



**Université Mohamed Khider de Biskra**  
**Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la**  
**vie**

**Département des sciences de la nature et de la vie**

# **MÉMOIRE DE MASTER**

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Réf.:..... /2022

---

Présenté et soutenu par :

**SOUFI Dounia**

**RAHEM Lamis**

Le : mercredi 29 juin 2022

## **Thème**

**Étude par docking moléculaire de l'effet  
antioxydant des métabolites secondaires  
extraits d'*Ephedra alata***

---

### **Jury :**

Mme. BOUDJEDJOU Laimia	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. BENABDALLAH Ftima	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. BOUATROUSSE Yamina	Pr	Université de Biskra	Examineur

**Année universitaire : 2021 / 2022**

## ***Remerciements***

Avant toute chose, on remercie le bon Dieu tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force, la patience, la volonté et la santé d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Madame BOUDJEDJOU Lamia Doctorat en Sciences à l'université de Ferhat Abbas Sétif 1, qui a guidé et suivi le déroulement et l'exécution du travail de ce mémoire; En nous apportant toute l'aide possible et pour ses pertinentes conseils nous a permis de mener à terme ce travail.

Ontient à remercier: les professeurs membres de jury qui nous ont fait l'honneur  
d'examiner ce travail

Nous tenons à saisir cette occasion pour adresser nos profonds remerciements et nos profondes reconnaissances à notre responsable et au personnel de l'université de BISKRA

(Département de Biologie El-Hajeb)

# Dédicace

Ma carrière universitaire est terminée après l'épuisement et les épreuves ..... Dieu merci

À celle qui s'est sacrifiée pour moi et n'a ménagé aucun effort pour me rendre toujours  
heureux.

À celui qui partage mes joies et toutes mes peines

Pour ceux qui appellent dans leurs prières pour moi

Le sourire de ma vie et la femme la plus merveilleuse du monde (ma mère adorée).

À qui m'a appris que le monde est un combat et une arme de connaissance et de succès

Le propriétaire d'un bon visage et de bonnes actions n'en a pas lésiné tout au long de sa vie

À l'homme le plus grand et le plus cher de l'univers (mon cher père).

À mes frères: Alla, Sadik, Zineb

À toutes les familles SOUFI

À mes collègues qui ont partagé avec moi tous les moments Sarah, Rayanne, Maram,  
Ibtissem, Romaiassa, Mohamed et macopine Lamis, et tous ceux qui m'ont soutenu et aidé de  
loin ou de près dans de nombreuses difficultés.

*SOUFI Dounia*

# Dédicace

Au nom d'Allah le miséricordieux le très miséricordieux

Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé mon chemin et d'aboutir au moment que

J'ai l'attendu

Je dédie mon modeste travail :

Aux joyaux de ma vie "mes chers parents" qui sont la source de mes succès, on  
souhaite qu'ilstrouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leur effort et sacrifices

À mes chères sœurs: Amina Abir, Imane

À mes chers frères: Kossai, Takieldin

À mon binôme Dounia qui a été très sympathique et active avec moi

À mes très chères amies: Hala F, Rayanne, Radhoua, Asia, Smahe, Nehla, Sirine,

Sara, Amani, Nezha, Ilyase, Nassima, Racha, Radja

*Rahem Lamis*

## Table de matière

	Page
Liste des tableaux.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des abréviations.....	VI
<b>Introduction</b> .....	<b>01</b>
<b>Chapitre 1: Synthèse bibliographique</b>	
<b>1.1 Aperçu général</b> .....	<b>03</b>
1.1.1 Famille des <i>Ephédraceae</i> .....	3
1.1.2 Présentation du genre <i>Ephédra</i> .....	3
1.1.3 Position systématique.....	3
1.1.4 Description Botanique.....	4
1.1.5 Répartition géographique.....	4
1.1.6 Propriété et l'utilisation en médecine traditionnelle.....	5
<b>1.2. Métabolites Secondaires</b> .....	<b>6</b>
1.2.1 Composés phénoliques.....	6
1.2.2 Acide phénolique.....	6
1.2.3 Flavonoïdes.....	6
1.2.4 Tanins.....	6
1.2.5 Alcaloïdes.....	7
1.2.6 Isoprénoïdes (Stéroïdes et Terpénoïdes) .....	7
<b>1.3 Activité antioxydante</b> .....	<b>7</b>
1.3.1 Stress oxydatif et ses conséquences.....	7
1.3.2 Radicaux libres.....	8
1.3.3 Antioxydants et systèmes de défense contre les radicaux libres.....	9
1.3.3.1 Systèmes de défense enzymatiques.....	9
1.3.3.2 Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	9
1.3.3.3 Oligoéléments.....	10
<b>1.4 Docking moléculaire</b> .....	<b>10</b>

1.4.1 Généralité.....	10
1.4.2 Processus du docking.....	11
1.4.3 Détermination des structures.....	12
1.4.4 Fonctions de scoring.....	13

## **Chapitre 2: Matériel et Méthodes**

<b>2.1 Matériel.....</b>	<b>14</b>
2.1.1 Molecular Operating Environment (MOE) .....	14
2.1.2 Bases des données.....	14
2.1.2.1 Base des données Pubchem.....	14
2.1.2.2 Banque de données sur les protéines (BDP) .....	15
2.1.3 Swiss ADME.....	16
2.1.4 Principaux composés phénoliques de l'espèce <i>Ephedra alata</i> .....	17
2.1.5 Macromolécule.....	20
2.1.6 Articles scientifiques sur l'activité antioxydant des extraits d' <i>Ephedra alata</i> .....	21
2.2 Méthodes.....	22
2.2.1 Docking moléculaire.....	22
2.2.1.1 Test de fiabilité de programme.....	22
2.2.1.2 Préparation de la protéine et de ligand.....	22
2.2.2 Méthodes d'évaluation <i>in silico</i> des propriétés ADME.....	23
2.2.2.2 Propriétés physico-chimiques.....	23
2.2.2.2 Propriétés pharmacocinétiques.....	24

## **Chapitre 3 : Résultats et discussion**

<b>3.1 Docking moléculaire.....</b>	<b>25</b>
3.1.1 Écart quadratique moyen (RMSD) .....	25
3.1.2 Analyse visuelle de la superposition du ligand simulé sur le ligand Co-cristallisé	25
3.2 Docking des molécules sur la protéine.....	26
3.3 Résultats de la prédiction des propriétés physico-chimiques.....	29

3.4 Synthèse des résultats des travaux antérieurs sur les extraits de <i>l'Ephedra alata</i> ...	34
<b>Conclusion</b> .....	<b>38</b>
<b>Références Bibliographiques</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des Tableaux

	<b>Page</b>
<b>Tableau 1 :</b> Position systématique <i>d'Ephedra alata-alenda</i> .....	<b>03</b>
<b>Tableau 2 :</b> Molécules de l'extrait brut du <i>l'Ephedra alata</i> pour l'étude de docking moléculaire.....	<b>17</b>
<b>Tableau 3 :</b> Formes Canonique Smilles et les identifiants des molécules testées.....	<b>18</b>
<b>Tableau 4 :</b> Travaux antérieurs sur <i>l'Ephedra alata</i> pour l'activité antioxydante...	<b>20</b>
<b>Tableau 5 :</b> Résultats de redocking de ligand dans le site actif de la protéines cible 3MNG par le logiciel MOE.....	<b>25</b>
<b>Tableau 6 :</b> Résultats de docking moléculaire des constituants de <i>l'Ephedra alata</i> sur le site actif de 3MNG.....	<b>27</b>
<b>Tableau 7 :</b> Interactions entre la Verbascoside sur la Peroxiredoxin-5, mitochondrial (3MNG).....	<b>29</b>
<b>Tableau 8 :</b> Profil ADME des polyphénols de <i>l'Ephedra alata</i> à partir du serveur SwissADME.....	<b>31</b>

## Liste des Figures

	Page
<b>Figure1 :</b> <i>Ephédra alata</i> .....	4
<b>Figure2 :</b> Répartition géographique de l' <i>Ephédra</i> dans le monde.....	5
<b>Figure3 :</b> Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants .....	8
<b>Figure4 :</b> Régulation de la production des espèces oxygénées activées (EOA) par des systèmes antioxydants de défenses primaire et secondaire .....	10
<b>Figure5 :</b> Etapes du processus de docking .....	11
<b>Figure6 :</b> Deux modèles de docking moléculaire. (A) Un modèle de type "lock-and-key". (B) Modèle d'ajustement induit.....	12
<b>Figure7 :</b> Interface du logiciel MOE .....	14
<b>Figure8 :</b> Page d'accueil de la base de données PubChem .....	15
<b>Figure9 :</b> Capture d'écran de la page web de la base de données RCSB .....	16
<b>Figure 10 :</b> Capture d'écran de la page web de SwissADME .....	16
<b>Figure 11 :</b> Structure tridimensionnelle de (3MNG).....	20
<b>Figure 12 :</b> La superposition du ligand Co-cristallisé (en rouge) et le ligand après docking (en bleu) dans le site actif de la protéine cible 3MNG .....	26
<b>Figure 13 :</b> A, Interactions entre le site actif de l'Peroxyredoxin-5, mitochondrial et la Verbascoside. B, diagramme d'interactions de la Verbascoside .....	28

## Liste des abréviations

**ADME** : Absorption, digestion, métabolisme et d'excrétion

**ADN** : Anime Digital Network

**AH** : H-accepteurs

**AOE**: Antioxydants enzymatiques

**ARN**: Acide ribonucléique

**BuOH**: Butanol

**C** : Carbone

**DCM** : Dichloromethane

**DH** : Liaisons H-donneurs

**DPPH** : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

**DTT** : 2,3-DIHYDROXY-1,4DITHIOBUTANE

**DW** : Dry weight

*E.* : *Ephedra*

**EAc**: Acétate d'éthyle

**EamCE**: *Ephedra* alata monjauze-ana crude extract

**EOA** : Espèces oxygénées activées.

**EPH** : (-)-éphédrine

**EQ** : Extraction

**ER/g** : Equivalents de rutine

**FDA** : Food and Drug Administration

**FRAP** : Ferric reducing ability of plasma

**GC-MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**GPxs:** Glutathion peroxydases

**GSH:** Glutathion réduit

**GSSG:** Oxidized glutathione

**HO•:** Radical hydroxyle

**HPLC- DAD-ESI/MS :** Quantification of phenolic compound was carried out by using *HPLC* with *diode array* detector (*DAD*)

**HPLC :**Chromatographie en phase liquide haute performance ou haute pression

**HPTLC :** Chromatographie sur couche mince (TLC)

**IC50 :**Concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres.

**LC/MS :** Chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem

**LC-DAD :** Chromatographie liquide- spectrométrie UV à barrette de diodes

**LC-ESI-MS :** Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometric

**LF :** Nombre de liaisons à libre rotation

**Log P :** Coefficient de partition octanol / eau

**MeOH:** Méthanol

**MLI :** Molecular Libraries and Imaging

**MLSCN :** Molecular Libraries Screening Center Network

**MLSMR:** Molecular Libraries Small Molecular Repository

**MOE:** Molecular Operating Environment

**MS :** Métabolites secondaires

**NIH:** National Institutes of Health

**O<sub>2</sub>•-:** Anionsuperoxyde

**PDB:** Protein DataBank

**PM:** Ppoidsmoléculaire

**Ppm** : Parties par million

**RC SB PDB** : Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank

**RL** : Radical libre

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire

**RMSD** : Root Mean Square Déviation

**RP-HPLC-ESI-QTOF-MS** : (RP) high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to two detection systems: diode-array detection (DAD) and quadrupole time-of-flight (QTOF) mass spectrometry (MS)

**SDF** : Surface Data File

**SNC** : Système nerveux central

**SOD** : Superoxyde dismutases

**TAC**: Capacité antioxydant totale

**TID**:Three times a day

**TPSA** : Surface polaire de la molécule

# **Introduction**

## Introduction

Tout au long de l'histoire, le règne végétal a été une source importante pour la découverte des nouveaux agents aux effets thérapeutiques énormes dans divers domaines de la médecine. Différents types d'extraits des plantes contiennent une large gamme des composés phytochimiques qui peuvent bénéficier des différentes activités thérapeutiques individuellement ou par des mécanismes synergiques.

Aujourd'hui, la majeure partie de la population mondiale, en particulier la population des pays en développement, se guérit uniquement avec les plantes (Jerbi et *al.*, 2016), car de nombreux médicaments actuellement utilisés dans des schémas thérapeutiques bien établis sont dérivés directement des composés phytochimiques ou de leurs dérivés chimiques (Danciu et *al.*, 2019).

De nombreuses recherches dans le domaine des molécules naturelles à activité antioxydante elles se poursuivent jusqu'à présent. Les principales sources d'exploration sont principalement les épices et les plantes aromatiques ainsi que les huiles essentielles et les fruits (Jerbi *et al.*, 2016).

Les extraits des plantes ont des avantages pour la santé en raison d'une variété des molécules à activité anti-radicalaire telles que les phénols, les anthocyanes, les caroténoïdes et les vitamines. Les composés phénoliques typiques à activité antioxydante jouent un rôle important dans l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres, et ils sont connus pour être principalement des acides phénoliques et des flavonoïdes. Ces composés ont de puissantes activités biologiques telles que anticancéreux, antibactérien, antiviral et antioxydante (Benabderaahim et *al.*, 2019).

