

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

Activité antioxydante des extraits polaires de la plante *Atractylis humilis* et étude *in silico* de l'activité inhibitrice de quelques enzymes par la swertisine et l'acide oléanolique.

Présenté par:

- Melle. BELARIF Meriem
- Melle. BELMECHERI Sabrina Menal

Soutenue publiquement le 22/06/2023 devant les membres de jury :

Mr. GUENANE Hamid	MCB	Président
Mr. SIFI Ibrahim	MCA	Examineur
Mlle. ZAKHROUF Zohra	MAA	Promotrice
Mr. BOUKAROUIS Djoudi	MAA	Co-Promoteur

Année universitaire 2022-2023

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*À la mémoire de ma mère disparue trop tôt, que le tout puissant
l'accueille en son vaste paradis.*

*À mon père, pour sa patience, son amour, son soutien et ses
encouragements*

À mes frères et mes sœurs

*À mon cher binôme et amie « **SABRINE** »*

*À mes amies « **DENIA & ASMA** »*

À ma famille et toutes les personnes que j'aime

MERIEM

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

*À mes chers parents, pour leur patience, leur amour, leur soutien et
leur encouragement tout au long de ma vie.*

À mes frères et mes sœurs

*À mon cher binôme et amie **MERIEM** qui a partagé avec moi les
moments difficiles de ce travail.*

*À mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de
cursus à l'université :*

DENIA et ASMA

*À toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de
ce mémoire, surtout **DALI ABIR**, je remercie infiniment pour votre
aide et vos conseils.*

SABRINE

Remerciements

*En préambule à ce projet, nous remercions **ALLAH** qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.*

*Notre sincère gratitude à **Melle. ZAKHROUF Zohra** pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils.*

*Nous désirons aussi remercier **Mr. BOUKAROUIS Djoudi** qui a partagé ses connaissances et son expérience avec nous et pour son aide dans la réalisation de ce mémoire.*

*Un grand merci également à **Mr. GUENANE Hamid** d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance de mémoire.*

*Nos profonds remerciements vont aussi à **Mr. SIFI Ibrahim**, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de l'université **AMAR TELIDJI LAGHOUAT** et le directeur de laboratoire des sciences fondamentales **Mr. YOUSFI Mohamed** de nous accepter dans son laboratoire de recherche pour faire une partie de notre projet de fin d'étude*

Enfin, nous adressons nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à élaborer ce travail.

Résumé

Notre étude a pour objectif d'évaluer *in vitro* les propriétés antioxydantes des extraits polaires des racines d'*Atractylis humilis* (Degâa) et d'étudier *in silico* l'activité inhibitrice de quelques enzymes par certains métabolites secondaires de cette plante. *In vitro*, les extraits organiques ont été obtenus par macération (après une délipidation par hexane) en utilisant trois solvants: le dichlorométhane, l'acétone et le méthanol. Les teneurs totales en polyphénols ont été déterminées en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, le dosage montre que la richesse de l'extrait en polyphénols de dichlorométhane avec une valeur de 18,589 mg EAG/g ES. Les teneurs en flavonoïdes ont été évaluées en utilisant la méthode $AlCl_3$, l'extrait méthanolique était le plus riche en flavonoïdes avec une valeur de 1,454 mg EQ/g ES. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH, la valeur la plus élevée de VCEAC est représentée dans l'extrait le plus polaire (extrait de MÉOH). D'autre part, en utilisant les programmes AutoDock Tools et Discovery studio pour étudier *in silico* la capacité inhibitrice de quelques métabolites secondaires de cette plante contre les enzymes sélectionnées. L'inhibition révèle que les deux molécules la swertisine et l'acide oléanolique ayant des scores d'affinité élevées par rapport au l'inhibiteur de référence pour la xanthine oxydase, mais avec l'alpha amylase et la télomérase leurs affinités ont été classées comme modérées. L'application de la règle de Lipinski nous informe de manière positive sur les propriétés physicochimiques de ces molécules. Tous ces résultats *in silico* ne représentent que la première étape dans la recherche de composés biologiquement actifs d'origine naturelle, d'autres recherches *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires pour mieux comprendre les activités biologiques des extraits de cette plante.

Mots clés : *Atractylis humilis* ; alpha amylase ; xanthine oxydase ; télomérase ; la règle de Lipinski.

Abstract

Our study carried out to evaluate *in vitro* the antioxidant properties of the polar extracts of the roots of *Atractylis humilis* (Degâa) and to study *in silico* the inhibitory activity of some enzymes by certain secondary metabolites of this plant. *In vitro*, the organic extracts were obtained by maceration (after hexane delipidation) using three solvents: dichloromethane, acetone and methanol. The total polyphenol contents were determined using the Folin-Ciocalteu reagent, the assay shows that the richness of the dichloromethane extract with a value of 18,589 mg EAG/g ES. The flavonoid contents were evaluated using the AlCl_3 method, the methanol extract was the richest in flavonoids with a value of 1,454 mg EQ/g ES. The antioxidant activity was evaluated using the free radical reduction method DPPH, the highest value of VCEAC is represented in the most polar extract (MeOH extract). On the other hand, using the AutoDock Tools and Discovery studio programs to study *in silico* the inhibitory capacity of some secondary metabolites of this plant against the selected enzymes. Inhibition reveals that, the two molecules, swertisine and oleanolic acid having high affinity scores compared to the reference inhibitor for xanthine oxidase, but with alpha amylase and telomerase their affinities have been classified as moderate. The application of Lipinski's rule informs us positively about the physicochemical properties of these molecules. All these *in silico* results represent only the first step in the search for biologically active compounds of natural origin, further *in vitro* and *in vivo* research is necessary to better understand the biological activities of the extracts of this plant.

Keywords: *Atractylis humilis*; alpha amylase; xanthine oxidase; telomerase ; Lipinski's rule.

ملخص:

تمحورت دراستنا حول التقييم المخبري وفي السيليكو للخصائص المضادة للأكسدة لمركبات جذور الدقة. في المختبر، المستخلصات العضوية المتحصل عليها بواسطة التنقيع (بعد التخلص من الدهون بواسطة الهكسان) باستعمال ثلاث مذيبات: ثنائي كلورو ميثان، الأسيتون والميثانول. تم تحديد اجمالي محتوى البوليفينول باستخدام كاشف فولين سيوكالتو، وتظهر المعايير أن مستخلص ثنائي كلورو ميثان غني بالبوليفينول مع قيمة 18,589 ميليغرام مكافئ لحمض الجاليك/ غرام مستخلص جاف. تم تقييم اجمالي محتوى الفلافونويد باستخدام كلوريد الألومنيوم، وكان مستخلص الميثانول الأغنى بالفلافونويد مع قيمة 1,454 ميليغرام مكافئ لكيرسيتين / غرام مستخلص جاف. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة اختزال الجذور الحرة 2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل، يتم تمثيل أعلى قيمة من قدرة مضادات الأكسدة المكافئة لفيتامين سي في المستخلص الاعلى قطبية (مستخلص الميثانول). من ناحية أخرى، باستخدام البرامج أوتودوك تولز وديسكفري ستوديو للدراسة في السيليكو القدرة المثبطة لبعض المستقلبات الثانوية لهذا النبات ضد الإنزيمات المختارة. يكشف التنشيط أن جزيئين سويرتيسين وحمض الأوليانوليك لهما درجات تقارب عالية مقارنة بالمثبط المرجعي لأوكسيداز الزانثين، ولكن مع ألفا أميلاز وتيلوميراز تم تصنيف ارتباطهما على أنهما معتدلان. يعلمنا تطبيق قاعدة ليبينسكي بطريقة إيجابية عن الخصائص الفيزيائية والكيميائية لهذه الجزيئات. كل هذه النتائج في السيليكو لا تمثل سوى الخطوة الأولى في البحث عن مركبات نشطة بيولوجيًا ذات أصل طبيعي، ومن الضروري إجراء مزيد من الأبحاث في المختبر وفي الجسم الحي لفهم الأنشطة البيولوجية لمستخلصات هذا النبات بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: دقة؛ ألفا أميلاز؛ أوكسيداز الزانثين؛ تيلوميراز؛ قاعدة ليبينسكي.

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification botanique de la plante *Atractylis humilis*.....3

Tableau 2. Caractéristiques de l'alpha amylase, xanthine oxydase et télomérase.....	28
Tableau 3. Détails des molécules sélectionnés avec leurs identifiants PubChem utilisés pour cette étude.....	29
Tableau 4. Rendement, aspect et couleur de différents extraits d' <i>Atractylis humilis</i>	31
Tableau 5. Teneurs totales en polyphénols, des extraits obtenus d' <i>Atractylis humilis</i>	33
Tableau 6. Teneurs totales en flavonoïdes, des extraits obtenus d' <i>Atractylis humilis</i>	35
Tableau 7. Activité antioxydante des extraits exprimée par les valeurs de VCEAC (test de DPPH).....	37
Tableau 8. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme alpha-amylase.....	39
Tableau 9. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme xanthine oxydase.....	42
Tableau 10. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme télomérase.....	45
Tableau 11. Les propriétés pharmacologiques des ligands.....	48
Tableau 12. Les propriétés pharmacocinétiques et toxicité des ligands.....	50

Liste des figures

Figure 1. Image de la plante <i>Atractylis humilis</i>	4
Figure 2. Structures chimique des composés 1-14.....	6

Figure 3. Représentation d'un radical libre.....	8
Figure 4. Les antioxydants neutralisent les radicaux libres grace au don d'électron.....	9
Figure 5. Mécanisme du métabolisme de l'hypoxanthine en acide urique.....	13
Figure 6. Activité transcriptase inverse aux télomères de la télomérase.....	14
Figure 7. Organigramme de notre travail.....	15
Figure 8. Interface du logiciel ADT (version 1.5.6).....	17
Figure 9. Interface du logiciel Discovery Studio Visualizer (version 20).....	18
Figure 10. Interface du logiciel ChemDraw.....	18
Figure 11. Page d'accueil de la base des données PubChem.....	19
Figure 12. Capture d'écran de la page web de la base de données RCSB.....	19
Figure 13. Capture d'écran de la page web de SwissADME.....	20
Figure 14. Interface graphique de la plateforme ADMETlab.....	20
Figure 15. Interface Web du logiciel Molinspiration.....	21
Figure 16. Schéma simplifié des étapes du procédé d'extraction par la macération.....	23
Figure 17. Réaction de l'antioxydant et du radical libre DPPH.....	26
Figure 18. Chaîne A du l'alpha amylase (A) ; Chaîne A du la xanthine oxydase (B) ; Chaîne A du la télomérase (C).....	27
Figure 19. Comparaison entre les rendements de différents extraits.....	31
Figure 20. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	32
Figure 21. Comparaison entre les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d' <i>Atractylis humilis</i>	33
Figure 22. Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	34
Figure 23. Comparaison entre les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits d' <i>Atractylis humilis</i>	35
Figure 24. La courbe d'inhibition PI% en fonction de la concentration en du Vit C (test de DPPH).....	36
Figure 25. Comparaison entre les valeurs de VCEAC des extraits d' <i>Atractylis humilis</i> (test de DPPH).....	38
Figure 26. Analyse visuelle du site de la liaison de la swertisine avec l'enzyme alpha amylase.....	40

Figure 27. Analyse visuelle du site de la liaison de l'acide oléanolique avec l'enzyme alpha amylase.....	41
Figure 28. Analyse visuelle du site de la liaison de la swertisine avec l'enzyme xanthine oxydase.....	43
Figure 29. Analyse visuelle du site de la liaison de l'acide oléanolique avec l'enzyme xanthine oxydase.....	44
Figure 30. Analyse visuelle du site de la liaison de la swertisine avec l'enzyme télomérase.....	46
Figure 31. Analyse visuelle du site de la liaison de l'acide oléanolique avec l'enzyme télomérase.....	47

Liste des abréviations

A-C	D-I
AA : Acide Aminé	2D : Structure bidimensionnelle
Abs : Absorbance	3D : Structure tridimensionnelle

AcOET : Acétate d'éthyle	DCM : Dichlorométhane
ACT : Acétone	DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ADMET : Absorption Distribution Métabolisme Excrétion Toxicité	EAG : Equivalent d'acide gallique
ADN : Acide désoxyribonucléique	ES : Extrait sec
ADT : AutoDock Tools	EQ : Equivalent de la quercétine
AG : Acide gallique	GI Absorption : Gastro-intestinal absorption
AlCl3 : Trichlorure d'aluminium	GPx : Glutathion peroxydases
BBB : Blood-brain-barrier	GSH : Glutathione réduit
BIBR1532 : 2-[[[(2E)-3-(naphthalen-2-yl) but-2-enoyl] amino} benzoic acid	GSSG : Oxidized glutathione
CAT : Catalase	hERG : Human Ether Related Gene channel
CYP : Cytochrome P450	HO• : Radical hydroxyle
CL : Clairance	H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène
	IC50 : Concentration efficace pour réduire 50% des radicaux libres
L-P	R-X
LogP : Coefficient de partition octanol / eau	RCSB : Research Collaboratory for Structural Bioinformatics
MeOH : Méthanol	ROS : Espèces réactives oxygénées
MW : Poids moléculaire	SDF : Spatial Data File
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit	SOD : Superoxyde dismutase
n-BuOH : n-Butanol	T_{1/2} : Temps demi-vie
nOHN : Nombre donneurs de liaisons Hydrogène	TEI : 2-(3-cyano-4-isobutoxy-phenyl)-4- methyl-5-thiazole-carboxylic acid
nON : Nombre d'accepteurs de liaisons Hydrogène	UV : Rayonnement ultraviolet
nRot : Nombre d'angles de rotation	VCEAC : Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity
nVio : Nombre de violation	Vit C : Vitamine C
O₂•- : Radical anion superoxyde	XOD : Xanthine oxydase
PDB : Protein Data Bank	XOH : Xanthine déshydrogénase
PDBQT : Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)	XOR : Xanthine oxydoréductase
PSA : Surface polaire	

Table des matières

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION	14
--------------------	----

SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Etude botanique	3
1.1. Présentation de la plante	3
1.2. Systématique de la plante	3
1.3. Description botanique	4
1.4. Distribution géographique	4
1.5. Caractérisation Chimique	5
1.6. Propriété et l'utilisation en médecine traditionnelle	7
2. Métabolites Secondaires	7
2.1. Acides phénoliques	7
2.2. Flavonoïdes	7
2.3. Triterpènes	8
3. Stress oxydant	8
3.1. Définition	8
3.2. Radicaux libres	8
3.3. Les conséquences d'un stress oxydatif	9
3.4. Les systèmes antioxydants	10
3.4.1. Systèmes de défense enzymatiques	10
3.4.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques	10
3.5. Oligoéléments	11
4. Généralité sur les méthodes d'évaluation des activités biologiques de molécules bioactives	12
5. Docking moléculaire	12
5.1. L'alpha amylase	12
5.2. La xanthine oxydase	13
5.3. La télomérase	14

MATERIELS ET METHODES

1. Matériel	16
--------------------------	----

1.1. Matériel végétal	16
1.2. Matériel et produits chimiques	16
1.3. Matériel bioinformatique	17
1.3.1. Programmes utilisés.....	17
1.3.2. Bases des données	19
a. Base des données PubChem.....	19
b. Banque de données sur les protéines (BDP).....	19
c. SwissADME	20
d. ADMETlab	20
e. Molinspiration.....	21
1.3.3. Métabolites secondaires de l'espèce <i>Atractylis humilis</i>	21
2. Méthodes.....	22
2.1. Extraction par macération solide-liquide.....	22
2.2. Rendement d'extraction.....	23
2.3. Analyses quantitatives des composés phénoliques.....	24
2.3.1. Dosage des polyphénols totaux	24
2.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux	25
2.4. Test de l'activité antioxydante.....	25
2.5. Docking moléculaire.....	26
a. Préparation des protéines	26
b. Préparation des ligands	28
2.6. Propriétés pharmacologiques.....	29
2.7. Propriétés pharmacocinétique.....	30

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Rendement d'extraction.....	31
2. Résultats de l'étude quantitative	32
2.1. Dosage des polyphénols totaux	32
2.2. Dosage des flavonoïdes totaux	34
3. Résultats de l'activité antioxydante	36
4. Résultats de docking moléculaire	39
4.1. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme alpha amylase	39
4.2. Analyse visuelle de mode d'action des ligands sur alpha amylase	40

4.3. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme xanthine oxydase	42
4.4. Analyse visuelle de mode d'action des ligands sur xanthine oxydase	43
4.5. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme télomérase	45
4.6. Analyse visuelle de mode d'action des ligands sur télomérase	46
6. Résultats des propriétés pharmacocinétiques et toxicité	49
CONCLUSION	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	54
ANNEXES	650

INTRODUCTION

Les plantes médicinales traditionnelles et une alimentation équilibrée sont des sources majeures d'antioxydants qui ont protégé nos ancêtres des dommages causés par les radicaux libres (**Bentabet *et al.*, 2014**).

