



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie  
Département de Science de la Matière

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la matière  
Filière: Chimie  
Spécialité : Chimie Pharmaceutique  
Réf. :

---

Présenté et soutenu par :  
Amrane Rayane

Le : 11 juin 2024

### *Etude phytochimique et évaluation in silico de l'activité anti-ulcéreuse des phyto-constituants de l'écorce de "Punica granatum"*

---

#### Jury :

Dr HARKATI Dalal	Pr	Université Med Khider de Biskra	Président
Dr BOUBEKRI Cherifa	Pr	Université Med Khider de Biskra	Examineur
Dr FETTAH Asma	MCA	Université Med Khider de Biskra	Encadreur
Dr SAAD Soumia	MRA	Centre de recherche CRSTRA-Biskra	Co-encadreur

Année universitaire : 2023/2024

## Remercîment

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à ma directrice de mémoire, le Docteur **Fettah Asma**. Madame, je vous remercie infiniment pour votre encadrement de qualité, votre suivi attentif, vos précieux conseils et votre disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail. Votre expertise, votre rigueur scientifique et votre bienveillance ont été des atouts essentiels à la concrétisation de ce projet. Je suis extrêmement reconnaissante d'avoir pu bénéficier de votre accompagnement.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à l'équipe du Centre de Recherche Scientifique et Techniques sur les Régions Arides « CRASTRA » : **Saad Soumia, Djedidi Mawehib** qui m'a ouvert généreusement les portes de ses installations et m'a permis d'accéder à toutes les ressources nécessaires à la conduite de mes recherches.

Je remercie chaleureusement l'étudiante **Toumi Sonia** pour son précieux concours et sa contribution active dans la collecte des données. Ton implication et ta rigueur m'ont été d'une aide inestimable.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury, Mes dames **Dr.Harkati Dalal** et **Dr.Boubekri Cherifa**, pour avoir accepté d'évaluer mon travail. Je vous suis reconnaissante pour le temps et l'attention que vous y consacrerez.

Que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

## Dédicace

Avant tout, je rends grâce à mon dieu, le Tout-Puissant, Pour Ses innombrables bénédictions et Sa miséricorde infinie qui m'ont accordé la force, la détermination et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

À ma très chère mère Sabah, Ton amour inconditionnel, ta patience et tes encouragements sans faille ont été ma plus grande force tout au long de ces années. Tu as toujours cru en moi et m'as soutenu dans les moments les plus difficiles. Merci d'avoir été à mes côtés, de m'avoir guidé et réconforté quand j'en avais besoin. Ce travail est aussi le tien.

À mon cher père Mohamed Tahar, Même si tu n'es plus physiquement à mes côtés, ton souvenir a été ma plus grande source d'inspiration tout au long de ce parcours. Lorsque tu nous as quittés alors que je n'avais que 6 ans, tu m'as légué un rêve : celui de réussir mes études supérieures. Aujourd'hui, ce rêve devient réalité et cette réussite t'est dédiée. J'espère que d'où tu es, tu es fier de moi. Tu me manques terriblement, mais je sais que tu veilles sur moi et que tu me guides.

À mon frère Mohamed Amine, Ton soutien indéfectible et ton aide précieuse, notamment dans les moments les plus difficiles, m'ont permis de surmonter bien des obstacles. Merci d'avoir été là pour m'épauler et de m'avoir encouragé à persévérer jusqu'au bout.

À ma sœur Zoubida, Ton affection et ta bienveillance ont été un réel réconfort dans les moments de doute et de fatigue. Ton sourire et ta joie de vivre ont illuminé mon chemin.

À mon amie Baddek Chourouk, Ton soutien pendant toutes ces années à l'université a été d'un réel réconfort. Nos moments de fous rires et de partage m'ont permis de traverser cette période avec plus de légèreté et de sérénité. Merci d'avoir été présente dans les moments de joie comme dans les moments de fatigue.

Ce mémoire est le fruit de nombreuses heures de travail acharné et de sacrifices. Mais grâce à vous tous, ma famille bien-aimée, j'ai pu relever ce défi avec fierté. Je vous dédie ce modeste travail en témoignage de ma profonde reconnaissance.

## Résumé

Les ulcères gastriques constituent la maladie gastro-intestinale la plus courante et sont provoqués par une protection insuffisante de la paroi de l'estomac. Il existe plusieurs médicaments sur le marché pour lutter contre cette maladie. Cependant, ces médicaments peuvent provoquer des effets secondaires indésirables. Le règne végétal contient une large gamme des composés phytochimiques qui peuvent bénéficier des différentes activités thérapeutique.

Notre travail consiste à l'étude phytochimique de l'écorce de « *Punica granatum* » est connue pour ses effets analgésiques et gastroprotecteurs. Dans le cadre de réalisation des extractions de l'écorce de grenade. Et par la suite la quantification par dosage colorimétrique des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux et tanins condensés montrant une richesse en ces composés.

L'étude in silico est réalisée sur une séries des molécules à partir les extraits de l'étude précédents par docking moléculaire basé sur les interactions avec l'enzyme Pompe à proton H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase (Hydrogène, Hydrostatique), l'énergie score faible puis l'analyse des propriétés ADME-Tox et Drug likeness. Les résultats montrent que les ligands **Catéchine, acide Méthylellagique et Quercétine** sont des bon inhibiteurs de l'enzyme Pompe à proton H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase. De plus, l'analyse par ADME-Tox indique que les molécules respectent les règles Lipinski, Veber et Egan qui permettent les suggérer comme des meilleurs candidats vers des futurs médicaments.

**Mots-clés :** *Ulcère-gastrique, Pompe à proton H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase, Punica granatum,*

*Polyphénols, docking moléculaire, ADME-Tox.*

## Abstract

Gastric ulcers are the most common gastrointestinal disease and are caused by insufficient protection of the stomach lining. There are several medications on the market to combat this disease. However, these medications can cause unwanted side effects. The plant kingdom contains a wide range of phytochemical compounds that can benefit from different therapeutic activities.

Our work consists of the phytochemical study of the bark of "Punica granatum" which is known for its analgesic and gastroprotective effects. As part of carrying out pomegranate, peel extractions. Moreover, subsequently the quantification by colorimetric dosage of total polyphenols and total flavonoids and condensed tannins showing a richness in these compounds.

The in silico study is carried out on a series of molecules from the extracts of the previous study by molecular docking based on interactions with the enzyme Proton pump H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase (Hydrogen, Hydrostatic), low energy score then the analysis of ADME-Tox and Drug likeness properties. The results show that the ligands Catechin, Methyllellagic acid and Quercetin are good inhibitors of the H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase proton pump enzyme. In addition, the analysis by ADME-Tox indicates that the molecules respect the Lipinski, Veber and Egan rules, which allow them to be suggested as the best candidates for future drugs.

Keywords: Gastric ulcer, H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase proton pump, Punica granatum, Polyphenols, molecular docking, ADME-Tox.

## ملخص

تُعتبر القرحة المعدية أكثر الأمراض الهضمية شيوعًا وتنشأ من وجود حماية غير كافية لجدار المعدة. هناك العديد من الأدوية المتوفرة في السوق للتعامل مع هذا المرض. ومع ذلك قد تؤدي هذه الأدوية إلى آثار جانبية غير مرغوب فيها. يحتوي العالم النباتي على مجموعة واسعة من المركبات الكيميائية النباتية التي يمكن أن تستفيد من مختلف الأنشطة العلاجية.

يتمثل عملنا في الدراسة الكيميائية النباتية لقرحة "الرمان" والمعروفة بخصائصها المسكنة والمعدوية الواقية. في إطار إجراء استخلاصات لقرحة الرمان، تم أيضًا تقدير الكمية الكلية للمركبات الفينولية والفلافونويدات والصمغ المركز، مما أظهر تراءها في هذه المركبات.

تم إجراء الدراسة الحاسوبية على سلسلة من الجزيئات من المستخلصات السابقة عن طريق التوصيل الجزيئي القائم على التفاعلات مع إنزيم مضخة البروتون ( $H^+/K^+$  ATPase الهيدروجين، الهيدروستاتيك)، والحصول على درجة طاقة منخفضة، ثم تحليل خصائص ADME-Tox و Drug likeness. تشير النتائج إلى أن الروابط Catéchine و acide Quercétine ومéthyllellagique هي مثبتات جيدة لإنزيم مضخة البروتون. علاوة على ذلك، تشير دراسة ADME-Tox إلى أن الجزيئات تقي بقواعد Lipinski و Egan و Veber ، مما يسمح باقتراحها كمرشحين أفضل للأدوية المستقبلية.

الكلمات المفتاحية: قرحة المعدة، مضخة البروتون  $H^+/K^+$  ATPase ، Punica granatum ، المركبات الفينولية، التوصيل الجزيئي، ADME-Tox.

## Liste des abréviations et des symboles

<b>2D</b>	deux dimensions.
<b>3D</b>	Trois dimensions.
<b>A :</b>	
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Chlorure d'aluminium.
<b>ATP</b>	Adénosine Triphosphate.
<b>ADME-Tox</b>	Absorption Distribution Métabolisme Elimination – Toxicité.
<b>Ala</b>	alanine.
<b>Arg</b>	arginine.
<b>Asn</b>	asparagine.
<b>Asp</b>	acide aspartique.
<b>ADP</b>	Adénosine Di Phosphate.
<b>B :</b>	
<b>BBB</b>	Blood–Brain Barrier permeability.
<b>C :</b>	
<b>Caco-2</b>	Colon adenocarcinoma.
<b>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</b>	Ethanol.
<b>Cl</b>	Clairance totale.
<b>CNS</b>	Central Nervous System permeability.
<b>Cys</b>	cystéine.
<b>E :</b>	
<b>EAG</b>	Acide gallique d'équivalent.
<b>EC</b>	Equivalent de Catéchine.
<b>EQ</b>	Equivalent de Quercetine.
<b>F :</b>	
<b>FCR</b>	Réactif de Folin-Ciocalteu.
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure de fer (III).

## **G :**

**g** gramme.

**Gln** glutamine.

**Glu** acide glutamique.

**Gly** glycine.

## **H :**

**HCl** Acide chlorhydrique.

**HHDP** Hexahydroxydiphénique.

**HIA** Human intestinal absorption.

## **I:**

**ILE** Isoleucine.

## **M :**

**Met** méthionine.

**Mg** milligramme.

**Mi** Masse initiale.

**Mf** Masse final.

**MW** Molecular Weight.

## **N :**

**NFκB** nuclear factor-kappa B.

**NH<sub>4</sub>OH** Ammoniaque.

**Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** Sulfate de sodium.

**n-HA** Number of hydrogen bond acceptors.

**n-HD** Number of hydrogen bonds donors.

**n-ROT** Number Of Rotatable.

**L:**

**LEU** leucine.

**P :**

**PDB** Protein Data Bank.

**R :**

**Renal OCT2 substrate** Organic cation transporter 2.

**RMSD** Root-Mean-Square Deviation.

**T :**

**TPSA** Topological Polar Surface Area.

**Trp** tryptophane.

**Tyr** tyrosine.

**THR** Thréonine.

**V :**

**Val** valine.

**VD** Volume de distribution.

**$\lambda$**  Longueur d'onde.

## Liste des tableaux

<b><u>Chapitre I:</u> Synthèse bibliographique.</b>		
<b>Tableau I.1</b>	Classification botanique de <i>Punica granatum</i> L.	<b>23</b>
<b>Tableau I.2</b>	Utilisation des différents organes du grenadier en médecine traditionnelle.	<b>24</b>

<b><u>Chapitre II:</u> Etude phytochimique.</b>		
<b>Tableau II.1</b>	Résultats de le criblage phytochimique.	<b>44</b>
<b>Tableau II.2</b>	Résultats de l'extraction par soxhlet.	<b>45</b>
<b>Tableau II.3</b>	Résultats de l'extraction par hydrodistillation.	<b>45</b>
<b>Tableau II.4</b>	Résultats de l'extraction par macération.	<b>45</b>
<b>Tableau II.5</b>	Rendements de l'extraction des différentes méthodes utilisées.	<b>46</b>
<b>Tableau II.6</b>	Rendement total de résidu de Soxhlet et des fibres brutes.	<b>47</b>
<b>Tableau II.7</b>	Teneur de polyphénols totaux de chaque extrait.	<b>48</b>
<b>Tableau II.8</b>	Teneur de flavonoïdes totaux de chaque extrait.	<b>49</b>
<b>Tableau II.9</b>	Teneur de Tanins de chaque extrait.	<b>51</b>

<b><u>Chapitre III :</u> Etude in-silico.</b>		
<b>Tableau III.1</b>	Les types de docking moléculaire.	<b>54</b>
<b>Tableau III.2</b>	Les conditions des règles Lipinski et Veber.	<b>56</b>
<b>Tableau III.3</b>	Les structures des composés polyphénols de l'écorce de grenade.	<b>64</b>
<b>Tableau III.4</b>	Les propriétés du récepteur Pompe à proton H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase.	<b>66</b>
<b>Tableau III.5</b>	Résultats des énergies d'interactions des inhibiteurs de la 5YLV comparé avec ligand de référence	<b>68</b>
<b>Tableau III.6</b>	S-score et les interactions entre les meilleurs ligands et les résidus du site actif de la pompe proton H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase (PDB ID : 5YLV).	<b>70</b>
<b>Tableau III.7</b>	Différents paramètres physico-chimique pour les meilleurs ligands et les résidus du site actif de la pompe proton H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase.	<b>83</b>
<b>Tableau III.8</b>	ADMET/propriétés pharmacocinétiques des composés choisie.	<b>85</b>

## Liste des figures

<b><u>Chapitre I:</u></b> Synthèse bibliographique.		
<b>Figure I.1</b>	Anatomie de l'estomac.	<b>4</b>
<b>Figure I.2</b>	Histologie de l'estomac.	<b>6</b>
<b>Figure I.3</b>	vascularisation de l'estomac.	<b>7</b>
<b>Figure I.4</b>	Libération d'acide chlorhydrique par les pompes à protons des cellules pariétales.	<b>8</b>
<b>Figure I.5</b>	Physiologie de la sécrétion gastrique.	<b>10</b>
<b>Figure I.6</b>	Type de l'ulcère.	<b>12</b>
<b>Figure I.7</b>	La physiopathologie de l'ulcère.	<b>13</b>
<b>Figure I.8</b>	Perforation des ulcères gastriques.	<b>14</b>
<b>Figure I.9</b>	sténose du pylore.	<b>15</b>
<b>Figure I.10</b>	Helicobacter pylori.	<b>16</b>
<b>Figure I.11</b>	les AINS inhibent la synthèse des prostaglandines.	<b>17</b>
<b>Figure I.12</b>	Présentation de Punica granatum L.	<b>22</b>
<b>Figure I.13</b>	l'écorce de grenade.	<b>25</b>
<b>Figure I.14</b>	Médicament à base de grenade.	<b>28</b>

<b><u>Chapitre II:</u></b> Etude phytochimique.		
<b>Figure II.1</b>	L'écorce de grenade séchée avant le broyage.	<b>30</b>
<b>Figure II.2</b>	L'écorce de grenade séchée après le broyage.	<b>30</b>
<b>Figure II.3</b>	Dessiccation des échantillons.	<b>31</b>
<b>Figure II.4</b>	Etape de calcination	<b>32</b>
<b>Figure II.5</b>	Recherche des huiles essentielles, polyphénols et tanins dans l'écorce de grenade.	<b>33</b>
<b>Figure II.6</b>	Recherche des flavonoïdes dans l'écorce de grenade.	<b>33</b>
<b>Figure II.7</b>	Le montage de hydrodistillation.	<b>34</b>
<b>Figure II.8</b>	Extractions liquide – liquide par ampoule à décanté.	<b>35</b>
<b>Figure II.9</b>	Extractions solide – liquide par méthode de soxhlet.	<b>36</b>

<b>Figure II.10</b>	Macération de l'écorce de grenade après 4 jours.	<b>37</b>
<b>Figure II.11</b>	Extraction liquide –liquide par n-hexane	<b>38</b>
<b>Figure II.12</b>	Extraction liquide –liquide par acétate d'éthyle	<b>38</b>
<b>Figure II.13</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 765 nm.	<b>39</b>
<b>Figure II.14</b>	Courbe d'étalonnage de quercétine à 415 nm.	<b>40</b>
<b>Figure II.15</b>	Courbe d'étalonnage de catéchine à 550 nm.	<b>41</b>
<b>Figure II.16</b>	Eppendorfs contient solution mère et sa dilution.	<b>41</b>
<b>Figure II.17</b>	Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité.	<b>42</b>
<b>Figure II.18</b>	Détermination de la teneur en cendre.	<b>43</b>
<b>Figure II.19</b>	Histogramme l'extraction par différentes Méthodes.	<b>47</b>
<b>Figure II.20</b>	Teneurs totaux en polyphénols des extraits.	<b>48</b>
<b>Figure II.21</b>	Teneurs totaux en flavonoides des extraits.	<b>50</b>
<b>Figure II.22</b>	Teneurs totaux en tanins condensés des extraits.	<b>51</b>

### **Chapitre III : Etude in-silico.**

<b>Figure III.1</b>	Illustration de docking/scoring.	<b>54</b>
<b>Figure III.2</b>	Les diffusions active et passive.	<b>55</b>
<b>Figure III.3</b>	Les étapes de métabolisme.	<b>57</b>
<b>Figure III.4</b>	Les voies de l'élimination.	<b>57</b>
<b>Figure III.5</b>	Interface utilisateur de ChemDraw.	<b>58</b>
<b>Figure III.6</b>	L'interface du logiciel Schrödinger suite.	<b>59</b>
<b>Figure III.7</b>	Site de la Protéine Data Bank (PDB).	<b>60</b>
<b>Figure III.8</b>	Page d'accueil de la base des données PubChem.	<b>60</b>
<b>Figure III.9</b>	Page d'accueil du site SwissADME.	<b>61</b>
<b>Figure III.10</b>	Page d'accueil du site pkCSM.	<b>62</b>
<b>Figure III.11</b>	Protocole de calcul.	<b>63</b>
<b>Figure III.12</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur cafeoylquinic acid naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.	<b>75</b>
<b>Figure III.13</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur catechin naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.	<b>76</b>
<b>Figure III.14</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur Ellagic acid naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.	<b>77</b>

<b>Figure III.15</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur Epicatechin gallate naturel avec les résidus de chaine latérale du site actif de la 5YLV.	<b>78</b>
<b>Figure III.16</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur Methylellagic acid naturel avec les résidus de chaine latérale du site actif de la 5YLV.	<b>79</b>
<b>Figure III.17</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur Punicacortein B naturel avec les résidus de chaine latérale du site actif de la 5YLV.	<b>80</b>
<b>Figure III.18</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur Quercetin naturel avec les résidus de chaine latérale du site actif de la 5YLV.	<b>81</b>
<b>Figure III.19</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur Quercetin-3-o-glucoside naturel avec les résidus de chaine latérale du site actif de la 5YLV.	<b>82</b>
<b>Figure III.20</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur Strictinin naturel avec les résidus de chaine latérale du site actif de la 5YLV.	<b>83</b>
<b>Figure III.21</b>	Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur référence 8WX avec les résidus de chaine latérale du site actif de la 5YLV.	<b>84</b>

# Table de matière

**Introduction générale** .....Error! Bookmark not defined.

## Chapitre I: Synthèse bibliographique.

<b>I. Généralités</b> .....	<b>4</b>
I.1 Anatomie de l'estomac .....	4
I.2 Histologie de l'estomac .....	5
I.3 Vascularisation artérielle .....	6
I.4 Fonction de l'estomac .....	7
I.5 Physiologie de la sécrétion gastrique .....	8
I.5.1 Sécrétion acide .....	8
I.5.2 Sécrétion de bicarbonates ( $\text{HCO}_3$ ) .....	9
I.5.3 Sécrétion de pepsine .....	9
I.6 Barrière de défense de la muqueuse gastrique .....	10
I.6.1 Prostaglandines (PG) .....	10
I.6.3 Mucus .....	11
I.6.4 Cellules épithéliales .....	11
<b>II. Ulcère gastroduodéal</b> .....	<b>11</b>
II.1 Types d'ulcère .....	12
II.1.1 Ulcère gastrique .....	12
II.1.2 Ulcère Duodéal .....	12
II.2 Physiopathologie de l'ulcère gastrique .....	12
II.3 Complications de l'ulcère gastrique .....	13
II.3.1 Perforations aiguës .....	13
II.3.2 Hémorragies digestives .....	14
II.3.3 Cancérisation .....	14
II.3.4 Sténoses pyloro-bulbaires .....	14
II.4 Causes et facteurs de risque de l'ulcère .....	15

II.4.1 Helicobacter pylori cause principale des ulcères .....	15
II.4.2 AINS, facteurs de risque .....	17
II.5 Principaux symptômes de l'ulcère gastroduodéal .....	18
II.6 Traitement médical de la maladie ulcéreuse .....	19
II.6.1 Anti-acides .....	19
II.6.2 Protecteurs de la muqueuse .....	19
II.6.3 Traitement d'éradication de l'H. pylori .....	20
II.7 Effets indésirables des principaux traitements conventionnels de l'ulcère gastrique ..	20
II.8 Traitement de l'ulcère gastrique avec des produits naturels (Les plantes médicinales) ..	20
<b>III. Punica granatum L .....</b>	<b>22</b>
III.1 Description botanique .....	22
III.2 Systématique botanique .....	22
III.3 Origine et distribution géographique .....	23
III.4 Usages traditionnels et empiriques de Punica granatum .....	24
III.5 Composition chimique de l'écorce de grenade .....	25
III.6 Activité biologique de l'écorce de grenade .....	25
III.6.1 Activités antioxydante .....	26
III.6.2 Activités anti-inflammatoire.....	26
III.6.3 Activité antimicrobienne .....	26
III.6.4 Activité anti-fongique .....	27
III.6.5 Activité anti-diabétique.....	27
III.6.6 Activité anti cancéreuse .....	27
III.6.7 Activité anti ulcéreuse.....	27
III.7. Médicament à base de grenade.....	<b>28</b>

## **Chapitre II: Etude phytochimique.**

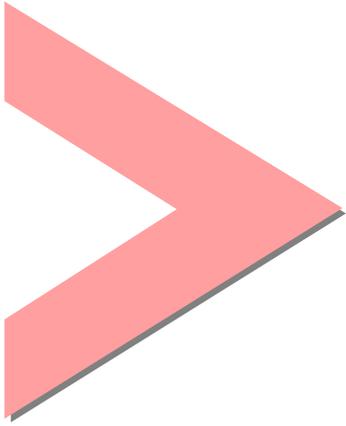
I. Introduction.....	<b>30</b>
I.1. Préparation de matière végétale .....	30
I.1.1. Séchage et broyage .....	30
I.1.2. Détermination du taux d'humidité et de la matière sèche .....	30

I.1.3. Teneur en cendres totales.....	31
I.2. Criblage phytochimique .....	32
I.3. Extractions des phyto-constituants d'écorce de grenade .....	34
I.3.1. Extraction des huiles essentielles .....	34
I.3.2. Extraction des composés phénoliques .....	35
I.3.3. Extraction des Tanins par macération .....	36
I.3.4. Extraction des fibres .....	38
I.4. Rendement d'extraction .....	38
I.5. Quantification des composées phénolique par dosage .....	39
I.5.1. Dosage des polyphénols totaux .....	39
I.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	40
I.5.3. Dosage des Tanins condensés .....	40
<b>II. Discussions des résultats.....</b>	<b>42</b>
II.1. Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité .....	42
II.2. Détermination de teneur de cendre .....	42
II.3. Screening phytochimique .....	43
II.4. Résultat des extractions .....	44
II.4.1. Méthode de Soxhlet :.....	44
II.4.2. Méthode de hydrodistillation : .....	45
II.4.3. Méthode de macération .....	45
II.5. Rendement des extractions.....	46
II.6. Détermination de la teneur en fibres brutes .....	47
II.7. Analyse quantitative des polyphénols, flavonoides et tanins condensés .....	48
II.7.1 Dosage des polyphénols totaux.....	48
II.7.2 Dosage des flavonoïdes totaux .....	49
II.7.3 Dosage des tanins .....	51

## **Chapitre III : Etude in-silico.**

<b>I. Introduction .....</b>	<b>54</b>
I.1. Docking moléculaire .....	54

I.1.1 Principe de docking moléculaire .....	54
I.1.2. Types de docking moléculaire .....	55
I.1.3. Programmes de docking moléculaire .....	56
<b>I.2. Prédiction ADMET in silico .....</b>	<b>56</b>
I.2.1. Absorption .....	56
I.2.2. Distribution .....	57
I.2.3. Métabolisme .....	57
I.2.4. Elimination .....	58
I.2.5. Toxicité .....	59
<b>II. Matériels et méthodes.....</b>	<b>59</b>
II.1. Matériel .....	59
II.1.1. Micro-ordinateur .....	59
II.1.2. Programmes utilisés .....	59
II.1.3. Banques de données .....	60
II.2. Méthode .....	64
II.2.1. Étapes des calculs .....	64
II.2.2. Pharmacokinetics and toxicity properties prediction .....	68
<b>III. Discussions des résultats .....</b>	<b>68</b>
III.1. Résultats de Docking moléculaire .....	68
III.2. Interactions de ligands- 5YLV .....	70
III.2. Évaluation des propriétés ADME .....	84
III.2.1. Propriétés physico-chimiques .....	84
III.2.2. Propriétés pharmacocinétiques .....	86
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>89</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>93</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>104</b>



# **Introduction**

## **générale**

# Introduction générale

---

Au fil des siècles, les hommes ont su développer la connaissance des plantes et de leurs propriétés thérapeutiques. Actuellement, le traitement par les plantes, également connue sous le nom de la phytothérapie, est réputé pour sa facilité d'utilisation, son efficacité et sa valeur abordable [1].

La recherche et l'identification des phyto-molécules bioactives est l'un des axes de recherche de l'industrie pharmaceutique. Les substances bioactives s'intègrent beaucoup mieux dans les processus de régulation physiologique de l'organisme humain. Elles constituent l'outil thérapeutique le mieux adapté pour une approche intégrative et régulatrice, de soutien de l'organisme dans sa réactivité adaptative principalement dans les désordres pathologiques dus aux déséquilibres métaboliques [2].

Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme [3]. Au cours de la présente étude ayant pour objectif, la recherche des substances à activité biologique efficace à travers des sources naturelles ; nous avons opté pour l'écorce de *Punica granatum*, choisie sur la base de sa large utilisation en médecine traditionnelle.

L'un des objectifs thérapeutiques définis pour fournir une thérapie pour la maladie de l'ulcère gastrique qui comprennent l'inhibition de certaines enzymes, qui savent une diminution de la sécrétion de l'acide gastrique et une protection de la muqueuse de l'estomac [4].

Nous avons choisi de faire une étude in silico des principaux composés phénoliques présents dans l'écorce de grenade à l'égard cette maladie, on utilisant du serveur SwissADME et logiciel Schrödinger suite pour déterminer les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques

Notre travail est divisé en trois parties, présentées comme suit :

- la première partie englobe les informations relatives à notre thème, sous le titre de synthèse bibliographique, présentant une généralité sur la maladie d'ulcère gastrique et les traitements médicamenteux disponibles dans le marché, suivi par les aspects botaniques, taxonomiques et pharmacologiques sur l'espèce étudié.

## Introduction générale

---

- La deuxième partie de ce document intitulée "Etude phytochimique" renferme les différentes méthodes et techniques d'extraction des phyto-constituants de l'écorce de *Punica granatum*, suivi d'une étude quantitative par dosage colorimétrique et par la suite l'interprétation des résultats obtenus.
- La troisième et dernière partie présente l'étude in silico, conçoit une approche par modélisation moléculaire (docking, drug-likeness, ADMET, etc...) de l'activité anti-ulcéreuse des phyto-constituants obtenus lors des études antérieures. Ainsi que le matériel utilisé pour la réalisation de cette partie de recherche suivi par le traitement des résultats acquis.
- Une conclusion générale et des perspectives sont données pour clôturer notre travail.



# Chapitre I

## Synthèse

### bibliographique



## I. Généralités :

### I.1 Anatomie de l'estomac :

L'estomac en forme de J est situé sous le diaphragme, entre l'œsophage et le duodénum, sur le côté gauche de l'abdomen. Il forme un réservoir où les aliments sont retenus, pétris et prédigérés en attendant qu'ils pénètrent progressivement dans les intestins. Seules de petites quantités de nutriments sont absorbées par les cellules épithéliales et les cellules épithéliales sont imperméables à la plupart des nutriments. L'estomac peut contenir jusqu'à 6,4 litres de nourriture [5]. Classiquement, il est divisé en quatre parties :

- Un hole supérieur d'abouchement de l'œsophage « le cardia ».
- Une parcel supérieure délatée « le fundus ».
- Une région centrale le corps.
- Un hole inférieur « le pylore » qui est l'extrémité de l'antra [6].

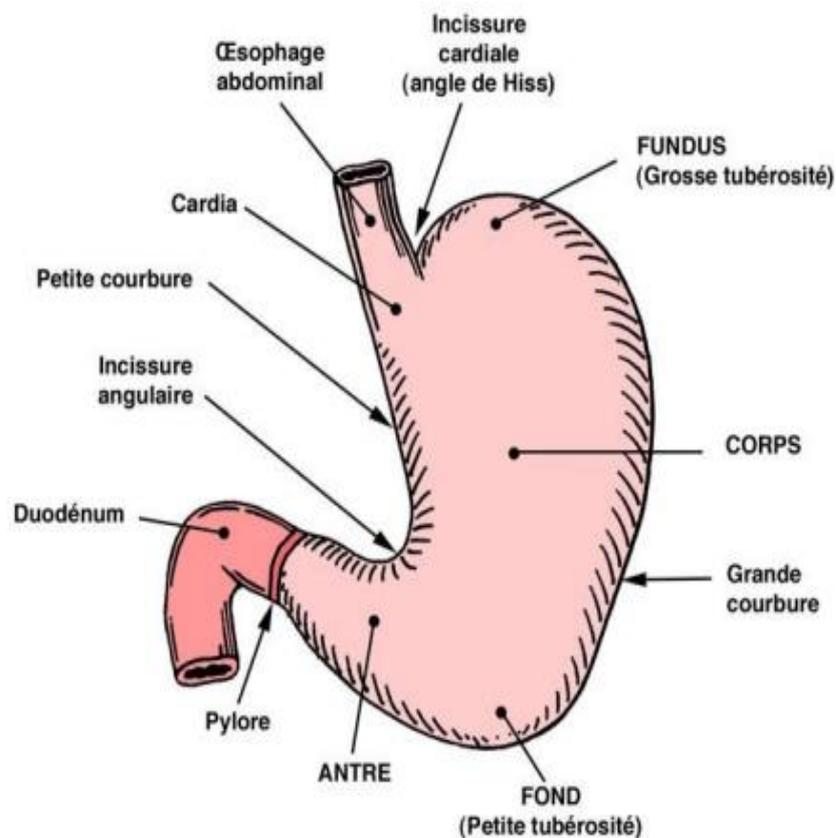


Figure I.1 : Anatomie de l'estomac.

### I.2 Histologie de l'estomac :

La paroi gastrique est composée de quatre couches fonctionnelles différentes :

la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse.