La recherche dans l'industrie pharmaceutique est un processus chronophage avec un risque élevé d'échec. Pour cela, le processus de développement de médicaments a été amélioré grâce à l'utilisation de techniques dites «à haut débit», efficaces lorsqu'elles sont associées à des outils informatiques (Pousset, 1989). Le criblage virtuel par le docking moléculaire est une nouvelle approche visant à simuler et prédire l'affinité d'un très grand nombre des molécules et protéines cibles d'intérêt thérapeutique, ce qui est assez facile à mettre en place, plus rapide et pour un coût bien moindre que les criblages expérimentaux (Kitchen et *al.*, 2004).

C'est dans cette optique que nous nous sommes proposés d'évaluer l'activité antioxydante des principaux constituants d'*Ephedra alata*, en utilisant le «Docking moléculaire» et dans un deuxième temps nous nous sommes intéressés à la prédiction des propriétés d'absorption, distribution, métabolisme et élimination (ADME) des composés testés en utilisant le programme SwissADME.

Le présent manuscrit est structuré en trois chapitres précédés par une introduction.

Le premier chapitre est une revue bibliographique qui comporte un aperçu général sur la famille *Ephedraceae* et l'espèce étudiée, des notions de bases sur les métabolites secondaires, leur biosynthèse et les activités biologiques des molécules bioactives de ce genre. Ensuite, un deuxième chapitre qui expose le matériel utilisé et la méthodologie adoptée. Le troisième chapitre de ce mémoire est consacré pour les principaux résultats obtenus issus de cette étude avec une discussion. Finalement, nous clôturons ce manuscrit par la conclusion tirée de ce travail de recherche ainsi que les perspectives futures.

# **Chapitre 1**

# **Synthèse bibliographique**

## 1.1 Aperçugénéral

### 1.1.1 Famille des *Ephedraceae*

*Ephedra alata* appartient à la famille des *Ephedraceae* (Chouitah, 2019). Ces plantes sont dites phylogénétiquement primitives et se trouvent dans des environnements secs, sablonneux ou rocheux. Les espèces de cette famille sont reconnues dans le monde entier pour leur grande valeur écologique, économique et médicinale (Salman *et al.*, 2021).

### 1.1.2 Présentation du genre *Ephedra*

*Ephedra* est un genre de plantes à graines non florifères appartenant aux classe de *Gnetopsida*, les parents vivants les plus proches des angiospermes (Hibi *et al.*, 2022). Ce genre comprend environ 67 espèces, réparties principalement dans les régions désertiques d'Afrique du Nord, d'Europe, d'Asie et d'Amérique (Bourgou *et al.*, 2020).

### 1.1.3 Position systématique

**Tableau 1** : Position systématique d'*Ephedra alata* (Ozenda, 1991).

Règne	Végétal
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous embranchement	<i>Gymnospermes</i>
Classe	<i>Gnetopsida</i>
Ordre	<i>Ephedrales</i>
Famille	<i>Ephedraceae</i>
Genre	<i>Ephedra</i>
Espèce	<i>Ephedra alata</i>

### 1.1.4 Description Botanique

Les espèces appartenant à la famille des *Ephedraceae* sont des plantes vivaces herbacées qui peuvent dépasser 1 m de hauteur, avec une forte odeur de pin et un goût astringent (**Fig 1**). Elles ont des tiges minces dressées, verts jaunâtres, intersectées et légèrement nervurées, à canalicules de 1,5 mm de diamètre et qui se termine par une pointe souvent acérée (Abourashed et *al.*,2003).

Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents). Les espèces des *Ephedracées* présentent un système de racines latérales extrêmement puissant, les fruits sont entourés de bractées largement membraneuses (Derbel et *al.*,2010).

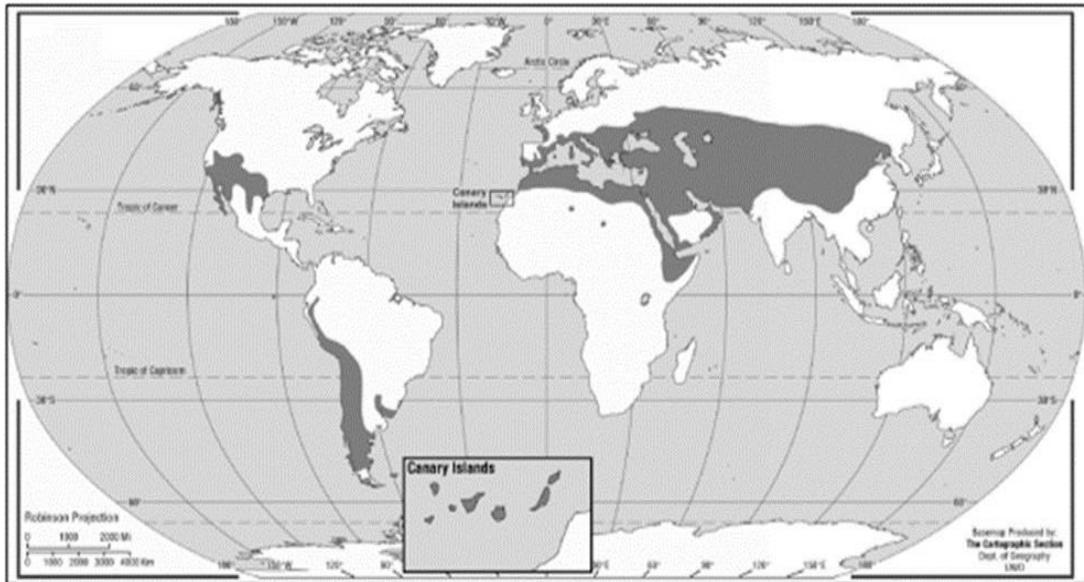


**Fig 1** : *Ephedra alata alenda* (Jaradat et *al.*,2015).

### 1.1.5 Répartition géographique

*E. alata* est une plante originaire des régions tempérées et des latitudes subtropicales de :

- **L'Afrique** : Algérie ; Egypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad, Mali.
- **L'Asie** : Arabie Saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie, Syrie, Chine.
- **Europe** : Spain (Benarba et *al.*,2021).



**Fig 2** : Répartition géographique de *Ephedra* dans le monde (Caveney et *al.*, 2001).

### 1.1.6 Propriétés et l'utilisation en médecine traditionnelle

Les espèces du genre *Ephedra* sont parmi les plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité. *E. sinica* est l'espèce principale qui a été utilisée en Chine depuis plus de 5000 ans (Abourashed et *al.*,2003).

- En Algérie, *E. alata* est utilisé contre la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale en tisane et par inhalation. Ainsi que sous forme de gouttes nasales contre le rhume (Ould El Hadj et *al.*, 2003).
- En Tunisie, *E. alata* est utilisée comme remède traditionnel pour traiter les cancers (Bourgou et *al.*,2020).
- En Palestine, elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les allergies et l'asthme, frissons, rhume, toux, œdème, fièvre, grippe et maux de tête (Al\_Rimawi et *al.*, 2017).
- En Russie pour le traitement les troubles respiratoires et rhumatismes (Bell et Bachman.,2011).
- Au Maroc, elle est utilisée pour lutter contre le diabète (Ghourri et *al.*,2013).
- En Egypte, *E. alata* est utilisée en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent (Pietta,2000).

Les organes utilisés dans la médecine traditionnelle sont les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud (Abourashed *et al.*,2003).

## **1.2 Métabolites Secondaires**

Les métabolites secondaires (MS) sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes. Ils sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (Newman et Cragg,2012).

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Abderrazak et Joël,2007).

### **1.2.1 Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des molécules aromatiques qui ont un ou plusieurs groupes hydroxyle liés directement à un cycle aromatique «le phénol» (Vermerris et Nicholson, 2006). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Boizot et Charpentier,2006).

### **1.2.2 Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont constitués d'un squelette à sept atomes de carbone (Hmid, 2013). Ils sont présents en abondance dans les aliments et se divisent en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont les plus courants et comprennent principalement l'acide coumarique, la caféine, férulique et sinapique (Pandey et Rizvi,2009).

### **1.2.3 Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont formés dans les plantes à partir des acides aminés aromatiques phénylalanine, tyrosine et malonate. Le noyau flavan est la structure de base des flavonoïdes, qui se compose de 15 atomes de carbone. Trois anneaux (C6-C3-C6), qui est perplexe A, Bet C. Les flavonoïdes incluent également les biflavones, des chalcones, des auones, les coumarines et les proanthocyanidines (oligomères Flavan-3-Yol) (Pietta, 2000).

### **1.2.4 Tanins**

Les tanins sont des molécules organiques phénoliques complexes (Kamra *et al.*, 2006). Ces composés sont synthétisés en grande quantité dans les tiges de l'espèce d'*Ephedra* appartenant aux deux continents, eurasien et américain. Ces molécules contribuent au goût astringent de l'*Ephedra* (Soni, 2004).

### 1.2.5 Alcaloïdes

Ce sont des substances azotées, basiques et de distribution restreinte. Ils ont une structure complexe leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Ils existent à l'état de sels et sont biosynthétiquement formés à partir des acides (Bruneton, 2009).

Dans les plantes du genre *Ephedra* (-) - l'éphédrine est généralement présente avec (-) - noréphédrine, (+) - pseudoéphédrine et (+) - norpseudoéphédrine (GRUE-SORENS et SPENS, 1989).

### 1.2.6 Isoprénoïdes (Stéroïdes et terpénoïdes)

La structure des terpénoïdes sont très complexes, divisées en monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, etc. Les terpénoïdes peuvent être à chaîne, à cycle unique, bicycliques ou polycycliques.

Les huiles essentielles d'*Ephedra* sont responsables de l'induction de la transpiration, de l'activité cardiovasculaire, qui comprend plusieurs terpénoïdes, tels que l'alpha-terpinéol, l'un des principaux composants pharmacologiques (He *et al.*, 2013).

## 1.3 Stressoxydatif

### 1.3.1 Stress oxydatif et ses conséquences

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du «stress oxydant» (Favier, 2003).

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois les cellules ou lorsqu'elles sont soumises à une surproduction, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les moyens de défense est très dommageable pour les macromolécules essentielles. Les conséquences du stress oxydant sont très variables selon la dose et le type cellulaire :

- Légers stress : la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion.
- Stress moyens : l'apoptose.
- Forts stress : nécrose.
- Stress violents : désorganiseront la membrane entraînant des lyses immédiates.

De nombreuses anomalies pathologiques sont également induites par le stress oxydant : mutations, carcinogénèse, malformations des fœtus, dépôts de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôts de lipides oxydés, immunosuppression (Favier, 2006).

### 1.3.2 Radicaux libres

Un radical libre (RL) est un atome ou d'une molécule qui contient un (ou plusieurs) électron(s) non paire(s), comme conséquence de la perte d'un (ou plusieurs) électron(s) de l'orbite externe, aboutissant à la formation d'une demi-liaison qu'il faut satisfaire par un pillage local d'électron(s).

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être des radicaux libres ( $O_2^{\bullet-}$  : anion superoxyde,  $HO^{\bullet}$  : radical hydroxyle) ou des molécules non radicalaires mais néanmoins hautement instables ( $O_2$  single). La plupart des radicaux libres proviennent de la chaîne respiratoire, du NADPH, et de l'activité de la xanthine oxydase, alors que les espèces réactives du NO sont essentiellement produites par la NO-synthase (Berger, 2006).

Normalement, la production des radicaux libres est permanente mais faible (sous la forme de médiateurs tissulaires ou de résidus des réactions énergétiques ou de défense). Une telle production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, lesquels sont adaptatifs par rapport au niveau des radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant» (Fig. 3) (Favier, 2003).

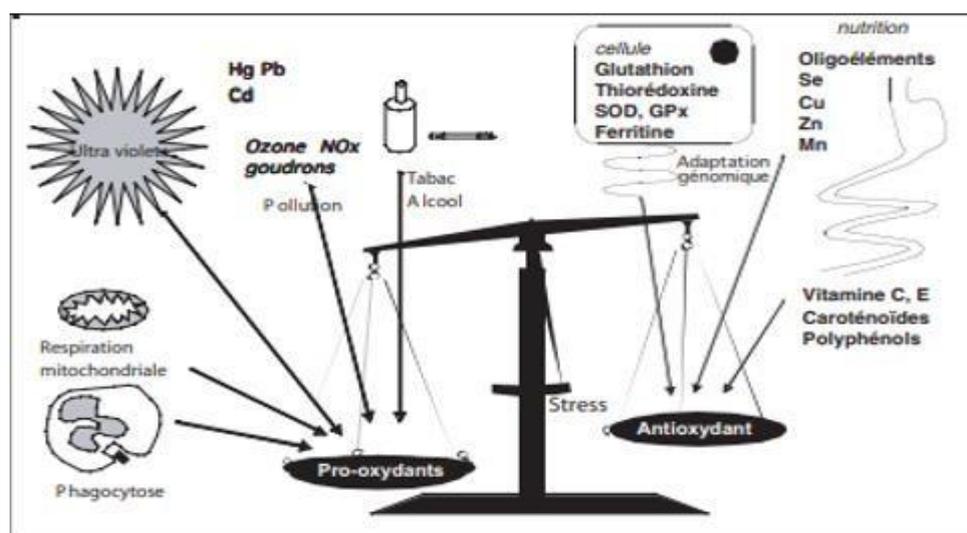


Fig 3 : Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006).

### 1.3.3 Antioxydants et systèmes de défense contre les radicaux libres

L'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants pour se protéger des effets délétères des EOA (Fig. 4). On distingue deux sources d'antioxydants:

- Source exogène par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acidelipoïque.
- Source endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases.
- Les oligoéléments : le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydants.

#### 1.3.3.1 Systèmes de défense enzymatiques

##### ▪ Superoxyde dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines constituent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydatif, assurant l'élimination de l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  par une réaction dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.