Les antioxydants sont une classe de substances qui neutralisent les radicaux libres et préviennent ainsi l'apparition de maladies associées au stress oxydatif. Parmi les antioxydants naturels les plus connus, on peut citer l' α -tocophérol (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les composés phénoliques (**Sarr *et al.*, 2015**) qui sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal et revêtent une importance croissante, notamment en raison de leurs bienfaits pour la santé (**Bougandoura & Bendimerad, 2013**).

Le déséquilibre entre la production d'espèces réactives et l'activité de défense antioxydante est connu sous le nom de stress oxydatif. Cette condition est associée à de nombreuses maladies chroniques, telles que le diabète, le cancer, les maladies neurodégénératives et les maladies cardiovasculaires (**HAMMA *et al.*, 2015**).

La recherche dans l'industrie pharmaceutique est une procédure couteuse et fastidieuse qui a été améliorée par l'utilisation de techniques « à haut débit » combinées avec des outils informatiques. Une nouvelle approche visant à simuler et à prédire l'affinité d'un grand nombre de molécules et protéines cibles d'intérêt thérapeutique est connue sous le criblage virtuel par le docking moléculaire (**Ghillemain, 2012**).

C'est dans cette optique que l'objectif de notre travail est une étude quantitative de la plante *Atractylis humilis* et une contribution à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et analyse *in silico* de l'activité inhibitrice de différentes enzymes alpha amylase, xanthine oxydase et télomérase par quelques métabolites secondaires de cette plante identifiés à partir des travaux antérieurs.

Le manuscrit est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre aborde une étude bibliographique préalable réalisée sur l'espèce étudiée, les métabolites secondaires, le stress oxydatif et le docking moléculaire.
- Le deuxième chapitre décrit les matériels et les méthodes utilisées.

- Le troisième chapitre portera sur les résultats et la discussion (interprétation et comparaison des résultats obtenus avec d'autres résultats précédents).

Enfin, une conclusion résume l'ensemble de l'étude, met en évidence les résultats intéressants et recommander les respectives à envisager à l'avenir.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Etude botanique

1.1. Présentation de la plante

Le genre *Atractylis* fait partie de la famille des Asteraceae (appelées aussi Compositeae) est l'une des plus importantes familles botaniques de plantes vasculaires contenant environ 24 000 espèces regroupées dans 1 600 à 1 700 genres réparties dans le monde entier (Chabani *et al.*, 2016).

En région de la Kabylie, on compte 49 genres et 69 espèces (Sifouane *et al.*, 2020).

1.2. Systématique de la plante

La classification de la plante *Atractylis humilis* est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1. Classification botanique de la plante *Atractylis humilis* (Benbouziane & Benderra, 2016).

Règne	Plantae
Embranchement	Embryophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Atractylis</i>
Espèce	<i>Atractylis humilis</i>

Selon (Sifouane *et al.*, 2020), cette plante a plusieurs nom vernaculaires :

- **En Français :** Atractyle humble, Chardon-fuseau.
- **En arabe :** Degâa (الدقة). Et dans notre région Elbarka (البركة).

1.3. Description botanique

L'espèce *Atractylis humilis* est une plante herbacée annuelle (Sifouane, 2021), épineuse à souche ligneuse d'une hauteur de 5 à 35 cm. La tige simple et courte généralement non ramifiée.

Les fleurs apparaissent en été (entre le mois de juin et juillet). Elles sont appelées « fleurons ». Elles sont hermaphrodites de couleur violette. Un fruit sous forme d'akènes couverts, il est velu-laineux de poils blancs (Tela Botanica, 2012).



Figure 1. Image de la plante *Atractylis humilis* (Orchidées du Nord).

1.4. Distribution géographique

L'*Atractylis humilis* est une espèce endémique de l'ouest-méditerranéenne. Et du sud-est de la France, mais il y a aussi quelques citations ponctuelles au Maroc, Espagne et localement, dans la région de Laghouat (Aflou) et des Aurès en Algérie (hautes montagnes de Bel lezma, Batna). Qui pousse habituellement dans les pâturages rocheux (Sifouane *et al.*, 2020).

1.5. Caractérisation Chimique

L'*Atractylis humilis* plante à une diversité surprenante de métabolites secondaires malgré la rareté des études photochimiques sur elle. Certains des types chimiques naturels qui ont été découverts comprennent les triterpènes, les flavonoïdes, dérivés osidiques et les produits chimiques phénoliques (Sifouane *et al.*, 2020).

L'espèce *Atractylis humilis*, originaire d'Algérie, a déjà fait l'objet de recherches en chimie végétale, et divers produits chimiques ont été découverts, dont la majorité appartiennent aux catégories susmentionnées. Il comprend quatorze composés :

- Un nouveau lignane identifié comme (7'S,8R,8'S)-9'- β -D-glucopyranosyl-3,4',9-trihydroxy-3',4,5,5'-tétraméthoxy-2,7'-cyclolignan nommé Humilisane A **(1)** avec un autre connu déterminé à (7'S,8R,8'S)-7a-[(β -glucopyranosyl)-oxy]-lyoniresinol **(2)**. Ces deux lignanes sont de type aryltétraline.
- Deux flavonoïdes C-glucosylés nommés Swertisine **(3)** et 3',7-diméthyl-Isoorientine **(4)**.
- Cinq composés phénoliques : 2,5-dihydroxyéthyl cinnamate **(5)**, 3,4,5-triméthoxyphenyl β -D-glucopyranoside **(6)**, Tachioiside **(7)**, Acide vanillique **(8)** et 2,6-diméthoxy 1,4-benzoquinone **(9)**.
- Trois triterpènes : Lupéol **(10)**, Acide oléanolique **(11)** et β -sitostérol **(12)**.
- Deux dérivés osidiques : 1-O-éthyl- β -D-xylose **(13)** et 1-O-éthyl- β -D-glucopyranoside **(14)** (Sifouane *et al.*, 2020).

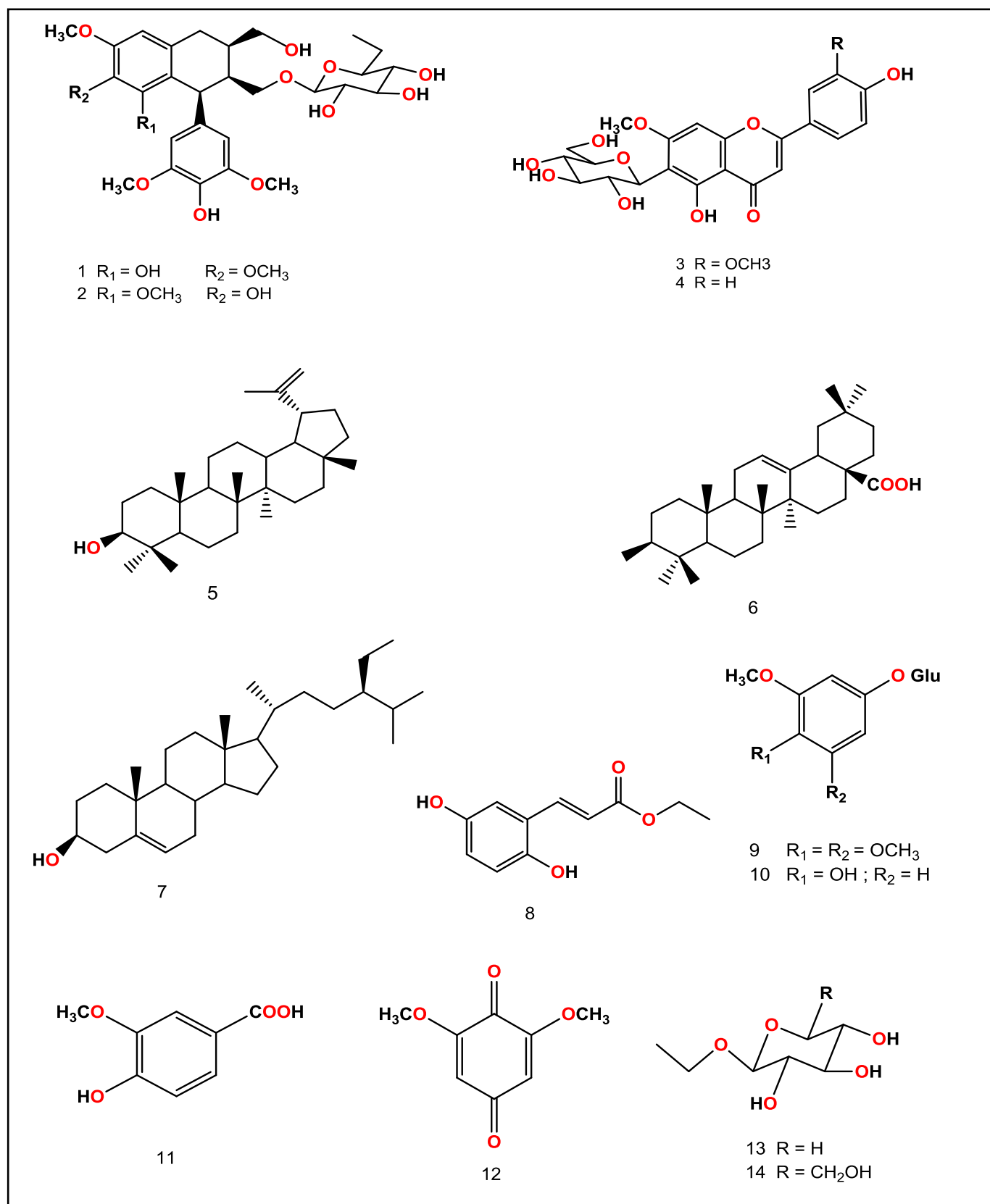


Figure 2. Structures chimique des composés 1-14 (By ChemDrew) (Sifouane *et al.*, 2020).

1.6. Propriété et l'utilisation en médecine traditionnelle

L'espèce d'*Atractylis humilis* ont été utilisées pour traiter un large éventail de maladies, y compris l'hépatite, les ulcères, les parasites intestinaux, et l'intoxication par les morsures de serpent. Ils sont réputés pour leurs propriétés diurétiques. Les pays d'Europe du Sud utilisent les fleurs d'*Atractylis humilis* pour coaguler le lait. Dans la région d'Aurès en Algérie, la plante *Atractylis humilis* est appelée "**Degâa**" localement, et sa poudre est appliquée localement pour traiter l'acné juvénile (**Sifouane et al., 2020**).

2. Métabolites Secondaires

Les composés organiques complexes appelés métabolites secondaires sont produits et accumulés en quantités infimes par les plantes autotrophes. Ils présentent généralement des concentrations modestes dans les tissus végétaux.

On peut les classer en trois grandes familles : alcaloïdes, terpènes flavonoides et polyphénols (**Macheix et al., 2005**).

2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont constitués d'un squelette à sept atomes de carbone (**Hmid, 2013**). Ils peuvent être divisés en deux groupes : les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique, et ils sont largement présents dans les aliments.

Les acides hydroxycinnamiques les plus répandus sont l'acide coumarique, la caféine, la férulique et le sinapique (**Pandey & Rizvi, 2009**).

2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Comme métabolites secondaires, ils jouent un certain nombre d'activités différentes dans les plantes, y compris la protection UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation d'azote, et la résistance aux maladies (**Macheix et al., 2005**).

2.3. Triterpènes

Les triterpènes sont une grande collection de composés naturels structuraux divers dérivés biogénétiquement de l'isoprène actif. Deux unités C15 peuvent produire du squalène ou des précurseurs acycliques visibles à 30 carbones. Suite à leur cyclisation et oxydation, plusieurs structures apparaissent (Nazaruk & Borzym-Kluczyk, 2015).

3. Stress oxydant

3.1. Définition

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre dans laquelle les pro-oxydants sont en large majorité par rapport aux antioxydants (Béguel, 2012), que se soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une suproduction de radicaux libres (Adjadj, 2018).

3.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique qui contient un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe (Adjadj, 2018), lui conférant une grande réactivité, d'où son effet pro-oxydant (Durand, 2018).

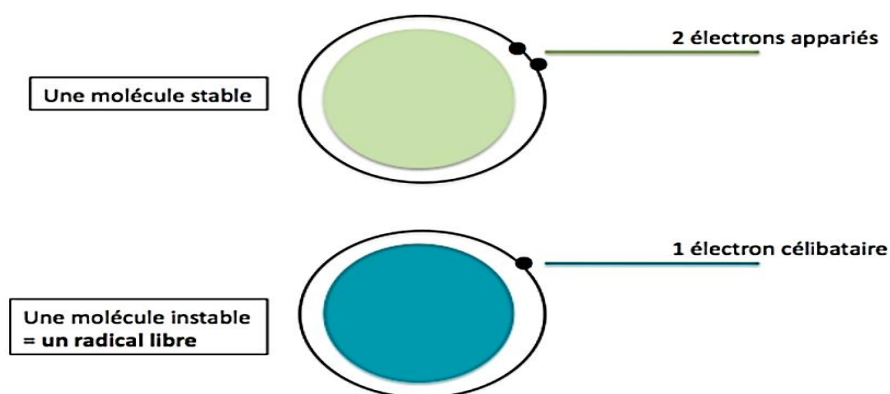


Figure 3. Représentation d'un radical libre (Durand, 2018).