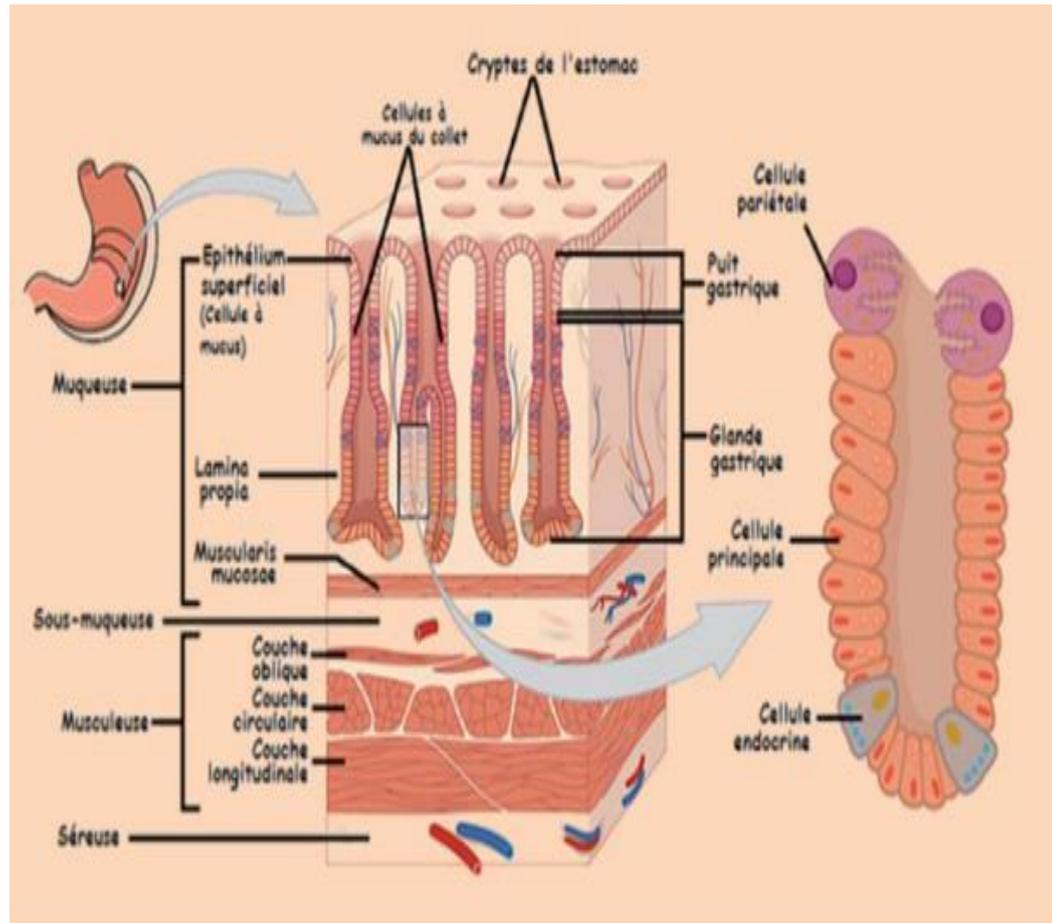
- **La muqueuse** responsable de la sécrétion gastrique est histologiquement divisée en trois couches : la couche épithéliale, le chorion et la muqueuse musculaire.

- La muqueuse épithéliale est principalement responsable de la sécrétion et de l'absorption. Il contient la glande fundique, qui est composée de quatre types de cellules : les cellules principales, les cellules pariétales, les cellules de mucus et les cellules de gastrine (cellules G).

- Le chorion est un tissu conjonctif de soutien innervé et vascularisé qui contient des glandes exocrines, des cellules lymphoïdes et des mastocytes.

- La musculuse muqueuse est une couche musculaire lisse qui produit des mouvements locaux provoquant des plis muqueux.

- **La sous-muqueuse** est un tissu de soutien qui contient des vaisseaux sanguins, des vaisseaux lymphatiques, des nerfs et des nœuds du plexus de Meissner.
- **La musculuse** est composée de trois couches de fibres musculaires lisses, une externe avec des fibres longitudinales et une interne avec des fibres circulaires. La troisième couche intermédiaire de fibres diagonales limite l'expansion gastrique dans le plan vertical.
- **La séreuse** ou membrane péritonéale est constituée d'une fine couche de tissu conjonctif attachée à la couche musculaire externe. Ce tissu conjonctif soutient des vaisseaux sanguins et nerfs [7].

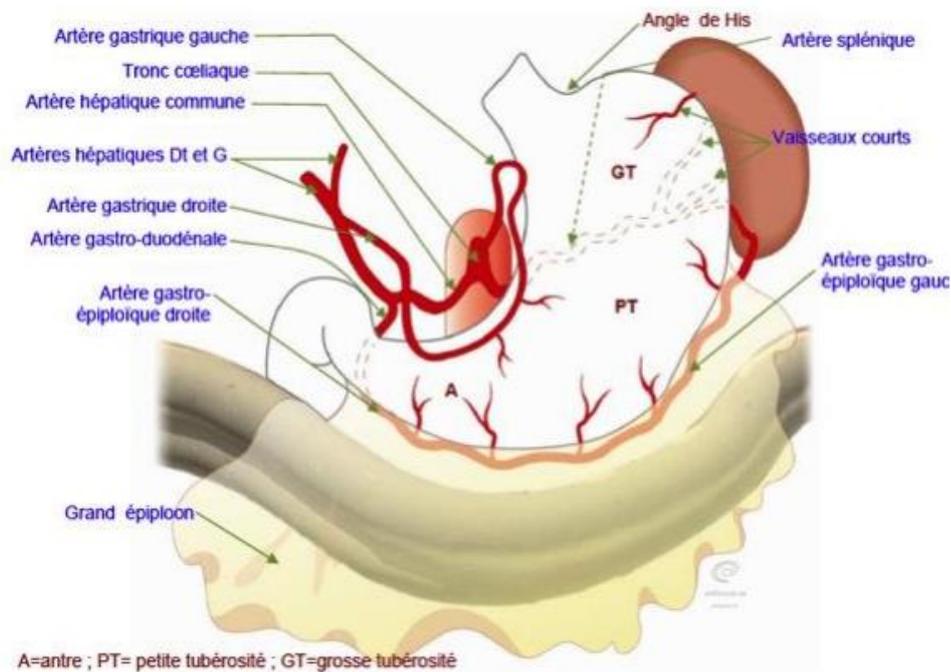


**Figure I.2:** Histologie de l'estomac.

### I. 3 Vascularisation artérielle :

La vascularisation gastrique dérive du tronc cœliaque. Trois artères principales partagent la perfusion gastrique est l'artère gastrique gauche, petite et distribuée dans la petite courbure et le cardia. L'artère lienaris ou artère gastrosplénique irrigue en sang l'artère fundique et la grande courbure. L'artère hépatique donne alors naissance à l'artère gastrique droite et à l'artère gastroduodénale, qui irriguent l'ensemble de l'antra et du pylore. Les veines les plus nombreuses sont souvent des satellites des artères et se jettent dans la veine porte. Le grand nombre de shunts artério-veineux offre une grande flexibilité pour adapter le débit aux besoins locaux

L'innervation est essentiellement parasympathique, via les nerfs vagues ou pneumogastriques [7].



**Figure I.3:** vascularisation de l'estomac.

#### I.4 Fonction de l'estomac :

L'estomac joue un rôle essentiel dans le processus de la digestion. Cet organe creux, situé dans la partie supérieure de l'abdomen, fait partie intégrante du système digestif. Sa principale fonction est de recevoir les aliments provenant de l'œsophage et de les transformer en une substance liquide appelée chyme, qui sera ensuite acheminée vers l'intestin grêle.

Tout d'abord, l'estomac accueille les aliments ingérés et les stocke temporairement. Grâce à ses parois musculaires, il peut se dilater pour s'adapter à la quantité de nourriture ingérée. Cette capacité de stockage permet une alimentation régulière et fractionnée, ce qui facilite la digestion.

Ensuite, l'estomac joue un rôle essentiel dans la transformation des aliments. En effet, ses sécrétions acides (acide chlorhydrique) et enzymatiques (pepsine) permettent de décomposer les protéines en peptides plus petits. Ce processus de dégradation, appelé digestion gastrique, est crucial pour la poursuite de la digestion dans l'intestin grêle.

L'acide chlorhydrique sécrété par les cellules pariétales de l'estomac crée un milieu acide favorable à l'action de la pepsine, une enzyme qui décompose les protéines. De plus, cet acide joue un rôle de barrière de protection contre les agents pathogènes qui pourraient être ingérés avec les aliments.

Enfin, les contractions péristaltiques de la paroi gastrique permettent de brasser et de malaxer le contenu de l'estomac, favorisant ainsi le mélange des aliments avec les sucs digestifs. Cela facilite également le passage progressif du chyme vers le duodénum, première partie de l'intestin grêle.

**I.5 Physiologie de la sécrétion gastrique :**

**I.5.1 Sécrétion acide :**

La pompe à protons ( $H^+/K^+$  ATPase) utilise l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP pour échanger les protons ( $H^+$ ) contre des ions potassium ( $K^+$ ).

La présence d'ions  $K^+$  dans la lumière de l'estomac est due au symport  $K^+/Cl^-$ , qui libère ces deux ions dans la lumière. Les ions chlorure libérés par ce symport se combinent aux protons libérés par la pompe à protons pour permettre la formation d'acide chlorhydrique.

Les cellules entérochromafines libèrent de l'histamine, un médiateur qui favorise la libération d'acide chlorhydrique par des pompes à protons dans le pôle basal de cellules pariétales gastriques, par stimulation des récepteurs  $H_2$  couplés aux protéines Gs. Cette stimulation par l'histamine entraîne une augmentation de l'AMP cyclique qui régule l'activation de l'adénylate cyclase, une protéine kinase responsable de la conversion de l'ATP en ADP. Par conséquent, la suractivation de ces récepteurs de l'histamine augmente l'activité des pompes à protons conduisant à une surproduction d'acide chlorhydrique [8].

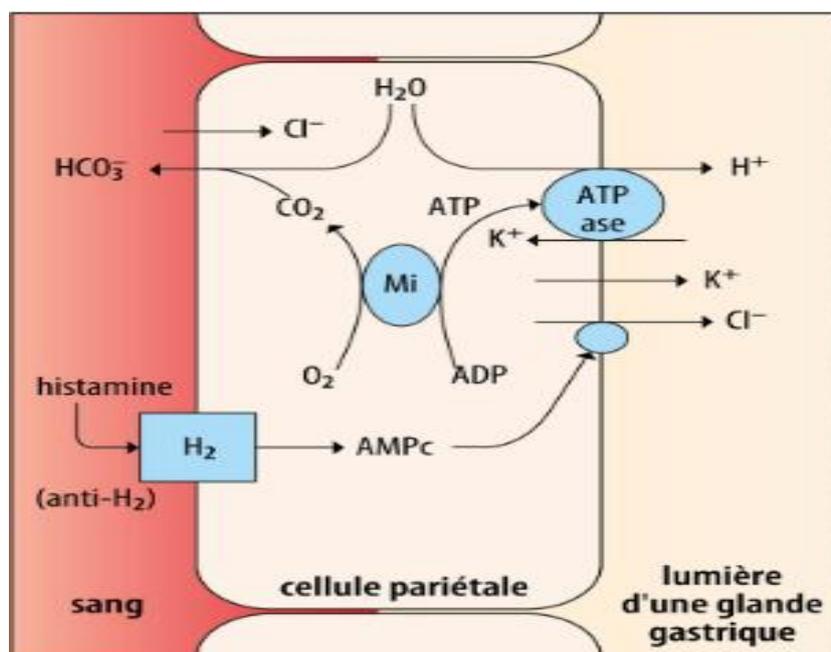


Figure I.4: Libération d'acide chlorhydrique par les pompes à protons des cellules pariétales.

**I.5.2 Sécrétion de bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ) :**

Les cellules pariétales de l'estomac ne sécrètent pas seulement de l'acide chlorhydrique (HCl), mais aussi des ions bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ) [9]. Cette sécrétion de bicarbonates joue un rôle important dans la régulation du pH gastrique et la protection de la muqueuse gastrique. Les bicarbonates sont sécrétés en réponse à la présence d'acides dans l'estomac, agissant comme un système tampon pour neutraliser l'acidité [10]. De plus, les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique ne sécrètent également des bicarbonates, contribuant ainsi à la formation d'un gradient de pH protecteur à la surface de la muqueuse [11]. Ce mécanisme de sécrétion de  $\text{HCO}_3^-$  joue un rôle essentiel dans la protection de l'estomac contre les dommages causés par l'acidité gastrique.

**I.5.3 Sécrétion de pepsine :**

La sécrétion de pepsine par les cellules principales de l'estomac joue un rôle essentiel dans la digestion des protéines [12]. La pepsine est une enzyme protéolytique qui dégrade les protéines alimentaires en peptides plus petits, facilitant ainsi leur absorption ultérieure [13]. La sécrétion de pepsine est stimulée par plusieurs facteurs, notamment la présence d'aliments dans l'estomac, la distension gastrique, ainsi que la sécrétion d'acide chlorhydrique (HCl) par les cellules pariétales. L'acidité gastrique active également la pepsine, qui fonctionne de manière optimale dans un environnement acide (pH 1,5-3,5) [14]. De plus, la pepsine contribue à la protection de la muqueuse gastrique en dégradant les protéines potentiellement dommageables [15]. La régulation fine de la sécrétion de pepsine est essentielle pour maintenir un équilibre entre la digestion des aliments et la préservation de l'intégrité de la muqueuse gastrique.

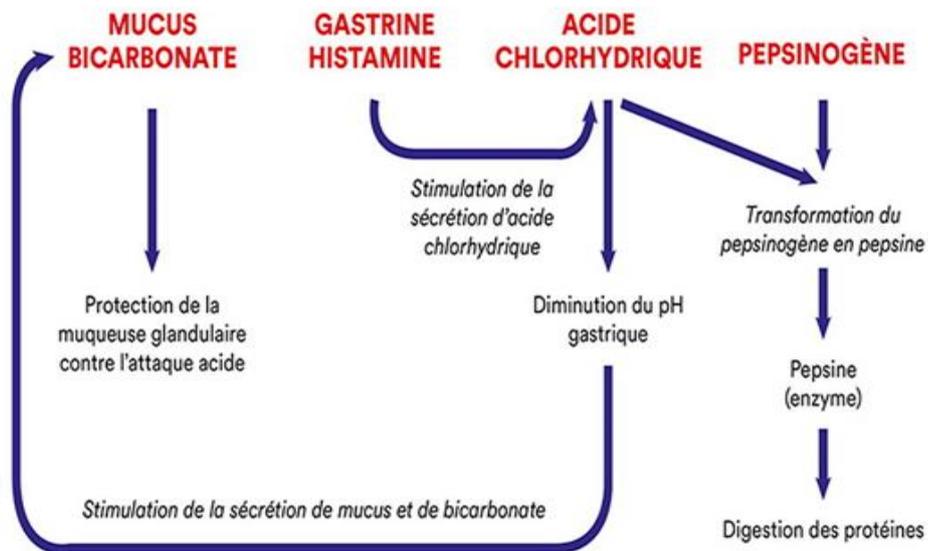


Figure I.5: Physiologie de la sécrétion gastrique.

## I.6 Barrière de défense de la muqueuse gastrique :

### I.6.1 Prostaglandines : (PG)

Les prostaglandines jouent un rôle essentiel dans la régulation de la fonction gastrique [16]. Au niveau de l'estomac, les prostaglandines, en particulier la prostaglandine E2 (PGE2), exercent des effets cytoprotecteurs sur la muqueuse gastrique [17]. Elles favorisent la sécrétion de mucus et de bicarbonate, qui forment une barrière protectrice contre les agressions acides et enzymatiques [18]. Elles inhibent également la sécrétion d'acide chlorhydrique par les cellules pariétales, limitant ainsi les dommages potentiels [19]. Cependant, certains anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peuvent inhiber la synthèse des prostaglandines, fragilisant ainsi la muqueuse gastrique et augmentant le risque d'ulcères. [20]. La régulation fine de la production de prostaglandines est donc cruciale pour maintenir l'intégrité de la muqueuse gastrique et prévenir les pathologies liées aux désordres de la fonction gastrique.

### I.6.2 Flux sanguin muqueux :

Le flux sanguin de la muqueuse gastrique joue un rôle essentiel dans la protection et la réparation de la barrière muqueuse. Il permet l'évacuation des substances potentiellement agressives, comme l'acide chlorhydrique et les enzymes digestives [21]. Le flux sanguin muqueux favorise également la sécrétion de substances protectrices comme le mucus et les bicarbonates [22]. En cas de lésion de la muqueuse, le flux sanguin augmente afin de stimuler

les processus de cicatrisation et de régénération cellulaire [23]. Cependant, certains facteurs comme le stress, les anti-inflammatoires non stéroïdiens ou l'infection par *Helicobacter pylori* peuvent altérer ce flux sanguin, fragilisant ainsi la muqueuse et favorisant le développement d'ulcères [24]. Le maintien d'un flux sanguin muqueux adéquat est donc essentiel pour préserver l'intégrité de la barrière gastrique.

### **I.6.3 Mucus :**

Le mucus joue un rôle essentiel dans la protection de la muqueuse gastrique contre les agressions acides et enzymatique. Ce gel visqueux, sécrété par les cellules caliciformes, forme une couche protectrice recouvrant la surface épithéliale. Le mucus agit comme une barrière physique, empêchant le contact direct entre l'acide chlorhydrique et les cellules épithéliales. De plus, il contient des substances bicarbonatées qui neutralisent l'acidité et des facteurs de croissance qui favorisent la régénération cellulaire en cas de lésion. Le mucus possède également des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, limitant les dommages oxydatifs et la réponse inflammatoire. Ainsi, le maintien d'une couche de mucus intacte est essentiel pour préserver l'intégrité de la muqueuse gastrique et prévenir le développement d'ulcères [24].

### **I.6.4 Cellules épithéliales :**

Les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique jouent un rôle essentiel dans la protection de l'estomac contre les agressions acides et enzymatiques. Ces cellules forment un épithélium de surface continu qui agit comme une barrière physique, empêchant le contact direct entre le contenu gastrique et la lamina propria sous-jacente. De plus, les cellules épithéliales sécrètent des substances bicarbonées qui neutralisent l'acidité et des facteurs de croissance qui favorisent la réparation en cas de lésion. Elles possèdent également des propriétés de transport actif permettant l'élimination des substances toxiques. Enfin, les cellules épithéliales participent à la production du mucus, une autre composante majeure de la barrière de défense gastrique. Le maintien de l'intégrité de cet épithélium est donc crucial pour préserver l'homéostasie de la muqueuse et prévenir le développement d'ulcères [24].

## **II. Ulcère gastroduodéal :**

Les ulcères gastroduodéaux sont des ulcères qui se forment profondément dans la paroi muqueuse de l'estomac à la suite d'une inflammation chronique. Cette plaie en forme de cratère peut mesurer de quelques millimètres à quelques centimètres et provoquer une

perforation du tractus gastro-intestinal, des saignements et même une anémie, conduisant à un choc et à la mort dans les cas les plus graves [8].

## II.1 Types d'ulcère :

Deux types d'ulcères fortement surviennent dans des zones où l'inflammation est plus grave.

### II.1.1 Ulcère gastrique :

Elle est située vers l'antré, [25] plus précisément dans la zone de transition entre le corps gastrique et l'antré. Il s'agit d'une altération de la muqueuse gastrique qui entraîne la destruction des cellules productrices de mucus, provoquant une érosion de la muqueuse gastrique et pouvant atteindre les couches profondes. Les altérations de la muqueuse gastrique provoquent des ulcères gastriques [26].

### II.1.2 Ulcère Duodéal :

Il est situé au niveau du bulbe duodéal, là où il est le plus exposé à l'acide gastrique [25]. La principale cause de l'ulcère duodéal est l'agression chloroypeptique [26].

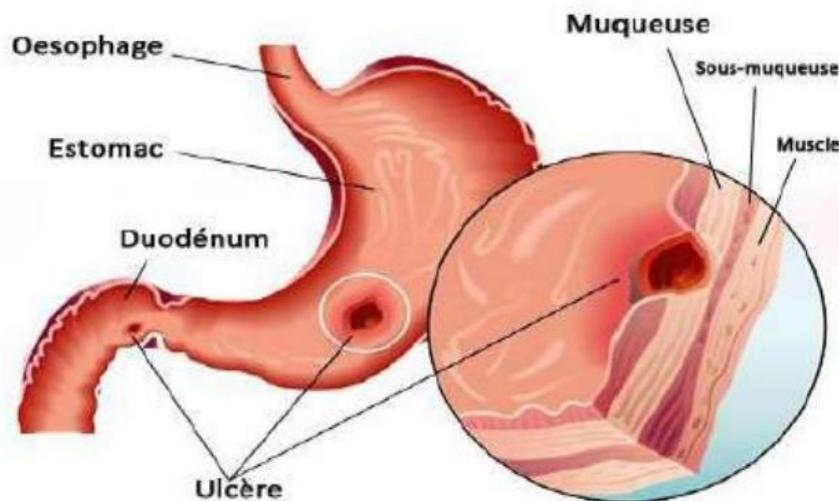


Figure I.6: Type de l'ulcère.

## II.2 Physiopathologie de l'ulcère gastrique :

Au niveau physiologique, les ulcères gastriques sont causés par un déséquilibre entre les facteurs protecteurs de la muqueuse gastrique (mucus, bicarbonate, flux sanguin muqueux, protection cellulaire) et les facteurs attaquant la chlorohydropepsie de l'estomac (HCl, pepsine, gastrine). Quand il y a un déséquilibre de cet équilibre vers un plateau, une agressivité accrue ou une diminution de la résistance de la muqueuse gastrique peut être à l'origine du développement d'ulcères [27].

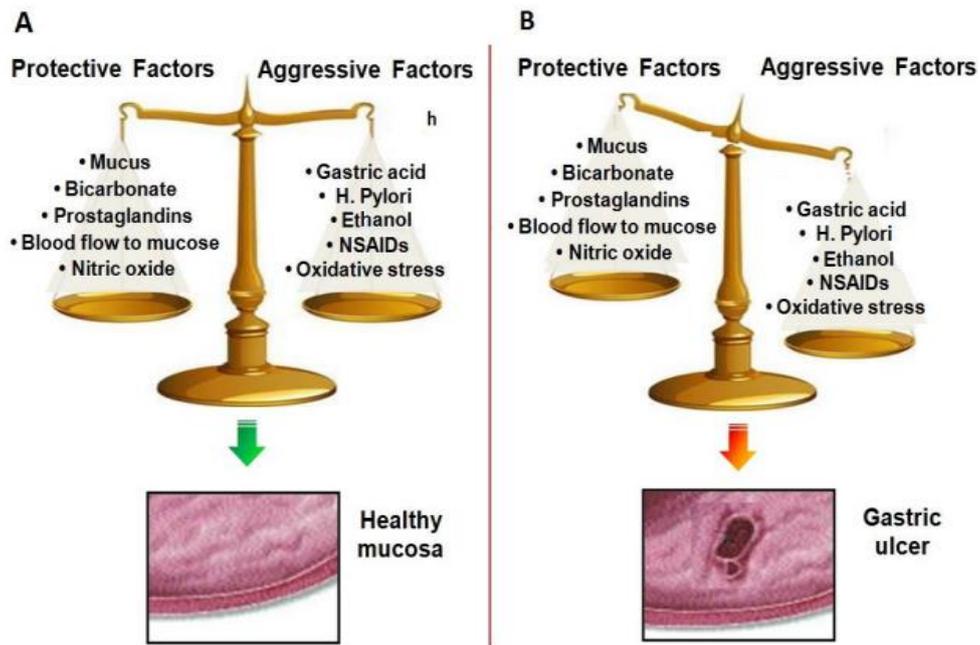
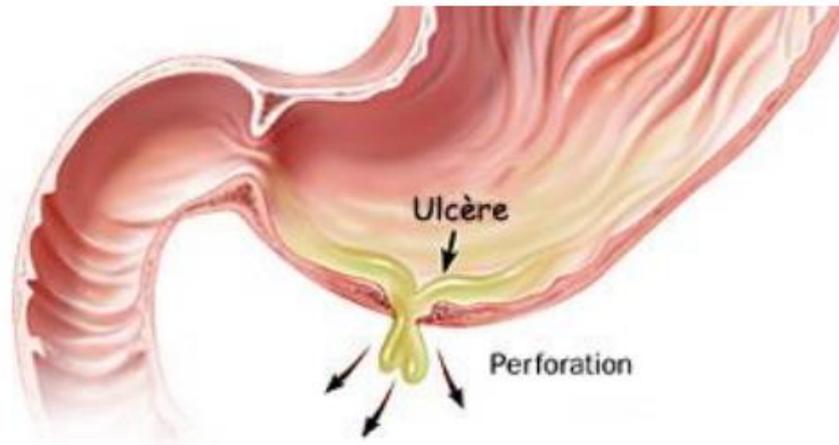


Figure I.7: La physiopathologie de l'ulcère.

### II.3 Complications de l'ulcère gastrique :

#### II.3.1 Perforations aiguës :

Cette complication est moins fréquente avec les ulcères gastriques. La perforation ulcéreuse est caractérisée par une douleur soudaine et intense qui survient initialement dans la région épigastrique dans tout l'abdomen. L'évolution peut être curative ou aller vers le développement d'un abcès sous phrénique imposant donc une intervention chirurgicale. Elle s'accompagne de nausées, souvent de vomissements, et de symptômes de choc. Le traitement par AINS est préférable [28].



**Figure I.8:** Perforation des ulcères gastriques.

### II.3.2 Hémorragies digestives :

C'est la complication la plus courante. L'hémorragie peut résulter d'une rupture d'artères ou d'artérioles à la base de l'ulcère, d'un saignement de la muqueuse autour de l'ulcère ou de ces deux mécanismes. Certains facteurs peuvent favoriser la survenue d'hémorragies gastriques chez les patients ulcéreux, notamment : recevoir de l'aspirine, des AINS ou un traitement anticoagulant [29].

### II.3.3 Cancérisation :

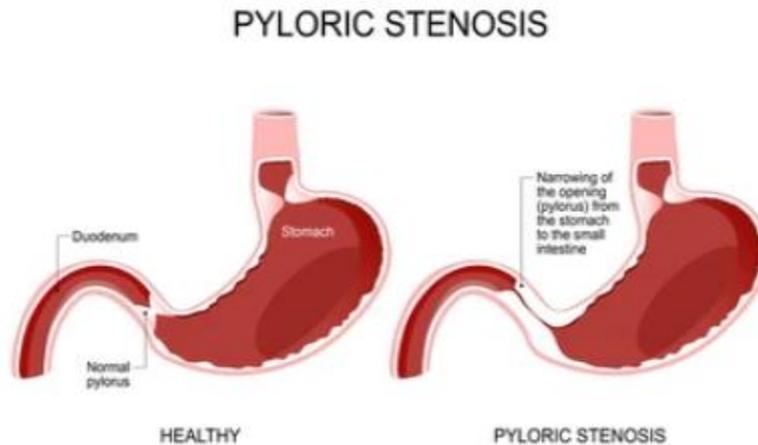
Cette complication touche uniquement les ulcères d'estomac. Les signes cliniques ne sont pas prédictifs et nécessitent une surveillance endoscopique et histologique régulière pour tous les ulcères gastroduodénaux [30].

### II.3.4 Sténoses pyloro-bulbaires :

Les sténoses sont plus susceptibles de compliquer les ulcères duodénaux. Le principal signe clinique de sténose est l'apparition de vomissements alimentaires tardivement après un repas, souvent précédés de douleurs épigastriques et soulagés par l'expulsion du contenu intra-gastrique. Ces vomissements sont de plus en plus espacés et volumineux. Le diagnostic de sténose ulcéreuse est réalisé des manières suivantes :

- **Endoscopie** : indique le site de sténose qui est généralement bulbaire et infranchissable par la fibroscopie.
- **Examen radiologique de l'estomac ou TOGD (transit gastroduodéal)** : est très utile pour apprécier la réalité et l'importance de la sténose.

Le traitement des sténoses ulcéreuses comprend la correction des déséquilibres hydroélectrolytiques, la vidange gastrique et le traitement de la maladie ulcéreuse [31].



**Figure I.9:** sténose du pylore.

#### **II.4 Causes et facteurs de risque de l'ulcère :**

Plusieurs facteurs peuvent provoquer cette inflammation, notamment : Stress, infection bactérienne, iatrogénie. La cause la plus fréquente des ulcères gastriques est l'affaiblissement de la paroi de l'estomac, la rendant plus sensible aux sucs gastriques [26].

##### **II.4.1 Helicobacter pylori cause principale des ulcères :**

*Helicobacter pylori* (HP), un bacille à Gram négatif, est un facteur essentiel dans la formation des ulcères gastriques en colonisant la muqueuse gastrique, en modifiant la sécrétion acide et en lésant la barrière protectrice de la muqueuse. L'infection à *Helicobacter pylori* provoque une synthèse accrue de PG dans la muqueuse gastrique par induction de l'activité de la COX-2 [30].

Cette bactérie a la spécificité de produire de grandes quantités d'uréase, nécessaire à la colonisation de la muqueuse gastrique. Le facteur de virulence VacA présente une activité cytotoxique en provoquant la formation de vacuoles intracellulaires contenant de l'ammoniac, augmentant ainsi le pH autour des bactéries et le protège. Un autre facteur bactérien, CagA, pénètre dans les cellules épithéliales de l'hôte et induit des modifications du cytosquelette gastrique. Ces facteurs déclenchent une cascade d'événements inflammatoires impliquant la libération de cytokines pro-inflammatoires. Cela peut entraîner une altération des défenses muqueuses et provoquer des ulcères gastriques malgré un environnement d'acide hypochlorhydrique relativement élevé [28].

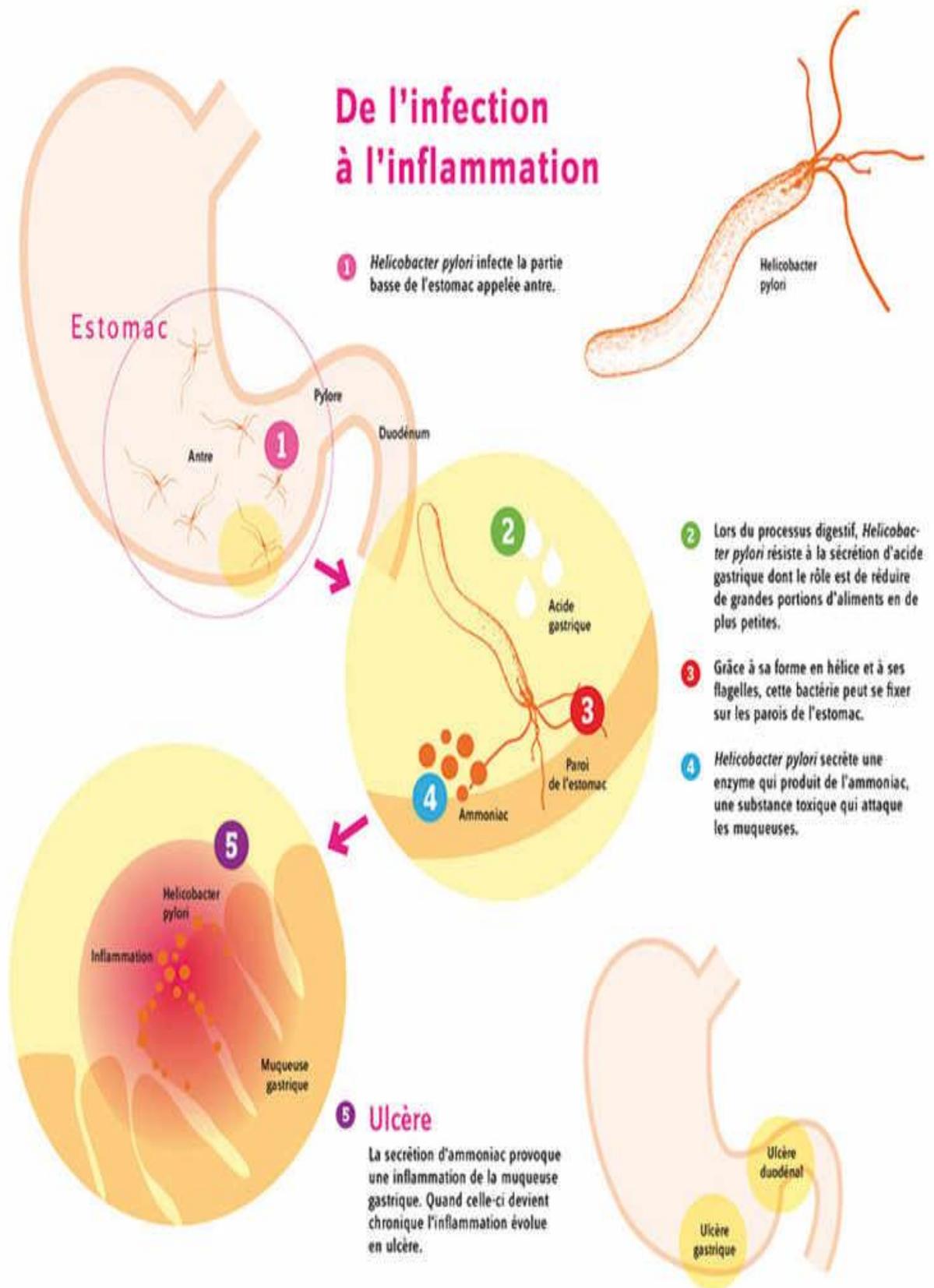


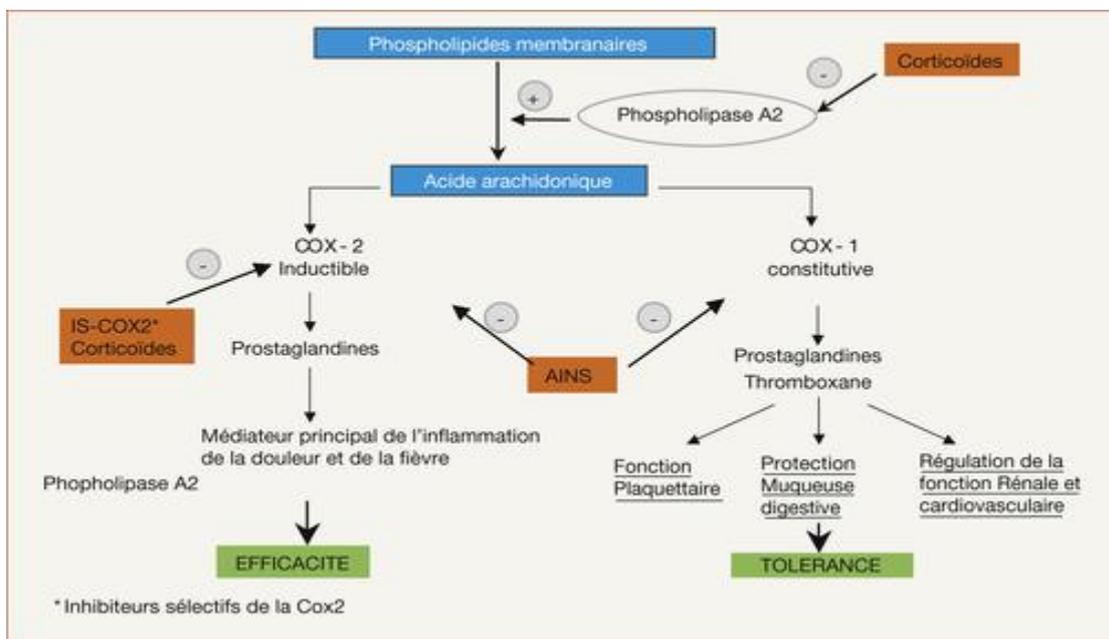
Figure I.10: *Helicobacter pylori*.