##### ▪ Glutathion peroxydases (GPxs)

GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes au détriment de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal est d'éliminer les peroxydes lipidiques produits par l'action du stress oxydatif sur les acides gras polyinsaturés. GPx s'effondre avec une carence sévère en sélénium, il reflète donc bien cette carence.

#### 1.3.3.2 Systèmes antioxydants non enzymatiques

##### ▪ Glutathion et les protéines-thiols

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intracellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique), où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible.

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements «thiols» qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées.

##### ▪ Vitamine C

La vitamine C est, un excellent piègeur des EOA ( $\text{HO}\cdot$  ou  $\text{O}_2\cdot^-$ ). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques.

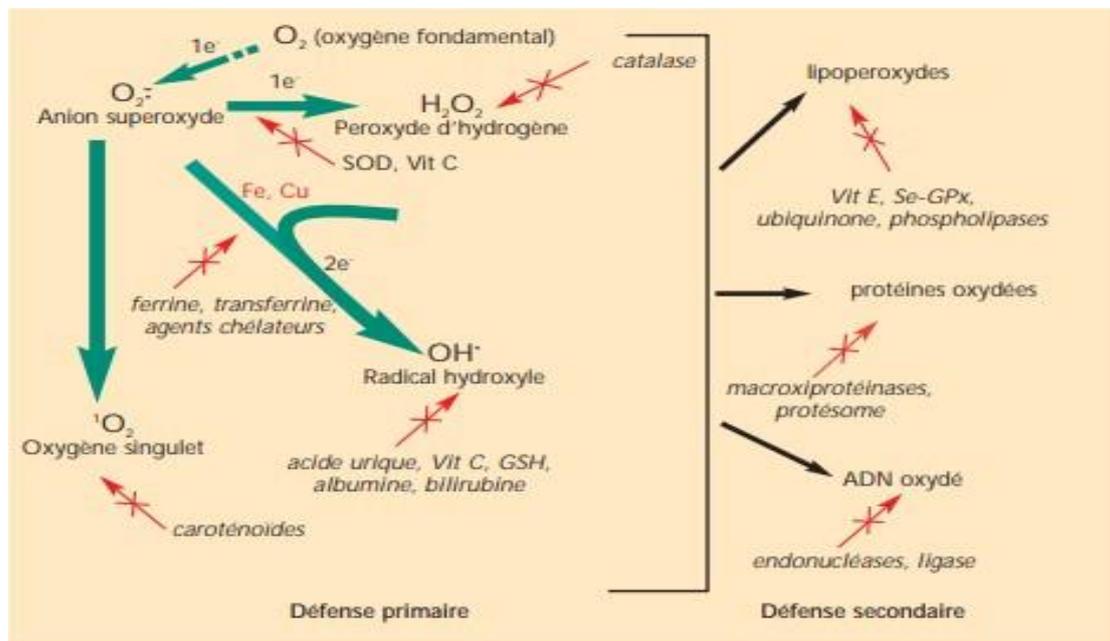
### ▪ Polyphénols

C'est une famille d'antioxydants présents dans les plantes. L'alimentation fournit environ 1 gramme de polyphénols par jour principalement en mangeant des fruits et, dans une moindre mesure, des légumes et des céréales. Ce sont d'excellents piègeurs pour les AOE et de très bons chélateurs pour les métaux de transition tels que le fer et le cuivre.

### 1.3.3.3 Oligoéléments

#### ▪ Cuivre

Le cuivre est un cofacteur pour des enzymes telles que la SOD, le cytochrome c oxydase, la dopamine  $\beta$ -hydroxylase. Cependant, il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) en tant que métal de transition. Les doses quotidiennes recommandées sont d'environ 2,5 mg (Haleng et al., 2007).



**SOD:** superoxyde-dismutase; **Se-GPx:** *glutathion-peroxydase* séléno-dépendante; **GSH:** glutathion

**Fig 4 :** Régulation de la production des espèces oxygénées activées (EOA) par des systèmes antioxydants de défenses primaire et secondaire (Pincemail et al., 2001).

## 1.4 Dockingmoléculaire

### 1.4.1 Généralités

La plupart des protéines remplissent leurs fonctions en interagissant avec des molécules de petite taille (substrats ou effecteurs) ou de grande taille (autres protéines, ADN ou ARN). La formation de ces complexes intermoléculaires est essentielle pour des tâches telles que sélection de cibles protéiques pour une intervention thérapeutique, la conception de médicaments ou l'ingénierie enzymatique (MIHĂȘAN, 2012).

### 1.4.2 Processus dudocking

Le docking moléculaire est une sorte de modélisation informatique, qui facilite la prédiction de l'orientation préférée de la liaison d'une molécule (par exemple un ligand) à une autre (par exemple un récepteur) pour former un complexe stable. Les informations obtenues à partir de l'orientation préférentielle des molécules liées peuvent être utilisées pour prédire le profil énergétique (comme l'énergie libre de liaison), la force et la stabilité (comme l'affinité de liaison et la constante de liaison) des complexes. Cela peut être fait en utilisant la fonction de notation du docking moléculaire (Agarwal et Mehrotra ,2016).

L'avantage principal de cette technique est de permettre des criblages en un temps limité et peu coûteux par rapport aux autres méthodes. De plus, le docking présente l'avantage de prendre en compte toutes les conformations possibles du ligand dans son milieu environnant complexe d'acides aminés. Par contre le point faible du docking est l'absence de la prise en compte de la structure dynamique de la protéine cible lors de la fixation du ligand (Rester, 2006).

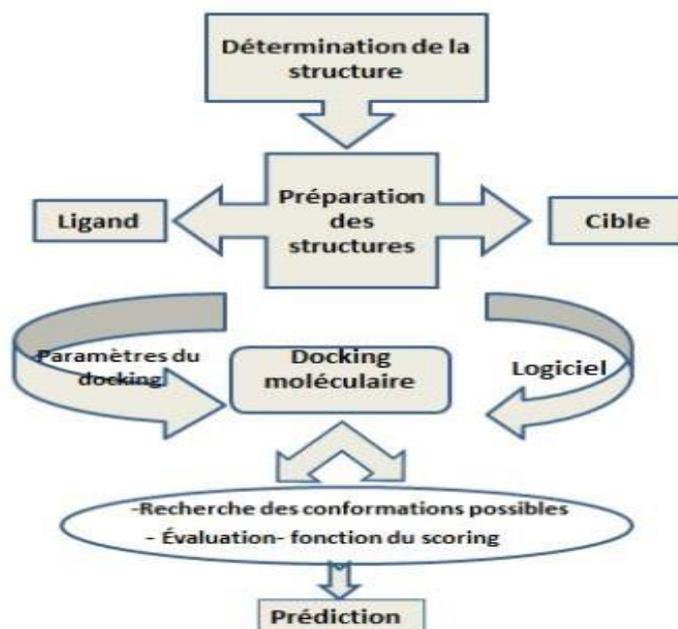


Fig 5 : Etapes du processus de docking.

### 1.4.3 Détermination des structures

#### ▪ Cibles

La structure des protéines cible doit être déterminée expérimentalement, généralement par cristallographie aux rayons X ou par résonance magnétique nucléaire (RMN) (Morris et Lim-Wilby, 2008).

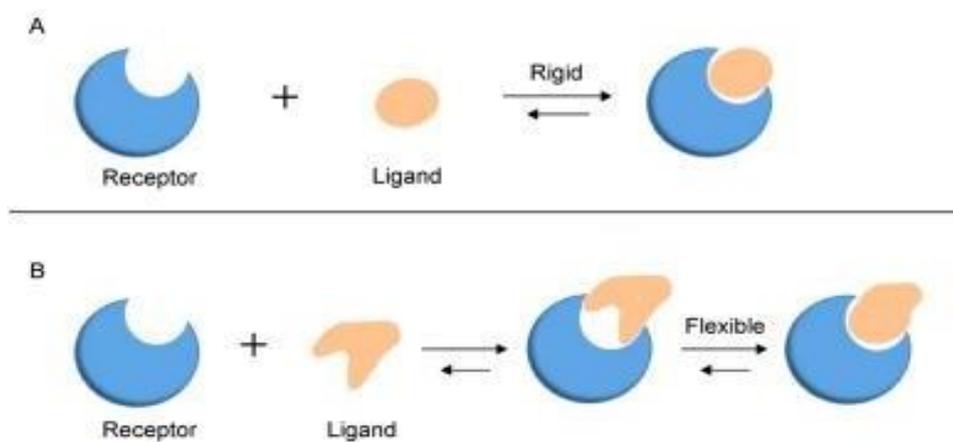
La base de données de structure protéique PDB (Protein Data Bank) est la principale source de données dans ce domaine (Fan et *al.*, 2019). Les déposants de la base de données PDB possèdent des compétences variées dans les techniques de détermination de la RMN, la microscopie cryo-électronique et la modélisation théorique (Berman et *al.*, 2000).

#### ▪ Ligands

Le ligand est défini comme étant une molécule chimique composée de plusieurs fragments, il peut être : un substrat, un coenzyme, un activateur ou un inhibiteur (Zsoldos et *al.*, 2006). La prise en compte de la flexibilité du ligand permet de distinguer deux approches de Docking: l'approche à ligand rigide et l'approche à ligand flexible

La figure (6A) montre le premier modèle proposé "lock-and-key" proposé, qui se réfère à l'accostage rigide des récepteurs et des ligands pour trouver l'orientation correcte. Et des ligands pour trouver l'orientation correcte de la "clé" afin d'ouvrir la "serrure". Ce modèle met l'accent sur l'importance de la complémentarité géométrique.

Le processus réel de docking est si flexible que, les récepteurs et les ligands doivent changer leur conformation pour bien s'adapter les uns aux autres. Par conséquent le "modèle d'ajustement induit" a été développé (Fig 6B). Sur la base de la complémentarité géométrique, de la complémentarité énergétique et de la pré-organisation, les récepteurs et les ligands obtiennent la structure la plus stable de manière à minimiser l'énergie libre (Fan *al.*, 2019).



**Fig 6 :** Deux modèles de docking moléculaire. (A) Un modèle de type "lock-and-key". (B) Modèle d'ajustement induit.

#### 1.4.4 Fonction descoring

Le Scoring est une méthode mathématique, utilisée pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison entre deux molécules après avoir été passées par l'étape de docking (Louacheni, 2014). Il est également appliqué pour comparer et classer différentes structures chimiques (appelé enrichissement ou focalisation de la base de données) (Feher, 2006).

La fonction de Scoring correspond à l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant : (Kollman et *al.*, 2000)

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

# **Chapitre 2**

## **Matériel et méthodes**

## 2.1 Matériel

### 2.1.1 Molecular Operating Environment(MOE)

Pour l'étude de docking moléculaire, on a utilisé le MOE 2014 (Molecular Operating Environment) (Fig 7). Le MOE est un outil de calcul chimique et de modélisation moléculaire, un logiciel largement utilisé dans les applications scientifiques (Sapundzhi et Dzimbova, 2018). Ce programme robuste est généralement disponible pour une utilisation en classe à un coût académique réduit. Et permet la visualisation, la présentation, l'analyse, l'interprétation et le traitement des données biomoléculaires directement grâce à l'utilisation d'outils d'infographie 3D interactifs. Il intègre également : la visualisation, la modélisation moléculaire, la modélisation des protéines, la bio-informatique et la bio-informatique dans un seul programme (Roy et Luck,2007).

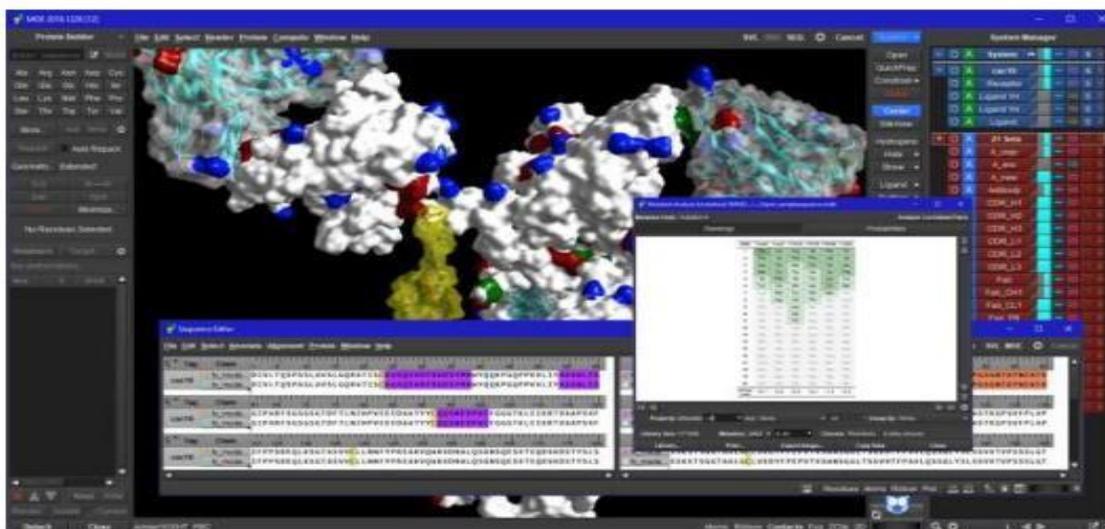


Fig 7 : Interface du logiciel MOE([https://www.chemcomp.com/img/products/ecosystem/MOE-GUI\\_BIOL.png](https://www.chemcomp.com/img/products/ecosystem/MOE-GUI_BIOL.png)).