Physiologiquement, les mécanismes de défense antioxydants permettent au système de notre corps de contrôler la quantité de radicaux libres dans le sang pour maintenir un équilibre oxydatif sain (Durand, 2018).

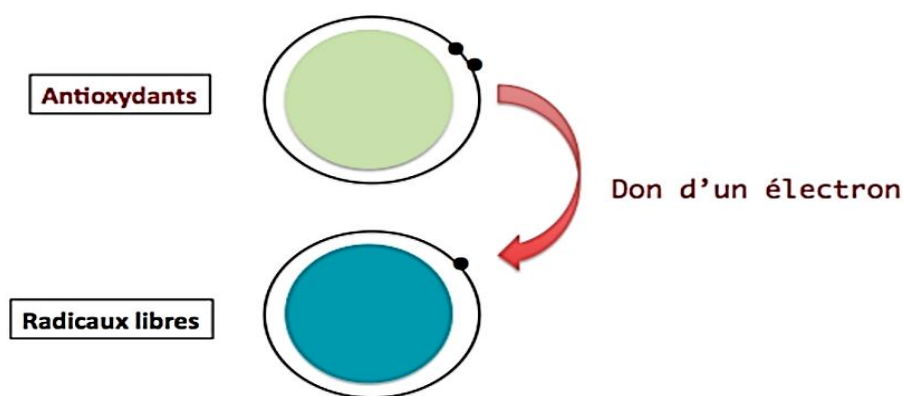


Figure 4. Les antioxydants neutralisent les radicaux libres grâce au don d'électron (Durand, 2018).

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être des molécules non radicalaires hautement instables (O_2 simple) ou des radicaux libres ($O_2^{\bullet -}$: anion superoxyde, $HO^{\bullet}$: radical hydroxyle). Alors que la majorité des radicaux libres proviennent des activités NADPH et xanthine oxydase de la chaîne respiratoire, la majorité des espèces réactives NO sont produites par la NO-synthase (Berger, 2006).

Habituellement, la génération des radicaux libres est permanente mais faible (en médiateurs tissulaires ou résidus énergétiques ou formes de réponses de défense). Cette production physiologique est entièrement contrôlée par des systèmes de défense, ils s'adaptent au niveau des radicaux présents. Dans ces conditions normales, la balance antioxydants/pro oxydants est considérée comme équilibrée. Si ce n'est pas le cas, c'est soit due à manque d'antioxydants, soit à une surproduction massive de radicaux libres appelé « stress oxydatif » (Favier, 2003).

3.3. Les conséquences d'un stress oxydatif

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides) (Favier, 2003).

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

3.4. Les systèmes antioxydants

3.4.1. Systèmes de défense enzymatiques

➤ Superoxyde dismutase (SOD)

Les SOD sont des enzymes représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydatif, agissant dès le début de la cascade d'oxydation directement à l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (**Haleng et al., 2007**).

➤ Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. La réaction catalysée par cette enzyme consiste en une dismutation du peroxyde d'hydrogène (**Adjadj, 2018**).

➤ Glutathion peroxydase (GPx)

GPx est une sélénoprotéine qui réduit les peroxydes au détriment de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH) (**Haleng et al., 2007**). Son rôle principal est d'éliminer 70% des peroxydes organiques et 94% de H_2O_2 par réduction (**Bensakhria, 2018**). GPx s'effondre avec une carence sévère en sélénium, il reflète donc bien cette carence (**Haleng et al., 2007**).

3.4.2. 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 (**Haleng et al., 2007**).

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées (**Haleng et al., 2007**).

➤ **Les polyphénols Flavonoïdes**

C'est une famille importante d'antioxydants présents dans les plantes. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs de ROS et de très bons chélateurs des métaux de transition tels que le fer et le cuivre (**Haleng et al., 2007**).

➤ **Les vitamines**

Les vitamines captent l'électron libre d'un radical libre qui devient une molécule ou un ion stable. La vitamine devient un radical détruit ou régénéré.

- Vitamine C antioxydant puissant, inhibe peroxydation lipidique, régénère vitamine E.
- Vitamine E (α -tocophérol) antioxydant puissant, inhibe peroxydation lipidique.
- Vitamine A (**Pincemail et al., 2002**).

3.5. Oligoéléments

- Zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD, protection des groupements thiols des protéines, induction de protéines antioxydantes, inhibition partielle de la formation des ROS.
- Cuivre est le cofacteur de la SOD. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production de ROS.
- Sélénium joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx.
- Manganèse est indispensable à l'activité de la SOD mitochondriale (**Hamma, 2016**).

4. Généralité sur les méthodes d'évaluation des activités biologiques de molécules bioactives

Les molécules bioactives d'origine végétales, notamment celles extraites à partir des plantes médicinales, sont douées de plusieurs activités biologiques. L'évaluation de ces activités passe par l'application de plusieurs méthodes expérimentales comme des expériences *in vitro*, *ex vivo*, et *in vivo*.

Mais cette démarche reste problématique car il existe des milliers de molécules bioactives et leur évaluation expérimentalement reste inatteignable. Récemment des analyses *in silico* sont appliquées comme solution pour étudier et se faire une idée préliminaire sur les propriétés et les activités biologiques de ces molécules. Avec le développement technologique et informatique plusieurs méthodes *in silico* sont en service maintenant, et la méthode de docking moléculaire en est une des plus intéressantes.

5. Docking moléculaire

Par définition, le Docking moléculaire (Molecular Docking, en anglais), également connu sous le nom de (Ancrage ou Amarrage moléculaire), est une technique qui consiste à faire interagir une petite molécule organique, appelée "**ligand**", dans le site actif d'une macromolécule (protéine), appelée "**récepteur**" (Boucherit *et al.*, 2022).

L'objectif de cette technique est de déterminer le meilleur mode de fixation du complexe "**Ligand-Récepteur**", ainsi de prédire la conformation dite "**bioactive**" du ligand à l'intérieur de son récepteur. En effet, chaque conformation relative issue du docking est reliée à une énergie, appelée "**Score**". La conformation bioactive correspond à la plus faible énergie (Hammad, 2020). Plusieurs récepteurs impliqués dans le développement de diverses pathologies sont disponibles actuellement. Selon les objectifs de notre présent travail, nous avons sélectionné trois récepteur ou cibles moléculaires qui sont cités ci-dessous.

5.1. L'alpha amylase

La digestion de l'amidon et du glycogène (polymère de glucose dont la dégradation dans l'organisme augmente le taux de glucose dans le sang) est effectuée par l'enzyme alpha-amylase. L'hyperglycémie entraîne une augmentation de la croissance des radicaux libres, ce

qui provoque un stress oxydatif dans l'organisme (Mbarga *et al.*, 2020). L'alpha-amylase est considéré comme une stratégie pour le traitement des troubles de l'absorption des glucides, tels que le diabète et l'obésité (Sales *et al.*, 2012), qui dépasse la capacité de détoxification du système antioxydant cellulaire, entraînant des dommages biologiques, en particulier la libération réduite d'insuline. Par conséquent, le stress oxydatif joue un rôle essentiel dans le développement des complications du diabète, de la résistance à l'insuline. Ce rôle physiopathologique de cette enzyme a fait d'elle une des cibles moléculaires pour traiter les troubles liés à la glycémie et stress oxydatif (Etsassala *et al.*, 2020).

5.2. La xanthine oxydase

La xanthine oxydoréductase (XOR) est une enzyme joue un rôle essentiel à la production d'acide urique, notamment la xanthine oxydase (XOD) et la xanthine déshydrogénase (XDH) (figure. 5). XOD utilise l'hypoxanthine ou la xanthine comme substrat et l'O₂ pour produire du superoxyde O₂⁻ et l'acide urique. XOD a été proposé comme source de radicaux d'oxygène (Liu *et al.*, 2021). L'augmentation du stress oxydant est liée à une induction de la production de radicaux libre au niveau de la xanthine oxydase (Bravard *et al.*, 2009), cette enzyme est responsable de la maladie de la goutte caractérisé par une l'hyperuricémie (Santi *et al.*, 2017).

Par conséquent, XOD devient une cible médicamenteuse efficace pour le traitement de l'hyperuricémie. À l'heure actuelle, plusieurs médicaments inhibiteurs XOR ont été largement utilisés et de nouveaux médicaments (Liu *et al.*, 2021).

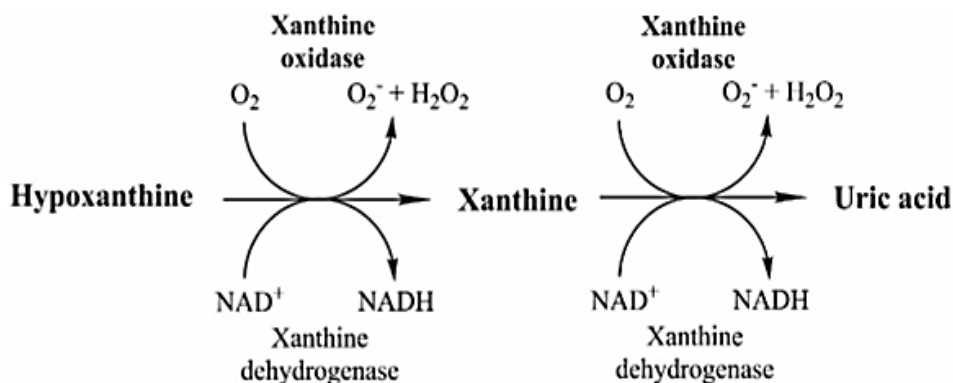


Figure 5. Mécanisme du métabolisme de l'hypoxanthine en acide urique (Zhao *et al.*, 2022).

L'une des caractéristiques les plus importantes des cellules cancéreuses est leur capacité à se répliquer, qui est atteinte par la maintenance des télomères. Les télomères contribuent à la stabilité génomique en protégeant les extrémités chromosomiques contre la détérioration et les fusions de bout en bout. La télomérase, une polymérase à ADN spécialisée, est responsable du maintien des télomères dans la majorité des tumeurs malignes humaines (Leão *et al.*, 2018) (figure.6).

MATERIELS ET METHODES

L'ensemble de ce travail a été effectué au laboratoire pédagogique de biochimie (Département de biologie) et laboratoire des sciences fondamentales de l'Université Amar Telidji, Laghouat. La réalisation de cette étude est illustrée dans l'organigramme ci-après.

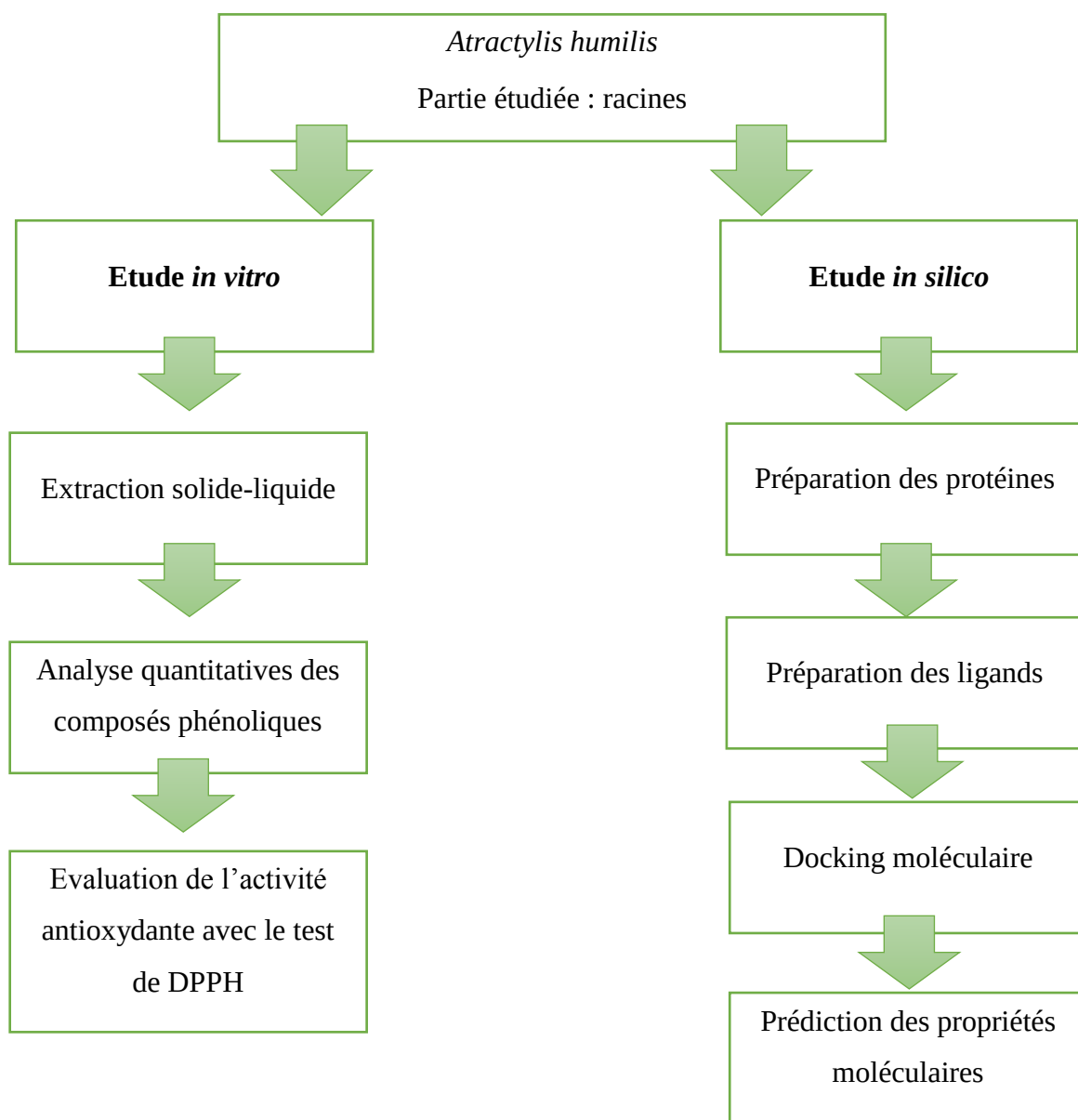


Figure 7. Organigramme de notre travail.