**II.4.2 AINS, facteurs de risque :**

Chez l'homme, 50 % des ulcères gastro-duodénaux sont causés par l'utilisation d'AINS entre 15 à 20 % des personnes prenant des AINS développent des ulcères [33].

Grâce à leurs mécanismes d'action inhibiteurs de la COX-1 et de la COX-2, les AINS inhibent la synthèse des prostaglandines, qui stimulent normalement la sécrétion de mucus protecteur par la paroi gastrique et ralentissent la production d'acide gastrique dans l'estomac [33].

Par conséquent, l'utilisation d'AINS augmente le risque de développer des ulcères gastriques en raison d'une diminution de la production de mucus protecteur et d'une production accrue d'acide chlorhydrique qu'en présence de certaines prostaglandines.



**Figure I.11:** les AINS inhibent la synthèse des prostaglandines.

D'autres facteurs peuvent augmenter le risque de développer un ulcère d'estomac ou retarder leur guérison :

- ✓ Le stress est un facteur de risque de développement d'ulcère gastrique
- ✓ Pour le tabac, le risque est proportionnel au nombre de cigarettes fumées par jour. De plus, les ulcères du fumeur guérissent plus lentement et sont plus susceptibles de récidiver.
- ✓ Surdose d'alcool due à l'acidité.
- ✓ le Café, les épices.

- ✓ les maladies cardiovasculaires, rénales, gastro-intestinales, hépatiques et pancréatiques. Parce que les mécanismes de défense naturels de la paroi gastro-intestinale changent.
- ✓ Certaines maladies s'accompagnent souvent d'ulcères gastriques : la BPCO, la cirrhose, etc.
- ✓ D'autres médicaments que les AINS ont également été rapportés comme étant associés au développement d'un ulcère gastroduodéal : clopidogrel, certains bisphosphonates, 5-fluorouracile intrahépatique, chlorure de potassium, mycophénolate mofétil. Les drogues telles que la cocaïne et les amphétamines [34].

### II.5 Principaux symptômes de l'ulcère gastroduodéal :

Les symptômes varient d'une personne à l'autre et certaines personnes sont asymptomatiques, mais les ulcères gastroduodéaux présentent certains symptômes :

#### 1) Douleurs abdominales :

- ✚ Les douleurs sont généralement ressenties dans la partie supérieure de l'abdomen, au niveau de l'estomac ou du duodénum (la première partie de l'intestin grêle) [35].
- ✚ Ces douleurs peuvent être décrites comme une sensation de brûlure, de gonflement ou de crampes [35].

#### 2) Douleurs à jeun ou la nuit :

- ✚ Les douleurs sont souvent plus intenses lorsque l'estomac est vide, comme le matin ou la nuit [35].
- ✚ Elles peuvent être soulagées temporairement par la prise d'aliments ou de médicaments antiacides [35].

#### 3) Nausées et vomissements :

- ✚ Les nausées et les vomissements peuvent être des symptômes courants chez les personnes atteintes d'un ulcère gastroduodéal [36].

#### 4) Perte d'appétit et perte de poids :

- ✚ Les douleurs abdominales et les nausées peuvent entraîner une diminution de l'appétit et une perte de poids chez certains patients [36].

#### 5) Saignements gastro-intestinaux :

- ✚ Les ulcères peuvent parfois saigner, entraînant des selles noires, goudronneuses (méléna) ou du sang rouge vif dans les vomissements (hématomèse) [37].

**II.6 Traitement médical de la maladie ulcéreuse :**

Deux classes de médicaments sont les plus couramment prescrites pour le traitement de l'ulcère gastroduodéal .Il s'agit notamment des inhibiteurs de sécrétion, qui bloquent les effets agressifs de la chlorohydropepsie, et des protecteurs des muqueuses, qui jouent un rôle dans l'augmentation de la résistance [38].

**II.6.1 Anti-acides :****II.6.1.1 Anti-histaminiques :**

Ce sont des antagonistes du récepteur H<sub>2</sub> et sont plus communément appelés anti-H<sub>2</sub>. En se liant et en bloquant sélectivement les récepteurs de l'histamine H<sub>2</sub> dans les cellules pariétales gastriques, l'association médicamenteuse supprime la sécrétion de suc gastrique (acide) activée par la prise alimentaire et ils sont utilisés pour éradiquer *Helicobacter pylori* [27].

**II.6.1.2 Inhibiteurs de la pompe à protons :**

Le PPI est une base faible qui forme en fait un précurseur. Celles-ci sont transformées en molécules actives après une réaction catalytique en présence d'acides. Ce sont des agents antisécrétoires très efficaces dans l'estomac, agissant en inhibant l'activité enzymatique de l'ATP H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> au niveau des cellules pariétales gastriques [28].

L'oméprazole et le lansoprazole (benzimidazoles substitués) sont des inhibiteurs spécifiques de la sécrétion d'acide gastrique. Ils agissent en bloquant l'adénosine triphosphatase ou la pompe ATPase H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> permet le transport des ions hydrogène dans les cellules environnantes et constitue la dernière étape de la sécrétion acide [39].

La liaison à l'adénosine triphosphatase est covalente et irréversible. Par conséquent, la sécrétion acide ne peut reprendre que lorsque la cellule synthétise une nouvelle pompe. Ceci explique pourquoi une dose quotidienne suffit [40].

**II.6.2 Protecteurs de la muqueuse :****II.6.2.1 Sucralfates :**

Le sucralfate est un agent antiulcéreux topique qui forme un complexe avec les sucs gastriques sous forme de patch et protège la paroi de l'estomac de l'acide gastrique. À proprement parler, il n'a pas d'effet antisécrétoire, mais il est utilisé pour les maladies gastro-intestinales modérément sévères [41].

**II.6.2.2 Analogues des prostaglandines :**

Ce sont des médicaments visant à augmenter l'efficacité des substances protectrices. Ces analogues des prostaglandines produites dans l'estomac ont des effets antisécrétoires en stimulant la sécrétion de gastrine en réduisant la sécrétion d'HCl et en protégeant les cellules de la muqueuse gastrique [42].

**II.6.3 Traitement d'éradication de l'H. pylori :**

Un traitement contre l'éradication de l'H. pylori est nécessaire pour les patients atteints de la maladie ulcéreuse gastroduodénale (PUD). Les principaux médicaments utilisés pour le traitement de l'infection par le H. pylori sont les inhibiteurs de la pompe à protons, les antibiotiques et les bismuths qui combattent cette infection. La triple thérapie de première intention chez l'adulte comprend un groupe d'antibiotiques. Le régime doit être pris pendant une durée de 7 jours contenant tous ces médicaments. De plus, il est recommandé que le test d'hypersensibilité au métronidazole soit effectué avant le début du traitement, en particulier dans les zones où cette résistance est fréquente.

**II.7 Effets indésirables des principaux traitements conventionnels de l'ulcère gastrique :**

Les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP), tels que l'oméprazole, le pantoprazole ou le lansoprazole, sont les traitements de première ligne pour l'ulcère gastrique. Bien que généralement bien tolérés, ces médicaments peuvent entraîner certains effets indésirables. Les plus fréquents sont les maux de tête, les nausées, les diarrhées et les douleurs abdominales. Des cas plus rares de fatigue, de vertiges, d'éruptions cutanées ou de constipation ont également été rapportés. À long terme, les IPP peuvent augmenter le risque d'infections intestinales, de carence en vitamine B12 et de fractures osseuses, notamment chez les personnes âgées. Des interactions médicamenteuses sont aussi possibles, en particulier avec certains antidépresseurs, antiépileptiques ou anti-inflammatoires. Enfin, l'arrêt brutal d'un traitement par IPP peut provoquer un rebond de sécrétion acide, aggravant temporairement les symptômes. Une surveillance étroite par le médecin est donc nécessaire pour prévenir ces effets secondaires et ajuster le traitement si besoin.

**II.8 Traitement de l'ulcère gastrique avec des produits naturels (Les plantes médicinales) :**

Les traitements traditionnels de l'ulcère gastroduodéal ont permis le développement rapide de médicaments anti-ulcéreux efficaces au cours des dernières décennies. Les antagonistes des récepteurs H<sub>2</sub> et les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) ainsi que le traitement

d'éradication de *Helicobacter pylori* étaient essentiels à la guérison des ulcères, à la prévention des complications et à la réduction des récives. Cependant, malgré ces progrès, certains patients présentent des symptômes récurrents ou réfractaires malgré la poursuite du traitement anti-ulcéreux. La protection gastrique en tenant certains produits naturels est avérée très efficace pour améliorer la qualité de la guérison des ulcères et atténuer les symptômes cliniques avec moins d'effets secondaires [40].

En phytothérapie, plusieurs plantes sont particulièrement efficaces pour aider en cas d'ulcère, ces plantes ayant une activité antiulcérogène ont été utilisées comme matières premières obtenues par extraction par solvant ou comme composés isolés individuellement. Parmi ces plantes on peut citer :

Le **curcuma**, la mélisse, la réglisse, le curcumun, les **graines de fenouil et d'anis**, l'**écorce de grenade...etc.** [44].

### III. *Punica granatum* L :

#### III.1 Description botanique :

La grenade (*Punica granatum* L.) est un petit arbre monoïque appartenant à la famille des Punicaceae. Cet arbuste peut atteindre une hauteur comprise entre 1,5 et 5 mètres, avec des branches plus ou moins irrégulières et épineuses. Ses feuilles sont brillantes et caduques dans les régions tempérées, tandis qu'elles restent persistantes dans les régions plus froides. La grenade se développe donc dans des zones à climats tempérés et froids [45].

La grenade peut vivre jusqu'à 200 ans, mais elle est la plus productive en fruits pendant ses 20 premières années de fructification. Ses fleurs d'un rouge vif mesurent environ 3 cm de diamètre. Elles apparaissent en trois vagues successives, de mai à août. Les fruits issus de la première floraison ont le meilleur taux de nouaison, atteignant 90%, et donnent les plus gros fruits. Cependant, seul un tiers des fleurs donne un fruit, les deux autres tiers étant des fleurs mâles. Les fruits sont des baies de couleur jaune à rouge orangé, contenant en moyenne 600 graines pulpeuses. La couleur des fruits ne reflète pas nécessairement le degré de maturité des graines. En effet, certaines variétés développent une coloration rouge intense bien avant que les graines ne soient mûres. Selon les variétés, la maturité des fruits est atteinte entre 5 et 8 mois après la première floraison [46].



**Figure I.12:** Présentation de *Punica granatum* L.

#### III.2 Systématique botanique :

La classification taxonomique de *Punica granatum* L. a été initialement établie au 19<sup>ème</sup> siècle par le père de la taxonomie, Carl von Linné. Cependant, en 1998, un groupe de chercheurs botanistes a proposé une nouvelle classification basée sur des critères

moléculaires, notamment l'analyse de l'ADN (classification phylogénétique). Cette nouvelle classification a été révisée en 2003, montrant que pour certaines espèces végétales, les résultats moléculaires concordent avec les anciennes classifications, tandis que pour d'autres, il est nécessaire de modifier leur position taxonomique.

Dans le cas spécifique de *Punica granatum* L., la famille des Punicacées n'existe plus. Le grenadier appartient désormais à la famille des Lythracées, qui comprend 30 genres et 600 espèces (**Tableau I.1**) [47].

**Tableau I.1:** Classification botanique de *Punica granatum* L [43].

<b>Ebranchements</b>	<i>Angiospermes</i>
<b>Sous ébranchements</b>	<i>Dicotylédones vraies</i>
<b>Classe</b>	<i>Rosidées</i>
<b>Ordre</b>	<i>Myrtales</i>
<b>Famille</b>	<i>Lythraceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Punica</i>
<b>Espèce</b>	<i>Punica granatum</i> L.

**III.3 Origine et distribution géographique :**

La grenade (*Punica granatum* L) est originaire du Moyen-Orient et s'étend jusqu'à la Méditerranée, l'Extrême-Orient jusqu'en Chine et en Inde, et le Nouveau Monde jusqu'en Californie et au Mexique. [42] On le trouve couramment dans les pays: Afghanistan, Turquie, Transcaucasie et Inde. Il est aussi largement cultivé dans la région méditerranéenne (Espagne, Italie, Grèce, Algérie, Tunisie et Maroc). Elle est déjà moins courante dans le sud de la France, au Portugal, en Bulgarie et en Crimée. Même aux États-Unis, la culture de la grenade reste très sporadique [49].

L'Algérie possède de nombreuses variétés de grenades aux qualités très différentes. Actuellement variétés sont approuvées par l'État pour la production et la vente. Plusieurs espèces de grenades ont été signalées dans le nord de l'Algérie, principalement caractérisé par un climat subhumide. On le rencontre dans les petits jardins de Kabylie, dans la plaine de la Mitija (Chelif, Tipaza, Blida, Ain Defra) et également dans le sud du pays (Ouargla, Adrar, etc.). Malgré des difficultés techniques et économiques, le pays occupe une place prépondérante parmi les pays producteurs de grenade [50].

**III.4 Usages traditionnels et empiriques de Punica granatum :**

Les grenades sont utilisées en médecine traditionnelle depuis des centaines d'années. L'utilisation des différentes parties du grenadier varie d'une région à l'autre selon la partie utilisée (fraîche ou séchée). Sa valeur thérapeutique a été reconnue par la communauté médicale de nombreux pays à travers le monde (**Tableau I.2**) [48].

**Tableau I.2:** Utilisation des différents organes du grenadier en médecine traditionnelle.

Organe utilisé	Fins thérapeutiques	Région / Pays
<b>Fleurs</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Possède des propriétés vermifuges et astringentes.</li> <li>- Réduit les saignements de nez, les otites et les saignements.</li> <li>- Tonique et astringent.</li> <li>- Traite les diarrhées et diarrhées rouges, les hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie, les leucorrhées et blennorrhées, les gonflements atoniques des amygdales, de la luvette et le laxisme des gencives.</li> </ul>	<b>Chine et Egypte</b>
<b>Racine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- En décoction pour traiter les ténias, les diarrhées chroniques, la dysenterie chronique, les écoulements blancs ou sanglants.</li> </ul>	<b>Chine</b>
<b>Feuilles et écorce des rameaux</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Un tonique agréable.</li> <li>- Faiblesse d'estomac, anorexie, nausées, faiblesse générale, albinisme, anémie, migraine.</li> </ul>	<b>Chine</b>
<b>Écorce de grenade</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Effet anthelminthique.</li> <li>- Anthelminthique.</li> <li>- Tonique et Astringent - Traitement des diarrhées et diarrhées rouges, des hémorragies passives, des écoulements muqueux avec atonie, des leucorrhées et des écoulements contondants, des gonflements atoniques des amygdales, du laxisme de la luvette et des gencives.</li> </ul>	
<b>Jus de grenade</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Réputé pour augmenter la fertilité et être un antidote à l'infertilité.</li> </ul>	<b>Afrique du Nord et Inde</b>
<b>Graines de grenade</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Soulage les ulcères flasques.</li> </ul>	<b>Chine</b>
<b>suc de grenade</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rafraîchissant, diurétique, adoucissant.</li> </ul>	<b>Chine</b>

**III.5 Composition chimique de l'écorce de grenade :**

L'écorce de grenade représente environ 40 % du fruit et est riche en dérivés de l'acide ellagique tels que l'ellagitanin, la punicalagine et la punicaline. De plus, certains dérivés de l'acide ellagique (hexoside de l'acide ellagique, pentoside de l'acide ellagique). L'étude a révélé que l'écorce de grenade contient 79 composés phénoliques, dont 16 acides phénoliques, 12 flavonoïdes, 35 tanins hydrolysables, 8 proanthocyanidines et 8 anthocyanes. Les principaux composés phénoliques présents dans l'écorce de grenade sont les acides phénoliques, suivis des tanins hydrolysables, des proanthocyanidines et des flavonoïdes, qui sont principalement présents sous forme insoluble [51]. La peau du fruit contient également deux acides hydroxybenzoïques importants l'acide gallique et acide ellagique. Il contient également de l'acide hydroxycinnamique, des dérivés de flavones, des molécules de colorant jaune et des anthocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades. De nombreux ellagitanins sont également présents, notamment la punicaline, la punicalagine, la granatine A et la granatine B [49].



**Figure I.13:** l'écorce de grenade.

**III.6 Activité biologique de l'écorce de grenade :**

La grenade (*Punica granatum*) est l'un des végétaux les plus riches en composés antioxydants, notamment en polyphénols solubles, tanins et anthocyanes. Ces substances ont la capacité de neutraliser les espèces réactives et de protéger l'ADN contre diverses formes de dégradation. Cette protection de l'ADN est essentielle, car ces dommages peuvent être à l'origine de nombreuses pathologies graves, comme les maladies cardiovasculaires et le cancer [52].

**III.6.1 Activités antioxydante :**

L'écorce de grenade est extrêmement riche en antioxydants, principalement sous forme de polyphénols solubles tels que les ellagitanins et les anthocyanes. Ces composés phénoliques représentent jusqu'à 92% de l'activité antioxydante totale du jus de grenade et sont particulièrement concentrés dans l'écorce [53].

Cette puissante activité antioxydante des polyphénols provient de leur capacité à donner des atomes d'hydrogène, leur permettant d'interagir et de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Cela a pour effet d'interrompre le cycle de génération de ces radicaux libres, en produisant une forme radicalaire de l'antioxydant plus stable d'un point de vue chimique. Ainsi, les polyphénols de l'écorce de grenade, grâce à leurs propriétés antioxydantes, jouent un rôle essentiel dans la protection de l'organisme contre les dommages oxydatifs [54].

**III.6.2 Activités anti-inflammatoire :**

L'écorce de grenade est reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires remarquables. Cette activité est principalement attribuée à la présence de composés phytochimiques bioactifs, notamment les polyphénols, les tannins et les flavonoïdes [55]. Ces molécules agissent sur différents mécanismes impliqués dans les processus inflammatoires. Tout d'abord, elles inhibent la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines, les leucotriènes et les cytokines [56,57]. Elles bloquent également l'activation des voies de signalisation cellulaire, comme la voie du NFκB, qui régulent l'expression des gènes impliqués dans l'inflammation. [58,59] Enfin, ces composés bioactifs ont démontré leur capacité à moduler l'activité des cellules immunitaires, telles que les macrophages et les lymphocytes, en limitant leur recrutement et leur activation au site inflammatoire [60,61]. L'ensemble de ces mécanismes d'action confère à l'écorce de grenade des vertus anti-inflammatoires remarquables, en en faisant une source naturelle d'intérêt pour le traitement de diverses pathologies inflammatoires [62].

**III.6.3 Activité antimicrobienne :**

L'écorce de grenade (*Punica granatum*) a démontré des propriétés antibactériennes intéressantes dans de nombreuses études. Une revue de la littérature scientifique a révélé que les extraits de l'écorce de grenade possèdent une activité inhibitrice contre une grande variété de bactéries pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella enterica* [63]. Cette activité antibactérienne a été attribuée à la

présence de composés phénoliques tels que les tannins, les flavonoïdes et les alcaloïdes dans l'écorce [64].

#### **III.6.4 Activité anti-fongique :**

De nombreuses études ont démontré que l'écorce de grenade possède des propriétés antifongiques intéressantes. Les extraits de l'écorce de grenade ont été testés contre une variété de champignons pathogènes, notamment *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Trichophyton mentagrophytes*[63]. Ces propriétés ouvrent des perspectives pour le développement de nouveaux agents antifongiques naturels.

#### **III.6.5 Activité anti-diabétique :**

De nombreuses recherches ont prouvé que l'écorce de grenade a des propriétés bénéfiques pour combattre le diabète. Les extraits de l'écorce de grenade ont été testés dans différents modèles expérimentaux, montrant des effets bénéfiques sur la régulation de la glycémie et l'amélioration de la sensibilité à l'insuline [65].

#### **III.6.6 Activité anti cancéreuse :**

De nombreuses études ont démontré que l'écorce de grenade possède des propriétés anti-cancéreuses prometteuses. Les extraits de l'écorce de grenade ont été testés dans différents modèles expérimentaux, montrant des effets bénéfiques sur la prévention et le traitement de plusieurs types de cancers [50,69]. Ces propriétés anti-cancéreuses de l'écorce de grenade ouvrent des perspectives pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques à base de composés naturels contre le cancer.

#### **III.6.7 Activité anti ulcéreuse :**

Les recherches ont montré que l'écorce de grenade (*Punica granatum*) possède des propriétés intéressantes pour lutter contre les ulcères. Les extraits de cette partie de la plante ont été étudiés dans différents modèles expérimentaux, révélant des effets bénéfiques pour prévenir et traiter les ulcères gastro-intestinaux. Les travaux *in vitro* ont révélé que certains composés phénoliques purifiés de l'écorce de grenade, tels que l'acide ellagique et les ellagitannins, possédaient des activités anti-oxydantes et cytoprotectrices sur les cellules épithéliales gastriques, ce qui pourrait expliquer leurs effets favorables sur la muqueuse gastrique[66]. De plus, les études *in vivo* sur des modèles animaux ont montré que l'administration d'extraits de l'écorce de grenade réduisait la formation d'ulcères induits par différents agents agresseurs, en partie grâce à la protection de la muqueuse gastrique [70,68].

Ces résultats suggèrent que l'écorce de grenade pourrait représenter une source naturelle intéressante de composés aux propriétés anti-ulcéreuses. Cette activité bénéfique a été attribuée à la présence de composés phénoliques, qui peuvent moduler divers mécanismes impliqués dans la physiopathologie des ulcères, tels que la réduction du stress oxydatif, la protection de la muqueuse gastrique et l'inhibition de la sécrétion acide [66,67].

### III.7. Médicament à base de grenade :

Ce sont des médicaments à base des extraits de la grenade (*Punica granatum*), cette fruit riche en composés bioactifs bénéfiques pour la santé.



Figure I.14 : Médicament à base de grenade.

# Chapitre II

## Etude Phytochimie



### I. Introduction :

L'ensemble de nos travaux expérimentaux sur l'écorce de "*Punica granatum*" est documenté dans cette section, détaillant les expériences menées au laboratoire de chimie organique au sein du département de science des matériaux de la Faculté des Sciences Exactes et de Science de la Nature et de la Vie de l'Université Mohamed Khider – Biskra. , ainsi que le laboratoire de phytochimie du Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides « CRASTRA » – Biskra.

#### I.1. Préparation de matière végétale :

##### I.1.1. Séchage et broyage :

L'organe choisie est soumise à un séchage à l'air libre et à l'abri de l'humidité, puis broyée dans un broyeur électrique. Le broyage de la plante permet d'augmenter la surface de contact solvant-matière végétale, la poudre obtenue est utilisée pour les prochaines études.



**Figure II.1:** L'écorce de grenade  
Séchés avant le broyage.



**Figure II.2:** L'écorce de grenade  
Séchés après le broyage.

##### I.1.2. Détermination du taux d'humidité et de la matière sèche :

###### Principe :

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve isotherme à la température de 100°C jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante [71].

La teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de mesures [71].

###### Mode opératoire :

- Pesez 2 g (mi) de poudre de l'écorce de grenade dans un verre de montre bien séchée.

- Placer le verre de montre contenant l'échantillon dans une étuve programmée à 110°C pendant 24 heures jusqu'à poids constant.



**Figure II.3:** Dessiccation des échantillons.

### Expression des résultats :

La teneur en eau et le pourcentage de matière sèche sont données par les formules suivantes :

$$T\% = \frac{mi - mf}{mi} \times 100 \quad \Longrightarrow \quad MS\% = 100 - T\%$$

*mi* : poids de l'échantillon initial « avant dessiccation » en g.

*mf* : poids final de l'échantillon « après dessiccation » en g.

*T%* : Teneur en eau exprimé en pourcentage.

*MS%* : Pourcentage de matière sèche.

Si :

✚ le taux d'humidité > 10: la plante a besoin de séchage pour la conserver.

✚ le taux d'humidité ≤ 10 : la plante ne a besoin pas de séchage pour la conserver.

### I.1.3. Teneur en cendres totales :

#### Principe :

Ceci détermine la quantité des matières résiduelles qui ne se sont pas évaporées lorsque l'échantillon a été complètement calciné. Selon les normes répertoriées dans la Pharmacopée Européenne (2007), la teneur totale en cendres est au maximum de 14,0 % [72].

### Technique :

Placer 2 g de poudre végétale dans un creuset en porcelaine pré-pesé. Calciner dans un four à 600 °C pendant 6 h (toutes les matières organiques sont brûlées et seule la partie inorganique de l'échantillon est récupérée), refroidir dans un dessiccateur et peser [72].

$$T\% = \frac{M - M'}{E} \times 100$$

**M** : masse finale (creuset + cendres totales)

**M'** : masse du creuset vide.

**E** : prises d'essais de la matière.

### I.2. Criblage phytochimique :

#### Introduction :

Cette étude qualitative ou analyse phytochimique est un test de coloration et de précipitation, réalisé sur la poudre végétale ou des extraits préparés de l'écorce de *Punica granatum*, on utilisant des réactifs chimiques spécifiques pour mettre en évidence les grands groupes chimiques.

Les principale familles chimiques choisis dans cette étude sont : (huiles essentielles, polyphénols, flavonoïdes, tanins), ces métabolites ont été caractérisés selon les techniques décrites dans les travaux suivant avec quelque modification [73]. Les tests sont illustrés dans les figures II.5 et II.6, les résultats sont classés par: Présence : +; Absence :-



Figure II.4: Etape de calcination

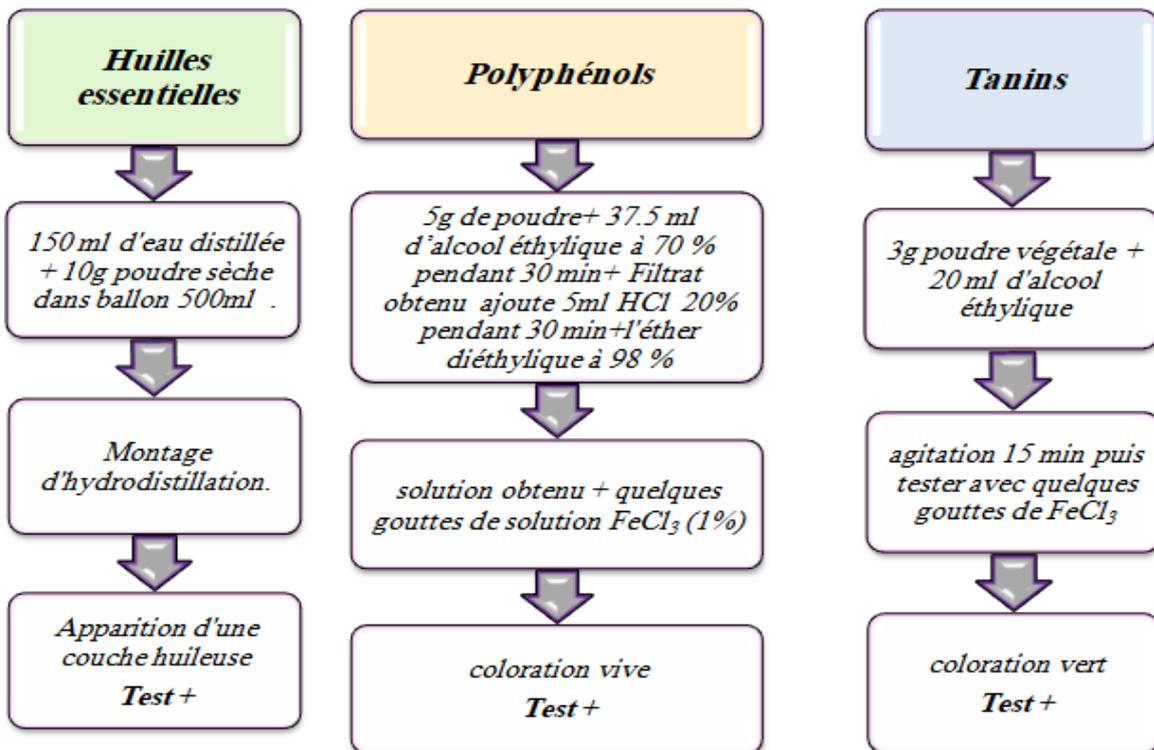


Figure II.5: Recherche des huiles essentielles, polyphénols et tanins dans l'écorce de grenade.

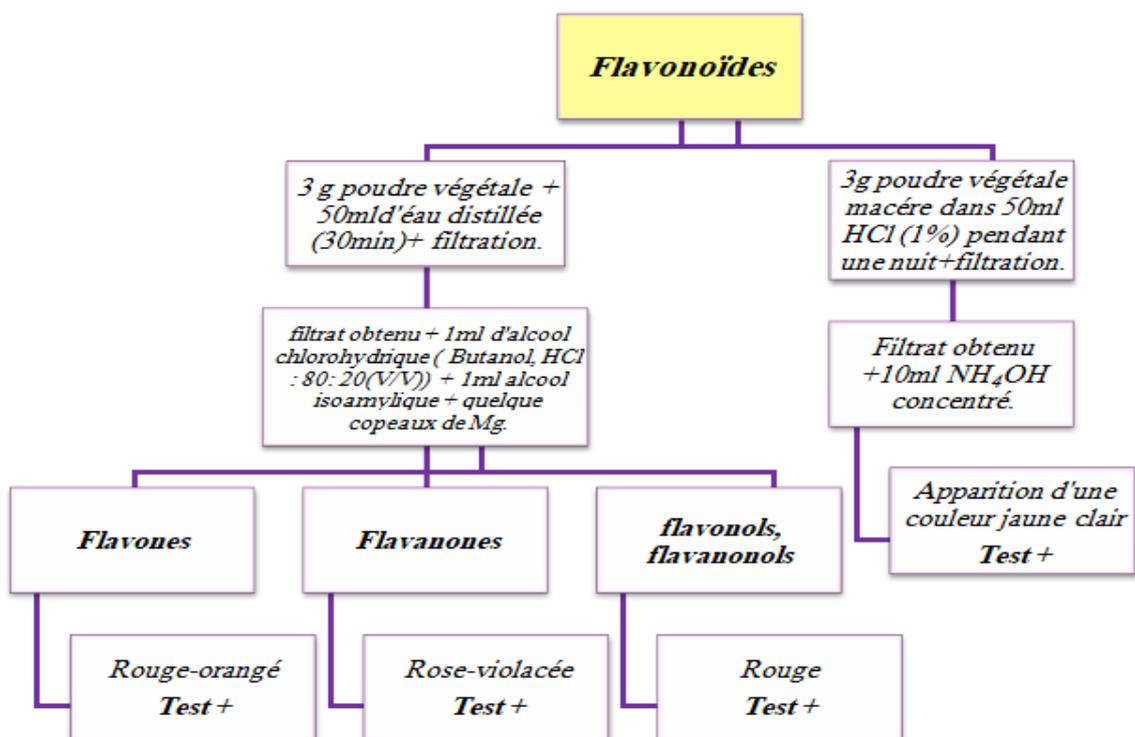


Figure II.6: Recherche des flavonoïdes dans l'écorce de grenade.