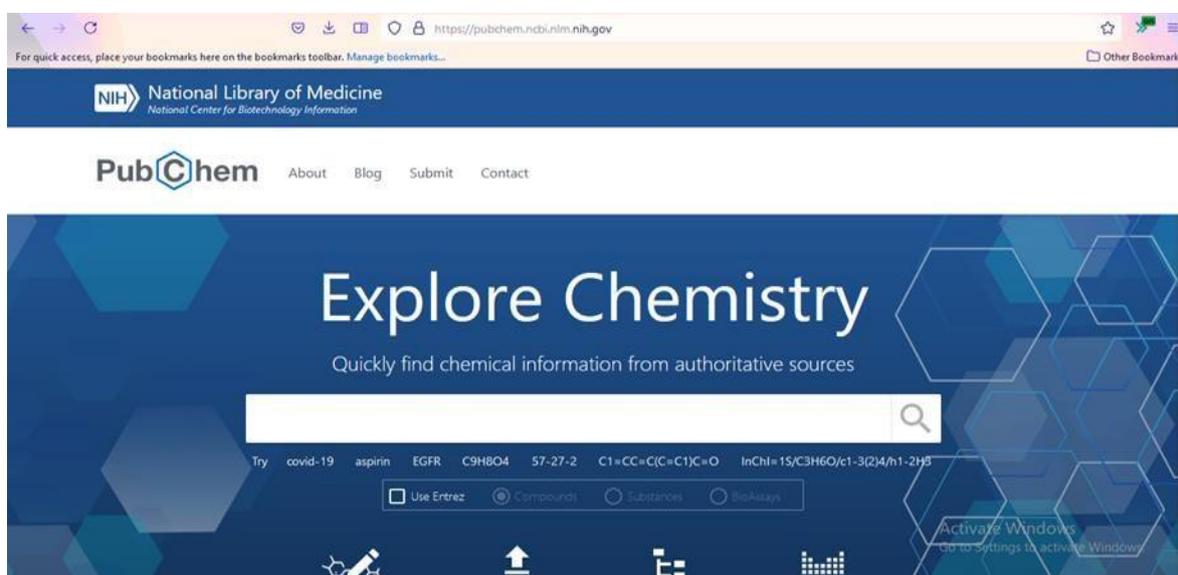
### 2.1.2 Bases des données

#### 2.1.2.1 Base des données Pubchem

PubChem, est un référentiel ouvert de données expérimentales identifiant les activités biologiques de petites molécules, lancé en September 2004, qui suit l'approche GenBank, Ce dernier fait partie de la composante Molecular Libraries and Imaging (MLI) de l'initiative Roadmap for Medical Research des National Institutes of Health (NIH).Ce programme comprend le Molecular Libraries Screening Center Network (MLSCN), des laboratoires expérimentaux financés par des subventions et un référentiel de composés partagé, appelé

Molecular Libraries Small Molecular Repository (MLSMR), offrant aux chercheurs biomédicaux un accès à des échantillons chimiques (Kim et *al.*, 2016).

PubChem contient principalement de petites molécules, mais aussi ils contiennent également un petit pourcentage de biomolécules plus grosses telles que les peptides, oligonucléotides, oligosaccharides et grands produits naturels, ainsi que des macromolécules synthétiques telles que les peptides acides nucléiques, dérivés de fullerène, porphyrines modifiées et dendrimères. Ces grosses molécules sont intéressantes car ils pourraient servir de nouvelles modalités pour aborder la conception de médicaments problèmes qui ne peuvent pas être résolus par des médicaments à petites molécules, par exemple les sites d'interaction protéine-protéine ou livrer la cargaison d'ARN si dans les cellules (Capecch et *al.*, 2019).



**Fig 8** :Page d'accueil de la base des données PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/rdf/>).

### 2.1.2.2 Banque de données sur les protéines(BDP)

La banque de données protéiques RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics), plus communément appelée PDB (Protein Data Bank), a été utilisée pour obtenir la structure des protéines (enzymes) cibles. Cette base de données est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures tridimensionnelles de protéines d'intérêt pharmaceutique (Burley et *al.*, 2019).

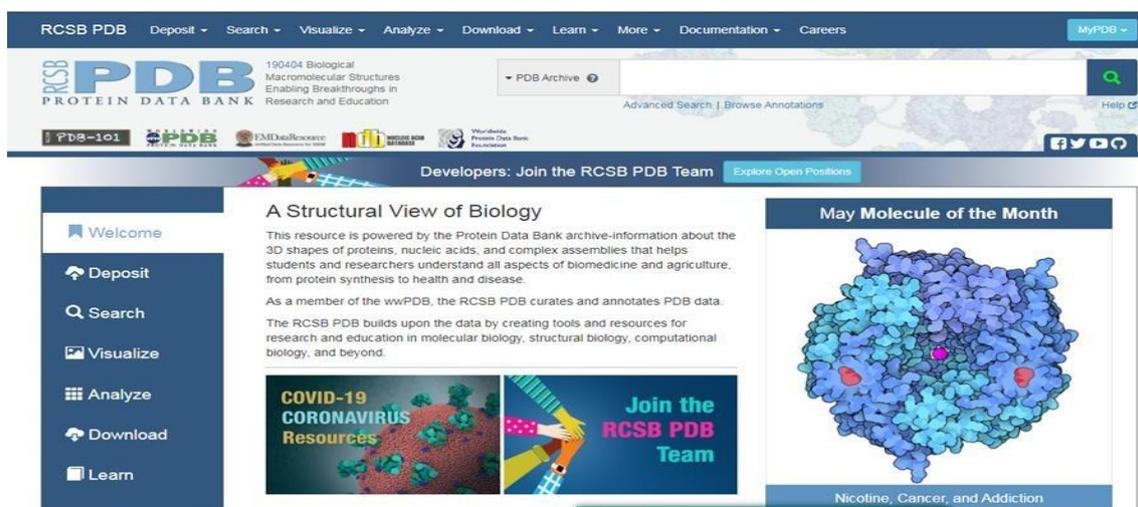


Fig 9 : Capture d'écran de la page web de la base de données RCSB (<https://www.rcsb.org/>).

### 2.1.3 SwissADME

Les modèles informatiques sont une alternative valable à l'expérimentation. Nous avons utilisé l'outil Web SwissADME, qui offre un accès gratuit à un ensemble de modèles prédictifs rapides et puissants pour les propriétés physicochimiques, la pharmacocinétique, la similarité des médicaments et la disponibilité des produits chimiques médicaux. Une saisie et une interprétation simples et efficaces sont assurées via l'interface conviviale du site Internet <http://www.swissadme.ch>. Les experts, mais aussi les non-experts en chimie computationnelle ou en chimie computationnelle, peuvent prédire rapidement les paramètres clés d'un ensemble de molécules pour soutenir leurs efforts de découverte de médicaments (Dainaet *al.*,2017).

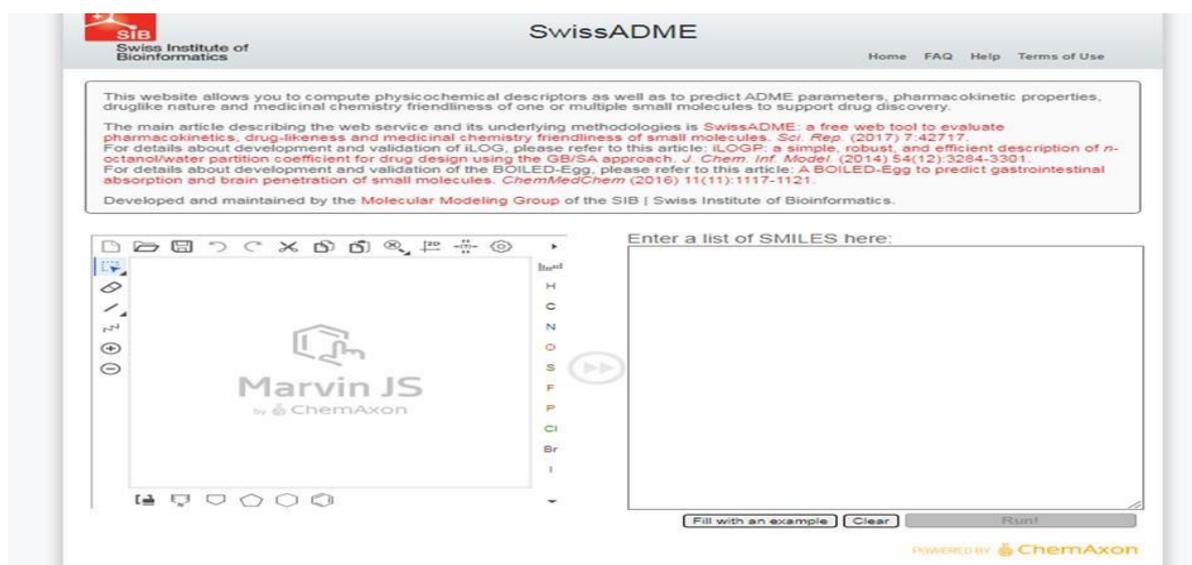


Fig 10 : Capture d'écran de la page web de SwissADME.

### 2.1.4 Principaux composés phénoliques de l'espèce *Ephedra alata*

Quatorze molécules parmi les principaux composés phénoliques isolées de l'espèce *Ephedra alata* ont fait l'objet de l'étude de la prédiction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques (**Tableau 2**).

**Tableau 2** : Molécules de l'extrait brut de l'*Ephedra alata* pour l'étude de docking moléculaire.

Molécules	Partie de la plante	Référence
Catechin(+)	PA	(Benabderrahim <i>al.</i> , 2019).
Quercitin	PA CF	(Bourgou <i>et al.</i> , 2020);(Chouikh <i>et al.</i> ); (Souid <i>et al.</i> , 2020); (Benabderrahim <i>et al.</i> , 2019);(Khattabi <i>et al.</i> , 2022).
Crypto-chlorogenic acid	PA	(Benabderrahim <i>et al.</i> , 2019).
Apigenin 6-C-glucoside 8-C-arabinoside	PA	(Khattabi <i>et al.</i> , 2022).
Verbascoside	PA	(Souid <i>et al.</i> , 2021).
Gallactechin	PA	(Khattabi <i>et al.</i> , 2022).
Hyperoside	PA	(Khattabi <i>et al.</i> , 2022).
Rutin	PA CF	(Danciu <i>et al.</i> , 2019); (Bourgou <i>et al.</i> , 2020); (Chouikh <i>et al.</i> ); (Benabderrahim <i>et al.</i> , 2019); (Khattabi <i>et al.</i> , 2022).
Glucosides	F	(Benarba <i>et al.</i> , 2021)

Luteolin 8-C-glucoside	PA	(Khattabi et al., 2022).
Caffeic acid derevatine	PA	(Khattabi et al., 2022).
Kaempferol	PA	(Danciu et al., 2019); (Bourgou et al., 2020) (Benabderrahim et al., 2019).
Rusmarine acide	T	(Danciu et al., 2019).
Luteolin	PA	(Bourgou et al., 2020) (Benabderrahim et al., 2019) (Khattabi et al., 2022)

**PA** Parties aériennes ; **CF** : Cônes femelles ; **T** : Tiges ; **F** : Fruits.

La structure canonique SMILES de chacune de ces molécules a été copiée à partir de la base des données PubChem et introduite dans le serveur de prédiction (**Tableau 3**).

**Tableau 3** : Formes Canonique Smilles et les identifiants des molécules testées.

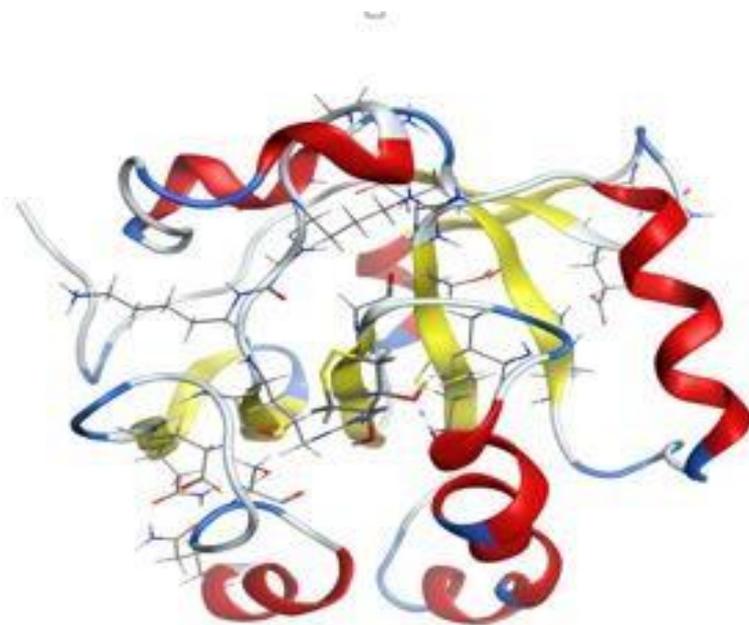
Molécule	ID PubChem	Canoniques SMILES
Catechin(+)	5276454	<chem>C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)OC(=O)C4=CC(=C(C(=C4)O)O)O</chem>
Apigenin 6-C-glucoside 8-C-arabinoside	131750832	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=CC(=O)C3=C(C(=C(C(=C3O2)C4C(C(C(O4)CO)O)O)O)O)C5C(C(C(C(O5)CO)O)O)O)O</chem>
Crypto-chlorogenic acid	9798666	<chem>C1C(C(C(CC1(C(=O)O)O)O)OC(=O)C=CC2=C(C(=C(C=C2)O)O)O</chem>
Glucosides	6540709	<chem>C(C1C(C(C(C(O1)O)O)O)O)O</chem>
Verbascoside	5281800	<chem>CC1C(C(C(C(O1)OC2C(C(OC(C2OC(=O)C=C3=CC(=C(C=C3)O)O)CO)O)O)O)O)O)O)O)O)O)O</chem>
Luteolin 8-C-glucoside	5281675	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(O2)C(=C(C</chem>

		<chem>C=C3O)O)C4C(C(C(C(O4)CO)O)O)O)O)O</chem>
Hyperoside	5281643	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)OC4C(C(C(C(O4)CO)O)O)O)O)O</chem>
Rutin	5280805	<chem>CC1C(C(C(C(O1)OCC2C(C(C(C(O2)OC3=C(O)C4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)O)O)O)O</chem>
Quercitin	5280343	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
Caffeic acid derevatine	5379975	<chem>CC(C)(C)[Si](C)(C)OC1=C(C=C(C=C1)C=CC(=O)O[Si](C)(C)C(C)(C)C)O[Si](C)(C)C(C)(C)C</chem>
Gallocatechin	65084	<chem>C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C(=C3)O)O)O)O</chem>
Kaempferol	5280863	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
Rusmarine acide	5281792	<chem>C1=CC(=C(C=C1CC(C(=O)O)OC(=O)C=CC2=CC(=C(C=C2)O)O)O)O</chem>
Luteolin	5280445	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>

### 2.1.5 Macromolécule (protéine cible)

Le test *in-silico* de l'effet antioxydant des constituants *d'Ephedra alata* a été fait sur la protéine : PrxV humain de type sauvage (wild type human PrxV) (3MNG).

