic approach (*in silico* study). It consists in predicting the pharmacokinetic properties namely: physicochemical properties, ADMET profile, pharmacological properties, therapeutic targets, cytotoxicity, antiviral power (viral proteins). The pharmacodynamic properties of the extracts are evaluated by molecular docking. The preclinical study of the properties of the molecules by the bioinformatics approach is confirmed by an *in vitro* study by the evaluation of the biological and pharmacological properties. The antioxidant effect is evaluated by the methods of: DPPH, ABTS⁺, Galvinoxyl, reducing power, phenanthroline and β -carotene-linoleic acid bleaching tests, permanganate reduction. The inhibition power of enzymes is also studied against: acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE), urease, α -amylase and tyrosinase. Sun protection factor, silver nanoparticle reduction assay and finally *in vitro* cytotoxicity were also determined.

The LC-MS analysis identified and quantified the following phenolic compounds: Quercetin-3-glucoside, diosmin, apigenin, rutin, Apigenin-7-O-Glucoside, Wogonin, Quercetin, Neohesperidin are the major phenolic compounds distributed in most fractions of different parts of *Tamarix africana*. The assays showed a significant content of polyphenols and flavonoids in the plant. While, the plant is richer in hydrolyzable tannins. The *in silico* study revealed that the tested compounds could be good candidates due to their significant cytotoxic effects against several tumor cell lines. In addition, the molecular docking results show that these compounds could also be effective in the treatment of certain diseases related to

diabetes, skin pathologies, cardiovascular diseases and the central nervous system. The results of the in vitro study indicated that the extracts and fractions of *Tamarix africana* show significant antioxidant activity and a potent inhibitory effect against AChE and BChE as well as the enzymes urease, tyrosinase and α -amylase. In addition, these same extracts and fractions have significant antioxidant properties in the reduction of silver nanoparticles. The cytotoxic power of the extracts and fractions towards *Artemia salina* larvae were significant. Based on these results, it is reasonable to assume that *Tamarix africana* can be considered as a potential candidate for the pharmaceutical, cosmetic and food industries. Bioactive compounds from plants remain the best alternative for drug discovery and development.

Key words: Pharmaco-biological activities, Phytochemical study, *In silico* study, Molecular docking, *Tamarix africana*.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى التوصيف الكيميائي النباتي لمستخلصات الأسيون والميثانول ، ومستخلص (أسيات الإيثيل ، ن-بيوتانول ومائي) من تاماريكس أفريكانا. يتم إجراء التحليل الكمي للمركبات الفينولية للمستخلصات المختلفة عن طريق القياس الطيفي وتحديد المركبات بواسطة LC-MS. يتم تقييم الأنشطة البيولوجية في البداية من خلال نهج المعلوماتية الحيوية (دراسة في السيليكو). وهو يتألف من التنبؤ بخصائص pharmacocinétique، وهي: الخصائص الفيزيائية والكيميائية، وملف ADMET ، والخصائص الدوائية ، والأهداف العلاجية ، والسمية الخلوية ، والقوة المضادة للفيروسات (البروتينات الفيروسية). يتم تقييم الخصائص الديناميكية الدوائية للمستخلصات عن طريق الالتحام الجزيئي. تم تأكيد الدراسة قبل السريرية لخصائص الجزيئات من خلال نهج المعلوماتية الحيوية من خلال دراسة في المختبر من خلال تقييم الخصائص البيولوجية والدوائية. يتم تقييم تأثير مضادات الأكسدة من خلال طرق DPPH ، + ABTS ، Galvinoxyl ، تقليل الطاقة ، اختبارات التبييض للفينانثرولين وحمض β -carotene-linoleic ، تقليل البرمنجنات. كما تمت دراسة قوة تثبيط الإنزيمات ضد: أسيثيل كولينستراز (AChE) ، بوتيريل كولينستراز (BChE) ، اليورياز ، ألفا أميليز والتيروزيناز. كما تم تحديد عامل الحماية من أشعة الشمس واختبار تقليل الجسيمات النانوية الفضية وأخيراً السمية الخلوية في المختبر.

حدد تحليل LC-MS وقياس كمية المركبات الفينولية التالية Quercetin-3-glucoside و Diosmin و Apigenin و Rutin و Apigenin-7-O-Glucoside و Wogonin و Quercetin و Neohesperidin هي غالبية المركبات الفينولية التي يتم توزيعها في معظم الكسور لأجزاء مختلفة من *Tamarix africana*. أظهرت الاختبارات نسبة عالية من النبات في البوليفينول والفلافونويد. بينما ، تبين أن النبات أكثر ثراءً في التانينات القابلة للتحلل بالماء. كشفت دراسة في السيليكو أن المركبات المختبرة يمكن أن تكون مرشحة جيدة بسبب تأثيراتها السامة للخلايا على العديد من خطوط الخلايا السرطانية. بالإضافة إلى ذلك ، تظهر نتائج الالتحام الجزيئي أن هذه المركبات يمكن أن تكون فعالة أيضاً في علاج بعض الأمراض المتعلقة بالسكري وأمراض الجلد وأمراض القلب والأوعية الدموية والجهاز العصبي المركزي. أشارت نتائج الدراسة في المختبر إلى أن مستخلصات *Tamarix africana* ومستخلصاتها تظهر نشاطاً مضاداً للأكسدة وتأثيراً مثبطاً قوياً ضد إنزيم AChE و BChE بالإضافة إلى إنزيمات اليورياز والتيروزيناز والأميلاز. علاوة على ذلك ، فإن هذه

المقتطفات والمستخلصات لها خصائص مضادة للأكسدة في تقليل جزيئات الفضة النانوية. كذلك خاصية السمية الخلوية للمستخلصات ابرزت ناجعتها ضد يرقات *Artemia Salina*. بناءً على هذه النتائج، من المعقول أن نفترض أن *Tamarix africana* يمكن اعتباره مرشحاً محتملاً للصناعات الدوائية ومستحضرات التجميل والأغذية. تظل المركبات النشطة بيولوجياً النباتية هي أفضل بديل لاكتشاف الأدوية وتطويرها.

الكلمات المفتاحية: الأنشطة الدوائية البيولوجية، دراسة كيميائية نباتية، دراسة سيليكو ، الالتحام الجزيئي ، تاماريكسأفريكانا.