### I.3. Extractions des phyto-constituants d'écorce de grenade :

#### I.3.1. Extraction des huiles essentielles :

##### I.3.1.1. Extraction solide – liquide par hydro-distillation :

###### Principe :

Les huiles essentielles sont obtenues le plus souvent par distillation. Cette technique consiste à chauffer un ballon contenant de l'eau et la drogue végétale dont on souhaite extraire l'huile jusqu'à ébullition. Sous l'action de la chaleur, les cellules végétales s'éclatent et libèrent de l'huile, après quoi la vapeur d'eau et d'huile monte et atteint le réfrigérant constitué de deux tubes. Dans le premier tube la vapeur circule et se liquéfie, dans le deuxième tube la vapeur est entourée et constitue un deuxième tube. Il dispose d'une entrée et d'une sortie à travers lesquelles l'eau à température ambiante circule en continu pour le refroidissement [74].

Le distillat est collecté dans un récipient tel qu'un flacon Erlenmeyer ou un bécher. L'eau et l'huile ne sont pas miscibles, ce qui entraîne deux phases. Les huiles essentielles apparaissent en tête car elles sont moins denses que l'eau [75].

###### Mode opératoire :

Verser 350 ml d'eau distillée dans un ballon de 1L, ajouter 100 g de poudre sèche (l'écorce de grenade) et effectuer le montage d'une hydrodistillation durant 5h.



**Figure II.7:** Le montage de hydrodistillation.

### I.3.1.2. Extraction liquide –liquide :

Le distillat obtenu subit une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter à l'aide d'un solvant organique (dichlorométhane) non miscible à l'eau. Le solvant d'extraction susceptible de dissoudre l'huile essentielle plus que l'eau, les phases sont obtenues lors de la décantation et séchées avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  pour éliminer les traces d'eau. Ils sont ensuite filtrés par une simple filtration, la phase obtenue est évaporée afin de récupérer un extrait huileux.



**Figure II.8:** Extractions liquide – liquide par ampoule à décanter.

### I.3.2. Extraction des composés phénoliques :

#### I.3.2.1. Méthode de Soxhlet :

L'extraction Soxhlet est une technique puissante et polyvalente très utilisée en chimie. C'est un outil fondamental pour l'extraction de composés spécifiques à partir d'échantillons solides en utilisant un processus continu d'extraction par solvant.

#### Principe :

Porter le solvant d'extraction à ébullition. Les vapeurs de solvant traversent le Soxhlet, sont condensées dans un condenseur et s'écoulent à travers l'échantillon dans la cartouche. Ce système fait circuler en continu le solvant dans l'échantillon. Un siphon fait refluer le solvant de la cartouche vers le ballon. Le solvant peut donc entamer un nouveau cycle d'évaporation et de condensation.

Le principal avantage de cette méthode est que l'échantillon est extrait en continu avec un solvant frais. Par ailleurs, ce type d'extraction nécessite un volume de solvant important et un temps d'extraction long [76].

### Mode opératoire :

La poudre de plante de l'écorce de grenade a été extraite avec quatre solvants successifs de polarité croissante en faisant passer chaque solvant sur la même poudre. Les solvants utilisés sont : l'hexane, l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau, qui est considéré comme le solvant le plus polaire. 50 g de poudre fine de l'écorce de grenade sont placés dans la cartouche en présence de 350 ml de solvant. Après 5 h de persistance et évaporation du solvant, les extraits bruts ont été conservés à l'obscurité.



**Figure II.9:** Extractions solide – liquide par méthode de soxhlet.

### I.3.3. Extraction des Tanins par macération :

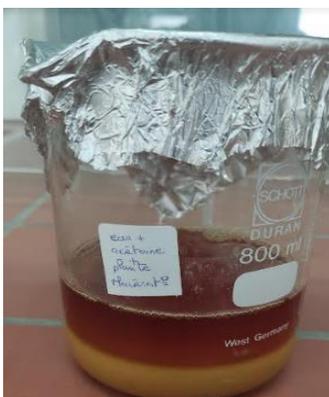
#### Principe :

La macération est un processus dans lequel les plantes sont laissées dans un solvant froid pour en extraire les composés solubles (principes actifs). La macération peut être réalisée avec des solutions alcooliques, de l'eau, de l'huile, ...etc.

Cette technique préserve les composés chimiques sensibles car elle est réalisée à basse température, mais elle n'est pas nécessairement aussi efficace que les techniques utilisant la chaleur. Les étapes de cette extraction sont les suivants :

### Mode opératoire :

- Pesez avec précision 30 g de poudre végétale et placez-la dans un récipient.
- Ajouter 200 ml de solution acétone et 200 ml d'eau distillée.
- Macérer 4 jours à température ambiante.
- Filtrer le contenu par une simple filtration avec du papier filtre.
- Évaporez l'acétone et l'eau à l'aide du Rotavapeur.
- Récupérer les résidus et conserver l'extrait de la macération jusqu'à l'utilisation.



**Figure II.10:** Macération de l'écorce de grenade après 4 jours.

### • Extraction liquide -liquide :

La phase aqueuse résultante subit une série d'extractions liquide-liquide à l'aide de solvants non miscibles à l'eau de polarité croissante (Hexane et acétate d'éthyle). Les différentes phases ont été recueillies lors de la décantation, séchées sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  pour éliminer les traces d'eau, puis filtrées par simple filtration. La phase obtenue est évaporée pour obtenir un extrait sec.



**Figure II.11:** Extraction liquide –liquide par n-hexane



**Figure II.12:** Extraction liquide –liquide par acétate d'éthyle.

#### I.3.4. Extraction des fibres :

Le résidu obtenu après l'extraction des polyphénols est subit à un traitement pour obtenir des fibres brutes.

##### Mode opératoire :

- ✓ Verser 30 g de l'échantillon broyé et 200 ml de HCl (5 %) dans un erlenmeyer et agiter pendant 30 minutes. **Étape 01**
- ✓ Filtrer et laver trois fois avec de l'eau distillée chaude (100 ml). **Étape 02**
- ✓ Le résidu obtenu est digéré avec 200 ml de NaOH (5%) pendant 30 minutes à reflux. **Étape03**
- ✓ Laver à nouveau (trois fois) avec 200 ml d'eau distillée chaude, puis trois fois avec de l'eau distillée froide jusqu'à ce que le pH soit neutre. **Étape 04**
- ✓ Ajouter l'eau de javel (blanchissement). **Étape05**
- ✓ Le résidu obtenu a été séché à l'air libre et la masse résiduelle a été considérée comme des fibres brutes. **Étape 06**

#### I.4. Rendement d'extraction :

- ✓ Le rendement d'extraction obtenu par macération de l'écorce de grenade et méthode Soxhlet a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$R\% = \frac{\text{mass de l'extrait}}{\text{mass de la plante}} \times 100$$

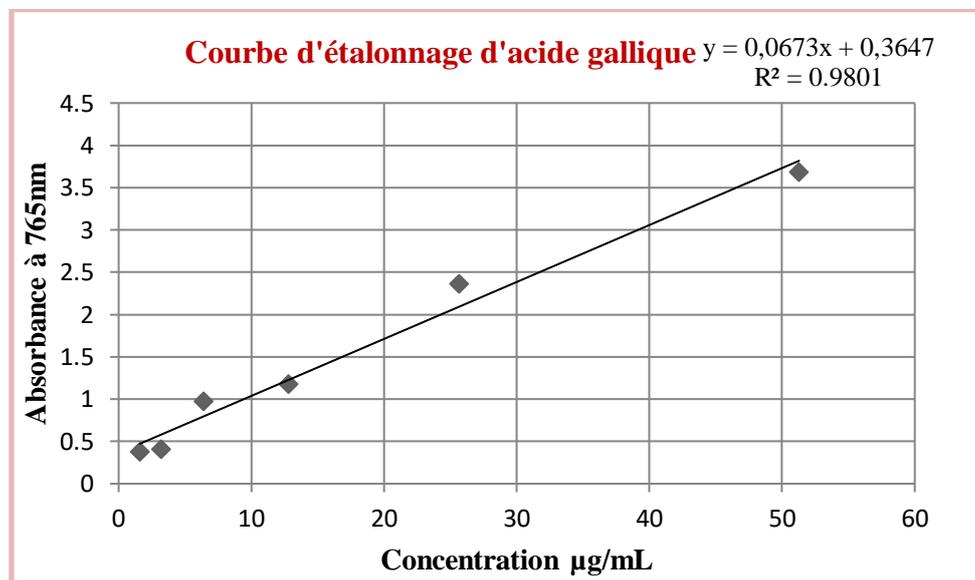
**I.5. Quantification des composés phénolique par dosage :****I.5.1. Dosage des polyphénols totaux :****Principe :**

Le dosage des phénols totaux est un test colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Son principe repose sur la capacité de ce réactif, constitué d'un mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique, à se réduire en un mélange d'oxyde de tungstène bleu et de molybdène lors de l'oxydation du phénol [77].

**Mode opératoire :**

- ✚ 20 µl d'extrait dilué + 100 µl de Folin Ciocalt (dilué 10%).
- ✚ Ajouter 75 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5 % (7,5g + 100 ml H<sub>2</sub>O).
- ✚ 2 heures d'incubation.
- ✚ Lire l'absorbance sur un spectrophotomètre à la longueur d'onde  $\lambda = 765$  nm.

La teneur totale en phénols totaux a été déterminée à l'aide d'un courbe étalon préparée avec de l'acide gallique et exprimée en équivalent AG (EAG) par mg d'extrait.



**Figure II.13:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 765 nm.

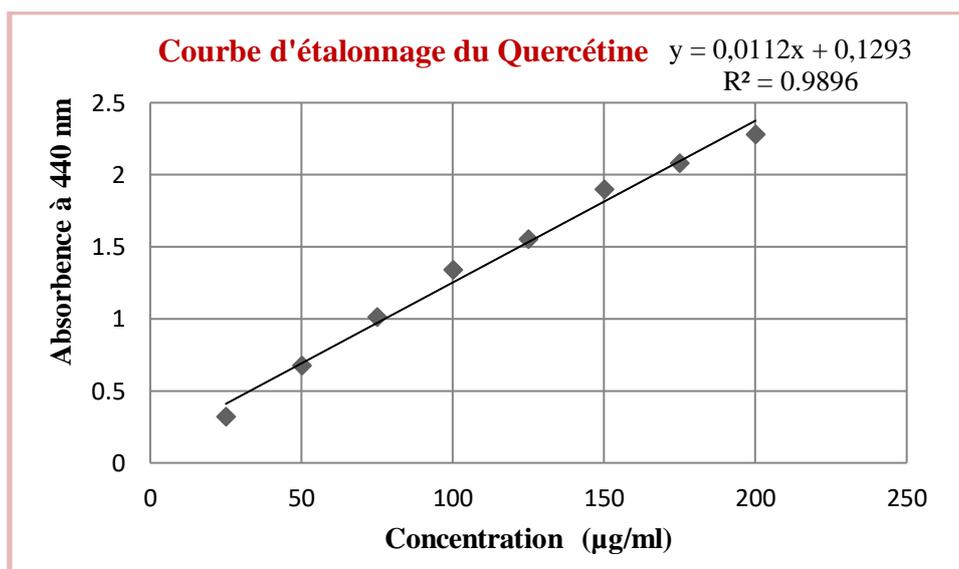
**I.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux :****Principe :**

Les flavonoïdes ont été quantifiés à l'aide de trichlorure d'aluminium qui devrait former un complexe jaune avec des flavonoïdes qui absorbe à 440 nm.

**Mode opératoire :**

- + 50 µl d'extrait de plante.
- + Ajouter 50 µl acétate de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) + 150 µl d'acétate de sodium.
- + Incubation pendant 2h30 minutes puis lire l'absorbance à la longueur d'onde sur un spectrophotomètre  $\lambda = 440$  nm.

La teneur totale en flavanoïdes a été déterminée à l'aide d'une courbe standard construite avec de la quercétine et exprimée en µg d'équivalents de quercétine (EQ) par mg d'extrait.



**Figure II.14:** Courbe d'étalonnage de quercétine à 415 nm.

**I.5.3. Dosage des Tanins condensés :****Principe :**

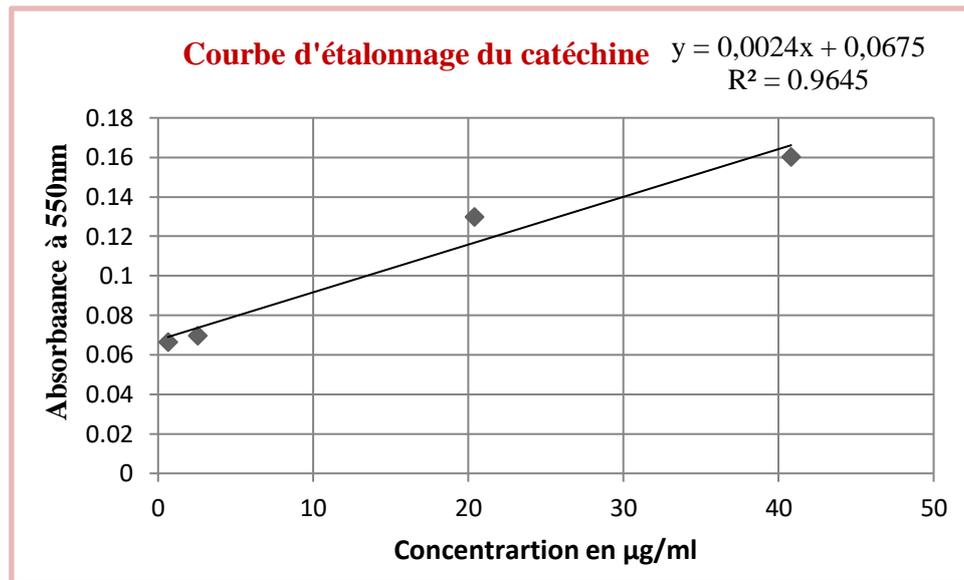
La teneur en tanins condensés est déterminée dans HCl qui dépolymérise les tanins condensés par réaction avec la vanilline et peut être déterminée par spectrophotométrie à 550 nm.

**Mode opératoire :**

- + 10 µl d'extrait dilué + 155 µl Vaniline (4%).

- ✚ Ajouter 80 µl de HCl concentré.
- ✚ incubation pendant 20 min puis lire l'absorbance à la longueur d'onde sur un spectrophotomètre  $\lambda = 550$  nm.

La teneur totale en tanins a été déterminée à l'aide d'un courbe étalon, construite à l'aide de catéchine et exprimée en équivalents de catéchine (EC) µg par mg d'extrait.



**Figure II.15:** Courbe d'étalonnage de catéchine à 550 nm.

**Remarque:** Dans tous les dosages on doit diluée les extraits à l'aide de micro pipette et les eppendorfs la solution mère et la solution fille [solution mère: (1mg extrait + 1 ml solvant); solution fille : (500 µl de solution mère + 500 µl solvant)]. solvant est le méthanol et pour la phase aqueuse on utilise de l'eau distillée.



**Figure II.16:** Eppendorfs contient solution mère et sa dilution.

## II. Discussions des résultats :

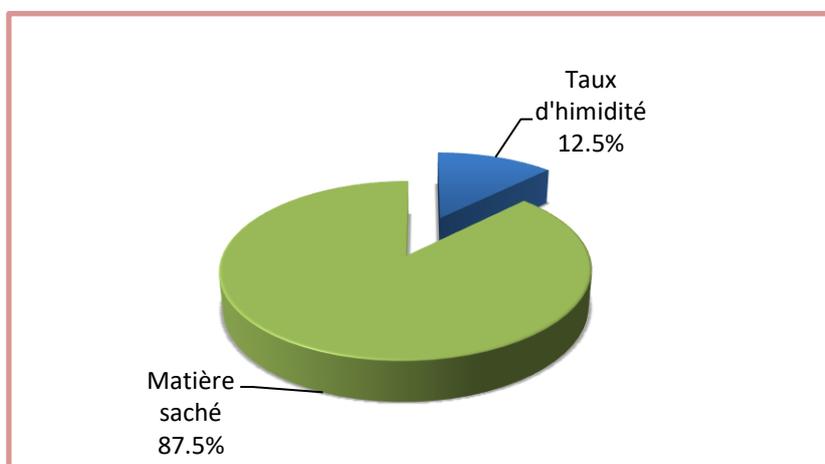
### II.1. Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité :

Comme les plantes contiennent beaucoup d'eau, il est préférable de connaître la teneur en eau de ces plantes après séchage. Un emballage approprié nécessite la connaissance de ce contenu.

Lorsque les deux échantillons de la poudre d'écorce de "*Punica granatum*" est séchée dans un four isotherme à 110 °C, on constate que : «  $m_i = 2,00$  g ;  $m_f = 1,75$  g ».

$$\checkmark \text{ Taux d'humidité (\%)} = T(\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 = \frac{2 - 1,75}{2} \times 100 = 12,5\%$$

$$\checkmark \text{ Matière sèche (\%)} = MS\% = 100 - T(\%) = 100 - 12,5 = 87,5\%$$



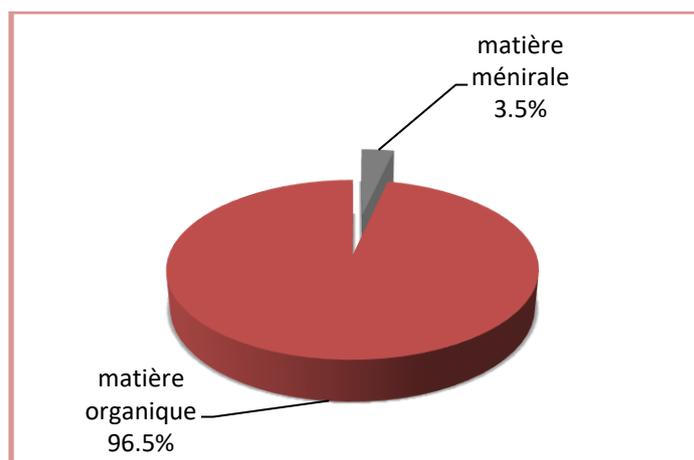
**Figure II.17:** Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité.

D'après ces résultats, on constate que la teneur en humidité est de 12.5 % (Figure II.17) dépasse un peu les normes établies par la Pharmacopée Européenne mais reste acceptable pour les prochaines études. Par contre, pour conserver cet organe il faut faire un autre séchage pour abaisser cette teneur.

### II.2. Détermination de teneur de cendre :

Les dosages de cendres totaux ont été déterminés après calcination dans une étuve à 600 °C pendant 6 h [72]. On trouve que : ( $M = 61.50$ g,  $M' = 61.43$ g et  $E = 2$ g)

$$T\% = \frac{M - M'}{E} \times 100 = \frac{61.50 - 61.43}{2} \times 100 = 3.5\%$$



**Figure II.18:** Détermination de la teneur en cendre.

Sur la base des résultats obtenus, on perçoit que la teneur en cendre est de 3.5 % (figure 11.18) ne dépasse pas les normes de la Pharmacopée européenne, ce qui confère à cette organe une richesse en matière organique comme toute biomasse végétale.

### **II.3. Screening phytochimique :**

Le criblage phytochimique permet de déterminer différents groupes chimiques présents dans les plantes grâce à des tests spécifiques réalisés sur les médicaments végétaux. Ce sont des réactions physicochimiques qui peuvent confirmer la présence de divers métabolites secondaires. Ces tests sont catégorisés : négatifs (-) ou positifs (+).

Le tableau 01 rassemble les résultats obtenus des tests préliminaires de criblage phytochimique sur écorce de grenade, qui confirment la présence d'un groupe important des métabolites secondaires choisi à titre d'étude (huiles essentielles, polyphénols, flavonoïdes et tanins).

Tableau II.1: Résultats du criblage phytochimique.

<i>Type de test</i>		<i>Résultat de Test</i>		<i>Coloration</i>	
		Test (+)	Test (-)	Photo	Observation
<i>Polyphénols</i>		+++			Bleu noir
<i>flavonoïdes</i>	<i>Test 01</i>	+++			Jaune
	<i>Test 02</i>	+++			Orange
<i>Tanins</i>		+++			Rouge noir
<i>Huiles essentielles</i>		+			Couche huileuse

☞ Les résultats obtenus montrent clairement la présence de métabolites secondaires étudiés, c'est résultats sont accord avec les travaux chimiques qui été réalisées précédemment dans d'autres études sur l'écorce de grenade [79].

#### II.4. Résultat des extractions :

Extraits préparés de l'écorce de grenade par différentes méthodes d'extraction et différents solvants : hexane, acétate d'éthyle, méthanol, extraits aqueux et les huiles essentielles, sont indiqués dans les tableaux II.2, II.3, II.4 :

##### II.4.1. Méthode de Soxhlet :

Tableau II.2: Résultats de l'extraction par soxhlet.

Extrait	Image	Aspect	Couleur	Odeur
Hexane		Pâteux	Jaune foncé	Agréable
Acétate d'éthyle		Pâteux	Orange caramel	épicé
Méthanol		Visqueux	Marron foncé caramel	Faible
Eau distillée		Visqueux	Marron foncé	Faible

**II.4.2. Méthode de hydrodistillation :**

**Tableau II.3:** Résultats de l'extraction par hydrodistillation.

Extrait	Image	Aspect	Couleur	Odeur
Huile essentielle		huileux	Jaune	Forte agréable

**II.4.3. Méthode de macération :**

**Tableau II.4 :** Résultats de l'extraction par macération.

Extrait	Image	Aspect	Couleur	Odeur
Hexane		Pâteux	Jaune	agréable
Acétate d'éthyle		Pâteux	Orange caramel	épicé

**II.5. Rendement des extractions :**

Les rendements des extraits préparés à partir de l'écorce de grenade selon différentes méthodes d'extraction sont rassemblés dans le tableau suivant et illustrés sur la figure II.19 :

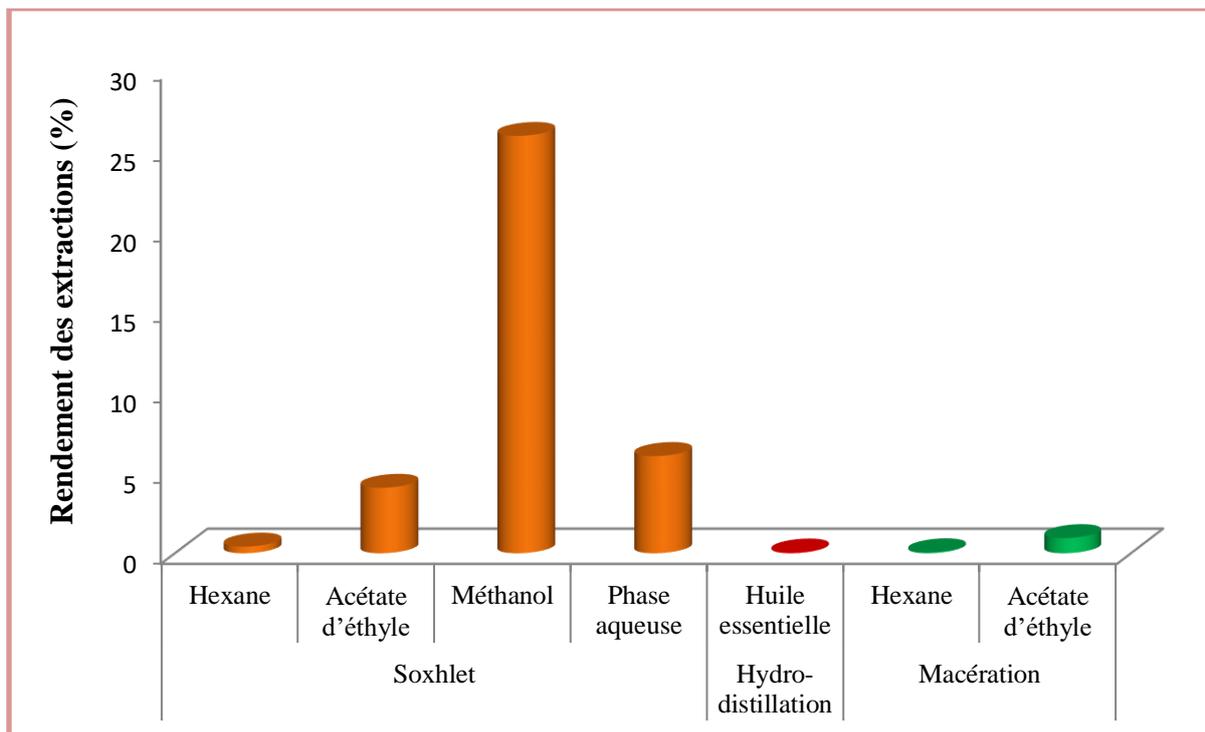
**Tableau II.5:** Rendements de l'extraction des différentes méthodes utilisées.

Méthode d'extraction utilisée	Extrait obtenu	Rendement (%)
Hydro-distillation	Huile essentielle	0.045±0,005
Soxhlet	Hexane	0.41±0,05
	Acétate d'éthyle	4.04±0,01
	Méthanol	25.88±1,8
	Phase aqueuse	6±0
Macération	Hexane	0.06±0.00
	Acétate d'éthyle	0.933±0.00

- L'écorce de grenade présente un rendement faible en huiles essentielles (0.045%), obtenu par la méthode d'hydrodistillation.
- Les résultats obtenus par la méthode de soxhlet, montrent que l'extrait méthanoïque exhibe le rendement le plus élevé (25.88%) suivi de l'extrait aqueux de (6%). Alors que l'hexane et de l'acétate d'éthyle ont des teneurs faibles.
- La méthode de macération à température ambiante a également permis d'obtenir le rendement (0.933 %) pour l'acétate d'éthyle et (0.06 %) pour l'extrait hexane.

L'utilisation de solvants de polarité différente permet de séparer les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. On observe aussi d'après ces résultats que le rendement par la méthode soxhlet est plus élevé que celle de la macération.

Donc ces résultats montrent l'extraction de soxhlet est la méthode la plus efficace à cause de la répétitions infiniment de cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité et son rendement élevé.



**Figure II.19:** Histogramme l'extraction par différentes Méthodes.

## II.6. Détermination de la teneur en fibres brutes :

Les fibres sont indispensables à notre équilibre nutritionnel, elles sont importante pour notre santé digestive. En effet, la consommation des fibres participe à l'équilibre du transit digestif, à la prévention des troubles métaboliques.

Dans notre travail, la teneur en fibre a été déterminée après traitement du résidu obtenu par l'extraction des composés phénoliques par la méthode de Soxhlet. Le résultat montre que la drogue végétale étudiée présente une quantité considérable en fibre brute (Tableau II.6).

**Tableau II.6:** Rendement total de résidu de Soxhlet et des fibres brutes.

	<b>Rendement Total</b>
<b>Résidu de Soxhlet</b>	65.54±5.8%
<b>Fibres</b>	28.33±0.00%

**II.7. Analyse quantitative des polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés :****II.7.1 Dosage des polyphénols totaux :**

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée par la méthode utilisant le réactif Folin-Ciocalteu.

La quantité de polyphénols correspondant à chaque extrait a été exprimée en équivalent d'acide gallique (AG) microgrammes «  $\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$  » et a été déterminée par la formule :

$$y = 0,005 x + 0,0213.$$

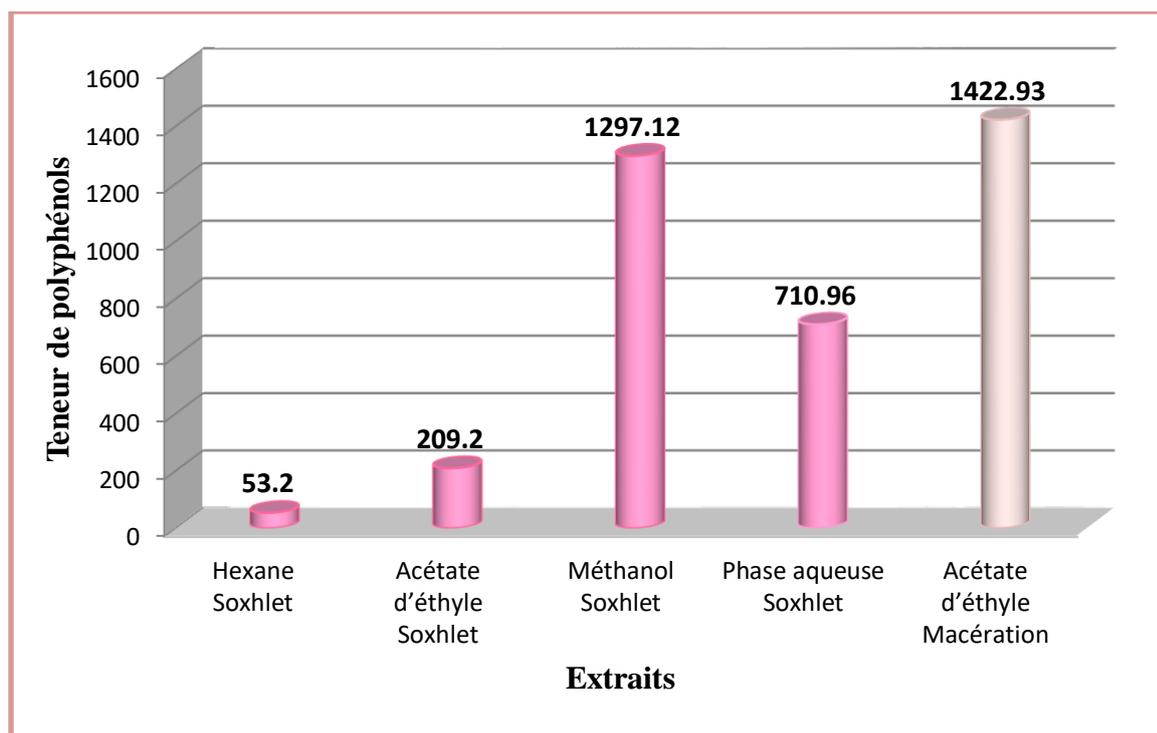
$x$  : Teneur en polyphénols,  $y$  : Absorption.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableaux II.7:** Teneur de polyphénols totaux de chaque extrait.

Méthodes	Extraits	PT ( $\mu\text{g EAG/mg}$ )
Soxhlet	Hexane	53.2 $\pm$ 6.8
	Acétate d'éthyle	209.20 $\pm$ 7.8
	Méthanol	1297.12 $\pm$ 50.7
	Phase aqueuse	710.96 $\pm$ 6.1
Macération	Acétate d'éthyle	1422.93 $\pm$ 125.5

Les valeurs présentées: moyenne  $\pm$  DS, chaque mesure est répétée 3 fois, PT ; phénols totaux.



**Figure II.20:** Teneurs totaux en polyphénols des extraits.

L'extrait acétate d'éthyle préparé par macération est le plus riche en polyphénols totaux ( $1422.93 \pm 125.5 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait) (**Figure II.20**). Encore, l'extrait méthanol par méthode Soxhlet présente une teneur de ( $1297.12 \pm 50.7 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait) et l'extrait aqueux ( $710.96 \pm 6.1 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait). Non seulement, l'extrait à l'acétate d'éthyle par la méthode Soxhlet ( $209.20 \pm 7.8 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait), le hexane par Soxhlet ( $53.2 \pm 6.8 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait),

Ainsi, les résultats (Tableau II.7) démontrent que les extraits méthanol et acétate d'éthyle par macération présentent une richesse en polyphénols totaux.

### II.7.2 Dosage des flavonoïdes totaux :

La détermination de la teneur en flavonoïdes totaux dans différents extraits a été réalisée selon un protocole colorimétrique utilisant du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), et l'étalon était la quercétine.

La quantité de flavonoïdes correspondant à chaque extrait était exprimée en microgramme équivalent de quercétine (Q) «  $\mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait » et déterminée par la formule suivante :

$$y = 0,0112 x + 0,1293.$$

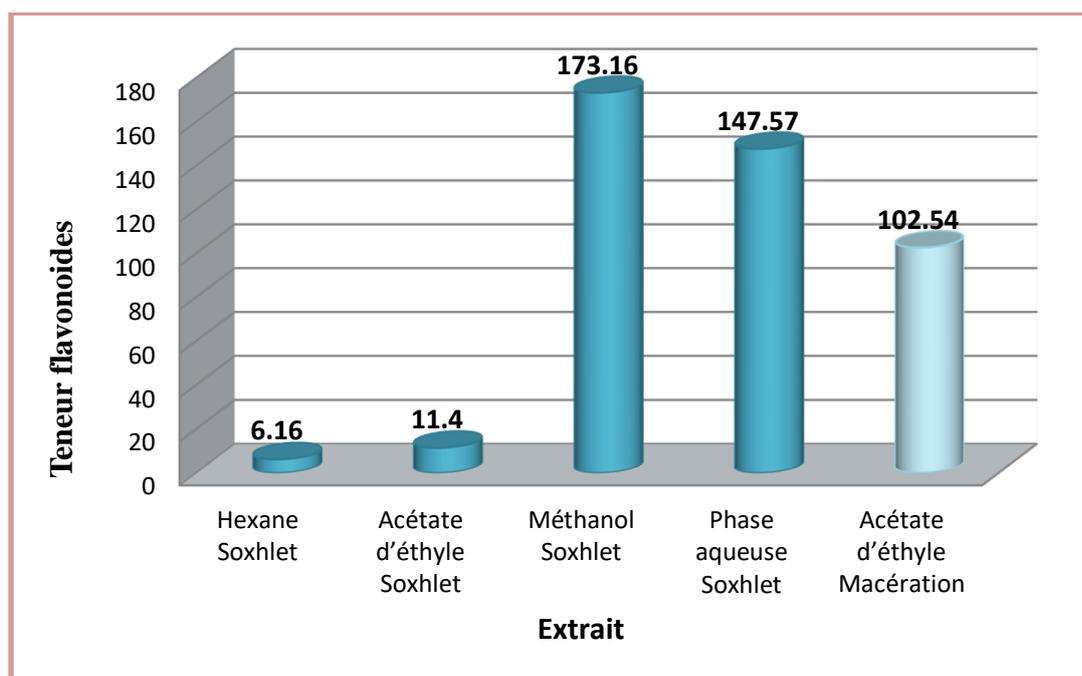
x : Teneur en flavonoïdes, y : Absorption.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableaux II.8:** Teneur de flavonoïdes totaux de chaque extrait.