La structure dont ID PDB : 3MNG, résolution : 1.45 Å a été téléchargée sous format PDB et dont la structure tridimensionnelle a été obtenue par diffraction des rayons X (**Fig 11**).



**Fig 11** : Structure tridimensionnelle de (3MNG).

### 2.1.6 Articles scientifiques sur l'activité antioxydant des extraits *d'Ephedraalata*

L'activité antioxydante des composés phytochimiques *d'Ephedra alata* a fait l'objet de plusieurs recherches. Dans le présent manuscrit, nous nous sommes inspirés des études antérieures récentes menées sur *Ephedra alata* et citées dans le **tableau 4**.

**Tableau 4** : Travaux antérieurs sur *l'Ephedra alalta* pour l'activité antioxydant.

Article	Titre	Références
1	Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Estimation of Total Flavonoids, Total Phenols and Antioxidant Activity of <i>Ephedra alata Decne</i>	(Jaradat et al , 2021).
2	Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian <i>Ephedra</i> species: <i>Ephedra alata</i> and <i>Ephedra fragilis</i>	(Bourgou et al.,2020).
3	Phytochemical Study, HPLC Chromatographic Analysis and Antioxidant Activity of <i>Ephedra alata</i> DC. Female Cones Extracts	(Chouikh et al., 2021).

4	Phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activities of <i>Ephedra alata Decne</i> growing in south Algeria	(Benarba et al., 2021)
5	Antioxidant activity and phenolic profile of a collection of medicinal plants from Tunisian arid and Saharan regions	(Benabdrahim et al., 2019)
6	RP-HPLC-ESI-QTOF-MS Qualitative Profiling, Antioxidant, Anti-Enzymatic, Anti- Inflammatory, and Non-Cytotoxic Properties of <i>Ephedra alata Monjauzeana</i>	(Khattabi et al., 2022).
7	HPLC-DAD-ESI/MS profiles of bioactive compounds, antioxidant and anticholinesterase activities of <i>Ephedra alata subsp. alenda</i> growing in Algeria	(Noui, 2022)
8	Antioxidant properties and qualitative analysis of phenolic constituents in <i>Ephedra spp.</i> by HPTLC together with injection port derivatization GC–MS	(Ibragic et al., 2021)
9	LC/MS method development for the determination of the phenolic compounds of Tunisian <i>Ephedra alata</i> hydro-methanolic extract and its fractions and evaluation of their antioxidant activities	(Mighri et al., 2019)

## 2.2 Méthodes

### 2.2.1 Dockingmoléculaire

#### 2.2.1.1 Test de fiabilité de programme

La fiabilité des procédures utilisées est testée selon deux critères :

- ✓ L'écart quadratique moyenne ou RMSD (Root Mean Square Déviation) entre la position du ligand du complexe cristallin (position initiale) et celles du ligand (DTT) amarré par le programme MOE (position après redocking avec MOE). Un seuil maximal de 2Å est souvent utilisé pour discriminer une bonne position d'une autre mauvaise.
- ✓ Analyse visuelle de ligands analogues superposés à des ligands Co-cristallisés.

#### 2.2.1.2 Préparation de la protéine et de ligand

Après avoir téléchargé les complexes protéine-ligand dans le format PDB à partir de la banque de données en introduisant leur codes ID, on a procédé à la préparation des deux structures ligand et protéine avant de les soumettre au docking.

- ✓ Les molécules d'eau ont été retirées pour la stabilité des protéines.
- ✓ Certains résidus qui ne sont pas impliqués dans la réaction catalytique de l'enzyme sont éliminés comme les sels et métaux.
- ✓ les atomes d'hydrogène polaires ont été ajoutés.
- ✓ L'énergie des deux structures protéine et ligand Co-cristallisé est minimisée en utilisant les forces de champ dans l'Amber99 implanté dans le MOE (Morris et Lim-Wilby, 2008).

De même, les quatorze ligands (constituants d'*Ephedra alata*) téléchargés de la banque de données PubChem sous format SDF sont regroupés dans une seule base de données, puis ils sont corrigés par l'addition des hydrogènes et la minimisation d'énergie en utilisant les forces de champs dans le MMFF94x implanté dans le MOE.

## 2.2.2 Méthodes d'évaluation in silico des propriétés ADME

Les propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME) des candidats médicaments ou des produits chimiques environnementaux jouent un rôle clé dans la découverte de médicaments et l'évaluation des risques environnementaux. Pour être efficace en tant que médicament, une molécule efficace doit atteindre sa cible dans le corps à une concentration suffisante et rester dans le corps sous une forme biologiquement active suffisamment longtemps pour que l'événement biologique prévu se produise. Le développement de médicaments implique l'évaluation de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion (ADME) de plus en plus tôt dans le processus de découverte, et à ce stade, de nombreux composés sont à l'étude mais l'accès aux échantillons physiques est limité.

### 2.2.2.1 Propriétés physico-chimiques

#### ➤ Règle de Lipinski

La règle de 5 de Lipinski (Lipinski et al., 1997) est en relation directe avec les propriétés biologiques d'absorption, de digestion, de métabolisme et d'excrétion (ADME)

- Un poids moléculaire (PM) maximum de 500 g/mol.
- Un maximum de 5 liaisons H-donneurs (DH) (OH ou NH).

- Un maximum de 10 liaisons H-accepteurs (AH) (O ou N).
- Un coefficient de partition octanol / eau "log P" ou une lipophilie  $\leq 5$ .
- **Règle de Veber**

Des compléments ont été apportés, notamment par Veber (Veber *et al.*, 2002):

La surface polaire (PSA, polar surface area) du composé doit être  $< 140 \text{ \AA}^2$ . et le nombre de liaisons de rotation (LF: rotatable bonds en anglais) est  $< 10$  pour une bonne biodisponibilité. La surface polaire est représentée par la somme des surfaces des atomes polaires de la molécule (calcul basé sur la topologie de la molécule ou TPSA) et permet de prédire l'absorption intestinale et le passage de la barrière hématoencéphalique. Ces critères peuvent être adaptés à la cible visée par la molécule. En effet, alors que l'absorption intestinale devient difficile pour un composé de surface polaire supérieure à  $140 \text{ \AA}^2$ .

- **Solubilité dans l'eau**

La solubilité dans l'eau est une mesure de la quantité de substance chimique pouvant se dissoudre dans l'eau à une température donnée. L'unité de solubilité est généralement exprimée en mg / L (milligrammes par litre) ou en ppm (parties par million).

### 2.2.2.1 Propriétés pharmacocinétiques

- **Absorption gastro-intestinale (GI)**

C'est la capacité d'un composé à traverser la barrière gastro-intestinale dans la circulation sanguine. Il est fondamentalement caractérisé par l'un des trois mécanismes, y compris la diffusion facilitée, la diffusion passive et le transport actif.

- **Perméabilité BB**

La barrière hémato-encéphalique (BBB) protège le système nerveux central (SNC) en séparant le tissu cérébral de la circulation sanguine. Il est principalement formé par l'endothélium cérébral et peut empêcher l'entrée de grandes et petites molécules dans le système nerveux central, permettant uniquement le transport et le transport sélectif de molécules hydrosolubles et de lipides (Abbott *et al.*, 2006). De plus, ce canal exprime un certain nombre de transporteurs actifs, tels que la glycoprotéine P et le transporteur de glucose, pour empêcher l'entrée de neurotoxines lipophiles potentielles (Ballabh *et al.*, 2004).

# **Chapitre 3**

## **Résultats et discussion**

### 3.1 Dockingmoléculaire

#### 3.1.1 Écart quadratique moyen(RMSD)

La capacité du programme à prédire avec succès le mode d'interaction entre deux molécules (ligand et protéine) réside dans la détermination du bon positionnement du ligand par rapport à son récepteur. Ceci est généralement jugé par l'écart quadratique moyen, ou RMSD, des positions de ligand calculées par le logiciel par rapport à un ligand de référence existant sur le PDB. La prévision est acceptable si la valeur prévisionnelle ne dépasse pas 2 angströms (Chikhi et Bensegueni, 2008).

Le test de fiabilité de RMSD pour la procédure MOE a été réalisé à l'aide de complexes protéine-ligand. Après reconstruction du complexe protéine-ligand par redocking moléculaire, le logiciel MOE calcule le RMSD en comparant la géométrie de la position optimale avec le ligand d'origine directement à partir du PDB. Les résultats de ce test sont présentés dans le **tableau 5**.

**Tableau 5** :Résultats de redocking de ligand dans le site actif de la protéine cible 3MNG par le logiciel MOE.

Protéine (Cibles)	ID PDB	Ligand	Score -Kcal/mol	RMSD (Å)
Peroxi-redoxin-5, mitochondrial	3MNG	DTT	-4,4694	0,5232

La valeur du RMSD enregistrée avec le complexe protéinique sont inférieure à 2 Å, ce résultat de ce premier test (0,5232 Å) nous permet de dire que le programme MOE est un outil de modélisation bien adapté à l'étude *in-silico* de l'inhibition de cette protéine.

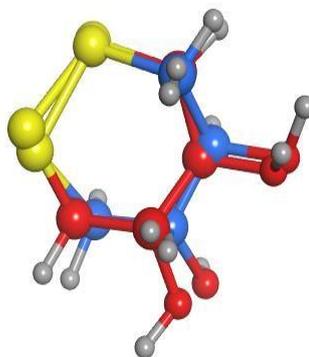
#### 3.1.2 Analyse visuelle de la superposition du ligand simulé sur le ligand Co-cristallisé

Le test RMSD est suivi de la visualisation de certains complexes obtenus après le docking afin de relier les valeurs RMSD calculées à la position du modèle simulé par MOE par rapport au ligand d'origine.

L'analyse visuelle par le MOE réalisée sur la cible d'antioxydant (**Fig 12**), montre que la superposition du ligand après le redocking moléculaire (coloré en bleu) et de ligand

Co-cristallisé (coloré en rouge). Le ligand redocké (coloré en bleu) présente une conformation spatiale très proche voir même superposable à celle déterminée expérimentalement par cristallographie déposée dans la PDB.

Donc à partir de ces résultats nous pouvons conclure que MOE est un logiciel qui fonctionne avec une fiabilité acceptable. Il peut donc être utilisé, sans trop de risque d'erreurs, dans l'étude *in silico* de l'interaction des protéines et les divers inhibiteurs.



**Fig 12** :Superposition du ligand Co-cristallisé (en rouge) et le ligand après Docking (en bleu).

### 3.2 Docking des molécules sur laprotéine

Le docking de 14 constituants des différentes parties d'*Ephedra alata* est effectué sur la structure de la protéine cible Peroxiredoxin-5, mitochondrial (3MNG). Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau 6**. Les meilleurs inhibiteurs sont choisis en comparant leurs scores d'affinité par rapport à ceux du ligand de référence.