Atractylis humilis est la plante qui a fait l'objet de la présente étude, le choix a été justifié par le fait que cette espèce soit parmi les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies, aussi par le fait qu'il s'agit d'une espèce très abondante localement et relativement peu étudiée en Algérie.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La récolte de la plante *Atractylis humilis* a été effectuée au mois de juin 2019 dans la région d'Aflou (Wilaya de Laghouat).

La partie souterraine de la plante a été lavée, séchée, broyée et conservée dans des sacs en papier à l'abri de la lumière et l'humidité jusqu'à son utilisation.

1.2. Matériel et produits chimiques

Les produits chimiques et les réactifs utilisés :

✓ Produits chimiques

- Hexane
- Méthanol
- Acétone
- Dichlorométhane
- Ethanol
- Acide gallique
- Quercétine
- Carbonate de sodium
- Vitamine C

✓ Réactifs utilisés

- Réactif de Folin-Ciocalteu
- Réactif de trichlorure d'aluminium
- Réactif de DPPH

1.3. Matériel bioinformatique

1.3.1. Programmes utilisés

➤ Auto Dock Tools (ADT)

C'est une interface utilisateur graphique utilisée pour préparer, exécution et analyse des amarrages moléculaires générés par AutoDock par l'ajout de charge atomiques, fixation des liaisons, ajout d'hydrogènes, préparation de ligand et la cible protéique au format PDBQT, création de la grille et le fichier de paramètres d'amarrage (figure.8) (El-Hachem *et al.*, 2017).

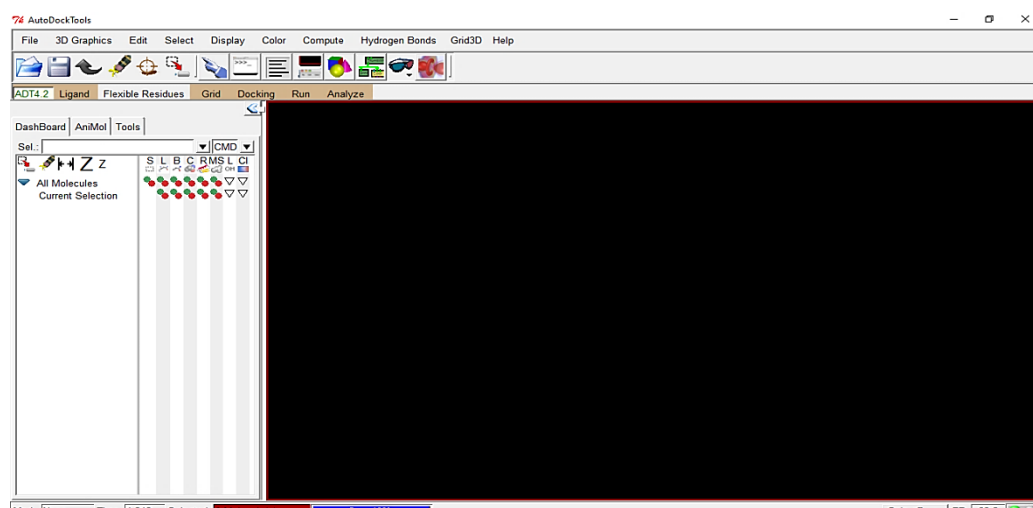


Figure 8. Interface du logiciel ADT (version 1.5.6)

➤ Discovery Studio Visualiser

C'est un logiciel de modélisation moléculaire qui permet la visualisation des conformations des ligands en interaction avec la cible protéique en indiquant les liaisons impliquées dans la fixation des ligands sur leur site au niveau de la protéine (El-Hachem *et al.*, 2017).

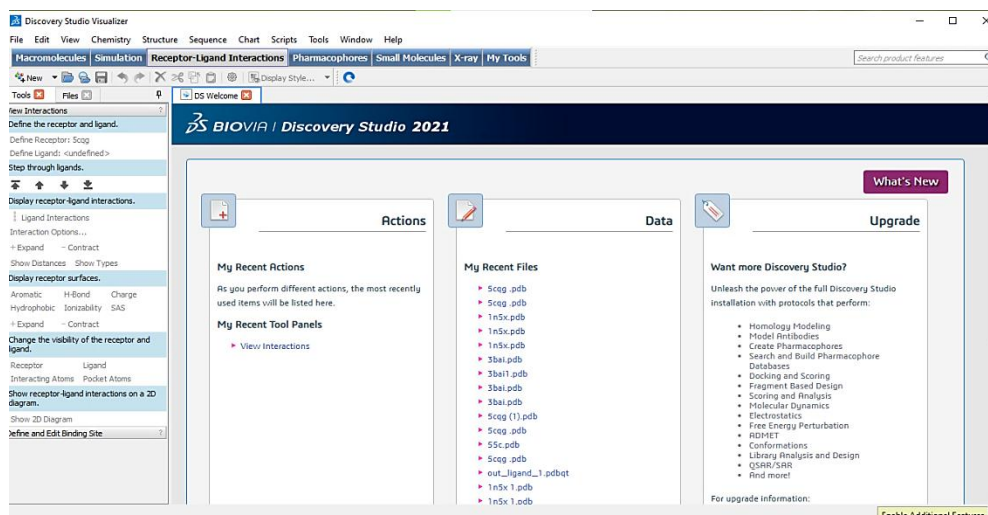


Figure 9. Interface du logiciel Discovery Studio Visualizer (version 20)

➤ ChemDraw

C'est un logiciel nous a été utilisé pour la conception des structures chimiques 2D des ligands auxquels nous nous sommes intéressés à étudier dans ce travail.

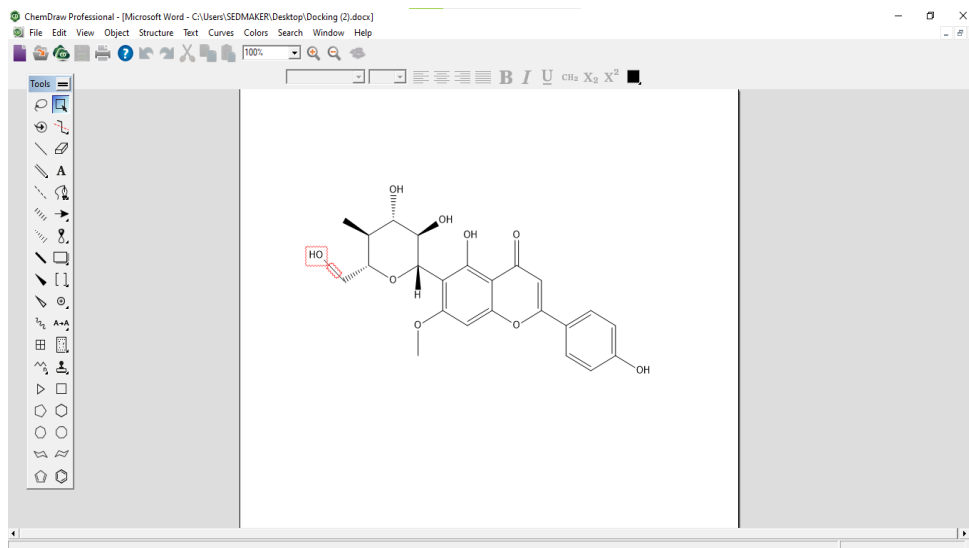


Figure 10. Interface du logiciel ChemDraw

1.3.2. Bases des données

a. Base des données PubChem

Cette banque permet l'accès à plusieurs millions de compositions identifiés jusqu'à nos jours et nous donne des informations essentielles sur ces produits notamment leurs propriétés structurales et biologiques (Kim *et al.*, 2016).

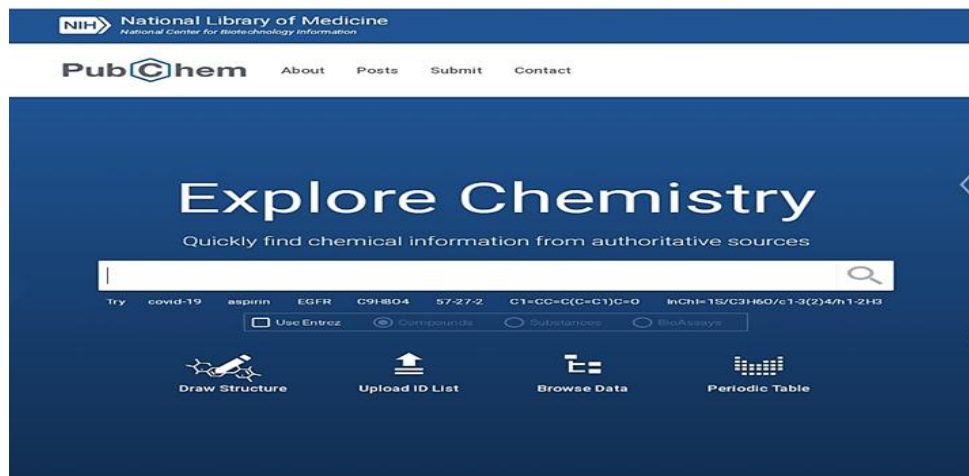


Figure 11. Page d'accueil de la base des données PubChem

b. Banque de données sur les protéines (BDP)

La banque de données protéiques RCSB, plus communément appelée PDB, a été utilisée pour obtenir la structure des protéines 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.*, 2018).

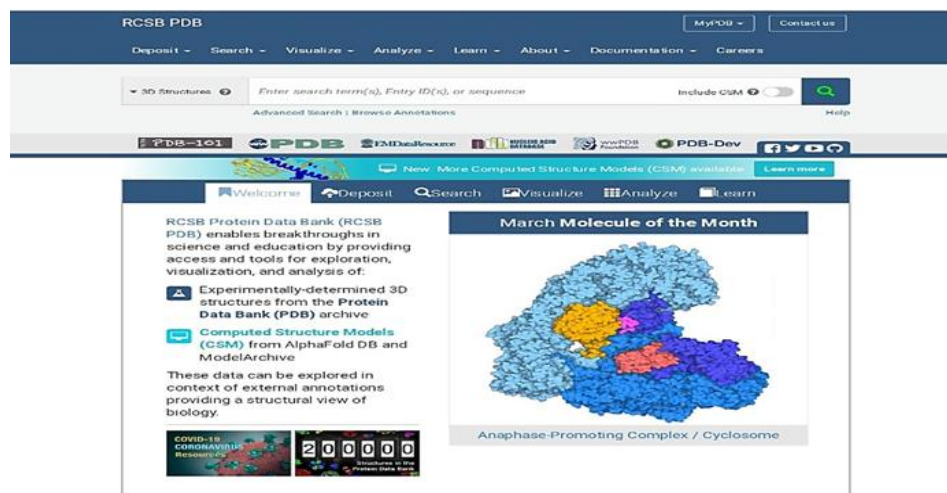


Figure 12. Capture d'écran de la page web de la base de données RCSB

c. SwissADME

C'est un serveur à accès libre qui offre une multitude de paramètres physicochimiques et propriété pharmacocinétique des composés minuscules pour qu'ils puissent être évalués et estimés (Daina *et al.*, 2017).

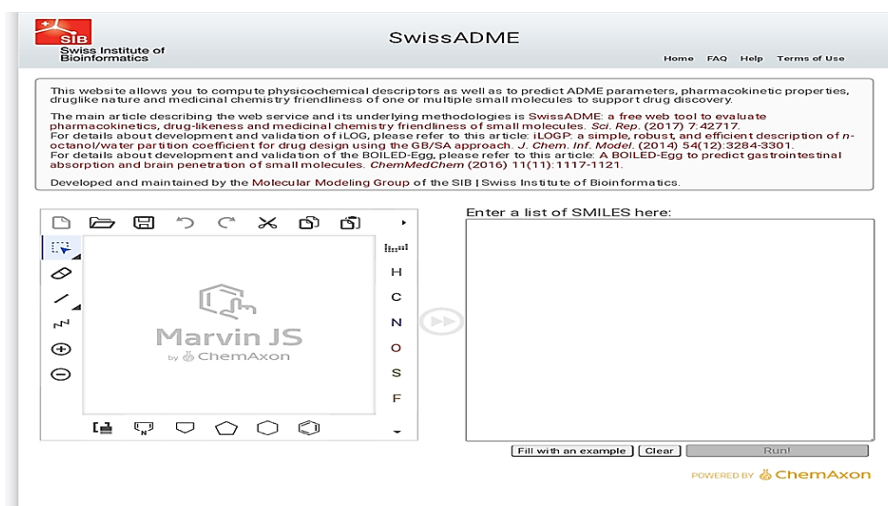


Figure 13. Capture d'écran de la page web de SwissADME

d. ADMETlab

ADMETlab 2.0 est une version améliorée de ADMETlab utilisé pour évaluer les caractéristiques ADMET, des physico-chimiques et de compatibilité pharmaceutique. ADMETlab 2.0 a plus de capacité à aider les chimistes pharmaceutiques à accélérer le processus de recherche et de développement de médicaments (Xiong *et al.*, 2021).

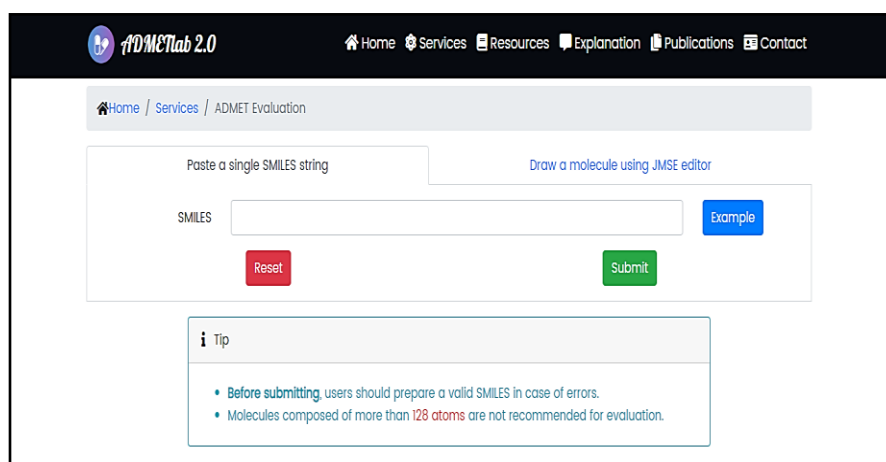


Figure 14. Interface graphique de la plateforme ADMETlab.

e. Molinspiration

Molinspiration est un programme en ligne, qui fournit une méthode d'évaluation de la cinétique médicamenteuse des composés, au moyen d'une inspection virtuelle en partie et d'une prévision de l'activité biologique pour estimer l'absorption, la distribution métabolique et l'excrétion des composés (Paul *et al.*, 2018).