Méthodes	Extraits	FT (µg EQ/mg)
Soxhlet	Hexane	6.16± 0.4
	Acétate d'éthyle	11.4±0.7
	Méthanol	173.16± 4.5
	Phase aqueuse	147.57± 4.4
Macération	Acétate d'éthyle	102.54± 7.6

Les valeurs présentées: moyenne ± DS, chaque mesure est répétée 3 fois, FT : Flavonoïdes totaux.



**Figure II.21:** Teneurs totaux en flavonoides des extraits.

D'après les résultats (**Figure II.21**), la quantité de flavonoïdes totaux dans l'extrait Hexane ( $6.16 \pm 0.4 \mu\text{g EQ/mg}$ ) par méthode Soxhlet est relativement inférieure à celle des autres extraits comme l'acétate d'éthyle par Soxhle ( $11.4 \pm 0.7 \mu\text{g EQ/mg}$ ) et par macération ( $102.54 \pm 7.6 \mu\text{g EQ/mg}$ ) puis l'extrait aqueux par Soxhlet ( $147.57 \pm 4.4 \mu\text{g EQ/mg}$ ), après la quantité la plus élevé est attribuée à l'extrait méthanolique par Soxhlet ( $173.16 \pm 4.5 \mu\text{g EQ/mg}$ ) .

De ces résultats (**Tableau II.8**), nous nous constatons que l'extrait méthanol présente la plus forte teneur en flavonoïdes suivi par l'acétate d'éthyle par la méthode de macération.

### II.7.3 Dosage des tanins :

La détermination de la teneur en tanins dans divers extraits a été standardisée par la catéchine. La quantité en tanins correspondant à chaque extrait a été exprimée en équivalent de microgrammes de catéchine (C) « µg EC/mg d'extrait » et a été déterminée par la formule :

$$y = 0,0024 x + 0,0675.$$

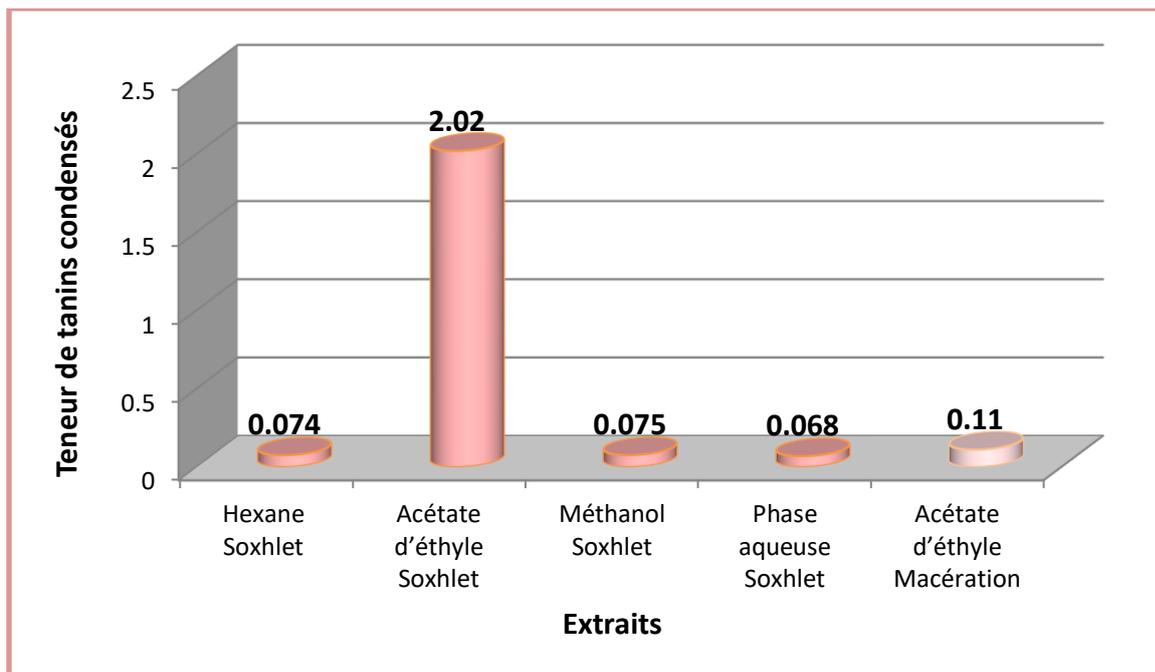
**x** : Teneur en tanins condensés, **y** : Absorption.

Les résultats obtenus sont ordonnés dans le tableau suivant :

**Tableaux II.9:** Teneur de Tanins de chaque extrait.

éthodes	Extraits	TC (µg EC/mg)
Soxhlet	Hexane	0.074±2.09
	Acétate d'éthyle	2.02±0.4
	Méthanol	0.075±1.4
	Phase aqueuse	0.068±0.6
Macération	Acétate d'éthyle	0.11±2.7

Les valeurs présentées: moyenne ± DS, chaque mesure est répétée 3 fois, TC : Tanins condensés.



**Figure II.22:** Teneurs totaux en tanins condensés des extraits.

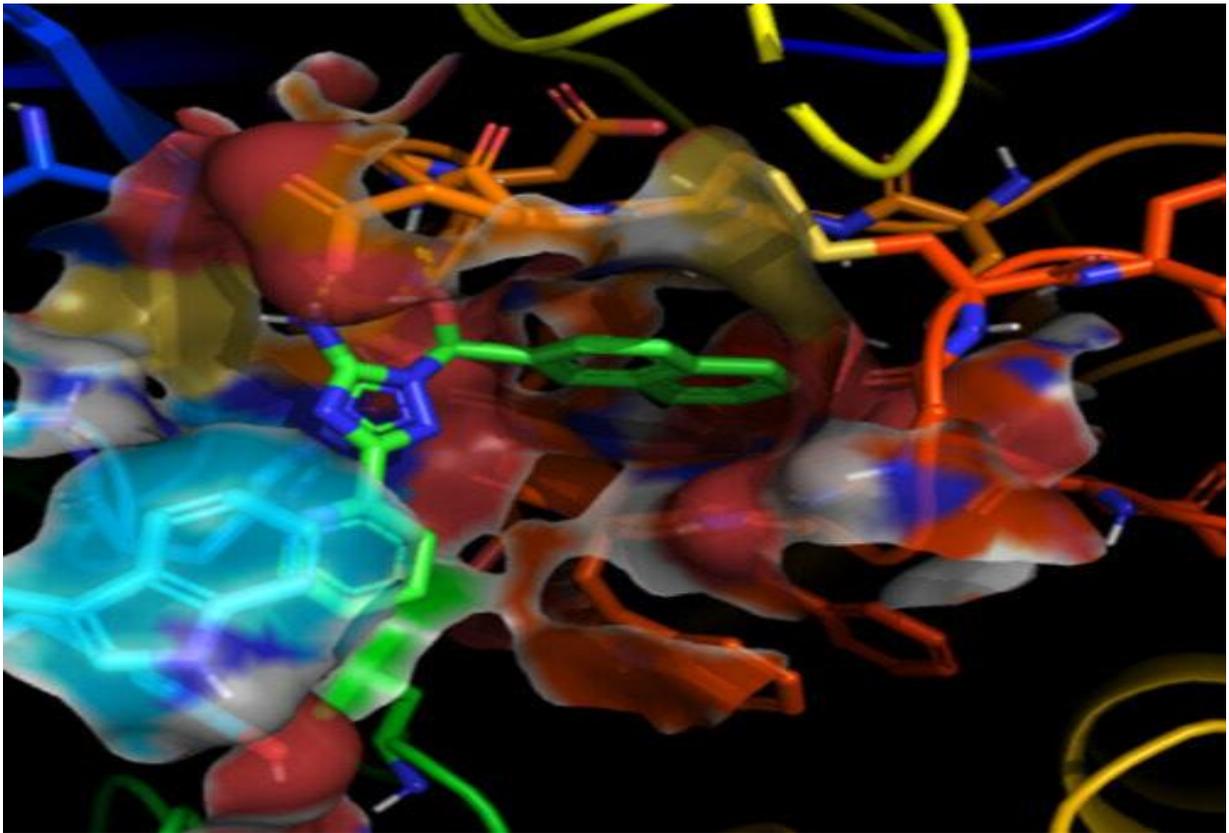
D'après les résultats (**Figure II.22**), la teneur en tanins de l'extrait à aqueuse par Soxhlet de l'écorce de grenade ( $0.074 \pm 2.09 \mu\text{g EC/mg}$ ) est relativement faible après l'extrait hexane au Soxhlet ( $0.074 \pm 2.09 \mu\text{g EC/mg}$ ) suivie d'une extrait au méthanol de Soxhlet ( $0.075 \pm 1.4 \mu\text{g EC/mg}$ ) puis l'extrait acétate d'éthyle par macération ( $0.11 \pm 2.7 \mu\text{g EC/mg}$ ).

La teneur en tanins la plus élevée provient de l'extrait acétate d'éthyle par Soxhlet ( $2.02 \pm 0.4 \mu\text{g EC/mg}$ ).

Donc, d'après les résultats (**Tableau II.9**) on conclure que l'extrait acétate d'éthyle par Soxhlet plus riche en tanins par rapport l'extrait acétate d'éthyle de la macération.

# Chapitre III

## Etude in-silico



### I. Introduction :

Les méthodes virtuelles in silico sont largement employées dans les tactiques de découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Dans cette partie nous avons mettre la lumière sur l'étude de l'activité anti-ulcéreuse des molécules de la famille des polyphénols issus des extraits naturels de l'écorce de la grenade. Nous nous sommes intéressées par la méthode de docking moléculaire et propriétés **ADME-TOX** afin de présenter les meilleures affinités des dérivés phénoliques et le récepteur. Cette étude est basée sur la recherche des meilleurs inhibiteurs de la sécrétion d'acide à partir d'inhibition de la pompe gastrique à protons, H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. Cette pompe est formée un complexe avec le bloqueur : le SCH28080 comme ligand de référence.

#### I.1. Docking moléculaire :

Le docking moléculaire (ancrage, arrimage ou amarrage moléculaire) est un type de modélisation informatique dans lequel une molécule (le ligand) interagit avec une autre molécule (le récepteur) pour former un complexe stable [80]. Il permet de prédire la conformation de ligands de petites molécules au site de liaison de la cible correspondante avec une précision considérable [81].

##### I.1.1 Principe de docking moléculaire :

Le docking moléculaire fait référence au processus par lequel une molécule (ligand) est placée dans le site actif d'une protéine cible dans un espace tridimensionnel (3D). Deux aspects sont importants : prédire l'affinité du complexe [ligand-protéine] et prédire la localisation précise du ligand dans le site actif de la protéine [82,83]

**Le Docking** : est une étape de sélection qui place un ligand dans le site actif d'une protéine, en essayant les conformations, positions et orientations (poses) possibles [84].

**Le scoring** : est une étape de classification consistant à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chaque complexe sélectionné à l'étape précédente. Ce score permet de conserver la meilleure conformation [84].

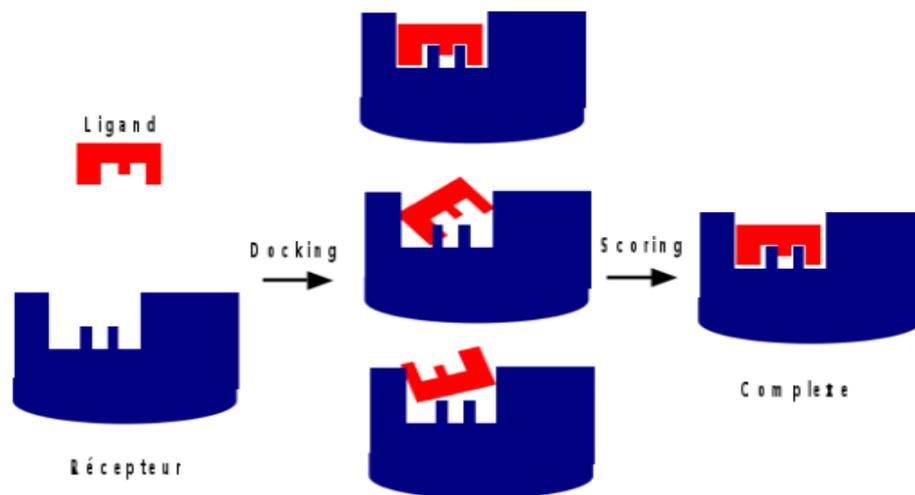


Figure III.1: Illustration de docking/scoring.

I.1.2. Types de docking moléculaire :

Tableau III.1 : Les types de docking moléculaire.

Types	Exemples
docking rigide	<p>Rigid docking (Both receptor and ligand are rigid)</p>
docking semi-flexible	<p>Flexible-rigid docking (ligand is flexible and receptor is rigid)</p>
docking flexible	<p>Flexible docking (both receptor and ligand are flexible)</p>

## I.1.3. Programmes de docking moléculaire :

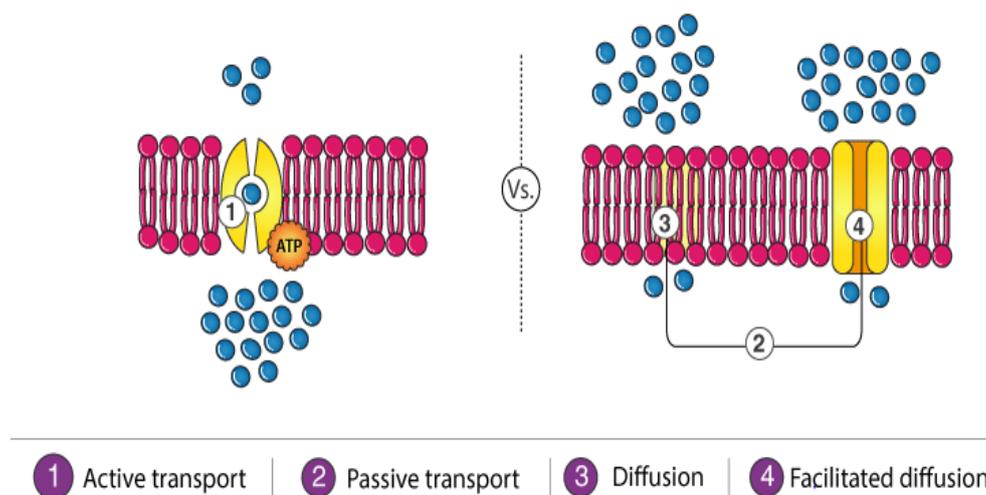
Actuellement, plus de 30 programmes d'amarrage moléculaire (commerciaux ou non commerciaux) sont disponibles. Les plus couramment mentionnés sont AutoDock, GOLD, Glide (Schrödinger) FlexX, DOCK et ICM [85].

## I.2. Prédiction ADMET in silico :

Les principes actifs rencontrent plusieurs barrières ADME dans l'organisme. À chaque passage de la barrière ADME, sa concentration peut diminuer. Pour obtenir un effet thérapeutique efficace, la concentration du principe actif est importante pour obtenir un temps d'exposition suffisamment long, mais **ADME-Tox** est nécessaire pour surmonter les barrières physiologiques. L'optimisation des propriétés (**A**bsorption, **D**istribution, **M**étabolisme, **E**xcrétion – **T**oxicité) est également essentielle sécurité [86].

### I.2.1. Absorption :

L'absorption est la pénétration d'une substance dans l'organisme. Parce qu'il est souhaitable que les médicaments puissent être administrés par voie orale, nous nous intéressons à l'absorption depuis le tractus gastro-intestinal, notamment aux phénomènes liés au transfert du tractus gastro-intestinal vers la circulation sanguine [87]. La biodisponibilité (F) reflète le pourcentage de biodisponibilité dans le sang après l'étape d'absorption et le premier passage dans le foie. Cette portion biodisponible peut être distribuée dans tout le corps [84].



**Figure III.2:** Les diffusions active et passive.

**Tableau III.2 :** Les règles de Lipinski et Veber.

Les règles	Lipinski	Veber
<b>Les conditions</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Le poids moléculaire (MW) est inférieur ou égal à 500 g/mol.</li> <li>Log P est inférieur ou égal à 5.</li> <li>Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égal à 5.</li> <li>Le nombre d'accepteurs de liaison hydrogène doit être inférieur ou égal à 10 [87].</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Le nombre de maillons rotatifs (FRB) est de 10 ou moins.</li> <li>La surface polaire (PSA) de la molécule est inférieure à 140Å<sup>2</sup> [88].</li> </ul>

### I.2.2. Distribution :

La distribution est une combinaison de phénomènes de transport dans la circulation sanguine et de répartition des xénobiotiques entre le sang et les différents tissus de l'organisme. Les principes actifs présents dans le sang se lient de manière réversible aux protéines plasmatiques. L'affinité du xénobiotique pour ces protéines détermine le rapport entre les fractions libres et liées aux protéines en solution. Seule la fraction libre peut traverser les membranes capillaires, sortir de la circulation systémique et se diffuser dans les tissus pour produire l'effet thérapeutique souhaité. Le phénomène d'immobilisation s'exprime expérimentalement par la fraction liée aux protéines plasmatiques ou le pourcentage de la fraction libre dans le plasma ( $F_u$ ). Le volume de distribution ( $V_d$ ) est couramment utilisé pour déterminer le mode de diffusion tissulaire d'un médicament. Il s'agit en fait du volume apparent [86].

### I.2.3. Métabolisme :

La phase métabolique peut être décrite comme le processus de biotransformation des principes actifs, qui les rend plus polaires et donc plus solubles dans les milieux aqueux et excrétés par l'organisme. Les réactions métaboliques sont généralement divisées en deux étapes. Les réactions de phase I incluent la biotransformation. Les réactions de phase II visent la fixation d'un ou plusieurs groupes fonctionnels polaires. Ces réactions de phase II sont généralement réalisées après la réaction de phase I, mais peuvent également être appliquées directement au principe actif [86].

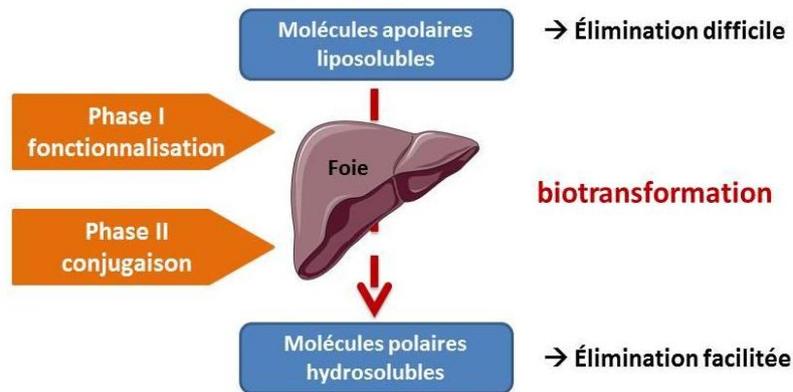


Figure III.3: Les étapes de métabolisme.

**I.2.4. Elimination :**

La phase d'excrétion regroupe les phénomènes qui se produisent lors de l'excrétion de la substance active et de ses métabolites. Cette étape est principalement assurée par les reins et le foie [86].

Plusieurs paramètres physiologiques permettent d'estimer l'élimination des xénobiotiques. L'une des plus importantes est la clairance totale, qui correspond à la capacité de l'organisme à éliminer les molécules après leur retour dans la circulation systémique. La clairance totale est déterminée en combinant la clairance rénale et hépatique. Un autre paramètre physiologique est la demi-vie d'élimination, qui correspond au temps nécessaire pour que la concentration d'un xénobiotique dans le plasma diminue de moitié [86].

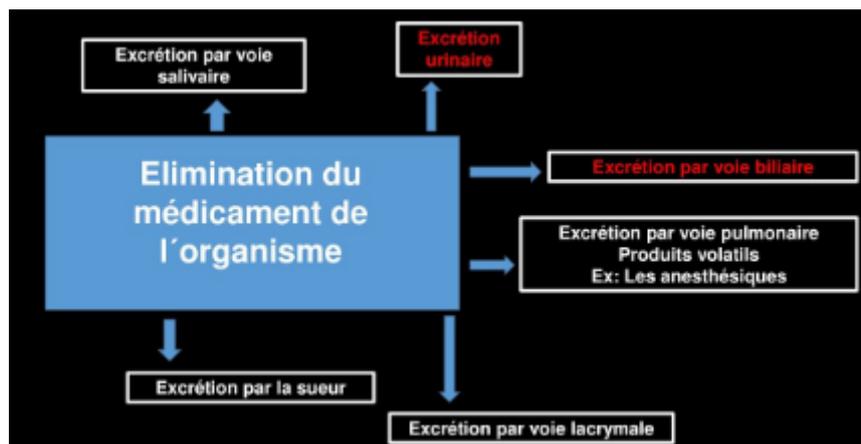


Figure III.4: Les voies de l'élimination

## I.2.5. Toxicité :

Le développement de nouveaux médicaments nécessite la conduite d'études toxicologiques pour évaluer la sécurité de ces nouvelles entités moléculaires avant de demander une autorisation de mise sur le marché auprès des autorités compétentes [86].

## II. Matériels et méthodes :

### II.1. Matériel :

#### II.1.1. Micro-ordinateur :

Dans notre travail, nous avons utilisé le programme maestro dans sa version 12.5.139, 2020. Ce programme a été installé dans notre Microordinateur VIDEALE, ayant une mémoire vive de 4GO et un processeur 3.00 GHz Intel Core CPU, sous le système d'exploitation Windows 10 professionnel 64bit.

#### II.1.2. Programmes utilisés :

##### II.1.2.1. ChemDraw 16.0 :

ChemDraw est un logiciel de conception moléculaire utilisé pour dessiner les structures des molécules utilisées dans les études de docking moléculaire.

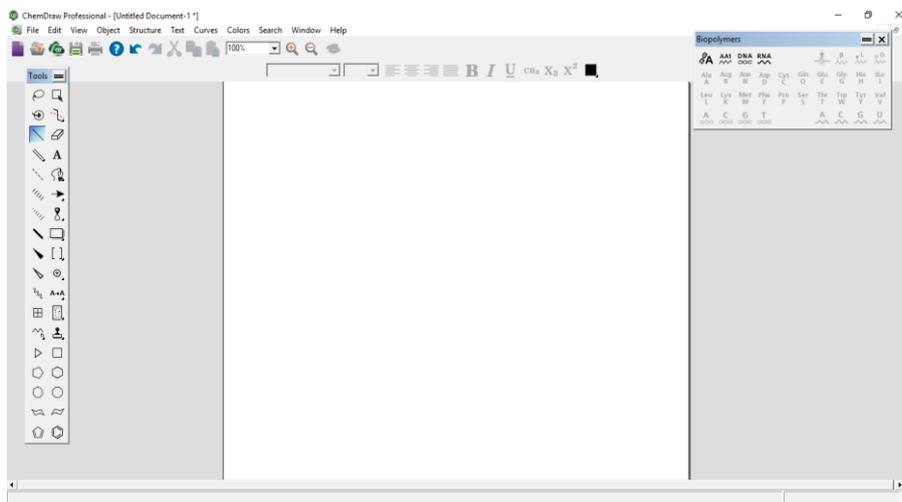


Figure III.5: Interface utilisateur de ChemDraw.

##### II.1.2.2. Schrödinger suite :

La suite Schrödinger est un package de modélisation moléculaire complet et puissant contenant les programmes, applications et solutions les plus sophistiqués et les plus

puissants au monde pour la bio-informatique, la chimio-informatique et la découverte informatique de médicaments [89].

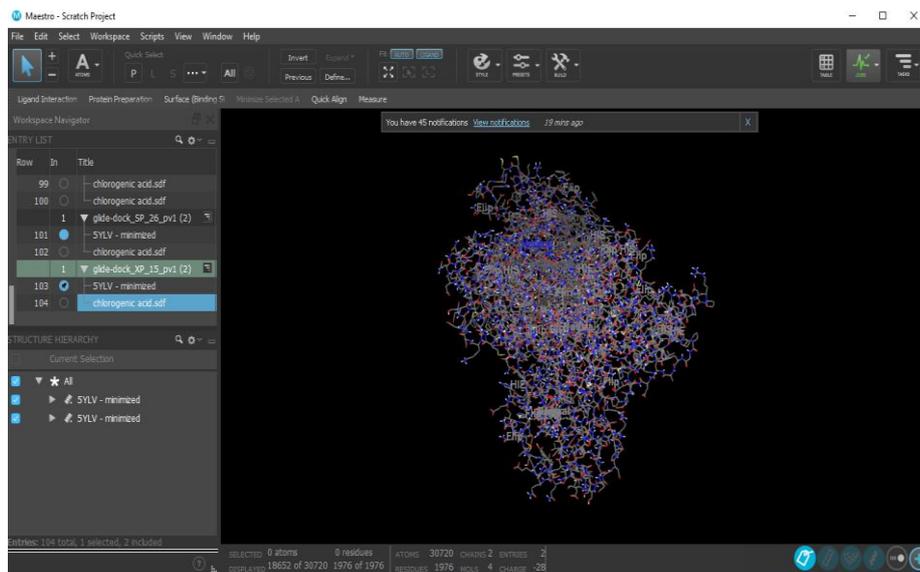


Figure III.6: L'interface du logiciel Schrödinger suite.

### II.1.3. Banques de données :

#### II.1.3.1. Protéine Data Bank (PDB) :

La banque de données sur les protéines (PDB) (<http://www.rcsb.org/>) est l'archive mondiale special des données sur la structure tridimensionnelle (3D) des macromolécules biologiques déterminées expérimentalement. Ces structures sont principalement déterminées standard les deux méthodes la cristallographie à rayons X et la RMN. L'archive centrale de la PDB abrite les coordonnées atomiques 3D de 144 000 spécimens de protéines, d'ADN/ARN et de leurs complexes avec des métaux et des petites molécules, ainsi que des données expérimentales et des métadonnées associées. Les données de la PDB sont utilisées standard des chercheurs, des éducateurs, des ressources bioinformatiques spécialisées [90].

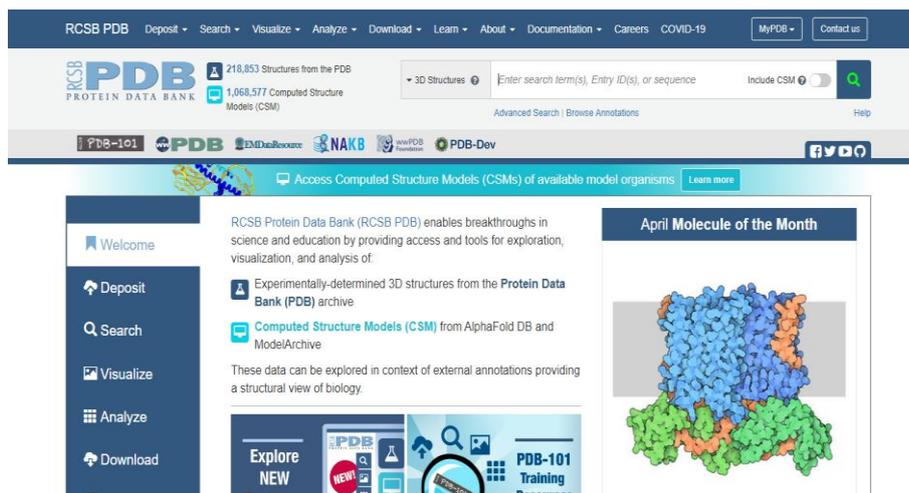


Figure III.7: Site de la Protéine Data Bank (PDB).

### II.1.3.2. Base des données PubChem :

Un référentiel d'informations publiques sur les produits chimiques et leurs activités biologiques développé et maintenu par le Centre national d'information sur la biotechnologie (NCBI). PubChem est une ressource destinée aux chercheurs dans des domaines tels que la chimioinformatique, la biologie chimique et la chimie médicinale. il reçoit régulièrement des millions de demandes de dizaines de milliers d'utilisateurs par jour. PubChem contient 225 millions de résultats de tests de bioactivité couvrant plus de 180 millions de descriptions chimiques, 60 millions de structures chimiques uniques et plus de 9 000 séquences cibles protéiques uniques [91].

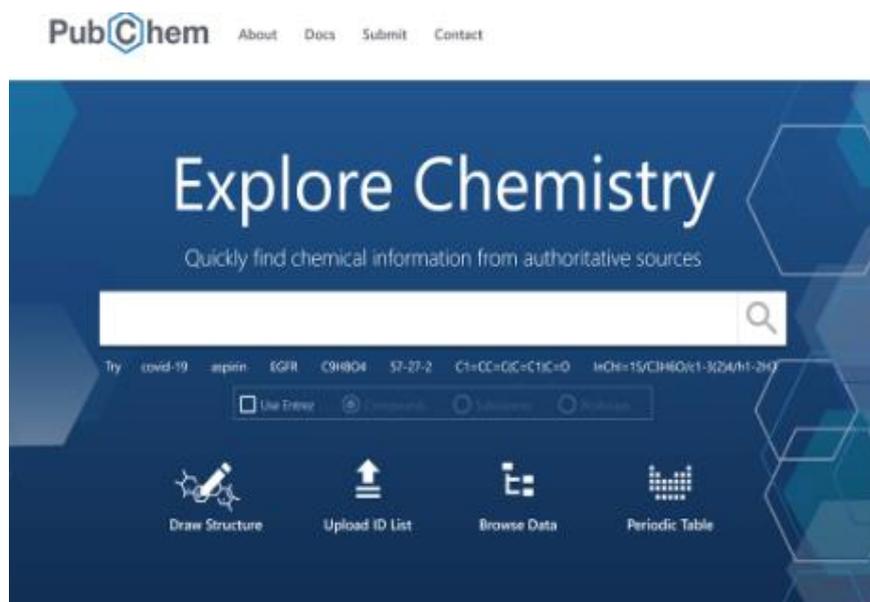


Figure III.8: Page d'accueil de la base des données PupChem.

### II.1.3.3. SwissADME :

SwissADME Server (URL : <http://www.swissadme.ch/>), un outil d'apprentissage automatique qui génère rapidement et précisément un ensemble de modèles prédictifs de propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques, de similarité de médicaments et la disponibilité des produits chimiques médicaux. La prédiction des propriétés des **ADME-Tox** (**A**bsorption, **D**istribution, **M**étabolites, **E**xcrétion, **T**oxicité) joue un rôle important dans le processus de développement de médicaments. Ces propriétés expliquent l'échec d'environ 60 % de tous les médicaments au stade clinique. Les processus les plus importants liés à la pharmacocinétique sont l'absorption, la distribution, les deux voies d'excrétion du médicament, le métabolisme et l'excrétion [92].

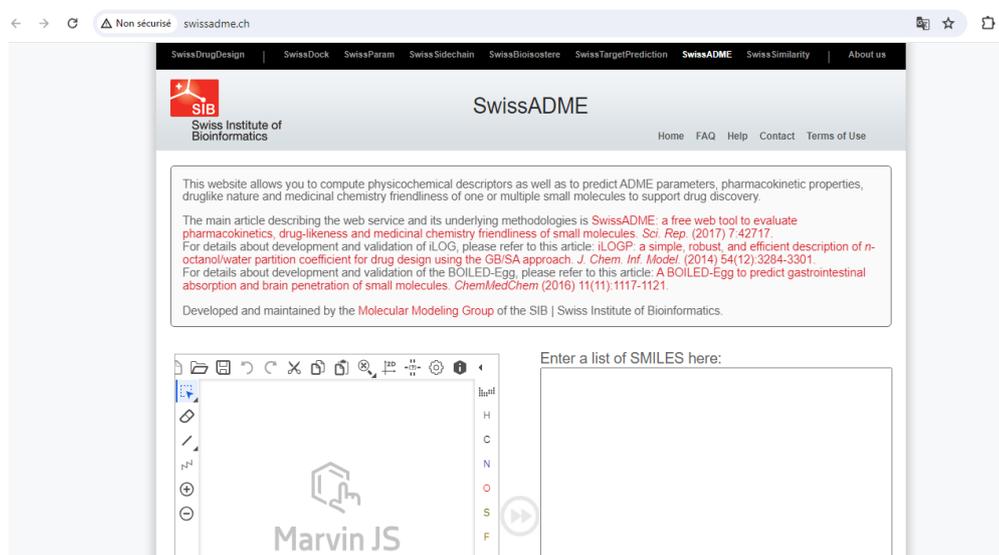


Figure III.9: Page d'accueil du site SwissADME.