**Tableau 6** : Résultats de Docking moléculaire des constituants de *l'Ephedra alata* sur le site actif de 3MNG.

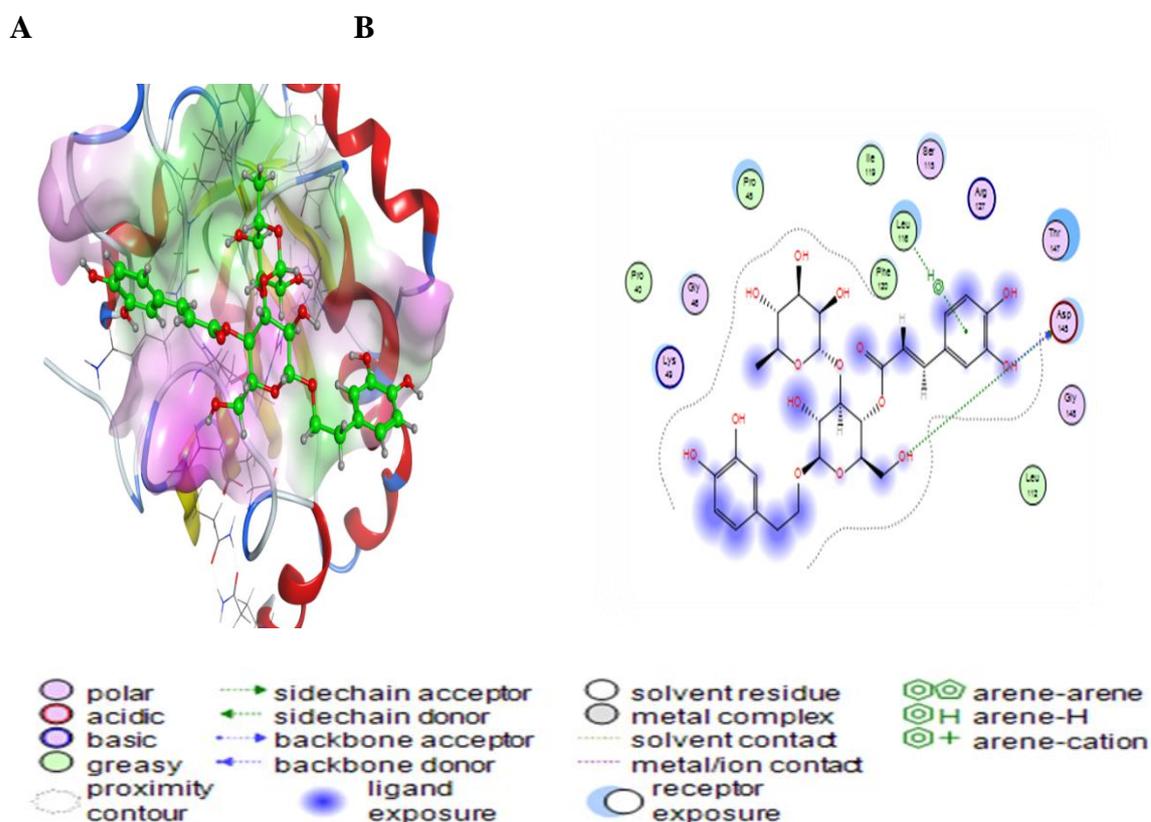
Code PubChem	Molécules testées	Energie (-Kcal/mol)
DB04447	2,3-DIHYDROXY-1,4 DITHIOBUTANE	-4,4694
5276454	Catechin	-5,4900
9798666	Crypto-chlorogenic acid	-4,5927
131750832	Apigenin 6-C-glucoside	-5,2370
5280343	Quercitin	-4,8918
65084	Gallactechin	-4,8743
5281643	Hyperoside	-5,4900
5280805	Rutin	-5,1648
6540709	Glucosides	-5,2463
5281792	Rusmarine acide	-4,7046
5280863	Kaempferol	-4,5222
5280445	Luteolin	-4,8006
5379975	Caffic acid derevatine	-4,7531
5281675	Luteolin-8-O-glucoside	-4,7195
5281800	Verbascoside	-5.6254

Dans cette étude, l'énergie de ligand DTT a été choisie comme énergie de référence pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants *d'Ephedra alata*. Le docking moléculaire des quatorze molécules a donné des scores d'affinité allant de -4.5222 Kcal/mole pour le Kaempferol jusqu'à -5.6254 Kcal/mole pour laVerbascoside.

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

A la lumière des résultats du **tableau 6**, il ressort que les composés : Verbascoside (-5,6254 Kcal/mol), Hyperoside (-5,4900 Kcal/mol), Catechin (-5,3163 Kcal/mol), Apigenin 6-C-glucoside (-5,2370 Kcal/mol), Glucosides (-5,2463 Kcal/mol) et Kaempferol (-4,5222 Kcal/mol) ont donné des énergies d'affinité plus basses que celle de ligand DTT (-4,4694 Kcal/mol). Autrement dit, ces constituants présentent plus d'affinité pour la protéine cible par rapport au ligand de référence et sont susceptible de former avec elle des complexes plus stables.

En complément des résultats obtenus ; une analyse visuelle du meilleur complexe qui est celui formé par le composé Verbascoside avec la cible protéique a été réalisée (**Fig 13**).



**Fig 13** : A, Interactions entre le site actif de l'Peroxiredoxin-5, mitochondrial et le Verbascoside. B, diagramme d'interactions de la Verbascoside.

Le **tableau 7** récapitule les différentes interactions qui ont été établies entre le site actif du Peroxiredoxin-5, mitochondrial et le Verbascoside. Ces interactions assurent la stabilité du complexe formé.

**Tableau 7 :** Interactions entre le Verbascoside sur la Peroxiredoxin-5, mitochondrial (3MNG).

Ligand	Récepteur	Interaction	Distance (Å)	Energie (Kcal/mol)
O10	OD2Asp145	H-donor	3,09	-1,4
O 1 4	O Asp145	H-donor	3,18	-1,4
6-rig	CD2 Leu 116	Pi-H	4,27	-0,7

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

Les interactions hydrophobes sont formées avec Ile119, Pro43, Pro40, Phe120 et Leu 112, tandis que les interactions électrostatiques sont établies avec Lys49, Gly48, Ser113, Arg 127, Trh 147, Gly 143.

D'autre part, on note la formation de deux liaisons hydrogènes avec le résidu de l'Asp 145 avec une distance de 3,18 Å et 3,09 Å et la formation d'une liaison avec le résidu Leu116 avec une distance égale 4,27Å.

### 3.3 Résultats de la prédiction des propriétés physico-chimiques

Un objectif important de la recherche sur les médicaments est de bien comprendre les propriétés moléculaires qui limitent la biodisponibilité orale afin de faciliter la conception de nouveaux candidats-médicaments viables. Une biodisponibilité orale élevée est souvent une considération importante dans le développement de molécules bioactives comme thérapeutiques (Veber et *al.*, 2002).

La quantité de médicament qui atteint la circulation systémique dépend de nombreux facteurs différents. On pense généralement que la biodisponibilité des médicaments oraux est principalement déterminée par leurs propriétés physicochimiques (Barthe et *al.*, 1999). Nous avons utilisé le serveur SwissADME pour prédire les propriétés physicochimiques de Quatorzecomposésphénoliquesisolésdel'*Ephedraalata* Lesrésultatsdel'évaluationdes

Propriétés physico-chimiques obtenus à partir du serveur SwissADME sont récapitulés dans **letableau8**.

**Tableau 8** : Profil ADME des polyphénols de *l'Ephedra alata* à partir du serveur SwissADME

Propriété	1	2	3	4	5	6	7	8
Formule	C22H18O10	C26H28O14	C16H18O9	C6H12O6	C29H36O1 5	C21H20O11	C21H20O1 2	C27H30O1 6
PM (g/mol)	442,37	564,49	354,31	180,16	624,59	448,38	464,38	610,52
H-bond A	10	14	9	6	15	11	12	16
H-bond D	7	10	6	5	9	8	8	10
Nb LF	4	5	5	1	11	3	4	6
Log P	1,25	-1,49	-0,32	-2,26	-0,43	-0,41	-0,25	-1,29
Log S	S	S	T S	H S	S	S	S	S
TPSA (Å <sup>2</sup> )	177,14	250,97	164,75	110,38	245,29	201,28	210,51	269,43
R.Lipinski	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non
R.Veber	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
AS	4,16	6,18	4,13	4,01	6,37	5,17	5,32	6,52

Propriété	9	10	11	12	13	14
Formule	C15H10O7	C27H50O4Si3	C15H14O7	C15H10O6	C18H16O8	C15H10O6
PM (g/mol)	302,24	522,94	306,27	286,24	360,31	286,24
H-bond A	7	4	7	6	8	6
H-bond D	5	0	6	4	5	4
Nb LF	1	11	1	1	7	1
Log P	1,23	6,79	0,42	1,58	1,50	1,73
Log S	S	PS	S	S	S	S
TPSA (Å <sup>2</sup> )	131,36	44,76	130,61	111,13	144,52	111,13
R.Lipinski	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
R.Veber	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Oui
AS	3,23	5,35	3,53	3,14	3,38	3,02

**1:**Catechin(+);**2:**Apigenin 6-C-glucoside 8-C-arabinoside ;**3:**Crypto-chlorogenic acid ;**4:**Glucosides; **5:**Verbascoside ;**6:**Luteolin 8-C-glucoside;**7:**Hyperoside; **8:**Rutin; **9:**Quercitin; **10:**Caffeic acid Derevatine; **11:**Gallactechin ;**12 :**Kaempferol; **13:**Rusmarine acide ;**14:**Luteolin;  
**H-bond A :** nombre H-bond accepteur; **H-bond D :** nombre H-bond donneur; **Nb LF :** nombre des liaisons à libre rotation; **AS:**accessibilité à la synthèse; **S:** Soluble; **TS:** Très soluble; **HS:** Hautement soluble; **PS:** Peusoluble.

Les quatorze phytocomposés ont des poids moléculaires  $\leq 500$  g/mol sauf que les molécules : Apigenin 6-C-glucoside 8-C-arabinoside avec un PM 564,49 (g/mol), Verbascoside avec un PM 624,59 (g/mol), Rutin avec un PM 610,52 (g/mol) et Caffeic acid Derevatine avec un PM 522,94 (g/mol), le nombre de donneurs de liaisons hydrogène 2 inférieurs à 5 mentions (Kaempferol et Luteolin), le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène  $8 > 10$ .

En ce qui concerne la propriété log P, qui détermine la solubilité de chaque élément dans les lipides (solubilité dans les graisses), en fait, nous remarquons que tous les composés de l'*Ephedra* ont des valeurs de log P inférieures à 5, à l'exception de Rutin avec une valeur de log P égale à 6,79. Ces valeurs de Log P indiquent que ces molécules ne sont pas lipophiles. De plus, nous avons remarqué que ces composés sont tous solubles dans les milieux aqueux, mais ont des solubilités différentes (soluble, moyennement soluble, extrêmement soluble). Il convient de noter la solubilité est corrélée négativement avec Log P, et plus la valeur de Log P est élevée, plus la solubilité est faible.

Deux autres critères introduits par Veber (Veber et *al.*, 2002) : le nombre de liaisons à libre rotation (LF) est  $13 < 10$  et la surface polaire de la molécule (TPSA) est  $< 140 \text{ \AA}^2$ . Les différentes valeurs de la surface polaire topologique (TPSA) montrent que tous les phytocomposés ne répondent pas à la règle de Veber sauf les molécules : Glucosides, Quercitin, Gallactechin, Kaempferol et Luteolin qui ont une valeur comprise entre  $110,38 \text{ \AA}^2$  et  $111,13 \text{ \AA}^2$ , ce qui permet de prédire l'absorption intestinale et le passage de la barrière hémato-encéphalique.

La facilité de synthèse d'un médicament est donnée par le Synthesis Accessibility Score (SA). Les molécules avec un score de 1 sont faciles à synthétiser, tandis qu'un score de 10 indique la difficulté de synthèse (Abdelli et *al.*, 2020). D'après nos résultats, les valeurs d'AS de ces molécules sont toutes inférieures à 10, et parmi les molécules testées, la molécule Luteolin est le composant le plus facile à synthétiser (AS=3,09).

Les résultats révèlent que les composés : Glucosides, Quercitin, Gallactechin, Kaempferol et Luteolin ont présenté un bon profil ADME et valident la règle de Lipinski indiquant ainsi une bonne biodisponibilité par voie orale avec une facilité d'absorption ou de perméabilité dans le corps sans poser des problèmes. Notant également que les Cinq

composés sont solubles dans les milieux aqueux, et respectent la règle de Ghose (Ghose et *al.*, 1999), de Egan (Egan et *al.*, 2000), et de Muegge (Muegge et *al.*, 2001).

### 3.4 Synthèse des résultats des travaux antérieurs sur les extraits de *Ephedra alata*

Cette partie est une synthèse des travaux antérieurs menés sur l'espèce *Ephedra* et qui ont mis en évidence l'activité antioxydante des composés phytochimiques de cette plante

#### ✚ Article 01

Jaradat et *al.*, 2021, ont déterminé la teneur totale en flavonoïdes à l'aide de l'étalon de référence de la rutine et ont dosé les phénols totaux à l'aide de la méthode de Folin Ciocalteu, tandis que l'activité antioxydante a été évaluée à l'aide du dosage du 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl-hydrate.

Les analyses phytochimiques ont indiqué la présence de glycosides cardiaques, de sucres réducteurs, de flavonoïdes, de phénols et d'alcaloïdes. La teneur totale en composés phénoliques dans l'extrait éthanolique était de 19,175 mg, l'extrait éthanolique était plus riche en acide gallique avec une teneur égale à 47,62 mg équivalent acide gallique/g de la poudre d'extrait. La teneur totale en flavonoïdes était de 0,519 mg RU/g dans l'extrait aqueux et de 5,44 mg RU/g dans l'extrait éthanolique. Alors que l'extrait méthanolique était plus riche en flavonoïdes avec 54,66 mg RU/g. L'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* a montré une activité antioxydante élevée et de puissantes capacités de piégeage des radicaux libres.

#### ✚ Article 02

Bourgou et *al.*, 2020, ont étudié la propriété de deux espèces tunisiennes d'*Ephedra* (*E. alata* et *E. fragilis*) à travers leurs constituants phytochimiques.

L'analyse des fractions actives à l'aide de LC-DAD a révélé que l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide gallique, la quercétine et l'isoquercitrine étaient les principales molécules bioactives qui pourraient être responsables de leurs propriétés antioxydantes.

#### ✚ Article 03

De leur part, Chouikh et *al.*, 2021 ont rapporté que l'extrait méthanolique avait la meilleure teneur en polyphénols ( $158,34 \pm 2,71$  mg GAE/g d'extrait) et de flavonoïdes ( $88,50 \pm 1,12$  mg EQ/g d'extrait). L'analyse chromatographique HPLC a identifié huit composés phénoliques, ce sont l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide vanillique, la vanilline, l'acide b-coumarique, la rutine, la naringine et la quercétine.