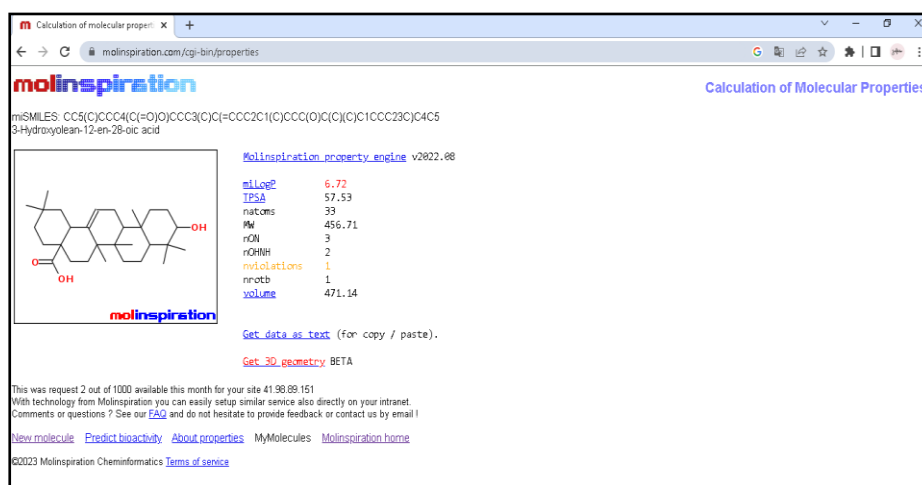


Figure 15. Interface Web du logiciel Molinspiration.

1.3.3. Métabolites secondaires de l'espèce *Atractylis humilis*

Sifouane *et al.*, (2020) a isolé quatorze molécules parmi les principaux métabolites purs de l'espèce *Atractylis humilis*, et nous avons choisies deux molécules pour l'étude de la prédiction de leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques.

🌈 **Swertisine** : Il s'agit d'un flavonoïde C-glycoside, qui joue un rôle d'agent anti-inflammatoire, d'antioxydant et d'agent hypoglycémiant, qui a été isolé et signalé pour la première fois dans les racines de genre *Atractylis*. De plus, ce composé n'a pas été détecté dans d'autres genres du même sous-tribu (Sifouane *et al.*, 2020).

🌈 **Acide oléanolique** : ce composé est un triterpène, qui présentent différentes activités biologiques telles que les effets antioxydants, antitumoraux, anti-inflammatoires, antidiabétiques et antimicrobiens (Ayeleso *et al.*, 2017), qui est composé de base, donc commun pour la majorité des plantes (Sifouane *et al.*, 2020).

2. Méthodes

2.1. Extraction par macération solide-liquide

La macération consiste à exposer la matière végétale en poudre à un solvant pendant des périodes prolongées pour extraire les ingrédients actifs. Il s'agit d'une extraction réalisée à température ambiante.

➤ **Délipidation**

Avant d'entamer l'extraction proprement dite, nous avons procédé à une délipidation du matériel végétal par macération dans l'hexane. Cette étape préliminaire a pour but d'éliminer les lipides et les pigments (**Bouchouka, 2016**).

L'extraction adoptée par trois solvants organiques de polarité croissante ; il s'agit de dichlorométhane, acétone et de méthanol. En principe, 10 g de tourteaux d'hexane, a été macérée dans 100 ml pour les mêmes conditions mais avec d'autres solvants, après chaque étape de filtration, le solvant est évaporé à sec sous pression réduite à 40° C.

Cette série d'extraction a permis d'obtenir trois extraits organiques bruts : extrait de dichlorométhane (DCM), extrait d'acétone (ACT) et extrait de méthanol (MéOH), qui seront récupérés dans des flacons en verre puis conservés à 4° C jusqu'à utilisation.

Nous avons choisi cette méthode d'extraction dans notre étude pour comparer avec les recherches antérieures utilisant la méthode d'extraction liquide-liquide, **Khiati (2022)** par deux systèmes d'extraction : acétone/H₂O (70/30) et méthanol/H₂O (80/20). Et **Sifouane (2020)** par le système éthanol/H₂O (70/30).

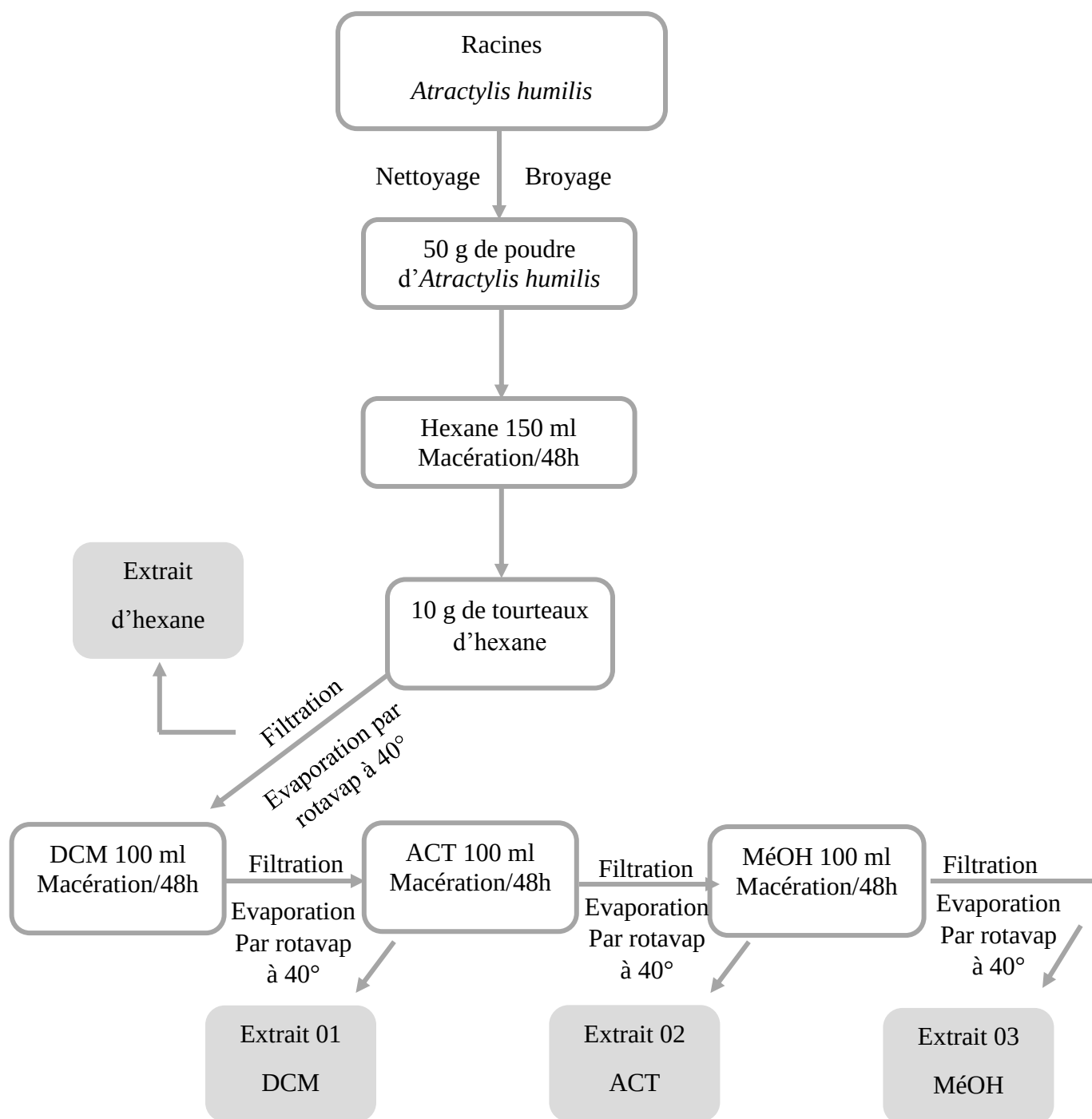


Figure 16. Schéma simplifié des étapes d'extraction par la macération.

2.2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé suivant la formule ci-dessous (Boubekri, 2014) :

$$\text{Rendement (\%)} : (\text{Masse de l'extrait} / \text{Masse sèche d'échantillon}) \times 100$$

2.3. Analyses quantitatives des composés phénoliques

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires ont été effectuées sur les extraits d'*Atractylis humilis*.

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

a. Principe

La méthode de dosage des polyphénols adapté par **Singleton et Ross en 1965** avec le réactif de Folin-Ciocalteu, en utilisant l'acide gallique comme standard. Le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungestique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PM_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot & Charpentier, 2006**).

b. Mode opératoire

Un volume de 100 μ l de chaque solution diluée de l'acide gallique ou de l'extrait végétal dilué est introduit dans des tubes à essai à différentes concentrations, nous avons effectué trois répétitions pour chaque dilution, 500 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois y est additionné. Après incubation de 2 minutes, 2 ml de solution aqueuse de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%) sont ajoutés au mélange (favoriser un milieu alcalin pour déclencher la réaction d'oxydoréduction). Après agitation, le mélange est conservé à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée est mesurée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration des polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme extrait sec (mg d'EAG/g ES).

2.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

a. Principe

Le dosage des flavonoïdes totaux des extraits est mesuré par une méthode colorimétrique adaptée par **Lamaison et Carnat (1991)** en utilisant le réactif trichlorure d'aluminium. Ce réactif forme un complexe flavonoïdes- aluminium de coloration jaune ayant un maximum d'absorption à 430 nm. Le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage est la quercétine (**Khalfallah, 2013**).

b. Mode opératoire

Un volume de 500 µl de chaque solution diluée de quercétine ou de l'extrait végétal dilué est introduit dans des tubes à essai à différentes concentrations. Pour chaque dilution, nous avons effectué trois répétitions, 500 µl de réactif de trichlorure d'aluminium 2 % y est additionné. La solution est bien agitée et maintenue à l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc.

La concentration des flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme extrait sec (mg d'EQ/g ES).

2.4. Test de l'activité antioxydante

a. Principe

Le DPPH (2,2-diphényle-picrylhydrazyl) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote. La réduction du radical libre DPPH° par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, Le DPPH° 2,2-diphényle-picrylhydrazyl de couleur violette se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune (**Popovici et al., 2009**).

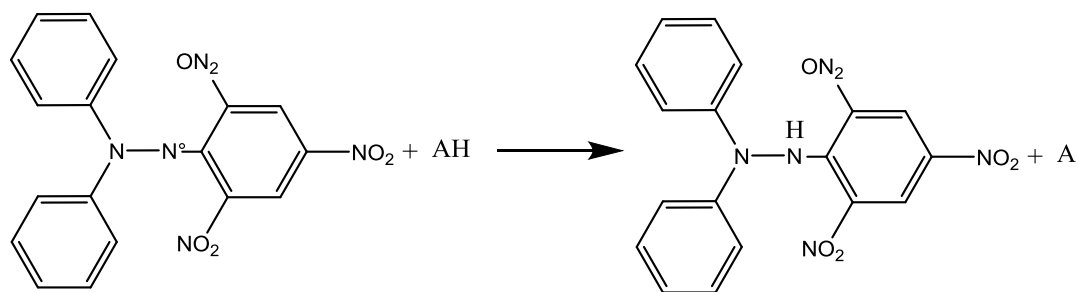


Figure 17. Réaction de l'antioxydant et du radical libre de DPPH (Sirivibulkovit *et al.*, 2018).

b. Mode opératoire

0.5 ml de chaque extrait, à différentes concentrations, est ajouté à 0.5 ml de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel est agité et incubé 30 min à l'obscurité. La vitamine C est utilisée comme antioxydant de référence. La réaction est mesurable à 517 nm avec spectrophotomètre UV-Visible.

L'activité antioxydante est estimée en pourcentage d'inhibition des radicaux libres de DPPH° selon l'équation suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (PI) \%} = ([\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}] / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

Abs : Absorbance à 517 nm.

L'activité antioxydante a été exprimée en équivalent de vitamine C (VCEAC).

2.5. Docking moléculaire

a. Préparation des protéines

L'analyse *in silico* de l'interaction de quelques constituants d'*Atractylis humilis* avec les protéines a été faite en suivant les étapes ci-dessous :

La structure cristallographique 3D (Figure.18) de l'alpha amylase (PDB ID : 1OSE et résolution 2.30 Å), xanthine oxydase (PDB ID : 1N5X et résolution 2.80 Å) et le télomérase (PDB ID : 5CQG et résolution 2.30 Å) ont été téléchargées de la banque de donnée Protéine Data Bank (PDB). Les différentes propriétés structurales des protéines sont résumées dans le tableau 2. Dans le cas des protéines constituées de plusieurs sous-unités, seule une chaîne a été

gardée pour réaliser l'analyse de docking. Le ligand de référence et les molécules d'eau sont supprimés du PDB par Discovery Studio Visualiser. Via AutoDock Tools. Les charges atomiques de type gasteiger et les atomes d'hydrogènes sont ajoutés. Les structures sont ainsi sauvegardées en format PDBQT.

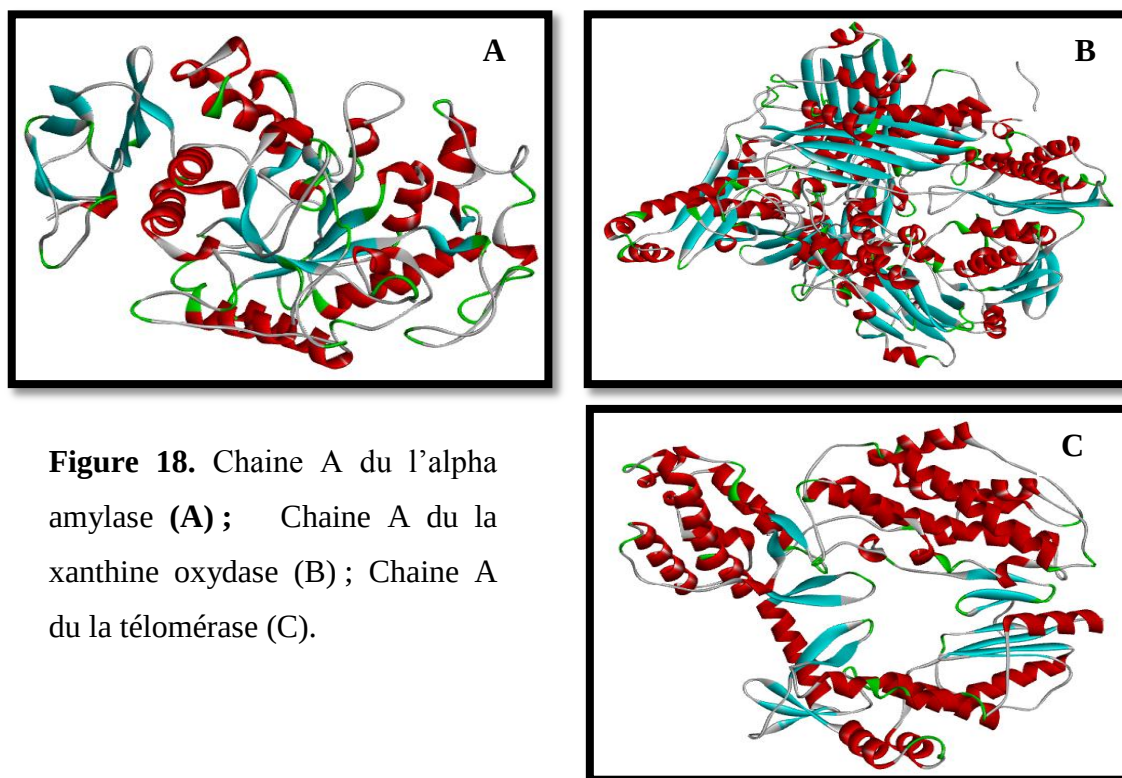


Figure 18. Chaîne A du l'alpha amylase (A) ; Chaîne A du la xanthine oxydase (B) ; Chaîne A du la télomérase (C).