### II.1.3.4. Pkcs m :

Une plateforme intégrée pour évaluer rapidement les propriétés de l'ADMET, qui sont essentielles au développement de médicaments [93].

pkCSM Prédire Théorie Aide Contact Remerciements Ressources associées Licence (non académique)

**Nouvelles!** Présentation des dernières mises à jour de nos prédicteurs de pharmacocinétique et de toxicité, Deep-PK, maintenant disponibles !

## Propriétés pharmacocinétiques

Input Molécule → Calculer All-Pair Shortest Paths → Calculer Propriétés → ADMET Train, Test, Predict

Exemple d'exécution

[Clause de non-responsabilité](#)

### Étape 1 : Veuillez fournir un ensemble de molécules (format SMILES)

Description

Téléchargez votre fichier SMILES : **OU** Fournissez une chaîne SMILES :

Choisir un fichier | Aucun fichier choisi

Les fichiers doivent avoir des en-têtes identifiant les colonnes.

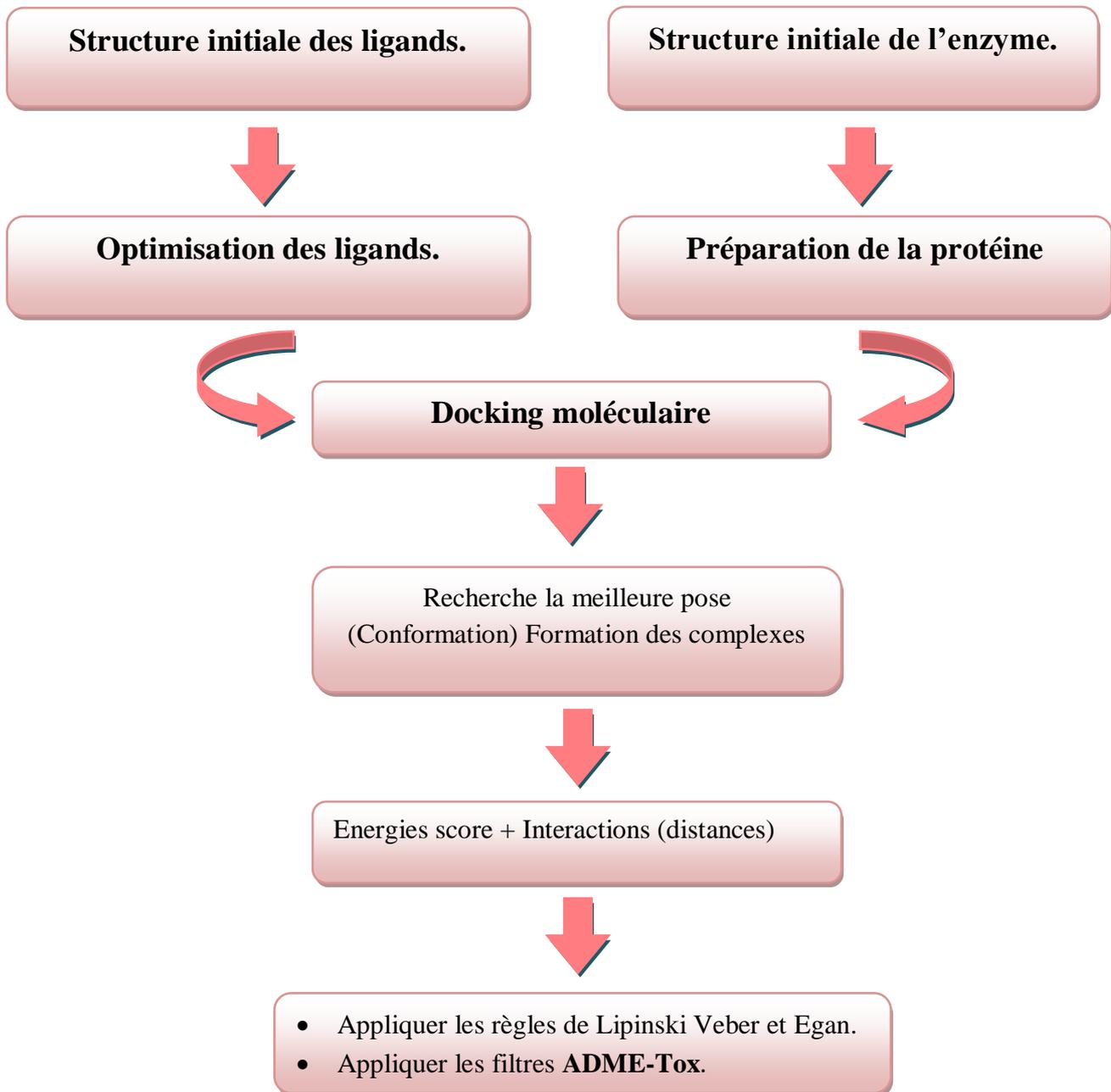
[Limites des fichiers](#)

Exemple :  
CC(=O)OC1=CC=CC=C1C(=O)O

**Figure III.10:** Page d'accueil du site pkCSM.

## II.2. Méthodes :

### II.2.1. Étapes de calcul :



**Figure III.11:** Protocol de calcul.

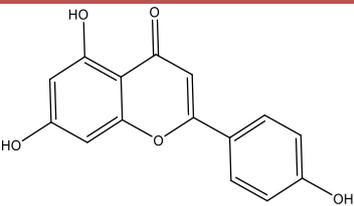
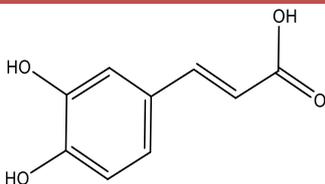
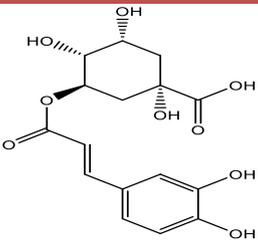
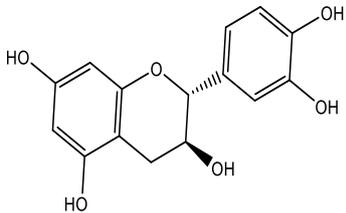
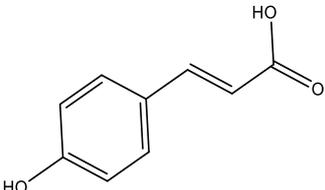
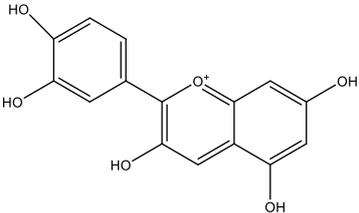
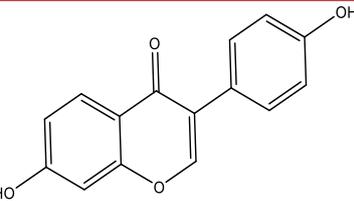
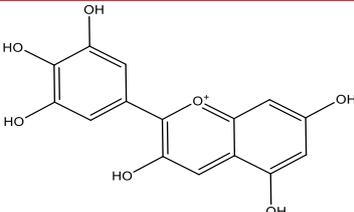
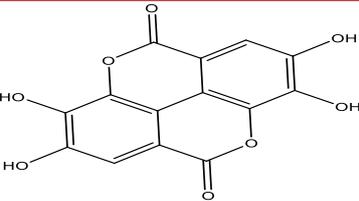
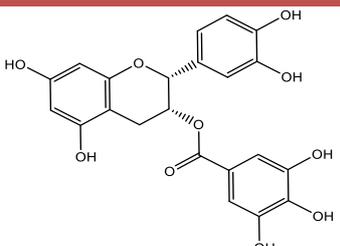
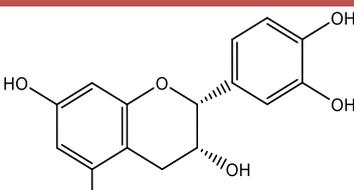
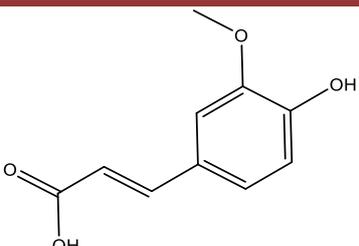
Cet organigramme résume toutes les étapes de calcul qui nous avons utilisé au cours de ce travail.

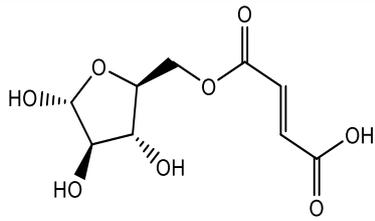
## II.2.1.1. Préparation des ligands:

Les structures de 30 ligands présentent des phyto-constituants de la famille des polyphénols issus l'écorce de grenade d'après les articles [94, 95, 96]. Ils retendent pour le Docking ont été créés à travers plusieurs outils incluse dans le Schrödinger suites selon les étapes suivantes :

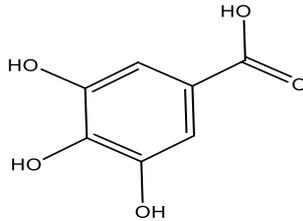
- 1) Téléchargement les structures des molécules de l'écorce de grenade (les ligands) à partir de site **PubChem** ou dessiner par le logiciel **ChemDraw** et corriger les structures de Lewis et éliminer les erreurs possibles.
- 2) Enregistrer nos ligands préparés (les 30 molécules) en extension sdf.
- 3) Optimisation les ligands à partir logiciel schrodinger suite (lipgrep).

**Tableau III.3:** Les structures des composés polyphénols de l'écorce de grenade.

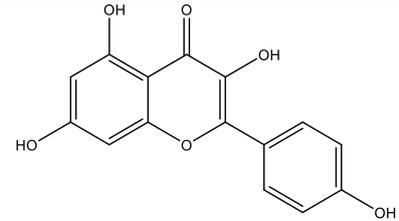
		
<b>Apigénine</b>	<b>Acide caféique</b>	<b>Acide caféoylquinique</b>
		
<b>Catéchine</b>	<b>Acide coumarique</b>	<b>Cyanidine</b>
		
<b>Daidzéine</b>	<b>Delphinidine</b>	<b>Acide ellagique</b>
		
<b>Gallate d'épicatéchine</b>	<b>Épicatéchine</b>	<b>Acide férulique</b>



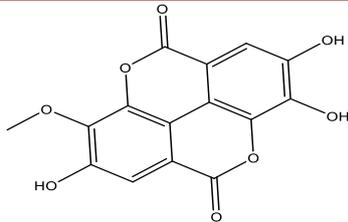
**Acide fumarique pent side**



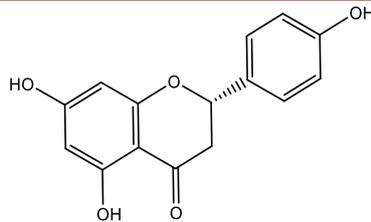
**Acide gallique**



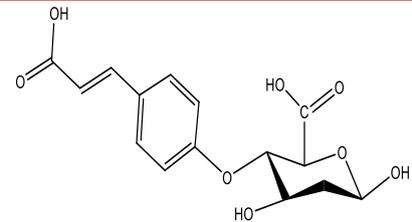
**Kaempférol**



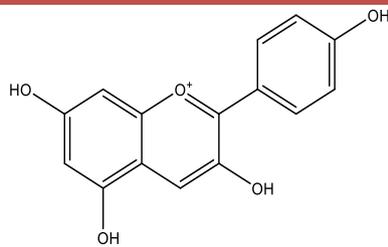
**Acide méthylellagique**



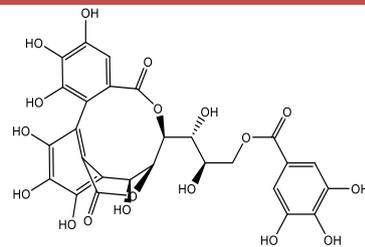
**Naringénine**



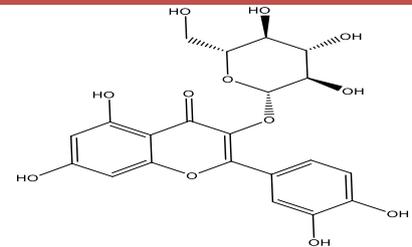
**Acide P-comarique glucuronide**



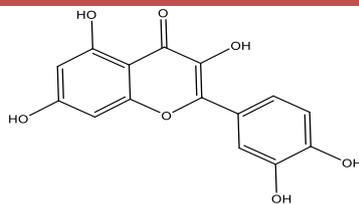
**Pélargonidine**



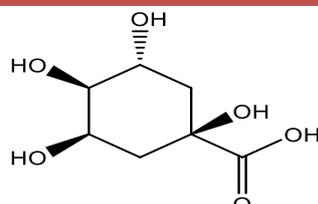
**Punicacortéine B**



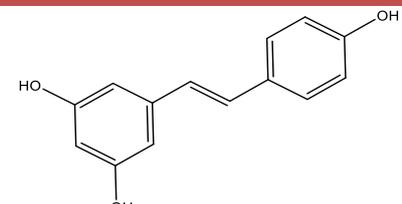
**Quercétine-3-o-glucoside**



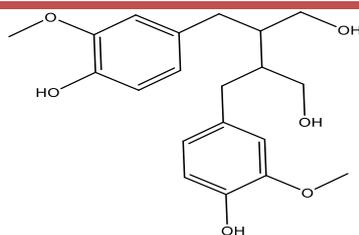
**Quercétine**



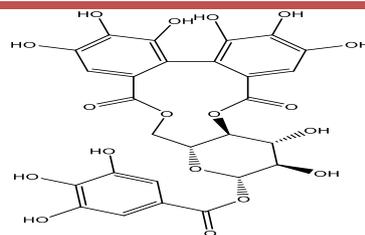
**Acide quinique**



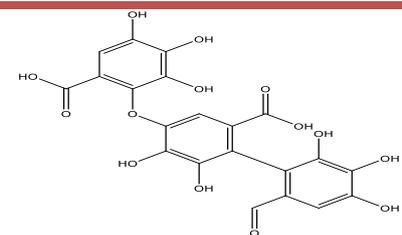
**Resvératroll**



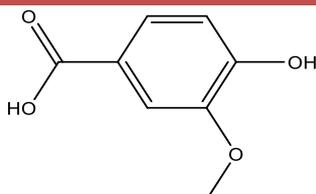
**Secoisolariciresinol**



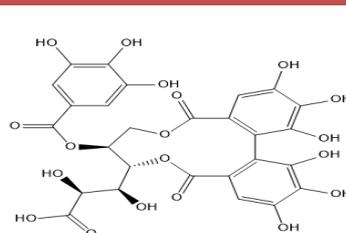
**Strictinine**



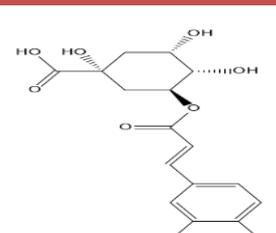
**Acide valonéique**



**Acide vanillique**



**Lagerstannine**

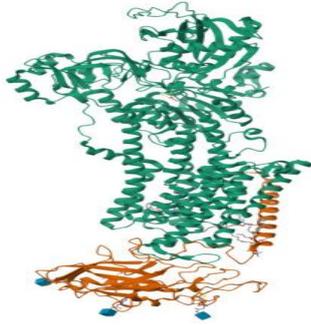
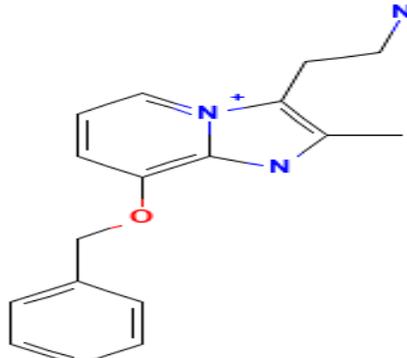


**Acide chlorogénique**

## II.2.1.2. Préparation de protéine :

La structure 3D de la protéine **5YLV** est téléchargée sur la banque des données PDB est sous forme de complexe où elle est liée aux ligands Co-cristallisés, dont la SCH28080 de code 8WX, la préparation du récepteur s'est faite par élimination des molécules d'eau et les cofacteurs ensuite les autres chaînes de protéines.

**Tableau III.4:** propriétés de protéines Pompe à proton H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase.

Récepteur	Pompe à proton H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase	Structure 3D de 5YLV
Code	5YLV	
Résolution	2.80 Å	
Système d'expression	Homo sapiens	
Les chaînes	A, B	
Classification	protéine membranaire	
Ligand Co cristallisé		

## II.2.1.3. Docking Moléculaire :

Les calculs de Docking sont réalisés par trois étapes principales :

- 1) Rechercher les meilleures conformations des ligands.
- 2) Utilisant Glide le logiciel de Docking à travers le mode de score XP (extra précision) et évaluation des résultats de Docking pour chaque complexe.
- 3) Visualiser les interactions des meilleures conformations pour les complexes ligands-5YLV par logiciel Discovery Studio Visualiser et les meilleures énergies scores.

### II.2.2. Pharmacokinetics and toxicity properties prediction:

Les propriétés pharmacocinétiques et toxiques du meilleur CBSI obtenu dans cette étude ont été prédites à l'aide d'ADMET Lab 2.0 sur swissadmet et pkcsm. Ces propriétés comprennent les règles de Lipinski, Veber et Egan, la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB), l'absorption gastro-intestinale (HIA %), l'inhibition du cytochrome P450 (CYP), la perméabilité cellulaire (CACO-2) et la toxicité (test d'Ames, hepatotoxicity).

### III. Discussions des résultats :

La discussion que nous ferons **portera** sur la nature de la distance entre les résidus du site actif du récepteur et du ligand, l'interprétation se basera donc sur le nombre d'interactions efficaces caractérisées. Les interactions entre les protéines et leurs substrats constituent la première étape de la plupart des réactions biologiques. Il est important de comprendre son fonctionnement et de définir quels résidus sont impliqués. Donc :

- l'affinité entre deux molécules.
- Distance entre les résidus du site actif du récepteur et du ligand.
- Énergie d'interaction.
- De même, la découverte de nouveaux médicaments activant ou inhibant l'activité biologique des protéines ne peut se faire qu'en prédisant leurs affinités respectives. Des techniques de modélisation moléculaire telles que le docking moléculaire ont été développées à cet effet.

#### III.1. Résultats de Docking moléculaire :

Pour étudier les interactions des ligands dans le site actif de la pompe proton H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase, nous avons sélectionné des énergies d'interactions qui ont montré des effets significatifs par rapport aux ligands de référence. Calculer par le logiciel Maestro comme indiqué (kcal/mol) (Tableau 01).

**Tableau III.5:** Résultats des énergies d'interactions des inhibiteurs de la 5YLV comparé avec ligand de référence.

Ligands	XP Docking score (Kcal/mol)	Glide Energie (Kcal/mol)
Apigénine	-7.729	-51.749
Acide caféique	-6.152	-34.040

Acide caféoylquinique	-9.609	-54.153
Catéchine	-9.386	-52.255
Acide coumarique	-4.526	-27.264
Acide chlorogénique	-4.982	-66.409
Cyanidine	-8.244	-67.016
Daidzéine	-7.534	-50.379
Delphinidine	-8.633	-69.246
Acide ellagique	-10.856	-63.596
Gallate d'épicatechine	-11.533	-91.707
Épicatechine	-8.765	-52.520
Acide férulique	-5.225	-30.229
Acide fumarique pent side	-6.585	-50.589
Acide gallique	-6.585	-30.589
Kaempférol	-8.659	-54.932
Lagerstannine	-7.909	531.201
Acide méthylellagique	-9.431	-55.788
Naringénine	-7.012	-50.250
Glucuronide d'acide p-comarique	-5.487	-35.885
Pélargonidine	-6.774	-54.955
Punicacortéine B	-12.735	-96.942
Quercétine	-9.036	-60.637
Quercétine-3-O-glucoside	-9.933	-83.271
Acide quinique	-7.139	-21.567
Resvéraroll	-7.117	-48.256
Secoisolariciresinoll	-7.721	-64.849
Strictinine	-14.451	-106.493
Acide valonéique	-6.774	-38.301
Acide vanillique	-5.696	-24.119
8WX	-5.270	-50.459

Nous avons obtenu plusieurs molécules ont des énergies score supérieures à la référence : **Quercétine**(-9.036 Kcal/mol), **Catéchine**(-9.386Kcal/mol), **Acide méthylellagique**(-9.431

Kcal/mol), **Acide caféoylquinique**(-9.609Kcal/mol), **Quercétine-3-o-glucoside**(-9.933Kcal/mol), **acide ellagique** (-10.856 Kcal/mol), **Gallate d'épicatéchine**(-11.533 Kcal/mol), **Punicacortéine B** (-12.735 Kcal/mol) et **Strictinine**(-14.451Kcal/mol). Par contre, ligand de référence **8WX** (-5.270Kcal/mol).

 **Valeur RMSD** : La qualité de l'ajustement a également été évaluée en utilisant la valeur RMSD du ligand dans l'intervalle suivant :

- RMSD 1,0 Å, bonne pose;
- $1.0 \text{ \AA} < \text{RMSD} \leq 2,0 \text{ \AA}$ , pose proche;
- $2.0 \text{ \AA} < \text{RMSD} \leq 3,0 \text{ \AA}$ , pose avec erreurs;
- $\text{RMSD} > 3,0 \text{ \AA}$ , mauvaise pose [97].

Dans notre étude, la valeur de RMSD est égale 0.3567 .cette valeur est bonne pose.

### III.2. Interactions de ligands- 5YLV :

La visualisation de l'interaction de ce composé dans le site actif du 5YLV a été réalisée à l'aide du logiciel Discovery Studio Visualizer et les énergies score de meilleurs ligands classer dans le tableau suivant :

**Tableau III.6:** S-score et les interactions entre les meilleurs ligands et les résidus du site actif de la pompe proton H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase (PDB ID : 5YLV).

Ligands	S-score (kcal/mol)	Liaison entre les atomes de ligands et résidus de site actif					
		Atome de ligand	Atome impliqué dans l'AA	Résidus	Catégories	Type de liaison	Distance (Å)
<b>Acide caféoylquinique</b>	-9.609	O8	NH1	ARG328(A)	Electrostatic	Attractive Charge	4.42
		O9	NH1	ARG328(A)	Electrostatic	Attractive Charge	4.94
		O9	NH1	ARG896(A)	Electrostatic	Attractive Charge	5.38
		O8	HE21	GLN127(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.85
		O1	HH	TYR799(A)	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.41
		H13	O	GLU795(A)	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.82
		H14	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.68

		H15	O	LEU133(A)	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.09
		H16	O	THR134(A)	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.02
		H17	O	TYR802(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.35
		O9	HD3	ARG328(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.43
		H5	O	LEU133(A)	H-Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.55
		6 ring	6 ring	TYR799(A)	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	4.50
		6 ring	CA	ALA339(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.39
		6 ring	CB	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.80
		6 ring	CB	ILE816(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.29
<b>Catéchine</b>	-9.386	O2	HE22	GLN127(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.09
		O1	HG	CYS813(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.62
		H7	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.76
		H8	OD2	ASP137(A)	H Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.94
		H12	O	GLU795(A)	H Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.86
		H13	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.81
		H14	SG	CYS813(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.23
		6 ring	CB	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.28
		6 ring	CB	ALA339(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.39
		6 ring	CB	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.92
6 ring	CB	ILE816(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.37		
<b>Acide ellagique</b>	-10.856	H2	OD1	ASN138(A)	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.80
		H3	OD1	ASN138(A)	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.84
		H5	O	GLU795(A)	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.74
		H6	O	GLU795(A)	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.83
		O6	HA	ALA339(A)	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	3.02
		6 ring	SG	CYS813(A)	Other	Pi-Sulfur	3.16
		6 ring	CB	LEU141(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.34
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	3.87
		6 ring	CG	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.43
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.63
		6 ring	CB	ALA339(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.63
		6 ring	CB	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.39
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.07
		6 ring	CB	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.67
6 ring	CG1	ILE816(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.36		
	-11.533	HH	O2	TYR799(A)	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.86
		H7	OH	TYR802(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.95

<b>Gallate d'épicatéchine</b>		H8	O	LEU133(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.55
		H12	O	VAL331(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.57
		H16	O	ALA335(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.58
		H17	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.74
		H18	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.81
		H3	OD2	ASP137(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.70
		6 ring	SG	CYS813(A)	Other	Pi-Sulfur	5.55
		6 ring	OD1	ASN138(A)	Other	Pi-Lone Pair	2.90
		6 ring	6 ring	TYR799(A)	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	4.32
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	3.90
		6 ring	CB – SG	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.79
	6 ring	CB – CG1	ILE816(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.49	
<b>Acide méthyllellagique</b>	-9.431	H6	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.74
		H7	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.83
		H8	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.98
		H1	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.58
		O2 H2			H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.49
		H3	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.54
		6 ring	SG	CYS813(A)	Other	Pi-Sulfur	3.20
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	3.75
		6 ring	CB – SG	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.55
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.59
		6 ring	CB	ALA339(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.68
		6 ring	CB – SG	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.38
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.07
		6 ring	CB – SG	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.66
	6 ring	CB – CG1	ILE816(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.38	
<b>Punicacortéine B</b>	-12.735	O17	HE21	GLN127(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.03
		O7	HH	TYR799(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.11
		O10	HH	TYR928(A)	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.03
		H4	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.83
		H5	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.60
		H14	OD2	ASP137(A)	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.97
		H16	OE2	GLU900(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.47
		H20	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.83
		H21	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.74
		O1	HA	ALA339(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.96
	H8			H Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.23	

		O8					
		H9	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.45
		6 ring	CB	ALA339(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.92
		6 ring	CB – SG	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.69
		6 ring	CB – CG1	ILE816(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.17
		6 ring	CG	LEU809(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.93
<b>Quercétine</b>	-9.036	O4	HE22	GLN127(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.94
		H6	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.93
		H6			H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.22
		O1					
		H8	O	GLU795	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.80
		H9	O	GLU795	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.83
		O3	OD2	ASP137(A)	Electrostatic	Pi-Anion	4.19
		6 ring	CB – SG	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.48
		6 ring	CB – SG	ALA339(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.73
		6 ring	CB – CG1	ILE816(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5.15
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.52
6 ring	CB – SG	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.53		
<b>Quercétine-3-O-glucoside</b>		O6	HG	CYS813(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.67
		H15	O	LEU811(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.78
		H16	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.55
		H18	O	ALA335(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.21
		H19	SG	CYS120(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.41
		H20	O	MET334(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.80
		O12	HA	CYS120(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.73
		H10	O	ALA335(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.96
		H14	O	LEU811(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	3.07
		6 ring	HH	TYR799(A)	H- Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond	2.41
		6 ring	SG	CYS120(A)	Other	Pi-Sulfur	5.67
		6 ring	SG	CYS813 (A)	Other	Pi-Sulfur	5.47
		6 ring	6 ring	TYR799(A)	Hydrophobic	Pi-Pi T-shaped	4.95
		6 ring	6 ring	TYR799(A)	Hydrophobic	Pi-Pi T-shaped	5.40
		6 ring	C,O	MET334(A)	Hydrophobic	Amide-Pi Stacked	4.46
				N			
		6 ring	CB	ALA123(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.29
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	3.67
		6 ring	CB	ALA335(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.96
		<b>Strictinine</b>	-14.451	O8	HE22	GLN127(A)	Hydrogen Bond

		H10	O	ALA335(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	2.59
		H11	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.76
		H12	O	GLU795(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.74
		H13	OD1	ASN138(A)	H- Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.78
		H14	OD1	ASN138(A)	H-Bond	Conventional Hydrogen Bond	1.87
		O10	HB	THR134(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.58
		O18	HD3	ARG328(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.43
		O10 H3			H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.63
		H5 O10			H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.77
		H7	OD2	ASP137(A)	H- Bond	Carbon Hydrogen Bond	2.53
		6 ring	OE1	GLU900(A)	Electrostatic	Pi-Anion	4.43
		6 ring	6 ring	TYR799(A)	Hydrophobic	Pi-Pi T-shaped	4.23
		6 ring	CB	CYS813(A)	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4.86
<b>8WX</b>	-5.270	H15	OE1	GLN127	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	2,94
		6 ring	OD2	ASP137	Electrostatic	Pi-Anion	4,72
		5 ring	OD2	ASP137	Electrostatic	Pi-Anion	4,54
		6 ring	6 ring	TYR799	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	4,54
		C4	CG	LEU809	Hydrophobic	Alkyl	4,08
		C4	6 ring	TYR802	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,02
		6 ring	CB – SG	CYS813	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,73
		6 ring	CB – CG1	ILE816	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,27
		5 ring	CG	LEU809	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,41

L'analyse des résultats obtenus dans cette étude repose sur les paramètres suivants :

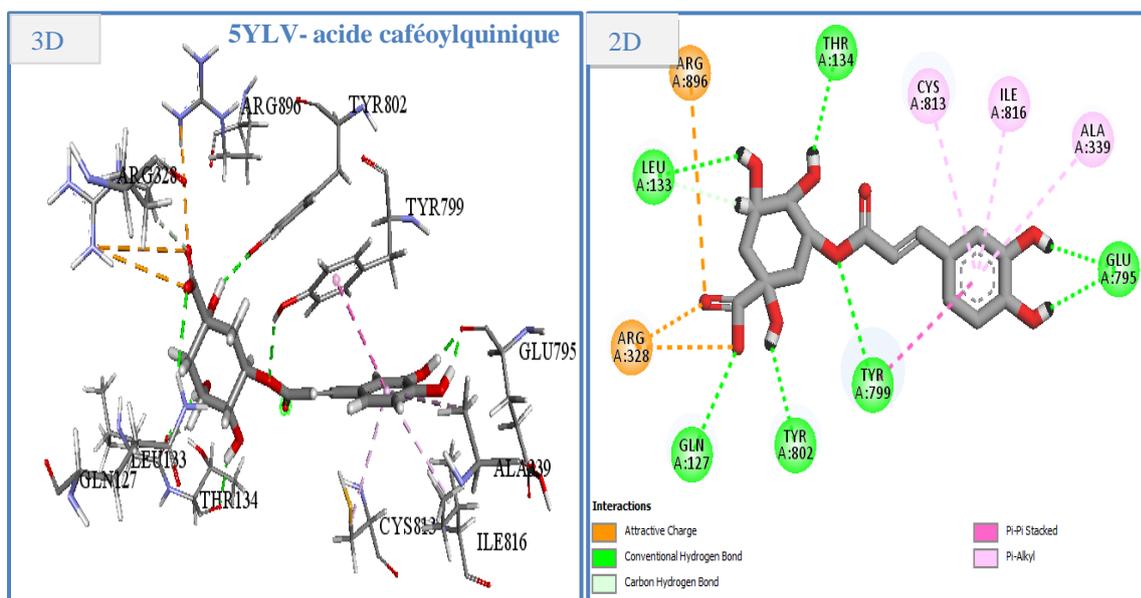
- ✚ **Energie score** : Plus la valeur énergétique d'un complexe est faible, plus le complexe est stable.
- ✚ **Liaisons hydrogène** : Plus le nombre de liaisons hydrogène est grand, plus l'affinité entre le ligand et l'enzyme est grande.

Les distances de liaison hydrogène comprises entre 2,5 et 3,1 sont considérées comme fortes et les distances entre 3,1 Å et 3,55 Å sont considérées comme modérées. Les distances supérieures à 3,55 Å sont faibles [98].

✚ **Interactions hydrophobes** : Plus le nombre des interactions est grand, plus la stabilité du complexe est grande.

Le complexe **5YLV-acide caféoylquinique** présentait une faible énergie score de  $-9,609$  Kcal/mol, indiquant une forte affinité entre le composé et la protéine. Il forme 16 interactions avec les protéines.