L'activité antioxydante a été évaluée par trois tests : DPPH • élimination des radicaux libres, hémolyse et réduction Force, DPPH • les résultats des tests de piégeage des radicaux libres montrent que l'extrait de tanin a une meilleure capacité d'activité de piégeage que les autres extraits (IC50 :  $14,94 \pm 1,34 \mu\text{g/ml}$ ). Enfin, dans le test du pouvoir réducteur, ses résultats ont montré que l'extrait de tanin avait un meilleur pouvoir réducteur de  $27,16 \pm 0,25 \mu\text{g/ml}$  à Abs (700)= 0,5 par rapport aux autres extraits.

#### Article 04

Benarba et *al.*, 2021, ont réalisé une étude phytochimique des extraits aqueux et méthanoliques des parties aériennes d'*Ephedra alata*.

L'activité antioxydante a été déterminée à l'aide de la capacité antioxydant totale et l'activité de piégeage des radicaux libres stables DPPH et des dosages d'énergie antioxydant. La meilleure activité de piégeage des radicaux (IC50 =  $4,63 \pm 0,00 \text{ mg/ml}$ ) et la capacité antioxydant totale ont été démontrées par l'extrait aqueux ( $7,35 \pm 0,12 \text{ mg/ml AAE}$ ), tandis que l'extrait méthanolique avait l'activité énergétique réductrice la plus élevée ( $1,81 \pm 0,00 \text{ mg EAA/ml}$ ).

#### Article 05

Benabdrrahim et *al.*, 2019, ont rapporté que le profil du phénol était constitué de 23 composés identifiés par analyse LC-ESI-MS. Cinq acides phénoliques (acide quinique, acide gallique, acide injectable, acide coumarique et acide férulique) et cinq flavonoïdes (catéchine, épicatechine, rutine, quercétrine et naringénine) sont prédominants et communs chez les plantes. Sur la base de toutes les données visibles dans la carte thermique, les plantes ont été regroupées en deux groupes. L'espèce *E. alata* a été sélectionnée pour son potentiel antioxydant. Ces résultats ont permis de sélectionner un mélange de trois acides phénoliques (rutine, quercétrine et acide quinique) qui semblent déterminer le puissant pouvoir antioxydant.

#### Article 06

Khattabi et *al.*, 2022, ont déterminé le profil chimique de l'extrait brut d'*Ephedra allata* par analyse RP-HPLC-ESI-QTOF-MS, révélant la présence de vingt et un flavonoïdes et acides phénoliques. Une série de dosages d'antioxydants a été réalisée en utilisant dix méthodes différentes. Un grand potentiel antioxydant a été montré, avec des valeurs IC50 intéressantes ne dépassant pas  $40 \mu\text{g/ml}$ .

De même, une inhibition significative des enzymes clés, impliquées dans certains problèmes de santé, tels que la maladie d'Alzheimer, le diabète, l'hyperpigmentation, les troubles cutanés, les infections bactériennes gastriques/urinaires et l'obésité, a été observée pour la première fois. Selon ces résultats, cette plante peut être utilisée dans une large gamme comme complément alimentaire, comme remède naturel contre divers troubles physiologiques et maladies ; elle peut agir en tant qu'agent de prévention et de soins de santé.

#### Article 07

Noui, 2022, a caractérisé les composés naturels d'*E. alata* par LC-DAD-ESI-MS/MS en utilisant des modes d'ionisation négatifs et positifs, tandis que la bioactivité a été évaluée par une étude d'inhibition. Les tests de piégeage des radicaux DPPH et de blanchiment du carotène ont été utilisés pour évaluer le potentiel antioxydant. La méthode spectrophotométrique proposée a fourni une identification préliminaire de 27 composés, y compris des alcaloïdes et des composés phénoliques tels que les flavonoïdes. L'extrait méthanolique présentait des niveaux élevés de composés phénoliques totaux et a démontré un grand potentiel antioxydant et a démontré un fort effet inhibiteur contre l'acétylcholinestérase (IC<sub>50</sub> : 11,25 ± 0,25 µg/ml). Les résultats ont montré que la plante a un effet thérapeutique.

#### Article 08

Les extraits d'*Ephedra* ont fait l'objet de recherches approfondies réalisées par Ibragic et al., 2021, en termes de propriétés antioxydants, les constituants phénoliques étant les vecteurs généraux de ces activités vitales.

Un ensemble de méthodes analytiques ont été utilisées pour identifier et caractériser à la fois l'activité antioxydante et le profil qualitatif des acides phénoliques et des flavonoïdes présents dans de nombreuses espèces d'éphédra d'origine géographique différente. Des méthodes spectrophotométriques ont été utilisées pour déterminer la teneur totale en composés phénoliques, la teneur totale en flavonoïdes et l'activité antioxydante. L'HPTLC multi-développement permet une empreinte chimique qui peut être utilisée pour distinguer les espèces. Les points individuels du chromatogramme en couche mince GC-MS ont été soumis à une dérivation du port d'injection pour l'identification, qui était basée à la fois sur les spectres de masse détectés et les indices de rétention enregistrés. Les résultats ont été comparés et complétés avec GC-MS en utilisant une dérivation horsligne.

#### Article 09

Mighri et *al.*, 2019, ont développé une méthode LC-ESI/MS sensible et validée pour l'identification et l'identification simultanées de 33 composés phénoliques standards dans l'extrait de méthanol brut (MeOH) d'*E. alata* et ses molécules dérivées (dichlorométhane (DCM), acétate d'éthyle (EAc), butanol (BuOH) et eau). Les activités antioxydants ont été testées à l'aide des tests de capacité antioxydant totale (TAC), DPPH et FRAP.

Les résultats ont montré que la méthode LC-ESI/MS est fiable et conduit sans ambiguïté à l'identification et à la quantification de 24 composés phénoliques, dont la plupart sont présents dans tous les extraits. Les principaux composants détectés sont l'épicatéchine, l'acide quinique, la quercétine-3-o-rhamnoside, la catéchine, l'acide trans-cinnamique, la naringine et l'acide férulique, dont les quantités varient selon le solvant utilisé pour l'extraction. L'extrait de DCM a montré l'activité la plus élevée lorsque le test TAC a été appliqué, l'extrait de BuOH et d'EAc a montré l'activité la plus élevée avec le test DPPH, tandis que l'extrait de DCM et d'EAc a montré l'activité la plus puissante en utilisant la méthode FRAP. Cette différence peut être attribuée à la nature et aux quantités de composés phénoliques dans les extraits. Ces analyses phytochimiques et biologiques réalisées pourraient être bénéfiques pour l'utilisation potentielle de cette plante dans de nouveaux médicaments.

# **Conclusion**

## Conclusion

Grace à leur diversité et leur complexité, les produits naturels ont fait et demeurent l'objet de nombreux travaux des recherches, lors des quels des propriétés biologiques très intéressantes ont été mises en évidences.

Ce travail avait pour but, l'évaluation *in-silico* de l'effet antioxydant et déterminer les propriétés (physico-chimique) des constituants des métabolites secondaires extraits d'*Ephedra alata* dans le but de trouver de nouveaux agents naturels doués de potentiel antioxydants en utilisant le moyen de simulations bio-informatiques.

La recherche sur les composants des métabolites secondaires de l'espèce *Ephedra alata* nous a permis de choisir quatorze molécules qui ont été ajoutées et regroupées dans une seule base de données puis ancrées dans le site actif de la protéine cible:3MNG.

Les résultats de docking moléculaire ont montré que la Verbascoside est le meilleur inhibiteur de la cible testée avec un score de -5,6254 Kcal/mol. En plus d'autres composés composés : Hyperoside, Catechin, Apigenin 6-C-glucoside, Glucosides et Kaempferol qui ont montré un potentiel inhibiteur très intéressant de la protéine cible par rapport au ligand de référence et sont susceptible de former avec elle des complexes plus stables.

Les résultats de l'évaluation des propriétés physico-chimiques obtenus à partir du serveur SwissADME ont révélé que cinq composés (Glucosides, Quercitin, Gallactechin, Kaempferol et Luteolin) ont présenté un bon profil ADME et ont répondu la règle de Lipinski et de Viber indiquant ainsi une bonne biodisponibilité par voie orale avec une facilité d'absorption ou de perméabilité dans lecorps.

Enfin, notre étude ici n'étant qu'initiale dans le domaine de la recherche des substances naturelles biologiquement actives, Il serait intéressant d'étayer ce travail par :

- Étude expérimentale complémentaire *in-vitro* de la toxicité puis l'évaluation de l'activité antioxydant sur des modèles animaux (*in vivo*) afin de déterminer les doses thérapeutiques et les doseslétales.
- Étude de l'efficacité des extraits d'*Ephedra alata* dans le domaine alimentaire afin d'établir leur utilité comme agents antioxydants naturels dans la sécuritéalimentaire.

# Références bibliographiques

**Références bibliographiques**

- Abbott N. J., Rönnbäck L., & Hansson E. (2006).** Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. *Nature reviews neuroscience*, 7 (1), 41-53.
- Abdelli I., Benariba N., Adjdir S., Fekhikher Z., Daoud I., Tarek M. ,Benramdane H., ...& Ghalem S. (2020).** *In silico* evaluation of phenolic compounds as inhibitors of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-13 .
- Abderrazak M., & Joël R. (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris, 177p.
- Abourashed E.A., El-Alfy A.T., Khan I.A., & Walker L. (2003).** *Ephedra* in perspective—a current review. *Res*, 17(7), 703-712.
- Agarwal S., & Mehrotra R. (2016).** An overview of Molecular. *JSM Chem*, 4(2), 1024.
- Al\_Rimawi F., Abu\_lafi S., Abbadi J., & Odeh I. (2017).** Analyse of Penolic and Flavonoids of Wils *Ephedra alata* plant extracts by LC/PDA and LC/MS and their antioxydant activity. *African Journal of traditional*, 14(2), 130-141.
- AL-Qarawi A.A., Abd\_Allah E.F., & Hashem A. (2011).** *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. *African Journal of Microbiology Research*, 5(16), 2297-2303.
- Ballabh P., Braun A., & Nedergaard M. (2004).** The blood–brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of disease*, 16(1), 1-13.
- Bell A., & Bachman S. (2011).** *Ephedra alata*. The IUCN Red List Partnership, 7.
- Benabderrahim M. A.,Yahia Y.,Bettaieb I. Elfalleh W., & Nagaz K. (2019).** Antioxidant activity and phenolic profile of a collection of medicinal plants from Tunisian arid and Saharan regions. *Industrial Crops & Products*, 138, 111427.
- Benarba B., Ouafae D., Gadoum C., Belhouala,K., & Mahdjour S. (2021).** Phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ephedra alata Decne* growing in south Algeria. *Preprints*, 1-15.
- Berger M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutritional manipulation of oxidative stress: review of the evidence. Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53

- Berman H. M. , Battistuz T. , Bhat T. N. , Bluhm W. F., Bourne P. E., Burkhardt K., . . . & Zardeckia,N. (2002).** The Protein Data Bank. *Acta Crystallographica*, 58(6), 899-907.
- 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.
- Boizot N., & Charpentier JP. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA. Numéro Spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques*, 79-82.
- Bourgou S., Ezzine Y., Ben Mansour R. , Dakhlaoui S., Selmi S., Bachkouel S., . . . & Megdiche-Ksouri W. (2020).** Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two Tunisian *Ephedra* species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*. *South African Journal of Botany*, 135,421-428.
- Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec &Doc/Lavoisier, Paris,279-281.
- Burley S. K., Berman H. M., Bhikadiya C., Bi C., Chen L., Di Costanzo L., ...& Zardecki C. (2018).** RCSB Protein Data Bank: biological macromolecular structures enabling research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology and energy. *Nucleic Acids Research*.
- Capecch A., Mahendra A., Daniel P., & Daniel P. (2019).** PubChem and ChEMBL beyond Lipinski. *Mol. Inf.*, 1-12.
- Caveney S., Charlet, D. A., Freitag H., Maier-Stolte M., & STARRATT A. N. (2001).** New Observations on the Secondary Chemistry of World *Ephedra* (*Ephedraceae*) Author(s). *American Journal of Botany*, 88(7), 1199-1208.
- Chen W. L., Tsai T. H., Yang C. C.H. & Kuo T. B.J. (2010).** Effects of *Ephedra* on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of ethnopharmacology*, 130(3), 563-568.

- Chikhi A., & Bensegueni A. (2008).** Docking efficiency comparison of Surflex, a commercial package and Arguslab, a licensable freeware. *Journal of Computer Science & Systems Biology*,081-086.
- Chouikh A., Houba Z., Himeur H., Alia F., & Adjal E. (2021).**Phytochemical Study, HPLC Chromatographic Analysis and Antioxidant Activity of *Ephedra alata DC.* Female Cones Extracts. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 14(4),259-264.
- Chouitah O. (2019).** The essential oil of Algerian *Ephedra alata* subsp. *Journal on New Biological Reports*, 8(3), 190 -193.
- Daina A., Michielin O., & Zoete V. (2017).** SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* 7, 42717
- Danciu C., Muntean D., Alexa F., Farcas C., Oprean C., Zupko I. & Dehelean A. C. (2019).** Phytochemical Characterization and Evaluation of the Antimicrobial, Antiproliferative and Pro-Apoptotic Potential of *Ephedra alata Decne.* Hydroalcoholic Extract against the MCF-7 Breast Cancer Cell Line. *Molecules*, 24(13), 1-15.
- Dbeibia A., Ben Taheur F., Altammar K. A., Haddaji N. , Mahdhi A. , Amri Z., . . & Jabeur Ch. (2022).** Control of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant isolated from auricular infections using aqueous and methanolic extracts of *Ephedra alata*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 1021-1028.
- Del Rio D., Rodriguez-Mateos A., Spencer J.P.E., Tognolini M., Borges G., & Crozier A. (2013).** Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 18(14) ,1818-1892.
- Derbel S., Touzard B., Triki M.A., & Chaieb M. (2010).** Seed germination responses of the *Alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora*, 205,471–474.
- Egan, W., Merz, K., & Baldwin, J. (2000).** Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *Journal of medicinal chemistry*, 43(21), 3867-3877.
- Fan J., Fu A., & Zhang L. (2019).** Progress in molecular docking. *Quantitative Biology*, 7, 83-89.