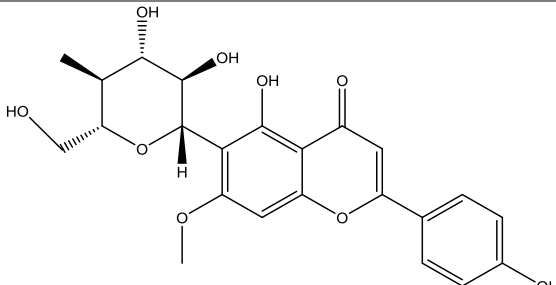
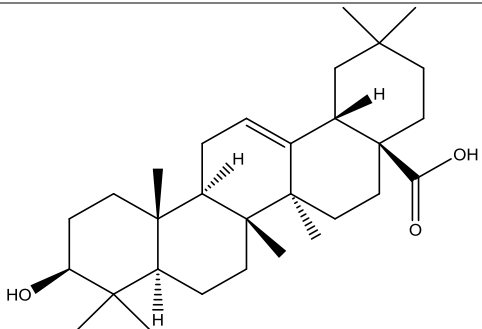
Tableau 2. Caractéristiques de l'alpha amylase, xanthine oxydase et télomérase.

Protéine	Code PDB	Les chaînes	Inhibiteur réf	Résolution	Classification
Alpha amylase	1OSE	A	Acarbose	2.30 Å	Hydrolase
Xanthine oxydase	1N5X	A, B	TEI	2.80 Å	Oxydoréductase
Télomérase	5CQG	A, B	BIBR1532	2.30 Å	Transférase / Transférase inhibiteur

b. Préparation des ligands

Les structures chimiques des ligands étudiés ont été téléchargées à partir de base de données PubChem sous forme de fichier SDF, par la suite sauvegardés en formats PDB à l'aide de programme Discovery Studio Visualiser. Et avec le programme AutoDock Tools les ligands sont convertis au format PDBQT. Le tableau 3, résume les informations concernant les ligands utilisés lors de cette étude.

Tableau 3. Détails des molécules sélectionnés avec leurs identifiants PubChem utilisés pour cette étude.

Molécule	PubChem ID	Structure Chimique
Swertisine	124034	
Acide oléanolique	10494	

2.6. Propriétés pharmacologiques

➤ Règle de Lipinski

Chaque produit pharmaceutique éventuel doit répondre à un certain nombre d'exigences fondamentales, notamment être stable, soluble et à faible coût de production, ainsi que des échelles liées à ses qualités pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. La "**règle de Lipinski de 5**" est utilisée dans cette situation pour évaluer la probabilité qu'un produit chimique ayant des qualités thérapeutiques soit donné oralement aux gens. Selon cette règle, une substance peut être administrée oralement si elle satisfait à au moins trois des cinq exigences suivantes :

- Un poids moléculaire maximum de 500 g/mol.
- Un coefficient de partition octanol / eau (logP) ou une lipophile ≤ 5 .
- Le nombre de donneurs de liaisons Hydrogène un maximum de 5 (≤ 5).
- Le nombre d'accepteurs de liaisons Hydrogène un maximum de 10 (≤ 10) (**Lipinski et al., 2001**)

➤ **Règle de Veber**

La règle de Veber suggère que la flexibilité moléculaire et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale (**Veber et al., 2002**). Une flexibilité moléculaire réduite (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et une faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale (**Remko et al., 2006**). Pour une biodisponibilité orale idéale, Veber et al ont identifié deux descripteurs supplémentaires (**Segall, 2012**) :

- Le nombre d'angles de rotation < 5 .
- La surface polaire (PSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$.

Dans notre travail, ces paramètres ont été calculés en utilisant le serveur Molinspiration

2.7. Propriétés pharmacocinétique

Le développement et la découverte de médicaments dépendent fortement de la compréhension de l'absorption chimique, de la distribution, du métabolisme, de l'excrétion et de la toxicité (ADMET). En plus d'être suffisamment efficace contre la cible thérapeutique, un candidat-médicament de haute qualité doit également avoir des qualités ADMET adaptées à un dosage thérapeutique. Pour la prévision des propriétés chimiques ADMET, de nombreux modèles *in silico* ont ainsi été construits. L'évaluation de la similarité pharmacologique d'un composé en termes de ces caractéristiques adaptées est toutefois difficile.

Nous avons proposé le score ADMET, une méthode de notation, dans cette étude pour évaluer à quel point une molécule ressemble à un médicament (**Guan, 2019**).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Rendement d'extraction

L'extraction de la partie souterraine d'*Atractylis humilis* a permis d'obtenir trois extraits bruts : L'extrait dichlorométhanolique (DCM), l'extrait acétonique (ACT), l'extrait méthanolique (MéOH).

Exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante fraîche, les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents (tableau 4).

Tableau 4. Rendement, aspect et couleur de différents extraits d'*Atractylis humilis*.

Extrait	Rendement (%)	Aspect	Couleur
DCM	1,91	Pâteux	Jaune foncé
ACT	4,68	Pâteux	Jaune foncé
MéOH	11,51	Visqueux	Jaune ambré

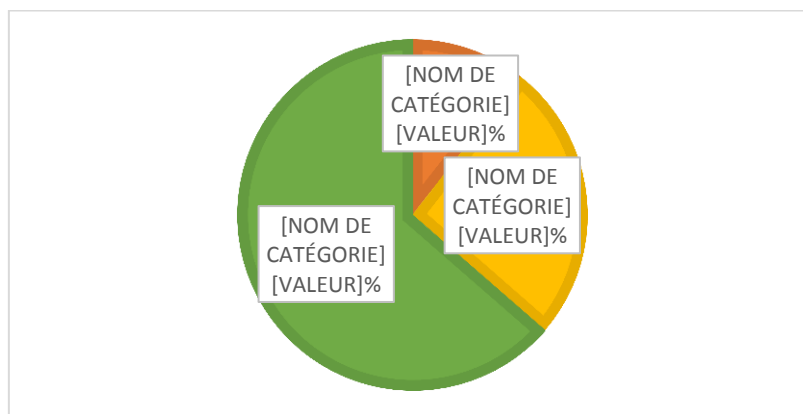


Figure 19. Comparaison entre les rendements de différents extraits.

Selon les résultats présentés dans le tableau 4 et la figure 19, on remarque que la plupart de nos extraits ont un aspect pâteux avec une coloration jaune (de claire au foncé).

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de méthanol représente le plus élevé avec (11,51 %), suivi par l'extrait d'acétone (4,68 %), et enfin l'extrait dichlorométhanolique possède le plus faible rendement avec une valeur de 1,91 %. La différence de rendement entre les extraits est due aux méthodes d'extraction utilisées et aux solvants utilisés.

Nos résultats sont supérieurs à ceux reportés par (**Khiati, 2022**), qui a obtenu un rendement d'extraction pour : l'extrait de dichlorométhane de système acétone/H₂O (1,138 %), suivi par la fraction de dichlorométhane de système méthanol-eau (0,832 %), d'acétate d'éthyle de système d'acétone/H₂O (0,72 %), et la fraction d'acétate d'éthyle de système méthanol-eau (0,658 %).

La polarité des solvants et la composition chimique des molécules associées à chaque extrait différent conduit à des différences dans les rendements des extraits bruts et de leurs fractions.

Le rendement de l'extraction dépend du solvant, en particulier de sa polarité, du temps et de la température d'extraction, du rapport solide-liquide, de la composition chimique et des caractéristiques physiques des émulsions, telles que la taille des particules d'émulsion. La réduction de la taille des particules améliore le rendement des composés phénoliques, ce qui nécessite moins de solvants polaires pour extraire les composés phénoliques lipophiles (**Belmokhtar, 2015**).

2. Résultats de l'étude quantitative

2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu pour chaque extrait à partir de la courbe d'étalonnage établie avec différentes concentrations d'acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme extrait sec (mg d'EAG/g ES) (tableau 5).

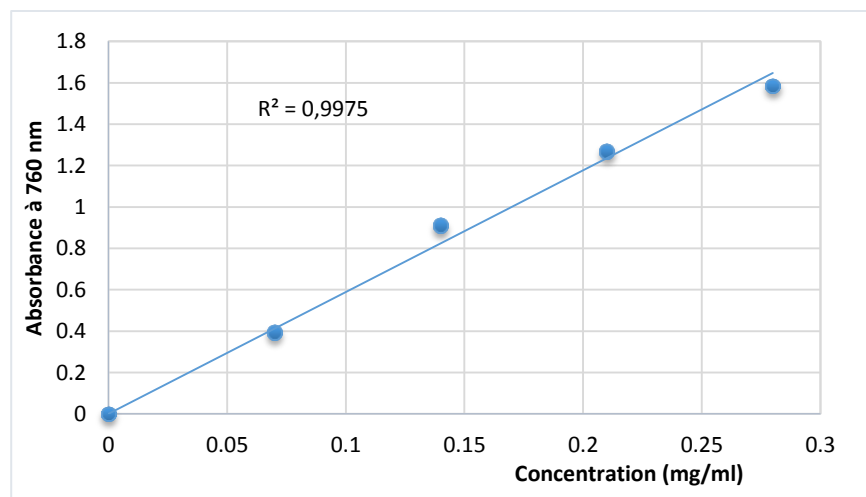


Figure 20. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 5. Teneurs totales en polyphénols, des extraits obtenus d'*Atractylis humilis*.

Extrait	Teneur totale en polyphénols (mg EAG/g ES)
DCM	18,589 ± 2,543
ACT	17,004 ± 1,597
MéOH	5,758 ± 0,664

D'après les résultats, on peut constater que tous les extraits de la plante étudiés, sont riches en polyphénols mais avec des quantités différentes. Le tableau 5 montre que l'extrait dichlorométhanolique possède la plus haute teneur en polyphénols (18,589 mg EAG/g ES), suivi par l'extrait acétonique (17,004 mg EAG/g ES) et enfin l'extrait méthanolique (5,758 mg EAG/g ES). Les valeurs des teneurs sont regroupées dans l'histogramme suivant :

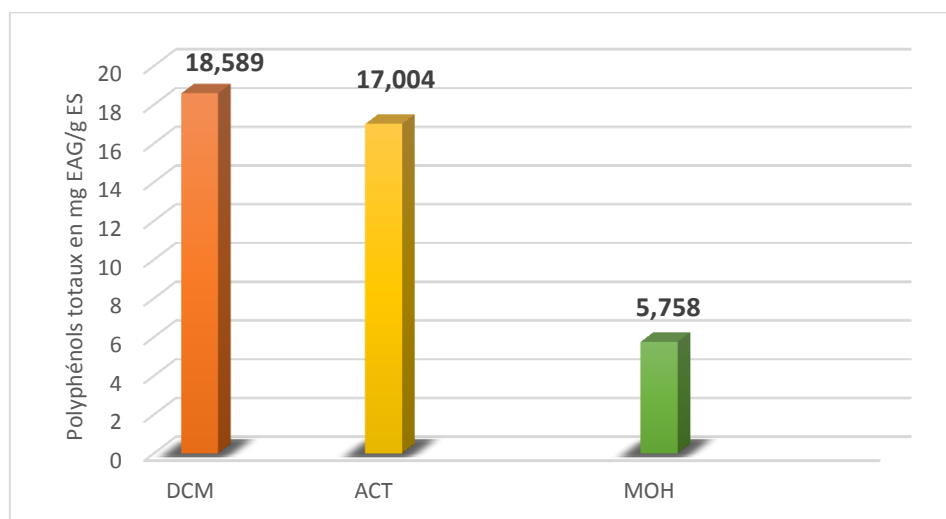


Figure 21. Comparaison entre les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d'*Atractylis humilis*

Les teneurs des polyphénols totaux déterminées ne sont pas des mesures absolues des quantités des phénols du matériel de départ, elles sont en fait, basées sur la capacité réductrice relative à une capacité réductrice équivalente à l'acide gallique (EAG) (Saidi, 2019).

Cependant, le type d'extrait ou la polarité du solvant d'extraction peut également affecter la concentration de composés phénoliques dans les extraits de plantes (**Bakli, 2021**).

Selon (**Khiati, 2022**), les teneurs en polyphénols totaux d'*Atractylis humilis* de leurs extraits : l'extrait acétate d'éthyle de système acétone/H₂O (12,84 mg EAG/g ES), suivi par la fraction de dichlorométhane de système d'acétone-eau (5,32 mg EAG/g ES), de dichlorométhane de système méthanol-eau (4,97 mg EAG/g ES), et la fraction d'acétate d'éthyle de système méthanol-eau (4,22 mg EAG/g ES) de la même plante, inférieure aux résultats obtenus de notre étude. Par ailleurs, (**Sifouane, 2021**), a noté une valeur inférieure à celle de notre étude : l'extrait AcOEt (140,97 µg EAG/mg ES) et l'extrait n- BuOH (113,77 µg EAG/mg ES).

Le principal inconvénient de ce dosage colorimétrique peut être la faible spécificité du réactif "Folin-Ciocalteu", qui explique la réduction de tous les groupes d'hydroxydes pas seulement ceux des composés phénoliques ainsi que de certains sucres et protéines a démontré que le réactif est particulièrement sensible à ce processus (**Boizot & Charpentier, 2006**).

2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux s'effectue par la méthode de trichlorure d'aluminium, basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium, ayant une absorbance maximale à 430 nm. Le taux des flavonoïdes totaux est calculé à partir de la gamme d'étalonnage de la quercétine et exprimé en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme extrait sec (mg d'EQ/g ES) (tableau 6).