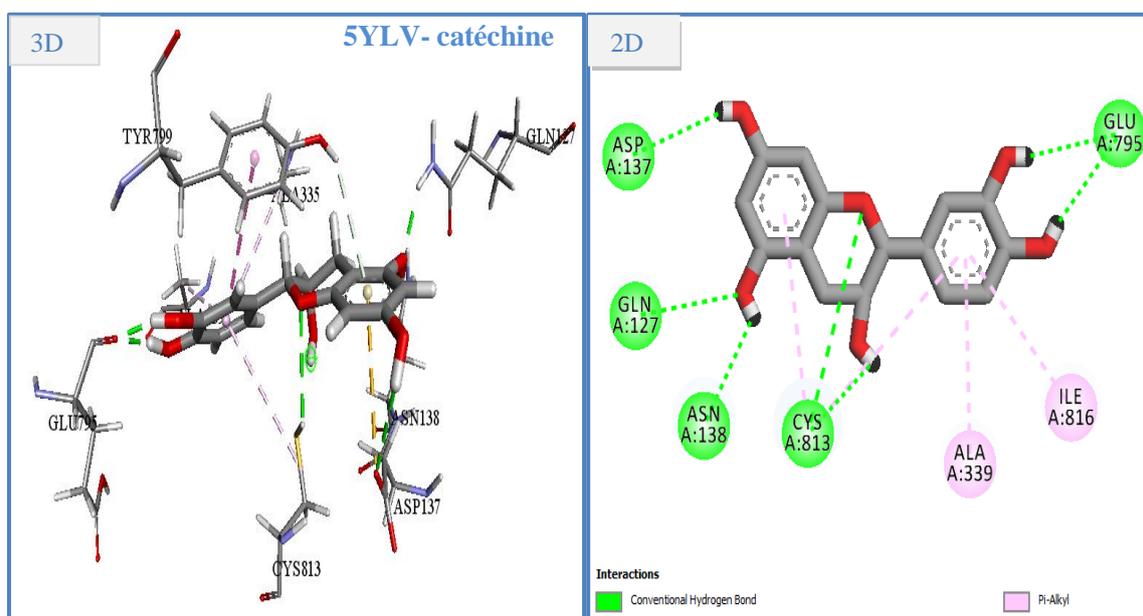
Le ligand **acide caféoylquinique** forme neuf liaisons hydrogène fortes [98]. Trois liaisons sont formées entre l'atome O du ligand et l'atome H des résidus TYR799, GLN127 et ARG328 à des distances de 2,85 Å, 2,41 Å et 2,43 Å, et six liaisons sont formées entre le ligand H et l'atome O de résidu GLU795, LEU133, THR134 et TYR802. GLU795 (distances 1,82 Å et 1,68 Å). LEU133 (distances 2,09 Å, 2,02 Å), THR134 (distances 2,35 Å), TYR802 (distances 2,55 Å). De plus, ce ligand forme quatre interactions hydrophobes. Un PI-PI est empilé avec le résidu TRY799 (distance 4,50 Å) et l'autre Pi alkyle en compagnie des résidus suivants : ALA339 (distance 5,39 Å), CYS813 (distance 4,80 Å) et ILE816 (distance 5,29 Å).



**Figure III.12:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur acide caféoylquinique naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

Ensuite, nous avons le complexe **5YLV- catéchine** a montré un faible score de docking moléculaire de -9.386 Kcal/mol, indiquant une forte affinité entre le composé et la protéine. Il forme 11 interactions avec la protéine.

Le ligand **catéchine** forme 7 liaisons hydrogène fortes [98]. Il forme 2 liaisons entre l'atome O du ligand et l'atome H des résidus GLN127 et CYS813 à des distances 2.09Å et 2.62Å, et il se forme 4 liaisons entre le ligand H et l'atome O des résidus ASN138, ASP137 et ASN138 (distance 1.76 Å). ASP137 (distance 1.94 Å). GLU795 (distance 1.86Å et 1.81 Å) et TYR802 (distance 2.55 Å), autre liaison avec résidu CYS813 (distance 2.23 Å). De plus, ce ligand forme quatre interactions hydrophobes (Pi alkyl) avec les résidus suivants : CYS813 (distance 5.28 Å et 5.37 Å), ALA339 (distances 4.39Å), et ILE816 (distance 4.92 Å).

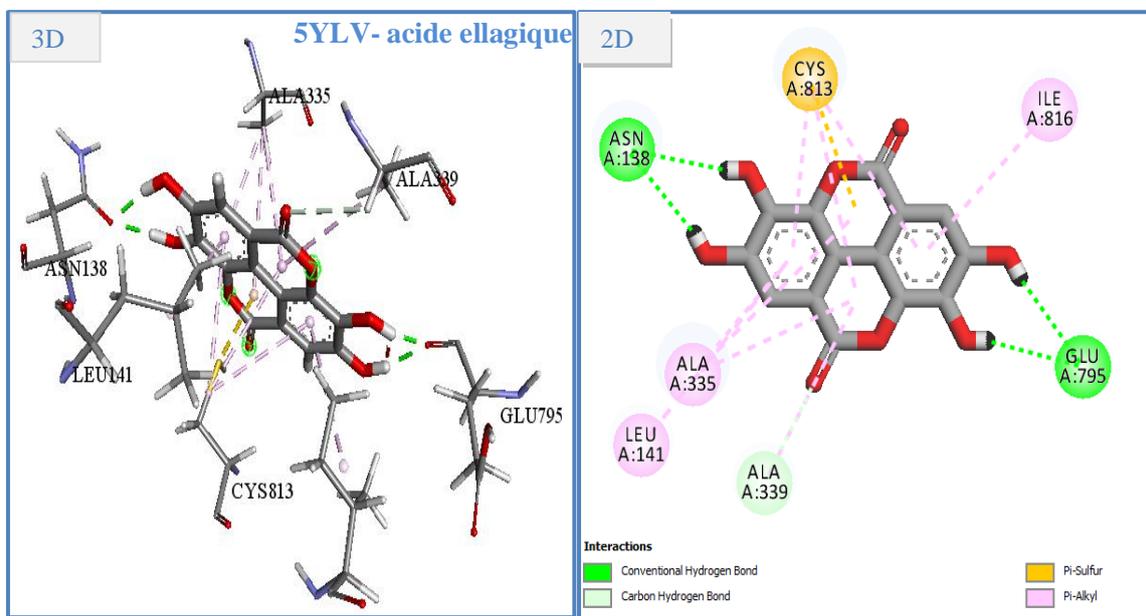


**Figure III.13:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur catéchine naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

Ainsi, Le complexe **5YLV- acide ellagique** a décrit une faible énergie score de -10.856 Kcal/mol, présentant une forte affinité entre le composé et la protéine. Il forme 15 interactions avec la protéine.

On observe le ligand **acide ellagique** forme 8 liaisons hydrogène fortes [98]. Il forme une liaison entre l'atome O du ligand et l'atome H de résidus ALA339 (distances 3.02Å), et il se forme 4 liaisons entre le ligand H et l'atome O des résidus ASN138 (distance 1.84Å et 1.80 Å) et GLU795 (distance 1.83Å et 1.74 Å). Également, ce ligand forme 4 interactions

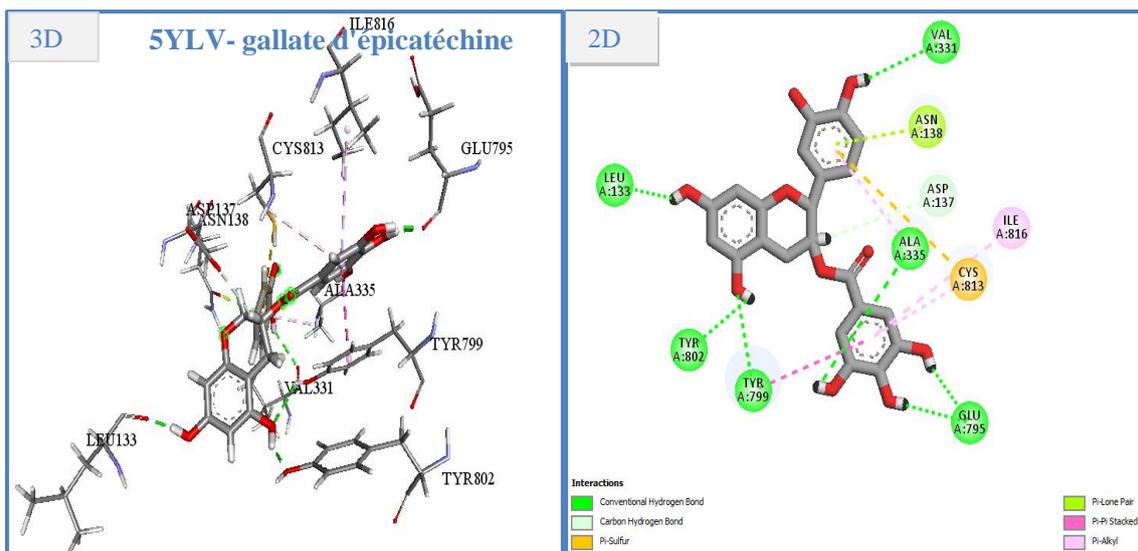
hydrophobes (Pi alkyl) les résidus suivants : CYS813 (distances 4.43 Å, 4.39Å et 4.67 Å), ALA335 (distances 3.87 Å, 4.63 Å et 5.07Å), et ILE816 (distance 5.36 Å), LEU141 (distances 5.34 Å) et ALA339 (distances 4.63 Å).



**Figure III.14:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur acide ellagique naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

Le complexe **5YLV- gallate d'épicatéchine** présentait une faible valeur d'énergie score de -11 533 Kcal/mol, indiquant une forte affinité entre le composé et la protéine. Il forme 14 interactions avec les protéines,

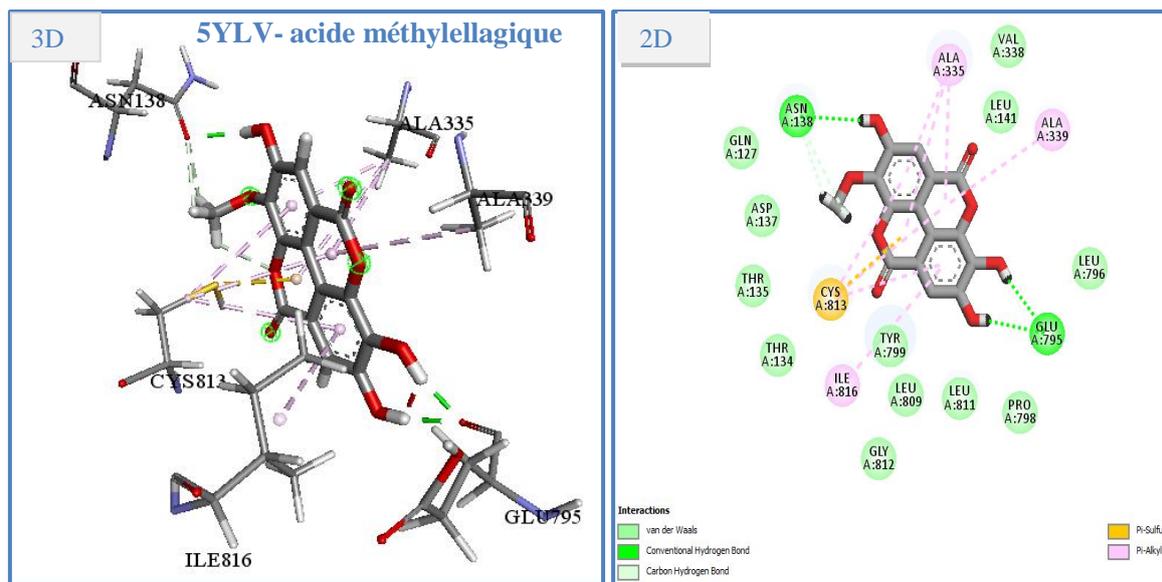
Nous trouvons le ligand **gallate d'épicatéchine** forme huit liaisons hydrogène fortes [98]. Celui-ci forme des liaisons entre l'atome O du ligand et l'atome H du résidu : TYR802 (distance 1,95 Å), quatre liaisons se forment entre le ligand H et l'atome O du résidu GLU795 (distances 1,74 Å et 1,81 Å). Et TYR799 (distance 2,86 Å), LEU133 (distance 1,55 Å), VAL331 (distance 2,57 Å), ALA335 (distance 2,58 Å) et ASP137 (distance 2,70 Å). Un PI-PI est empilé avec le résidu TRY799 (distance 4,32 Å) et l'autre Pi alkyle les résidus suivants : ALA335 (distance 3,90 Å), CYS813 (distance 4,79 Å) et ILE816 (distance 5,49 Å).



**Figure III.15:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur gallate d'épicatéchine naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

D'une part, ce complexe **5YLV- acide méthylellagique** décrit une faible énergie score moléculaire de -9.431 Kcal/mol, indiquant une forte affinité entre le composé et la protéine. Il forme 14 interactions avec la protéine.

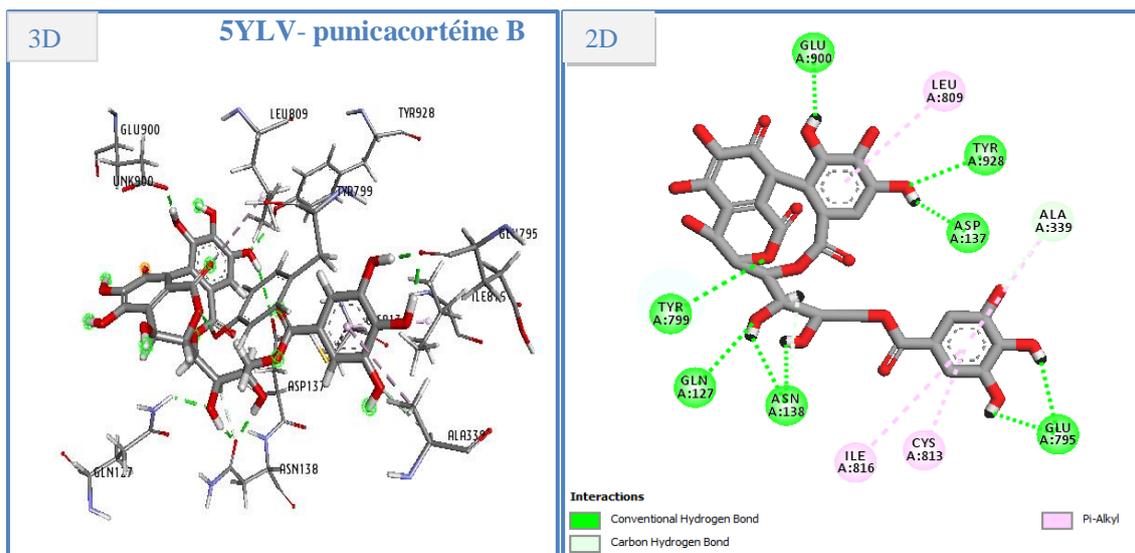
On a le ligand **acide méthylellagique** forme 9 liaisons hydrogène fortes [98]. Il se forme 5 liaisons entre le ligand H et l'atome O des résidus : GLU795 (distances 1.83Å et 1.74 Å), ASN138 (distances 1.98 Å, 2.58 Å et 2.54 Å). Non seulement, il y a 8 interactions hydrophobes Pi alkyl les résidus suivants : ALA335 (distances 3.75 Å, 4.59 Å et 5.07Å), ALA339 (distances 4.38 Å), CYS813 (distances 4.55 Å, 4.68 Å et 4.66 Å) et ILE816 (distance 5.38 Å).



**Figure III.16:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur acide méthylellaginate naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLv.

D'autre part, nous trouvons que le complexe **5YLv- puniacortéine B** a une faible énergie score de -12.735 Kcal/mol, exhibant au complexe une forte affinité. Il forme 15 interactions avec la protéine.

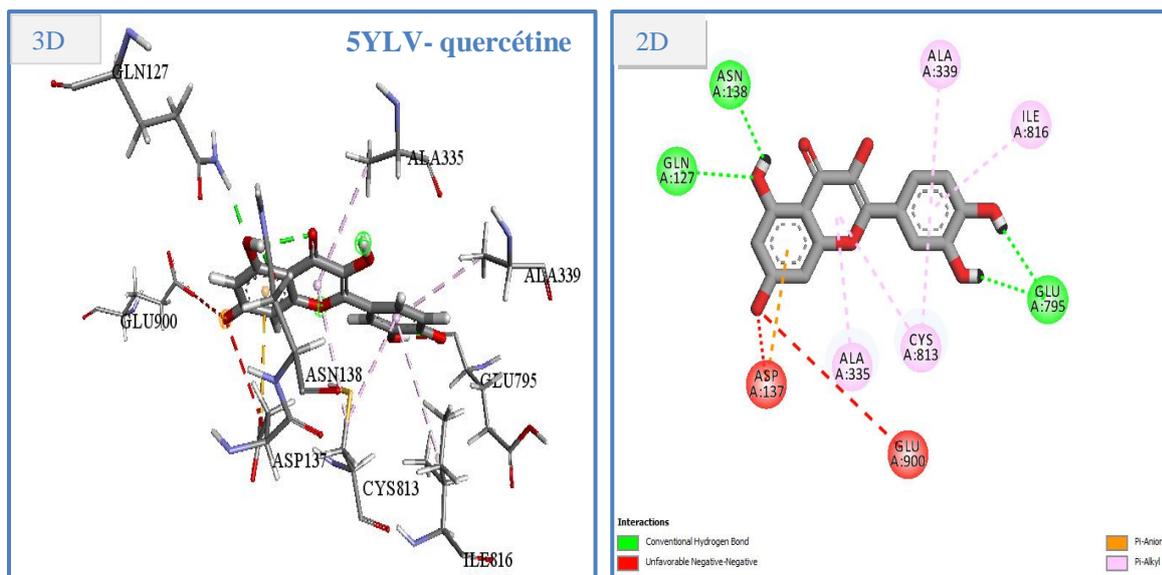
Or, le ligand **puniacortéine B** forme 11 liaisons hydrogène fortes [98]. Il forme 4 liaisons entre l'atome O du ligand et l'atome H de résidus : GLN127 (distances 2.03 Å), TYR799 (distances 2.11 Å), TYR928 (distances 2.03 Å) et ALA339 (distances 2.96 Å) et il se forme 7 liaisons entre le ligand H et l'atome O des résidus GLU795 (distance 1.60 Å et 1.83 Å) et ASP137 (distances 2.97 Å), GLU900 (distances 1.47 Å), ASN138 (distances 1.74 Å, 2.45 Å et 1.83 Å). En plus, ce ligand forme 4 interactions hydrophobes Pi alkyl les résidus suivants : ALA339 (distance 4.92 Å), CYS813 (distance 4,69 Å) et ILE816 (distance 5.17 Å) et LEU809 (distance 4.93 Å).



**Figure III.17** : Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur punicacortéine B naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

Encore, on constate que le complexe **5YLV- quercétine** a une faible énergie score de -9.036 Kcal/mol, indiquant une forte affinité entre le composé et la protéine. Il forme 11 interactions avec la protéine.

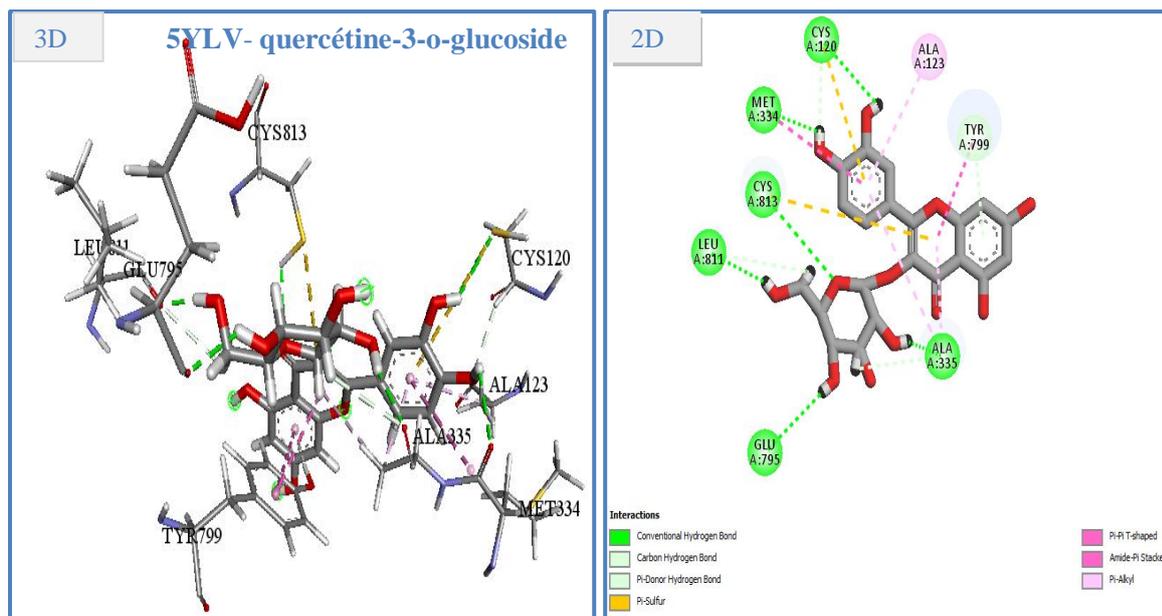
A cause de le ligand **quercétine** forme 4 liaisons hydrogène fortes [98]. Il forme une liaison entre l'atome O du ligand et l'atome H de résidu: GLN127 (distances 1.94 Å) et il se forme 3 liaisons entre le ligand H et l'atome O des résidus ASN138 (distances 1.93 Å) et GLU795 (distance 1.80 Å et 1.83 Å). En outre, ce ligand forme 5 interactions hydrophobes Pi alkyl les résidus suivants : ALA339 (distance 4.48 Å), CYS813 (distance 4,73 Å et 4.53) et ILE816 (distance 5.15 Å).



**Figure III.18:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur quercétine naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

Dans ce cas, le complexe **5YLV- quercétine-3-o-glucoside** représente une faible énergie score de  $-9.933$  Kcal/mol, indiquant une forte affinité entre le composé et la protéine. Il forme 18 interactions avec la protéine,

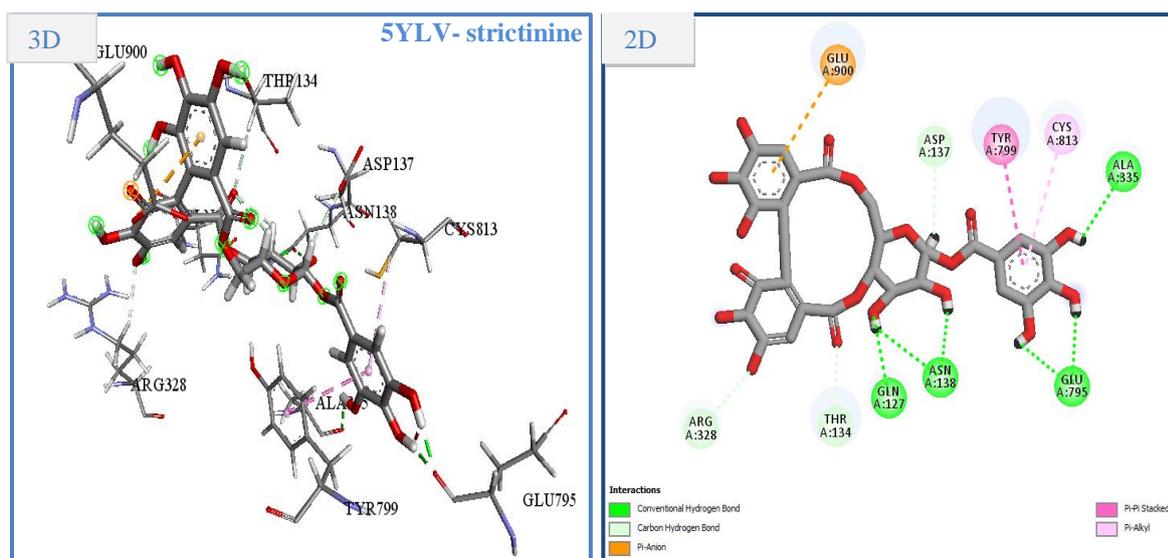
Ce ligand **quercétine-3-o-glucoside** forme 10 liaisons hydrogène fortes [98]. deux liaisons entre l'atome O du ligand et l'atome H des résidus: CYS120 (distances  $2.73$  Å), CYS813 (distance  $2.67$  Å) et six liaisons entre le ligand H et l'atome O des résidus ALA335 (distances  $2.21$  Å et  $2.96$  Å), LEU811 (distance  $1.78$  Å et  $3.07$  Å), une liaison entre l'atome H de ligand et l'atome S de résidu CYS120 (distance  $2.41$  Å) et autre liaison entre l'atome H et le cycle aromatique 6 avec résidu TYR799 (distance  $2.41$  Å). Mais encore, ce ligand forme 6 interactions hydrophobes Pi alkyl les résidus suivants : ALA123 (distance  $4.29$  Å), ALA335 (distance  $3.67$  Å et  $4.96$  Å) et deux interaction Pi-Pi T-shaped avec les résidus TYR799 (distance  $5.40$  Å et  $4.95$  Å), la dernière une interaction Amide-Pi Stacked avec les 2 résidus ALA335 (atome N) et MET334 (atomes C, O) et le cycle aromatique 6 de ligand (distance  $4.46$  Å).



**Figure III.19:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur quercétine-3-o-glucoside naturel avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

Enfin, nous observons que le complexe **5YLV- strictinine** a montré une faible énergie score de -14.451 Kcal/mol, indiquant une forte affinité entre le composé et la protéine. Il forme 14 interactions avec la protéine,

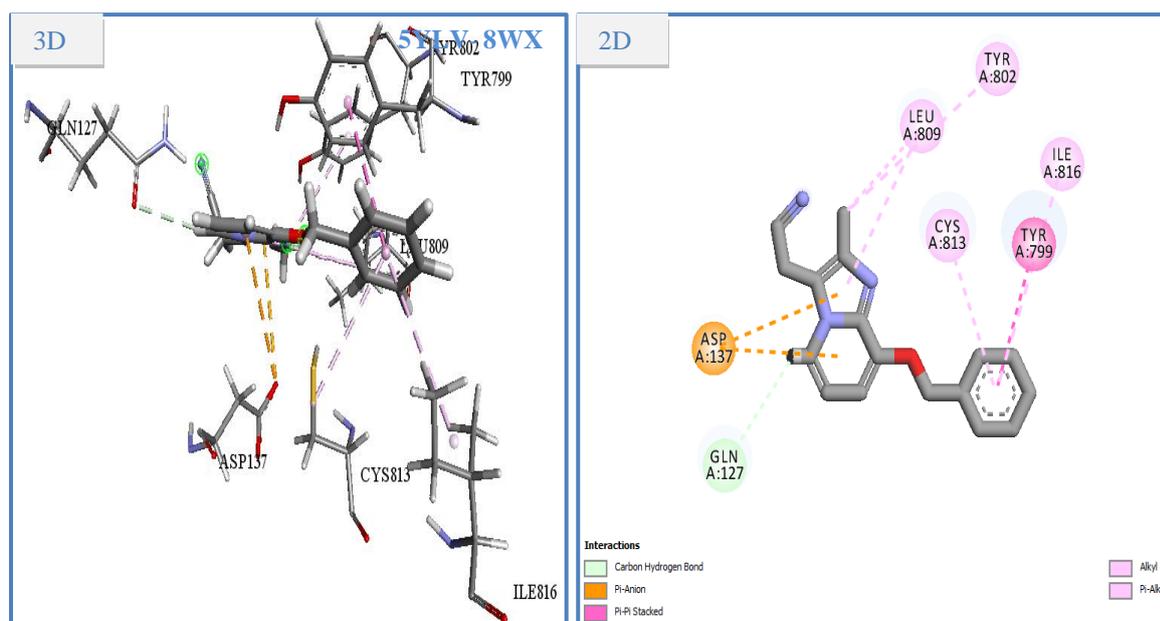
On a le ligand **strictinine** forme 9 liaisons hydrogène fortes [98]. Trois liaisons entre l'atome O du ligand et l'atome H des résidus: GLN127 (distances 1.89 Å), THR134 (distance 2.58 Å) et ARG328 (distances 2.43 Å) et cinq liaisons entre le ligand H et l'atome O des résidus ALA335 (distances 2.53 Å), GLU795 (distances 1.76 Å et 1.74 Å), ASN138 (distance 1.78 Å et 1.87 Å) et ASP137 (distances 2.59 Å). D'autre part, il y a deux interactions hydrophobes Pi alkyl les résidus suivants : TRY799 (distance 4.23 Å), CYS813 (distance 4.86 Å), la dernière une interaction électrostatique avec le résidu GLU900 (distance 4.43 Å).



**Figure III.20:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur strictinine naturelle avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

Par contre, Le complexe **5YLV- 8WX** a décrit une faible énergie score de -5.270 Kcal/mol, indiquant une moyenne affinité entre le composé et la protéine. Il forme 9 interactions avec la protéine,

Ce ligand **8WX** forme une liaison hydrogène forte [98] entre l'atome H du ligand et l'atome O de résidu : GLN127 (distances 2.94 Å). Non seulement, on trouve le ligand forme 6 interactions hydrophobes : Pi alkyl les résidus TRY802 (distance 5.02 Å), CYS813 (distance 4.73 Å), ILE816 (distance 5.27 Å) et LEU802 (distance 5.41 Å) après il y a Alkyl avec LEU802 (distance 4.08 Å), la dernière Pi-Pi Stacked avec le résidu TRY799 (distance 4.54 Å).



**Figure III.21:** Projection 2D, 3D des interactions de l'inhibiteur référence 8WX avec les résidus de chaîne latérale du site actif de la 5YLV.

### III.2. Évaluation des propriétés ADME :

#### III.2.1. Propriétés physico-chimiques :

À partir d'études précédentes, nous avons identifié 9 composés comme étant les meilleurs inhibiteurs comparant au ligand de référence. Pour des études plus détaillées, évaluez les propriétés moléculaires de ces composés selon différentes règles.

**Tableau III.7:** Différents paramètres physico-chimique pour les meilleurs ligands et les résidus du site actif de la pompe proton H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase.

Ligands	Propriétés physico-chimique						Drug Likeness		
	TPSA (Å <sup>2</sup> )	n-ROT	MW (g/mol)	MLogP	n-HA	n-HD	Lipinski	Veber	Egan
				WLogP					
(0~140)	(0~11)	(100~500)	(0~5)	(0~12)	(0~7)				
Acide caféoylquinique	141.587	4	354.311	-1.05	8	6	Acceptée	Non acceptée	Non acceptée
				-0.75					
Catéchine	119.662	1	290.271	0.24	6	5	Acceptée	Acceptée	Acceptée
				1.22					
Acide ellagique	118.565	0	302.194	0.14	8	4	Acceptée	Non acceptée	Non acceptée
				1.31					

<b>Gallate d'épicatéchine</b>	179.948	3	442.376	0.05	10	7	Acceptée	Non acceptée	Non acceptée
				2.20					
<b>Acide méthylellagique</b>	125.249	1	316.221	0.4	8	3	Acceptée	Acceptée	Acceptée
				1.62					
<b>Punicacortéine B</b>	248.174	5	634.455	-2.83	18	12	Non acceptée	Non acceptée	Non acceptée
				-0.93					
<b>Quercétine</b>	122.108	1	302.238	-0.56	7	5	Acceptée	Acceptée	Acceptée
				1.99					
<b>Quercétine-3-O-glucoside</b>	183.901	4	464.379	-2.59	12	8	Non acceptée	Non acceptée	Non acceptée
				-0.54					
<b>Strictinine</b>	248.494	2	634.455	-2.42	18	12	Non acceptée	Non acceptée	Non acceptée
				-0.3					

D'abord, l'analyse des résultats obtenus montre que les ligands **Catéchine**, **Acide méthylellagique** et **Quercétine** présentent un nombre important de liaisons hydrogène donateurs <7 (n-HD : (0~7)) et accepteurs <12 (nHA : (0~12)). De plus, le poids moléculaire de ces composés est compris entre 100 et 500 g/mol, les valeurs MLogP entre -0.56 et 0.4, une mesure supplémentaire de la flexibilité d'un composé connue sous le nom de nombre de liaisons rotatives (NRB); Les valeurs nROTB sont <11. D'autre part, ces composés ont des leurs valeurs de TPSA inférieures à 140 Å, ceci signifie que tous ces composés sont peuvent traverser la barrière hémato-gastrique. De plus, nous pouvons observer que les composés respectent les 3 règles (Lipinski, Veber et Egan). Ces résultats confirment que ces ligands n'induisent pas de biodisponibilité orale, possèdent de bonnes propriétés physicochimiques et peuvent être sélectionnés comme inhibiteurs de la maladie d'ulcère gastrique.