- Favier A. (2003).** Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108.
- Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. Ann Pharm Fr, 64(6), 390-396.
- Feher M. (2006).** Consensus scoring for protein–ligand interactions. Drug Discovery Today, 11(9), 421-428
- Ghanem S., & El-Magly U.I.A. (2008).** Antimicrobial Activity and Tentative Identification of Active Compounds from the Medicinal Ephedra alata Male Plant. J T U Med Sc., 3(1), 7-15.
- Ghose A. K., Viswanadhan V. N., & Wendoloski J. J. (1999).** A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. Journal of combinatorial chemistry, 1(1), 55-68.
- Ghourri M., Zidane L., & Douira A. (2013).** Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). Journal of Animal & Plant Sciences, 17(1), 2388-2411.
- GRUE-SORENS G., & SPENS I. D. (1989).** The biosynthesis of ephedrine. SPENSER. Can. J. Chem, 67(6),998-1009.
- Hadi M. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres. Études et applications thérapeutiques: Pharmacochimie. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur,Strasbourg, 155.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., & Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydant. Rev Med Liege, 62(10), 628-638.
- He M., Yan J., Cao D., Liu Ch., Zhao Ch., Liang Y., . . . & Zhang Z. (2013).** Identification of terpenoids from *Ephedra* combining with accurate mass and *in-silico* retention indices. Talanta, 103, 116-122.
- Hibi Z., Makhlouf A., & Azzi R. (2022).** Ethnobotanical, phytochemical characterization and biological activities of *Ephedra alata Decne* extracts, growing wild in Bechar region, south west of Algeria. South Asian Journal of Experimental Biology, 12(1), 35-45.

- Hmid I. (2013).** Contribution a la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica Granatum L.*) : caracterisation physicochimique, biochimique et stabilite de leur jus frais. Alimentation et Nutrition. Thèse de doctorat. Université d'Angers France,Grappes,177.
- Ibragic S., Barbini S., Oberlerchner J. T., Potthast A., Rosenau T., & Böhmdorfer S. (2021).** Antioxidant properties and qualitative analysis of phenolic constituents in *Ephedra spp.* by HPTLC together with injection port derivatization GC–MS. Journal of Chromatography B, 1180, 122877.
- Jaradat N., Dacca H., Hawash M., & Abualhasan M. N. (2021).** *Ephedra alata* fruit extracts: phytochemical screening, anti-proliferative activity and inhibition of DPPH,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and lipase enzymes. BMC Chemistry, 15(1), 1-13.
- Jaradat N., Hussen F. M., & Al Ali A. (2015).** Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Estimation of Total Flavonoids, Total Phenols and Antioxidant Activity of *Ephedra alata Decne.* J. Mater. Environ, 6(6), 1771-1778.
- Jerbi A., Zehri S., Abdnnabi R., Gharsallah N., & Kammoun,M. (2016).** Essential Oil Composition, Free-Radical-Scavenging and Antibacterial Effect from Stems of *Ephedra alata alenda* in Tunisia. Journal of Essential Oil Bearing Plants.19 (6), 1503-1509
- Kamra D.N, Agrwal N., & Chaudhary L.C. (2006).** Inibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series, 1293, 156-163.
- Kemper K. J., MD, & MPH. (2000).** *Ephedra (Ephedra sinica)*. Longwood Herbal Task Force, 19.
- Khattabi L., Boudiar T., Bouhenna M. M. , Chettoum A., Chebrouk F., Chader H., . . . & Akkal S. (2021).** RP-HPLC-ESI-QTOF-MS Qualitative Profiling, Antioxidant, Anti-Enzymatic, Anti-Inflammatory, and Non-Cytotoxic Properties of *Ephedra alata Monjauzeana*. Foods, 11(145),1-18.
- Kim S., Thiessen P.A., Bolton E.E. , Chen J., Fu G., Gindulyte A., . . . & Bryant S. H. (2016).** PubChem Substance and Compound databases. Nucleic Acids Research. 44(D1),D1201-1213.

- Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., & Bajorath J. (2004).** Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *NATURE REVIEW*, 3, 935-949.
- Kollman P. A., Massova I., Reyes C., KUHN B.,.... & CHEATHAM E. T. (2000).** Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models. *Accounts of chemical research*, 33(12), 889-897.
- Kortemme T., Morozov A. V., & Baker D. (2003).** An orientation-dependent hydrogen bonding potential improves prediction of specificity and structure for proteins and protein–protein complexes. *Journal of molecular biology*, 326(4), 1239-1259.
- Lettre d'un laboratoire (2018).** Fruits et légumes, des aliments riches en antioxydants. Laboratoire Nutergia.
- Leverve X. (2009).** Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 44(5), 219-224.
- Limberger R.P., Jacques A. L. B., Schmitt G.C., & Arbo M.D. (2013).** Pharmacological Effects of Ephedrine. *Natural Products*, 1218- 1237.
- Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., & Feeney P. J. (2001).** Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings IPII of original article: S0169-409X (96)00423-1. The article was originally published in *Advanced Drug Delivery Reviews* 23 (1997) 3–25. 1. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3–26.
- Louacheni C., Planck, L., & Israel M. (2007).** Les loisirs devant écran des jeunes. Usages et mésusages d'internet, des consoles vidéo et de la télévision. *Psychotropes*, 13(3), 153.
- Mighri H., Akrouf A., Bennour N., Eljeni H., Zammouri T., & Neffati M. (2019).** LC/MS method development for the determination of the phenolic compounds of Tunisian *Ephedra alata* hydro-methanolic extract and its fractions and evaluation of their antioxidant activities. *Journal of Botany*, 124, 102-110.
- MIHĂȘAN M. (2012).** What *in silico* molecular docking can do for the 'bench-working biologists. *J. Biosci*, 37(1), 1089–1095.

- Morris G.M., & Lim-Wilby M. (2008).** Molecular Docking. In: Kukol, A. (eds) Molecular Modeling of Proteins. Methods Molecular Biology™, vol 443, 365-382.
- Muegge I., Heald S.L., & Brittelli D. (2001).** Simple selection criteria for drug-like chemical matter. Journal of medicinal chemistry, 44(12), 1841-1846.
- Newman,D.J. & Cragg G.M. (2012).** Natural products As Sources of New Drugs over the 30Years from 1981 to 2010. J.Nat.Prod, 75(3), 311-335.
- Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed, M., & Zabeirou H. (2003).** Place of the spontaneous plants samples in the traditional pharmacopoeia of the area of Ouargla (Septentrional east Sahara). Courrier du savoir, 47-51.
- Ozenda (1991).** Flore et végétation du Sahara.
- Palici I. F. (2016).** Valorisation des Activités biologiques de. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Biotechnologies Agroalimentaires, Roumanie, 47
- Pandey K. B., & Rizvi, S. I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2(5), 270-278.
- Phinney K.W., Ihara, T., & Sander, L.C. (2005).** Determination of ephedrine alkaloid stereoisomers in dietary supplements by capillary electrophoresis. Journal of Chromatography, 1077(1), 90-97.
- Pietta P.-G. (2000).** Flavonoids as Antioxidants. J. Nat. Prod, 63(7), 1035-1042.
- Pincemail J. Heusele C., Bonté F., Limet R., & Defraigne J.O. (2001).** Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act. Méd. Int.-Métabolismes - Hormones - Nutrition, (4), 159.
- Pousset J. L. (1989).** Plantes médicinales africaines, Ellipses Paris,66-86.
- Ranjith D., & Ravikumar C. (2019).** SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in Ipomoea mauritiana Jacq. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8(5), 2063-2073.
- Rester U. (2006).** Dock around the clock—current status of small molecule docking and scoring. QSAR & Combinatorial Science, 25(7), 605-615.

- Roy, U., & Luck, L. A. (2007).** Molecular Modeling of Estrogen Receptor Using Molecular Operating Environment. The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 35(4), 238-243.
- SAADAOUI B., BEKIR J., AKROUT J., AMMAR S., AHJOUB A., & MARS M. (2006).** Etude de la composition et du pouvoir antioxydant des composés phénoliques de quelques espèces végétales de l'aride tunisien. SIPAM, 87.
- Salman H. A., Yaakop A. S., Al-Mustafa A., Tarawneh K., Aladaileh S., Al-Rimawi F., . . . & Wahab, H. (2021).** The dual impact of Jordanian *Ephedra alte* for inhibiting pepsin and. Saudi Journal of Biological Sciences, 6245-6253.
- Sapundzhi F., & Dzimbova F. (2020).** A COMPUTATIONAL STUDY OF CANNABINOID RECEPTORS AND CANNABINOID LIGANDS. Journal of Chemical Technology and Metallurgy, 55(5), 959-964
- Sioud F., Amor S., ben Toumia I., Lahmar A., Aires V., Chekir-Ghedira L., & Delmas D. (2020).** A New Highlight of *Ephedra alata Decne* Properties as Potential Adjuvant in Combination with Cisplatin to Induce Cell Death of 4T1 Breast Cancer Cells *In Vitro* and *In Vivo*. Cells, 9(2), 1\_19.
- Soltan M. M., & Zaki A. K. (2009).** Antiviral screening of forty-two Egyptian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 126(1), 102-107.
- Soni S. K. (2004).** An Information Resource On Education. Sarup & Sons.
- Soua L., Koubaa M., Barba F. J., Fakhfakh J., Ghamgui H. K., & Chaabouni S. E. (2020).** Water-Soluble Polysaccharides from *Ephedra alata* Stems: Structural Characterization, Functional Properties, and Antioxidant Activity. Molecules, 25(9), 1-18.
- Tripathi P., Ghosh S., & Talapatra S. N. (2019).** Bioavailability prediction of phytochemicals present in *Calotropis procera* (Aiton) R. Br. by using Swiss-ADME tool. World Scientific News, 131 (2019), 147-163.
- Tron I., Piquet O., Baert A., & Mouton C. (2002).** Toxon Manuel de Toxicologie. Guide technique. ADEME, Angers, 128.

**Vermerris W., & Nicholson R. (2006)** Phenolic Compounds and Their Effects on Human Health. In: Phenolic Compound Biochemistry, Springer, Dordrecht, 235-255

**Zsoldos Z., Reid D., Simon A., Sadjad B., & Peter Johnson A. (2006).** eHiTS: an innovative approach to the docking and scoring function problems. Current Protein and Peptide Science, 421-435.

## الملخص

تهدف أبحاث الأدوية على تطوير الجزيئات الطبيعية ذات النشاط البيولوجي كعوامل علاجية أو وقائية، خاصة المستقلبات الثانوية النباتية ولاسيما مادة البوليفينول النباتية التي جذبت اهتمامًا كبيرًا بسبب دورها. في عملنا هذا درسنا التنبؤ بالسيليكو للخواص الفيزيوكيميائية والحركية الدوائية لاربعة عشر مركب فينولي من نبات *Ephedra alata* باستخدام PubChem ، SwissADME حيث بينت النتائج ان المركبات البوليفينولية الخمسة Glucosides، Quercitin، Gallactechin، Kaempferol، وLuteolin أعطت توافر بيولوجي فموي جيد ، ملف تعريف ADME جيد وخصائص فيزيو كيميائية و الحركية الدوائية محترمة، بالإضافة إلى قدرتها المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Ephedra alata* خصائص ADME، مركبات الفينول، التنبؤ بالسيليكو

## Résumé

La recherche sur les médicaments vise à développer des molécules naturelles à activité biologique chez les plantes comme agents thérapeutiques et protecteurs, en particulier les métabolites secondaires végétaux, notamment les polyphénols végétaux qui ont attiré une attention considérable en raison de leur rôle. Dans notre travail, nous avons étudié la prédiction *in silico* des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques de quatorze composés phénoliques de *Ephedra alata* à l'aide de PubChem, SwissADME. Les résultats ont montré que les cinq composés polyphénoliques: Glucosides, Quercitin, Gallactechin, Kaempferol et Luteolin présentaient une bonne biodisponibilité orale, un bon profil ADME et des propriétés physiques, chimiques et pharmacocinétiques respectables, en plus de leur capacité antioxydante

**Mots clés :** *Ephedra alata* : propriétés ADME, composés phénoliques, prédiction *in-silico*.

## Abstract

Drug research aims to develop natural molecules with biological activity in plants as therapeutic and protective agents, in particular plant secondary metabolites including plant polyphenols which have attracted considerable attention due to their role. In our work, we studied the *in silico* prediction of the physicochemical, pharmacokinetic properties of fourteen phenolic compounds of *Ephedra alata* using PubChem, SwissADME. The results showed that the five polyphenolic compounds : Glucosides, Quercitin, Gallactechin, Kaempferol and Luteolin exhibited good oral bioavailability, a good ADME profile and respectable physical, chemical and pharmacokinetic properties, in addition to their antioxidant capacity.

**Keywords:** *Ephedra alata*: ADME properties, phenolic compounds, *in-silico* prediction.