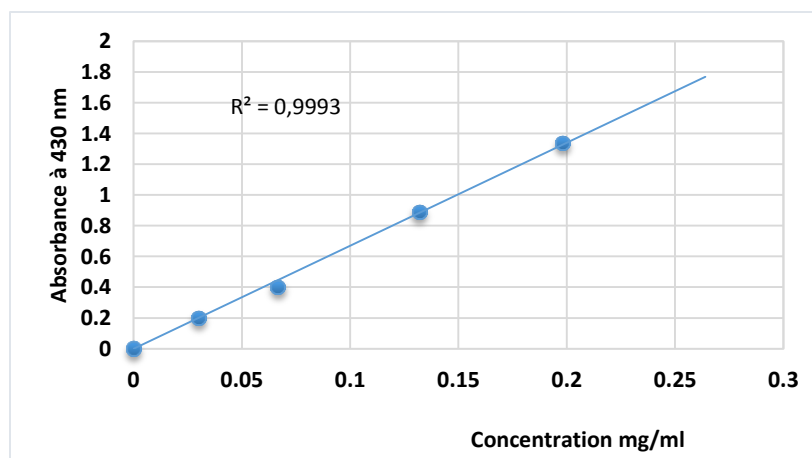


Figure 22. Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau 6. Teneurs totales en flavonoïdes totaux, des extraits obtenus d'*Atractylis humilis*.

Extrait	Teneur totale en flavonoïdes (mg EQ/g ES)
DCM	0,704 ± 0,023
ACT	0,627 ± 0,023
MéOH	1,454 ± 0,001

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux s'effectue par la méthode de trichlorure d'aluminium. Les résultats présentés dans le tableau 6 montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différents extraits. L'extrait méthanolique enregistre un maximum de flavonoïdes totaux (1,454 mg EQ/g ES), suivi par l'extrait dichlorométhanolique qui renferme des teneurs plus faibles (0,704 mg EQ/g ES). Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes totaux a été mesurée dans l'extrait acétonique (0,627 mg EQ/g ES). Les valeurs des teneurs sont regroupées dans l'histogramme suivant :

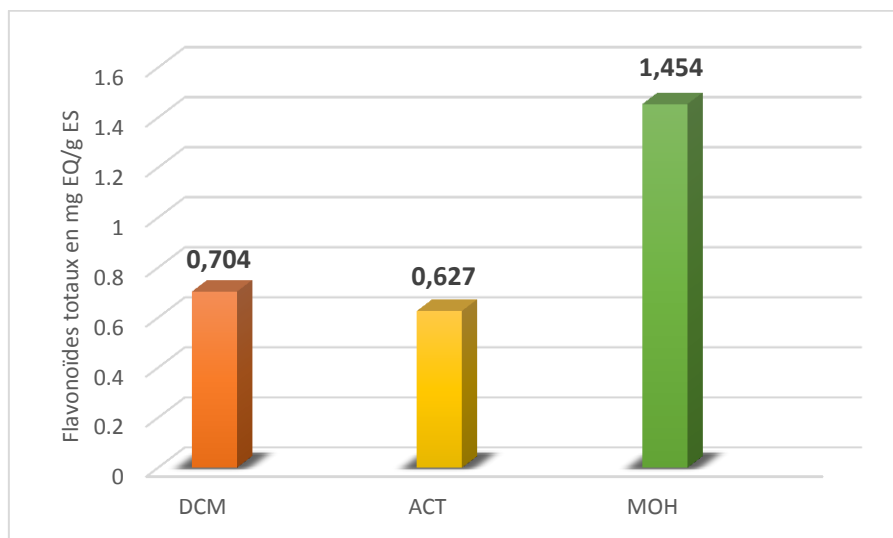


Figure 23. Comparaison entre les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits d'*Atractylis humilis*.

La teneur des flavonoïdes totaux dans les extraits de la plante, dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits.

(Khiati, 2022), a déterminé la teneur en flavonoïdes totaux de la plante *Atractylis humilis*, leurs extraits enregistrent des valeurs supérieures aux résultats obtenus dans notre étude: l'extrait acétate d'éthyle de système acétone/H₂O (6,16 mg EQ/g ES), suivi par la fraction de dichlorométhane de système d'acétone-eau (4,23 mg EQ/g ES), de dichlorométhane de système méthanol-eau (3,97 mg EQ/g ES), et la fraction d'acétate d'éthyle de système méthanol-eau (2,18 mg EQ/g ES).

Alors que (Sifouane, 2021), a une valeur inférieure à celle de notre étude : l'extrait AcOEt (107,40 µg EQ/mg ES) et l'extrait n- BuOH (97,91 µg EQ/mg ES).

Les variations entre les concentrations de composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes totaux) dans les extraits des plantes examinées et celles découvertes par d'autres auteurs sont dues aux facteurs liés aux plantes (tels que leurs origines et variétés, le temps de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, ect), et les conditions de préparation, et d'extraction de ces composés (solvant, diluant, épuisement, température, la pression, ...etc) (Akula & Ravishakar, 2011).

3. Résultats de l'activité antioxydante

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir antiradicalaire d'un antioxydant pur, ou d'un extrait antioxydant. La solution méthanolique du DPPH. Le spectre UV de la couleur mauve-foncé a un maximum d'absorbance à 517 nm. Sous l'action d'un antioxydant AOH qui le réduit en DPPHH, sa couleur change et devient jaune (Kholkhal, 2014).

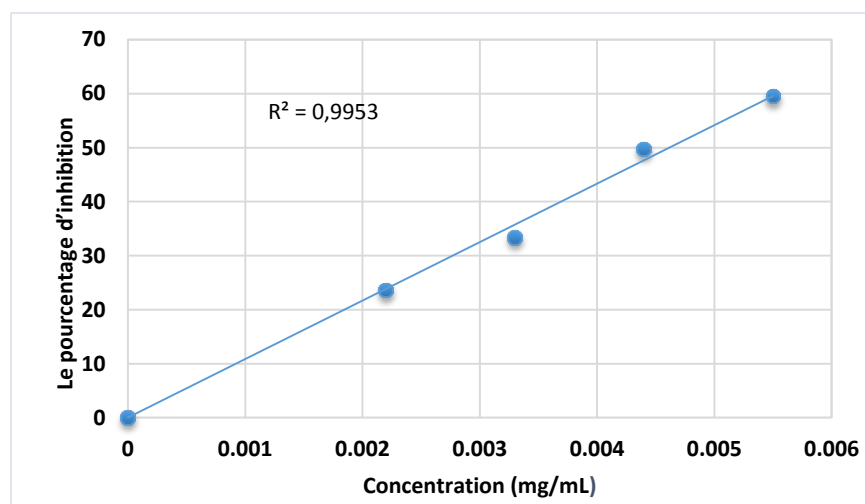


Figure 24. La courbe d'inhibition PI% en fonction de la concentration en du Vit C-test DPPH.

Les valeurs de VCEAC calculées comme un rapport de comparaison avec la vitamine C sont reprise dans le tableau ci-dessous. VCEAC est définie comme la quantité en mg du vit C possédant la même activité antioxydante que 1 g de l'extrait.

Tableau 7. Activité antioxydante des extraits exprimée par les valeurs de VCEAC (test de DPPH).

Extrait	Concentration (g/ml)	VCEAC (g/g d'extrait)	Interprétation
DCM	0,0012	0,0042 ± 0,0003	1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de 0,0042g de vitamine C
ACT	0,0012	0,0005 ± 0,0001	1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de 0,0005g de vitamine C
MéOH	0,0012	0,0045 ± 0,0003	1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de 0,0045g de vitamine C

Pour l'expression de l'activité antioxydante par le VCEAC, on déduit que plus les valeurs de VCEAC sont grandes plus l'extrait est un antioxydant puissant. Parmi les trois extraits d'*Atractylis humilis*, l'extrait méthanolique a une capacité de piégeage des radicaux DPPH plus forte avec une valeur de (VCEAC = 0,0045 g/g de l'extrait), cela correspond aux nos résultats de la teneur en flavonoïdes obtenus, qu'ils sont connus comme de potentiels piégeurs de radicaux libres, suivi de l'extrait dichlorométhanolique avec une valeur de (VCEAC = 0,0042 g/g), par contre l'extrait acétonique est le plus faible avec une valeur de (VCEAC = 0,0005 g/g de l'extrait).

Khiati, (2022) a étudié l'activité antioxydante de quatre extraits d'*Atractylis humilis*, il a trouvé VCEAC = 0,132 g/g de l'acétate d'éthyle de système acétone/H₂O , suivi par l'acétate d'éthyle de système méthanol/H₂O (VCEAC = 0,096 g/g), dichlorométhane de système méthanol/H₂O (VCEAC = 0,051 g/g), et enfin dichlorométhane de système

acétone/H₂O (VCEAC = 0,05 g/g), ces valeurs sont relativement fortes si elles sont comparées à celles de nos extraits.

Les critères généralement utilisés pour quantifier l'activité antioxydante, la valeur d'IC₅₀ est utilisée pour déterminer la capacité antioxydante des différents extraits. Il s'agit de la concentration d'extrait nécessaire pour éliminer 50 % du radical DPPH dans une période de temps prédéterminé.

Sifouane, (2021), a trouvé des valeurs de IC₅₀ d'extraits AcOEt égale 49,98 et 16,94 µg/ml pour l'extrait de n-BuOH, par contre nous avons utilisé une concentration de 0,0012 g/ml de chaque extrait, qui ont été donnés des pourcentages d'inhibition de l'activité antioxydante 58,53%, 55,83% et 6,64% respectivement des extraits méthanolique, dichlorométhanolique et acétonique.

Les propriétés antioxydantes des extraits de plantes sont principalement dues à leur richesse en composés polyphénoliques, l'effet antiradicalaire des flavonoïdes sur les radicaux libres dépend de la présence de groupements OH libre (**Agouazi, 2021**).

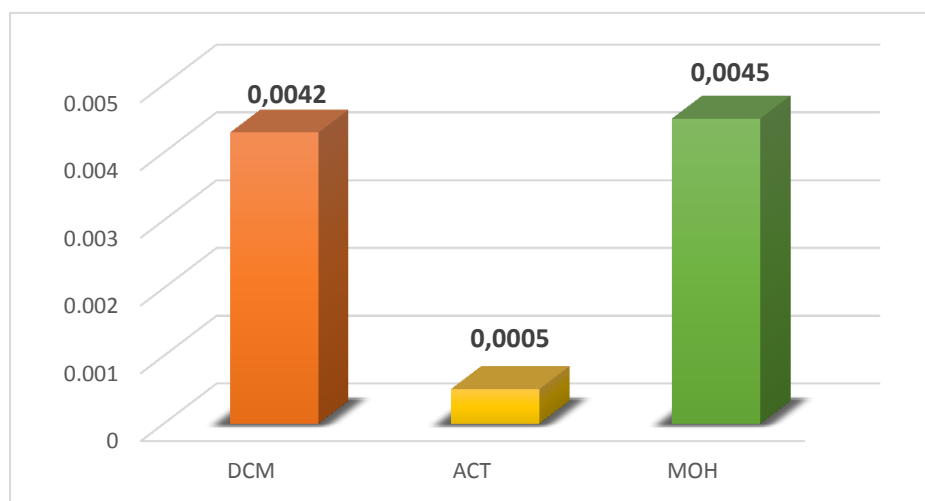


Figure 25. Comparaison entre les valeurs de VCEAC des extraits d'*Atractylis humilis* (test de DPPH).

Les corrélations entre l'activité antioxydante par le test DPPH et les contenus en polyphénols et en flavonoïdes ont été établis. Cette analyse révèle une corrélation entre l'activité antioxydante et les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes non significative avec des coefficients de corrélations $R^2 = 0,21$ et $R^2 = 0,39$ respectivement. Cela peut être

expliqué par la possibilité que la capacité antioxydante peut être liée par d'autres composés que les polyphénols.

4. Résultats de docking moléculaire

Le docking moléculaire de deux constituants de la partie souterraine d'*Atractylis humilis* est effectué sur des protéines cibles : alpha amylase, xanthine oxydase et télomérase reverse transcriptase. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux 8, 9 et 10. Les inhibiteurs étudiés sont choisis en comparant leurs scores d'affinité par rapport à ceux des inhibiteurs de référence.

4.1. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme alpha amylase

Dans cette étude, l'énergie de ligand acarbose a été choisie comme énergie de référence pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants d'*Atractylis humilis*. Le docking moléculaire de deux molécules a donné des scores d'affinité les plus négatifs indiquant une plus forte interaction entre le ligand et la protéine (tableau 8).

Tableau 8. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme alpha-amylase.

Ligand	Energie (Kcal/mol)	AA impliquées	Type interaction	Distance (Å)
Swertisine	-8,0	GLU233, ASP197 ASP300, VAL163, TRP59	Hydrogène Hydrophobe	1,83
Acide oléanolique	-9,0	ASP197, HIS305	Hydrogène Hydrophobe	2,40
Acarbose	-9,4	GLY306, GLU233, ASP300, HIS299, HIS305, GLN63, VAL163, LYS200, TYR62, ASP197, HIS101, TRP59, GLY164, SER105, HIS201, GLY106, LEU165	Hydrogène Hydrophobe	2,92

D'après ces résultats, on remarque que ces molécules : la swertisine (-8,0 Kcal/mol) a donné une valeur d'énergie élevée, par contre l'acide oléanolique (-9,0 Kcal/mol) a donné une énergie plus proche que celle de ligand acarbose (-9,4 Kcal/mol). Autrement dit, ces composants ont une affinité intéressante pour l'alpha amylase et forment probablement avec elle un complexe bien stable.

4.2. Analyse visuelle de mode d'action des ligands sur alpha amylase

a. Le complexe swertisine-alpha amylase

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre l'alpha amylase et la swertisine est stabilisé par plusieurs types des interactions parmi elles une interaction hydrogène avec les résidus GLU233, ASP197 et interaction hydrophobique avec les résidus VAL163, TRP59, ASP300, le ligand est stabilisé aussi par des liaisons de van der Waals formées avec les acides aminés HIS299, TRP58, GLY306, HIS305, ARG195, ALA195, LEU162, TYR62, GLN63, HIS201 et LEU165.