Ensuite, l'analyse des résultats obtenus présente que les ligands **Acide caféoylquinique**, **Acide ellagique** et **Gallate d'épicatéchine** présentent un nombre important de liaisons hydrogène donateurs <7 (n-HD : (0~7)) et accepteurs <12 (nHA : (0~12)). Non seulement, le poids moléculaire de ces composés est compris entre 100 et 500 g/mol, les valeurs MLogP entre -1.05 et 0.14, et une mesure supplémentaire de la flexibilité d'un composé connue sous le nom de nombre de liaisons rotatives (NRB); Les valeurs nROTB sont <11. D'autre part, ces composés ont des leurs valeurs de TPSA supérieures à 140 Å, ceci signifie que ces composés ne sont pas capables de traverser la barrière hémato-gastrique. De plus, nous pouvons observer que les composés respectent une seule règle Lipinski.

Enfin, L'analyse des résultats obtenus décrit les ligands **Punicacortéine B**, **Quercétine-3-O-glucoside** et **Strictinine** présentent un nombre important de liaisons hydrogène donneurs >7 et accepteurs >12. De plus, le poids moléculaire de ces composés est compris >500 g/mol sauf **Quercétine-3-O-glucoside**, les valeurs MLogP entre -2.83 et -2.42, et une mesure supplémentaire de la flexibilité d'un composé connue sous le nom de nombre de liaisons rotatives (NRB); Les valeurs nROTB sont <11. D'autre part, ces composés ont des leurs valeurs de TPSA supérieures à 140 Å, ceci signifie que tous ces composés ne sont pas capables de traverser la barrière hémato- gastrique. De plus, nous pouvons observer que les composés ne respectent pas les 3 règles (Lipinski, Veber et Egan).

### III.2.2. Propriétés pharmacocinétiques :

L'étude du profil ADMET des 9 composés est d'une grande importance pour comprendre la capacité de ces composés à produire les effets thérapeutiques souhaités et pour éviter l'apparition d'effets secondaires pouvant conduire à des résultats négatifs. D'autre part, l'objectif prédictif d'ADMET permet également de déterminer plus facilement le meilleur composé potentiel parmi l'ensemble des composés obtenus.

**Tableau III.8:** ADMET/propriétés pharmacocinétiques des composés choisie.

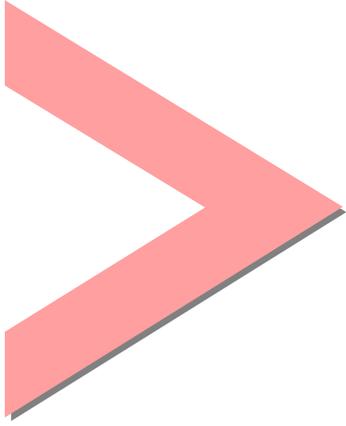
ADME	Paramètres	Acide caféoylquinique	Catéchine	Acide ellagique	Gallate d'épicatéchine	Acide méthyléllagique	Punicacortéine B	Quercétine	Quercétine-3-O-glucoside	Strictinine
Absorption	Caco2 (10-6 cm/s)	-0.84	-0.283	0.335	-1.264	-0.046	-2.806	-0.229	0.242	-1.098
	HIA %	36.377	68.829	86.684	62.096	100	98.303	77.207	47.999	67.513
Distribution	CNS (log PS)	-3.856	-3.298	-3.533	-3.743	-3.426	-5.031	-3.065	-4.093	-5.075
	BBB (log BB)	-1.407	-1.054	-1.272	-1.847	-1.334	-2.855	-1.098	-1.688	-2.612
Métabolisme	CYP1A2 inhibitor	No	No	Yes	No	Yes	No	Yes	No	No
	CYP2C19 Inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No

	<b>CYP2D6 substrate</b>	No	No	No	No	No	No	No	No	No
	<b>CYP3A4 substrate</b>	No	No	No	No	No	No	No	No	No
<b>Excrétion</b>	<b>Renal OCT2 substrate</b>	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes
	<b>Total Clearance (log mL/min/kg)</b>	0.307	0.183	0.537	-0.169	0.607	0.115	0.407	0.394	0.265
<b>Toxicité</b>	<b>Hepatotoxicity</b>	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No
	<b>Toxicité AMES</b>	No	No	No	No	No	No	No	No	No

D'après l'analyse du tableau III.8, on peut noter que :

- 1- Les composés ont des valeurs Caco-2 supérieures à  $-5,15$  ( $> -5,15$  cm/s), confirmant que ces composés ont une bonne perméabilité. De plus, tous les composés semblent avoir des valeurs HIA supérieures à 30 %. Cela signifie que les candidats administrés par voie orale sont absorbés dans la circulation sanguine du corps humain via le système gastro-intestinal.
- 2- Les composés sont incapables de pénétrer dans le SNC, comme le confirment les valeurs  $\log PS$  comprises entre:  $-3 < \log PS < -2$ . De plus, les molécules avec des valeurs de  $\log BBB$  supérieures à 0,3 peuvent facilement traverser la barrière, tandis que les composés avec des valeurs de  $\log BBB$  inférieures à -1 sont mal distribués dans le cerveau [99]. Les composés ont des valeurs  $\log BBB$  inférieurs à -1 et donc mal distribués dans le cerveau. (Tableau III.8).
- 3- Les données de ce tableau peuvent indiquer que tous les composés ne sont pas des inhibiteurs du CYP1A2, du CYP2C19, du CYP2D6 et du CYP3A4 à l'exception du fait que les ligands acide ellagique, acide méthylellagique et quercétine sont des inhibiteurs du CYP1A2.
- 4- Une analyse plus approfondie du tableau a révélé que tous les candidats n'étaient probablement pas des substrats OCT2. De plus, il apparaît clairement que ces composés ont une faible clairance excrétrice. ( $< 5$  mL/min/kg) (Tableau III.8).

- 5- De plus, à l'exception de ligand methylellagic acid, tous ces composés ne présentent pas un risque d'hépatotoxicité. Cependant, tous les composés ne présentent pas de toxicité AMES.



# **Conclusion**

## **générale**

## Conclusion générale

---

Les techniques thérapeutiques à base de plantes, aujourd'hui appelées phytothérapie, sont utilisées depuis l'aube de l'humanité. Après un déclin temporaire dû à l'essor de la chimie moléculaire, la phytothérapie connaît un regain d'intérêt au cours de la dernière décennie, couplé à la nécessité de revenir aux thérapies dites « naturelles ».

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'une recherche dont l'objectif principal est d'explorer de nouveaux principes actifs dans les plantes médicinales pour promouvoir la médecine traditionnelle et de diminuer la sécrétion d'acide gastrique pour protéger la muqueuse gastrique.

Ce travail divise en deux parties principales :

Dans l'étude phytochimie, on a réalisé une analyse des métabolites secondaires par le criblage phytocimique. D'après les résultats, On trouve l'écorce de grenade est riche de composés polyphénols «flavonoïdes, tanins ». L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par différents méthodes : la méthode Soxhlet sous l'action de quatre solvants différents de polarité croissante et la méthode macération par deux solvants hexane et acétate d'éthyle, les résultats découvrent des extraits bruts avec des rendements acceptables. Encore, une extraction d'huile essentielle par Hydrodistillation montrant un faible rendement. La quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et tanins condensés a été déterminé par analyse colorimétrique. Les résultats obtenus ont montré la teneur la plus élevée en polyphénols totaux c'est l'extrait Acétate d'éthyle par macération ( $1422.93 \pm 125.5 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait), l'extrait méthanol Soxhlet ( $173.16 \pm 4.5 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait) plus riche en flavonoïdes totaux et en tanins condensés.

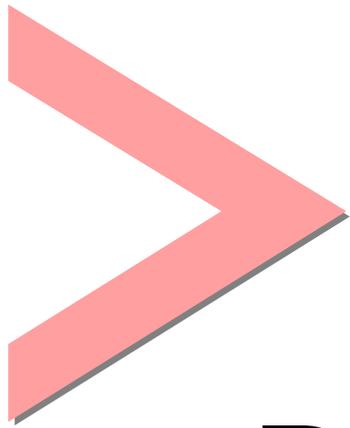
Dans l'étude in silico, Nous avons choisi une série des principales molécules présentées dans l'écorce de grenade qui on a trouvé dans les extraits obtenus dans l'étude phytochimique et nous avons étudié l'affinité de cette série des phyto-molécules et l'enzyme de pompe à proton  $\text{H}^+/\text{K}^+$  ATPase responsable de la maladie ulcère gastrique, grâce à la simulation par docking moléculaire. On trouve que les molécules **Acide caféoylquinique**, **Catéchine**, **Acide ellagique**, **Gallate d'épicatéchine**, **Acide méthylellagique**, **Punicacortéine B**, **Quercétine**, **Quercétine-3-o-glucoside** et **Strictinine** sont les meilleurs inhibiteurs à cause de l'énergie de score faible, les différents interactions (les liaisons hydrogène et hydrophobiques) avec les résidus de site actif. Après le calcul des différentes propriétés **ADME-Tox**, nous avons trouvé que trois ligands respectent les règles Lipinski, Veber et Egan sont **Catéchine**, **Acide méthylellagique** et **Quercétine**. Ils ne possèdent pas un problème de la biodisponibilité.

## Conclusion générale

---

Finally, according to the results of previous studies, it can be concluded that the molecules **Catechin**, **Acide méthylgallique** and **Quercétine** are the best candidates for treating gastric ulcer and good inhibitors of the proton H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase.

These results constitute a first step in the search for molecules of a naturally biologically active source. It would be interesting to complete this work with studies *in vitro* and *in vivo*.



**Références**

**Bibliographiques**

# Références Bibliographiques

---

## Références Bibliographiques :

- [1] Dagmar Lange. Medicinal and Aromatic Plants: Trade, Production, and Management of Botanical Resources. *Future for Medicinal and Aromatic Plants*. 2004; 177-197.
- [2] Lapraz, J.C ; Duraffourd, C.2002.Traité de Phytothérapie Clinique. Editions : Masson.Paris. 864 p.
- [3] SghirTaleb M. Aromatic and Medicinal Plants in Morocco: Diversity and Socio-Economic Role. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*. 2017; 11(12),
- [4] Gimenez, F., Brazier, M., Calop, J., Dine, T., Tchiakpé, L., Claerbout, J. F. (2000). Traitement de l'ulcère gastro-duodénal dans *Pharmacie Clinique et Thérapeutique*, Edition Masson, Paris, 1065 p.
- [5] Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2017). *Manuel d'anatomie et de physiologie humaine*. De Boeck supérieur.
- [6] Bessede, E. (2012). Etude des mécanismes de la carcinogénèse gastrique induite par *Helicobacter pylori* impliquant la transition épithélio-mésenchymateuse (Doctoral dissertation, Bordeaux 2).
- [7] Nassima, A. (2022). EFFETS DU MIEL D'EUPHORBE SUR LES ULCERES GASTRIQUES CHEZ LES RATS (Doctoral dissertation, Institut des sciences vétérinaires).
- [8] Prucksunand, C, Indrasukhsri, B., Leethochawalit, M., & Hungspreugs, K. (2001). Phase II clinical trial on effect of the long turmeric (*Curcuma longa* Linn.) on healing of peptic ulcer. *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 32(1), 208-215.
- [9] Yanez, M. A., Barbera, V. M., Soria, E., & Catalán, V. (2009). Quantitative detection of *Helicobacter pylori* in water samples by real-time PCR amplification of the *cag* pathogenicity island gene, *cagE*. *Journal of applied microbiology*, 107(2), 416-424.
- [10] Etienne-Selloum, N., & Faure, S. (2015). *Du mécanisme d'action des médicaments à la thérapeutique: sciences du médicament*. Elsevier Masson.

## Références Bibliographiques

---

- [11] Sachs, G., Shin, J. M., & Howden, C. W. (2006). The clinical pharmacology of proton pump inhibitors. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 23, 2-8.
- [12] Flemstrom, G., & Isenberg, J. I. (2001). Gastroduodenal mucosal alkaline secretion and mucosal protection. *Physiology*, 16(1), 23-28.
- [13] Allen, A., & Flemström, G. (2005). Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 288(1), C1-C19.
- [14] Bornstein, J. C., & Furness, J. B. (1988). Correlated electrophysiological and histochemical studies of submucous neurons and their contribution to understanding enteric neural circuits. *Journal of the autonomic nervous system*, 25(1), 1-13.
- [15] Feldman, M., & Barnett, C. (1995). Relationships between the acidity and osmolality of popular beverages and reported postprandial heartburn. *Gastroenterology*, 108(1), 125-131.
- [16] Shin, J. M., & Sachs, G. (2008). Pharmacology of proton pump inhibitors. *Current gastroenterology reports*, 10(6), 528-534.
- [17] Lanás, Á., & Scarpignato, C. (2006). Microbial flora in NSAID-induced intestinal damage: a role for antibiotics?. *Digestion*, 73(Suppl. 1), 136-150.
- [18] Takeuchi, K. (2010). Prostaglandin EP receptors and their roles in mucosal protection and ulcer healing in the gastrointestinal tract. *Advances in clinical chemistry*, 51, 121.
- [19] Peskar, B. M. (2001). Role of cyclooxygenase isoforms in gastric mucosal defence. *Journal of Physiology-Paris*, 95(1-6), 3-9.
- [20] Wallace, J. L. (2008). Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself?. *Physiological reviews*, 88(4), 1547-1565.
- [21] Konturek, S. J., Brzozowski, T., Piastucki, I., Radecki, T., Dembiński, A., & Dembińska-Kieć, A. (1982). Role of locally generated prostaglandins in adaptive gastric cytoprotection. *Digestive Diseases and Sciences*, 27, 967-971.
- [22] Laine, L. (2001). Approaches to nonsteroidal anti-inflammatory drug use in the high-risk patient. *Gastroenterology*, 120(3), 594-606.
- [23] Tarnawski, A. S. (2005). Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Digestive diseases and sciences*, 50, S24-S33.

## Références Bibliographiques

---

- [24] Laine, L., Takeuchi, K., & Tarnawski, A. (2008). Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology*, 135(1), 41-60.
- [25] Konturek, S. J., Brzozowski, T., Majka, J., Pytko-Polonczyk, J., & Stachura, J. (1993). Inhibition of nitric oxide synthase delays healing of chronic gastric ulcers. *European journal of pharmacology*, 239(1-3), 215-217.
- [26] Tarnawski, A. (2000). Molecular mechanisms of ulcer healing. *Drug news & perspectives*, 13(3), 158-168.
- [27] Mustapha, P. (2011). Etude des interactions entre *Helicobacter pylori* et les cellules épithéliales gastriques (Doctoral dissertation, Université de Poitiers).
- [28] Boeyaert, T. (2018). *Helicobacter Pylori: physiopathologie et stratégies thérapeutiques. Intérêt de la quadrithérapie bismuthée* (Doctoral dissertation).
- [29] Gimenez, F. (2011). *Pharmacie clinique et thérapeutique*. Elsevier Health Sciences.
- [30] Intitulée, A. N. (2022). Etude bibliographique sur les ulcères gastriques chez les animaux (Doctoral dissertation, Institut des sciences vétérinaires).
- [31] Sokić-Milutinović, A., Krstić, M. N., Popović, D., Mijalković, N. S., Đuranović, S., & Čulafić, Đ. (2007). Role of *Helicobacter pylori* infection and use of NSAIDs in the etiopathogenesis of upper gastrointestinal bleeding. *Acta chirurgica Iugoslavica*, 54(1), 51-62.
- [32] Salwa, O. (2012). Ulcère gastro-duodéal: prise en charge thérapeutique et accompagnement à l'officine.
- [33] SLEDZIANOWSKI, J. F. G. (2007). SUC B Traitement chirurgical des ulcères gastroduodénaux non compliqués. *Encyclopédie Médico-chirurgicale 9-022-A-15. Acta Chir Iugosl*, 54(1), 51-62.
- [34] Bouyssou, C. (2014). *Helicobacter pylori: l'essentiel pour comprendre*. *Actualités pharmaceutiques*, 53(536), 20-24.
- [35] Céleste, J. Étude comparative du traitement de l'arthrose et de l'ulcère gastrique chez l'Homme et le cheval.
- [36] Pfaender, S., Perrier, A., & Nendaz, M. (2006). Prévention primaire de l'ulcère gastro-duodéal: quelles évidences?. *Revue médicale suisse*, 83, 2337.

## Références Bibliographiques

---

- [37] Lanas, A., & Chan, F. K. (2017). Peptic ulcer disease. *The Lancet*, 390(10094), 613-624.
- [38] Malfertheiner, P., Chan, F. K., & McColl, K. E. (2009). Peptic ulcer disease. *The lancet*, 374(9699), 1449-1461.
- [39] Schubert, M. L., & Peura, D. A. (2008). Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology*, 134(7), 1842-1860.
- [40] ADOUANE, S. (2016). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
- [41] Merritt, A. M. (2003). *The equine stomach: a personal perspective (1963-2003)*.
- [42] Bell, R. J., Mogg, T. D., & Kingston, J. K. (2007). Equine gastric ulcer syndrome in adult horses: a review. *New Zealand veterinary journal*, 55(1), 1-12.
- [43] Wiart, M. (2015). Prescription en milieu hospitalier des inhibiteurs de la pompe à protons: à tort ou à raison? (Doctoral dissertation, éditeur inconnu).
- [44] Schmidt, K. L., Henagan, J. M., Smith, G. S., Hilburn, P. J., & Miller, T. A. (1985). Prostaglandin cytoprotection against ethanol-induced gastric injury in the rat: a histologic and cytologic study. *Gastroenterology*, 88(3), 649-659.
- [45] Kangwan, N., Park, J. M., Kim, E. H., & Hahm, K. B. (2014). Quality of healing of gastric ulcers: natural products beyond acid suppression. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 5(1), 40.
- [46] Awaad, A. S., El-Meligy, R. M., & Soliman, G. A. (2013). Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *Journal of Saudi chemical society*, 17(1), 101-124.
- [47] Lairini, S., Bouslamti, R., Zerrouq, F., & Farah, A. (2014). Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante (Enhancement of the aqueous extract of the bark of *Punica granatum* fruit through the study of its antimicrobial and antioxidant activities). *J Mater Environ Sci*, 5(S1), 2314-2318.
- [48] Fawole, O. A., & Opara, U. L. (2013). Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. *Scientia Horticulturae*, 159, 152-161.

## Références Bibliographiques

---

- [49] Zeghad ep Bououden, N., Belkhiri, A., & Demeyer, K. Evaluation des propriétés biopharmacologiques, standardisation chimique et valorisation des agroressources fonctionnelles cas de *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* et *Opuntia ficus-indica* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- [50] Spichiger, R. E., & Jeanmonod, D. (2002). Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. PPUR presses polytechniques.
- [51] Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 177-206.
- [52] Mertens-Talcott, S. U., & Percival, S. S. (2005). Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells. *Cancer letters*, 218(2), 141- 151.
- [53] Elodie, W. A. L. D. (2009). LE GRENADIER (*PUNICA GRANATUM*): Plante historique et évolutions.
- [54] Zoubida, K. M., Elothmani, D., & Boutekrabt Benhadja, L. (2015). Morphological and physicochemical characteristics of three pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in northern Algeria. *Fruits*, 71(1), 17-26.
- [55] Ambigaipalan, P., de Camargo, A. C., & Shahidi, F. (2017). Identification of phenolic antioxidants and bioactives of pomegranate seeds following juice extraction using HPLC-DAD-ESI-MSn. *Food Chemistry*, 221, 1883-1894.
- [56] Seeram, N. P., Lee, R., & Heber, D. (2004). Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. *Clinica chimica acta*, 348(1-2), 63-68.
- [57] Spiller, G. A., & Spiller, M. (2007). Tout savoir sur les fibres. Les Éditions le mieux-être.
- [58] Seeram, N. P., Adams, L. S., Henning, S. M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M. G., & Heber, D. (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in

## Références Bibliographiques

---

- combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(6), 360-367.
- [59] Adams, L. S., Seeram, N. P., Aggarwal, B. B., Takada, Y., Sand, D., & Heber, D. (2006). Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(3), 980-985.
- [60] Bhatnagar, P., Pant, A. B., Shukla, Y., Patel, D. K., Khanna, V. K., & Rai, S. P. (2014). Neuroprotective effects of pomegranate juice against rotenone-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochemical research*, 39(9), 1672-1682.
- [61] Rosillo, M. A., Sánchez-Hidalgo, M., Sánchez-Fidalgo, S., Aparicio-Soto, M., González-Benjumea, A., & Alarcón-de-la-Lastra, C. (2012). Dietary supplementation of an ellagic acid-enriched pomegranate extract attenuates chronic colonic inflammation in rats. *Pharmacological research*, 66(3), 235-242.
- [62] Xu, Y., Li, Y., Ma, H., Wu, X., & Xu, H. (2017). Pomegranate peel polyphenols inhibit inflammation in LPS-induced RAW264. 7 macrophages via the suppression of TLR4/NF- $\kappa$ B pathway activation. *Nutrients*, 9(9), 1027.
- [63] Ismail, T., Sestili, P., & Akhtar, S. (2012). Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 397-405.
- [64] Heber, D., Seeram, N. P., Wyatt, H., Henning, S. M., Zhang, Y., Ogden, L. G., ... & Hill, J. O. (2007). Safety and antioxidant activity of a pomegranate ellagitannin-enriched polyphenol dietary supplement in overweight individuals with increased waist size. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(24), 10050-10054.
- [65] Rosenblat, M., & Aviram, M. (2006). Antioxidative properties of pomegranate: in vitro studies. In *Pomegranates: ancient roots to modern medicine* (pp. 31-43). CRC Press.
- [66] Duman, A. D., Özgen, M., Dayisoylu, K. S., Erbil, N., & Durgaç, C. (2009). Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules*, 14(5), 1808-1817.

## Références Bibliographiques

---

- [67] Negi, P. S., & Jayaprakasha, G. K. (2003). Antioxidant and antibacterial activities of Punica granatum peel extracts. *Journal of food science*, 68(4), 1473-1477.
- [68] Gharzouli, K., Khenouf, S., Amira, S., & Gharzouli, A. (2001). Effects of aqueous extracts from Quercus ilex L. root bark, Punica granatum L. fruit peel and Artemisia herba-alba Asso leaves on ethanol-induced gastric damage in rats. *Phytotherapy Research*, 15(5), 412-414.
- [69] Ajaikumar, K. B., Asheef, M., Babu, B. H., & Padikkala, J. (2005). The inhibition of gastric mucosal injury by Punica granatum L. (pomegranate) methanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2), 171-176.
- [70] Choi, J. S., Kim, H. J., Kim, J. H., & Chun, J. (2011). Protective effects of pomegranate peel extract against indomethacin-induced stomach ulcers in rats. *Journal of Medicinal Food*, 14(9), 951-958.
- [71] Guérin-Faublée, V.; Carret, G., (1999). L'antibiogramme: principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées nationales GTV-INRA.
- [72] FETTAH Asma. (2019). Thèse de doctorat en Chimie Organique et Phytochimie sur Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant - antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra. Université Mohamed Khider Biskra.
- [73] Kamal Fadili, Hannou Zerkani, Smail Amalich et Touriya Zair. (2017). Article Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydant des feuilles et des fruits de ET Capparis spinosa L.
- [74] MAIGA, H. A. (2022). Extraction et application de l'huile essentielle de Myrte sauvage. (hydrodistillation).
- [75] Pr. J. Vercauteren. Cours de Pharmacognosie. Édition 2011. Université Montpellier I.
- [76] Imen Nasri, (2016), Thèse de doctorat en Chimie et Spécialité Cancérologie sur Etude phytochimique et activités biologiques de Diplotaxis sp: Application à l'étude des cellules souches coliques pathologiques. Université Sfax et Université de Toulouse.
- [77] <http://www.vaucanson.org/php5/Accueil/index.php/comment-adapter-le-four-solaire-la-1-hydrodistillation/698-les-techniques-de-distillation>. Site consulté le 14/03/2022.

## Références Bibliographiques

---

- [78] Reguia Mghezzi Habellah. (2014). Mémoire Master en Chimie Pharmaceutique sur Etude phytochimique et l'activité antioxydant de l'Acacia erhenbergiana de la région de Tindouf. Université Mohamed Khider Biskra.
- [79] Hanaa, Y. A. H. I. A. (2022). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et anticoagulante de Punica granatum L. et Teucrium polium L (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).
- [80] Agarwal, S., & Mehrotra, R. J. J. C. (2016). An overview of molecular docking. *JSM chem*, 4(2), 1024-1028.
- [81] Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384-13421.
- [82] Schulz-Gasch, T., & Stahl, M. (2004). Scoring functions for protein–ligand interactions: a critical perspective. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(3), 231-239.
- [83] Wang, R., Lu, Y., Fang, X., & Wang, S. (2004). An extensive test of 14 scoring functions using the PDBbind refined set of 800 protein– ligand complexes. *Journal of chemical information and computer sciences*, 44(6), 2114-2125.
- [84] D'Oliveira, E. B. (2009). Simulations moléculaires appliquées à l'acétylation de flavonoïdes catalysée par des lipases: influence des structures de la lipase e du flavonoïde sur la régiosélectivité de la bioconversion (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine-INPL).
- [85] Sauton, N., Lagorce, D., Villoutreix, B. O., & Miteva, M. A. (2008). MS-DOCK: accurate multiple conformation generator and rigid docking protocol for multi-step virtual ligand screening. *BMC bioinformatics*, 9, 1-12.
- [86] Bitencourt-Ferreira, G., & de Azevedo, W. F. (2019). Docking with swissdock. *Docking screens for drug discovery*, 189-202.
- [87] Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., & Nussinov, R. (2002). Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 47(4), 409-443.

## Références Bibliographiques

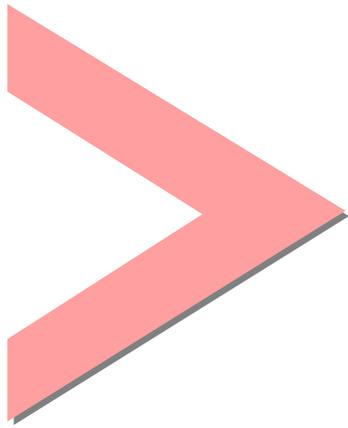
---

- [88] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2012). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 4-17.
- [89] Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12), 2615-2623.
- [90] Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., ... & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235-242
- [91] Marchant, C. A., Briggs, K. A., & Long, A. (2008). In silico tools for sharing data and knowledge on toxicity and metabolism: Derek for windows, meteor, and vitic. *Toxicology mechanisms and methods*, 18(2-3), 177-187.
- [92] Valerio Jr, L. G. (2009). In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. *Toxicology and applied pharmacology*, 241(3), 356-370.
- [93] Sabki, A. (2013). Etude in silico de l'effet d'un ensemble de flavonoïdes et de coumarines sur le chaperon moléculaire Hsp90 (Doctoral dissertation).
- [94] Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., & Bryant, S. H. (2015). PUG-SOAP and PUG-REST: web services for programmatic access to chemical information in PubChem. *Nucleic acids research*, 43(W1), W605-W611.
- [95] 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), 42717.
- [96] Pires, D. E., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, 58(9), 4066-4072.
- [97] Abe, K., Irie, K., Nakanishi, H., Suzuki, H., & Fujiyoshi, Y. (2018). Crystal structures of the gastric proton pump. *Nature*, 556(7700), 214-218.
- [98] Al-Rawahi, A. S., Edwards, G., Al-Sibani, M., Al-Thani, G., Al-Harrasi, A. S., & Rahman, M. S. (2014). Phenolic constituents of pomegranate peels (*Punica granatum* l.) cultivated in Oman.

## Références Bibliographiques

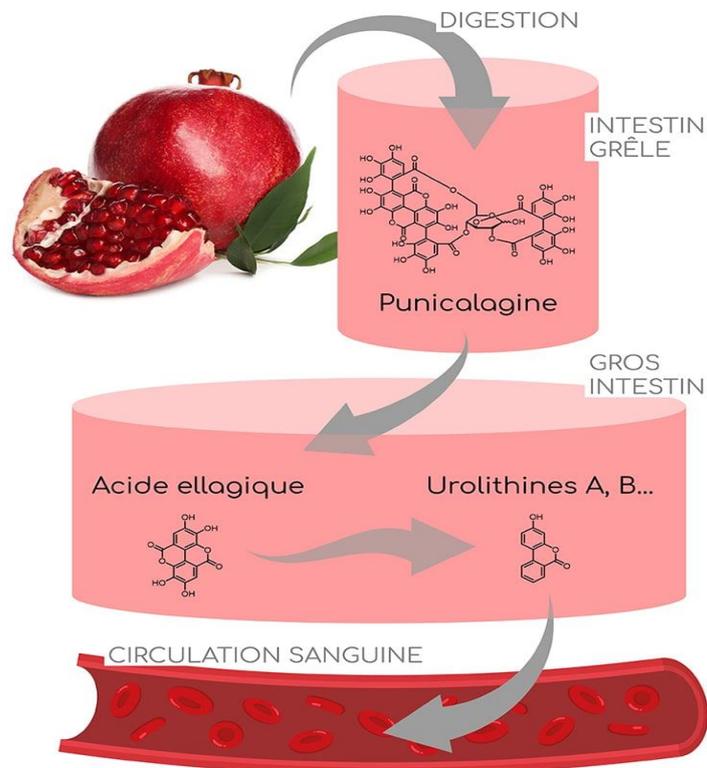
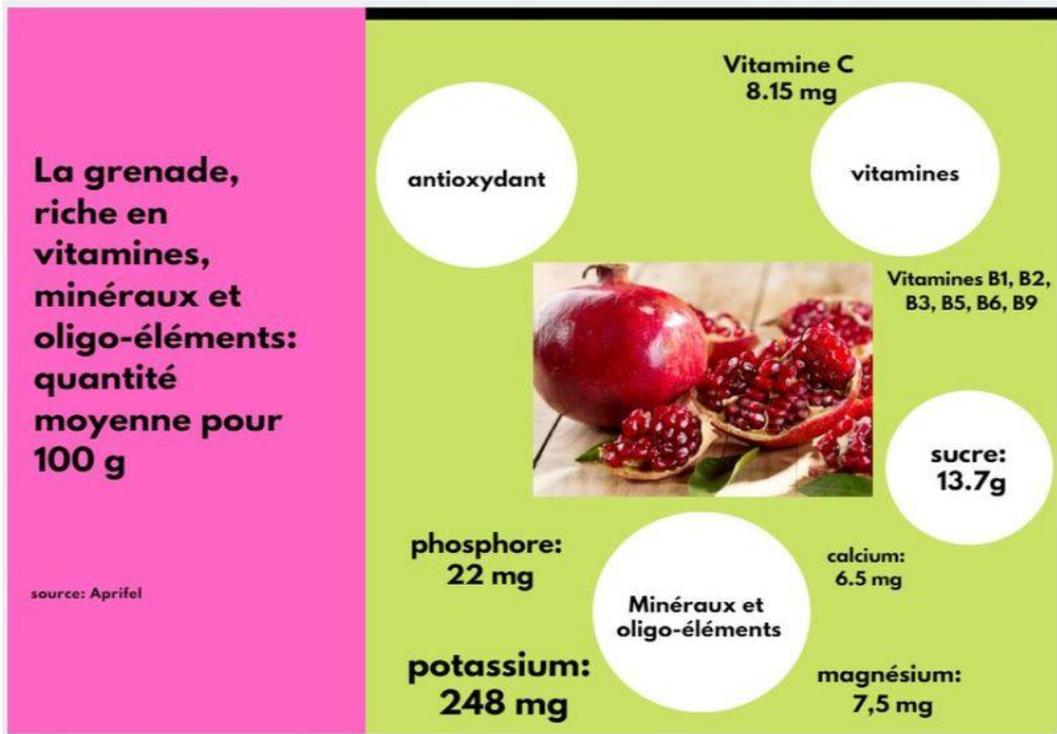
---

- [99] Maphetu, N., Unuofin, J. O., Masuku, N. P., Olisah, C., & Lebelo, S. L. (2022). Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum* L.(pomegranate) plant extracts: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113256.



# **Annexes**

## Annexe





## تصريح شرفي

### خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية لإنجاز بحث

(ملحق القرار 1082 المؤرخ في 2021/12/27)

أنا الممضي أسفله،

السيد(ة): عصمان بن ديمان

الصفة: طالب سنة ثانية ماستر كيمياء \* تخصص: كيمياء

الحامل(ة) لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 2009407048 الصادرة بتاريخ: 2023/07/1/20

المسجل بكلية: العلوم الدقيقة و علوم الطبيعة و الحياة

والمكلف بانجاز أعمال بحث: مذكرة ماستر في الكيمياء

عنوانها: Etude phytochimique et évaluation in vitro de

l'activité anticéreuse de phytoconstituants de l'écorce de  
"Punicagrenatum"

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات المهنية والنزاهة الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث المذكور أعلاه وفق ما ينص عليه القرار رقم 1082 المؤرخ في 2021/12/27 المحدد للقواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.

التاريخ: 2023/1/28/1/27

إمضاء المعني بالأمر

AS