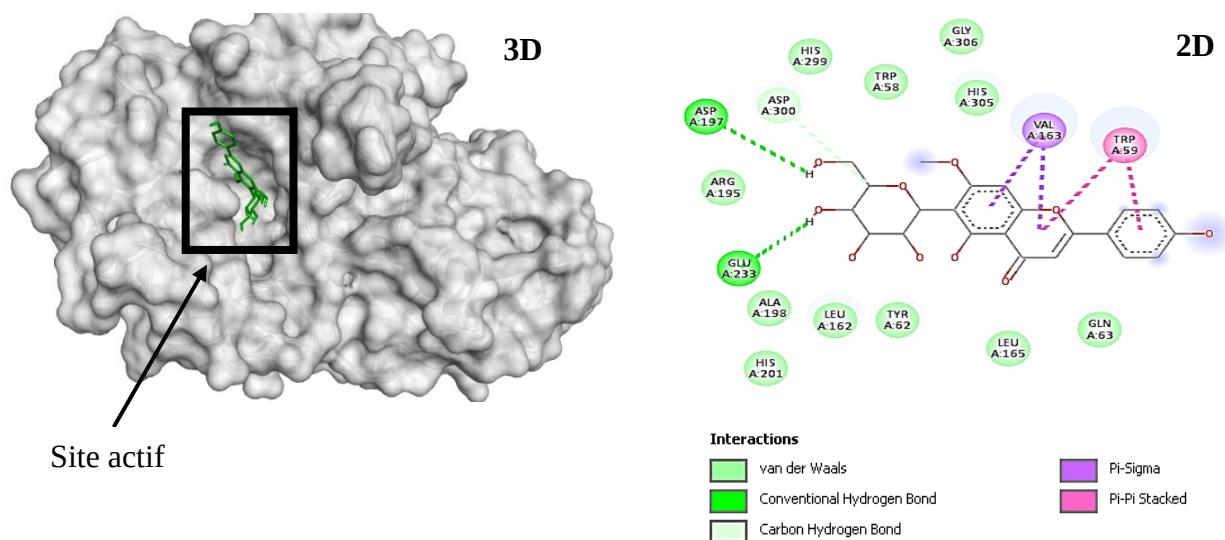


Figure 26. Analyse visuelle du site de liaison de la swertisine avec l'enzyme alpha amylase.

b. Le complexe acide oléanolique_alpha amylase

Cette analyse visuelle montre que le complexe formé entre l'alpha amylase et l'acide oléanolique est stabilisé par une interaction hydrogène avec l'acide aminé ASP197 et une interaction hydrophobe avec l'acide aminé HIS305. Liaisons de type de van der Waals formées entre le ligand et la fonction amine des résidus ARG195, GLU233, ALA198, ASP300, LEU162, TRP58, VAL163, HIS101, TYR62, LEU165, GLN63, TRP59.

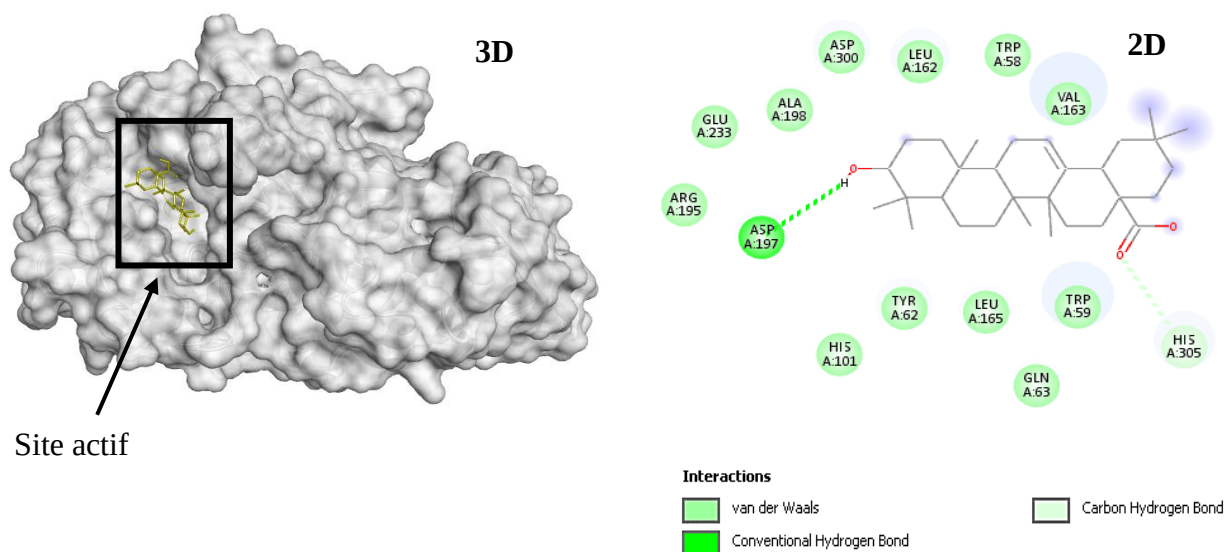


Figure 27. Analyse visuelle du site de liaison de l'acide oléanolique avec l'enzyme alpha amylase.

Tous les acides aminés de la swertisine sont communs avec les acides aminés de l'acarbose. Ils ont des interactions hydrogènes sauf les acides aminés VAL163, TRP59 et ASP300 ont des interactions hydrophobes. Par ailleurs, les interactions hydrogènes communes pour l'acide oléanolique sont formées à partir de l'acide aminé ASP197 et liaison hydrophobe avec HIS305.

Concernant ces interactions hydrogènes qui jouent le rôle le plus important en biologie et le domaine du vivant, et les interactions hydrophobiques jouent un rôle essentiel dans la stabilisation des complexes. Ce sont des interactions non covalentes.

Des infections graves, telles que l'obésité, les troubles et les lésions du tractus gastro-intestinal, ont été causées par inhibiteurs synthétiques de l' α -amylase, comme l'acarbose. Des inhibiteurs de sources naturelles avec peu d'effets indésirables doivent être recherchés. Les flavonoïdes (la swertisine) (**Sadeghi et al., 2022**), et les triterpènes (l'acide oléanolique) sont étudiés comme alternatives potentielles aux médicaments commerciaux, étant responsables de leurs activités inhibitrices contre l'alpha-amylase (**Deng et al., 2022**).

D'après cette analyse on a remarqué que le ligand (swertisine) et (l'acide oléanolique) se fixent sur le même site actif d'inhibiteur de référence acarbose. C'est-à-dire le site actif de l'enzyme suggérant qu'ils sont des inhibiteurs de types compétitifs.

4.3. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme xanthine oxydase

Pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des composants de l'*Atractylis humilis*, l'énergie du ligand TEI de l'étude a été utilisée comme énergie de référence.

Tableau 9. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme xanthine oxydase.

Ligand	Energie (Kcal/mol)	AA impliquées	Type interaction	Distance (Å)
Swertisine	-7,5	LEU648, VAL1011 LEU1014, PHE914 ALA1079, PHE1009 LEU873	Hydrogène Hydrophobe	1,77
Acide oléanolique	-7,2	PHE649	Hydrophobe	2,65
TEI	-6,9	PRO1076, ASN768 THR803, LYS771, PHE1013, THR1010 ALA1078,ALA1079 VAL1011, LEU373 LEU1014, LEU648 ARG880, PHE914 PHE1009	Hydrogène Hydrophobe	2,78

A la lumière des résultats du tableau 9, il ressort que les composés : la swertisine (-7,5 Kcal/mol), l'acide oléanolique (-7,2 Kcal/mol) ont donné des énergies d'affinité plus basses

que celle de ligand TEI (-6,9 Kcal/mol). En d'autres termes, ces composants ont une plus grande affinité pour la xanthine oxydase et sont capables de former avec elle des complexes plus stables par rapport au l'inhibiteur de référence.

4.4. Analyse visuelle de mode d'action des ligands sur xanthine oxydase

a. Le complexe swertisine- xanthine oxydase

L'analyse visuelle révèle qu'une seule interaction hydrogène avec l'acide aminé LEU648 et liaisons hydrophobiques avec les acides aminés VAL1011, LEU1014, PHE914, ALA1079, PHE1009, LEU873 qui stabilisent le complexe qui s'est formé. D'autre part, il apparaît également que les liaisons de van der Waals entre le ligand et les acides aminés ARG880, THR1010, SER876, PRO1076, THR803, ASN768, PHE1013, LYS771, MET770, PHE775, GLY647, PHE649 et GLU802 sont significatives.

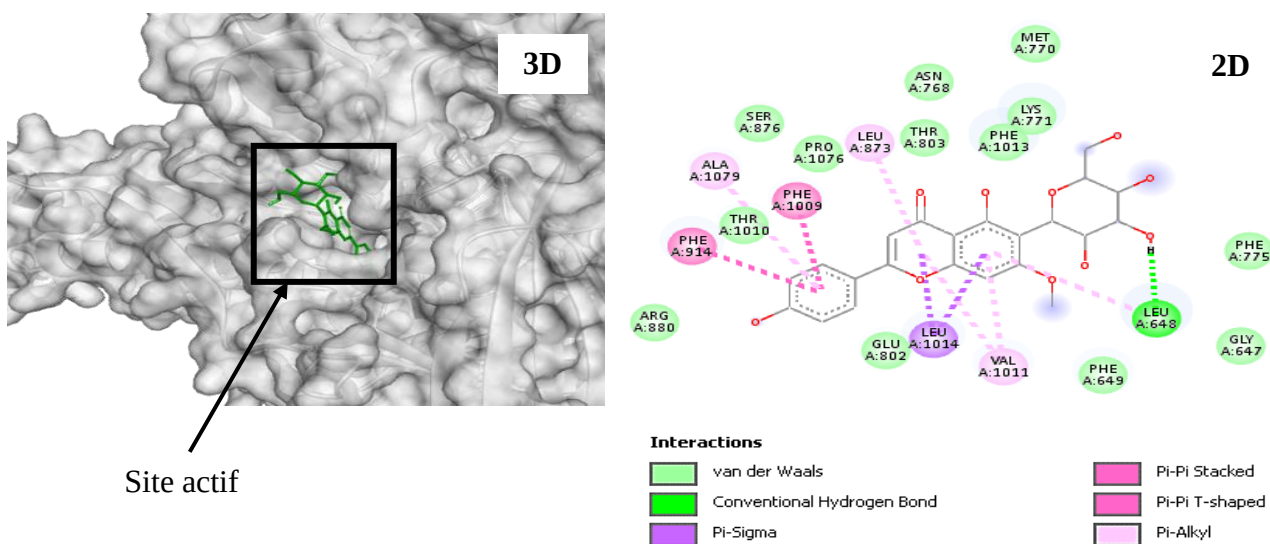


Figure 28. Analyse visuelle du site de liaison de la swertisine avec l'enzyme xanthine oxydase.

b. Le complexe acide oléanolique-xanthine oxydase

L'analyse visuelle indique que le complexe est également stabilisé par une liaison hydrophobe avec le résidu PHE649, le ligand est stabilisé aussi par liaison de van der Waals formé entre de ligand et la fonction amine des résidus LYS778, SER774, ASN650, PHE775, LYS771, LEU648, LEU1014, LEU873, VAL1011, et PHE1013.

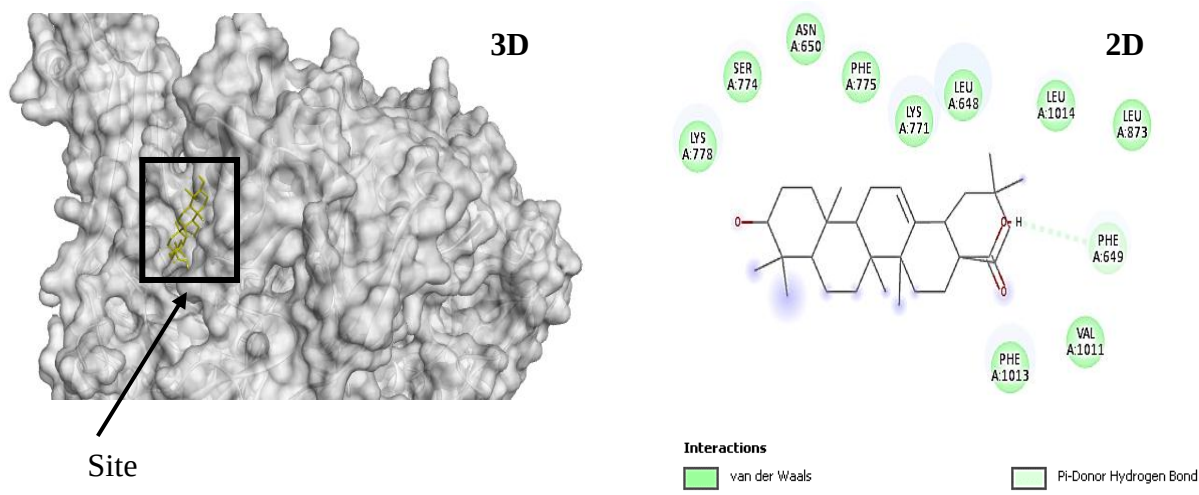


Figure 29. Analyse visuelle du site de liaison de l'acide oléanolique avec l'enzyme xanthine oxydase.

La stabilité du complexe swertisine-TEI formé régit par divers interactions dans les figures ci-dessus. LEU 648 partagé par une liaison hydrogène avec la swertisine et une liaison hydrophobe avec TEI. Et les interactions hydrophobiques communes avec les acides aminés VAL1011, LEU1014, PHE914, ALA1079, PHE1009, LEU873. Par contre on remarque que l'acide oléanolique n'a aucun résidu identique avec le ligand de référence.

Une étude faite par Abu-Gharbieh *et al.*, (2018) sur la xanthine oxydase a enregistré des simulations de docking pour des triterpènes qui révèle des interactions avec les résidus du site actif ont révélés une interaction hydrophobe avec le résidu PHE 649. Cette constatation concorde avec nos résultats vus qu'on a trouvé le même résidu PHE 649 avec l'acide oléanolique.

Alors que, d'autres études réalisées par **Santi et al., (2017)** ont démontré que les flavonoïdes représentent une alternative plus active que l'inhibiteur de référence pour l'activité inhibitrice de XOD.

Les résultats d'amarrage ont montré que les ligands swertisine et l'acide oléanolique se lient au site actif de l'enzyme vis-à-vis l'inhibiteur de référence, suggérant qu'ils seraient ainsi des inhibiteurs de type compétitif.

4.5. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme télomérase

L'énergie du ligand BIBR1532 de l'étude a été utilisée comme énergie de référence pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des composants d'*Atractylis humilis*.

Tableau 10. Les valeurs de docking score des ligands avec l'enzyme télomérase.

Ligand	Energie (Kcal/mol)	AA impliquées	Type interaction	Distance (Å)
Swertisine	-8,2	LEU554, GLY553 ILE497, MET482 TYR551, MET483 ILE550, ARG486 PHE494	Hydrogène Hydrophobe	3,09
Acide oléanolique	-7,6	ASN492	Hydrogène	2,73
BIBR1532	-10,7	LEU554, ILE497 MET482, TYR551 ILE550, ARG486 PHE494	Hydrophobe	3,91

Comme il est rapporté dans le tableau 10, on observe que les molécules : la swertisine (-8,2 Kcal/mol) et l'acide oléanolique (-7,6 Kcal/mol), ont donné des énergies d'affinité élevée que le ligand de référence BIBR1532 (-10,7 Kcal/mol). En d'autres termes, ces composants peuvent former des complexes moins stables avec la télomérase en ayant affiché des affinités modérées en comparaison au l'inhibiteur de référence.

4.6. Analyse visuelle de mode d'action des ligands sur télomérase

a. Le complexe swertisine-télomérase

En utilisant le programme Discovery Studio Visualiser, il a été démontré que le complexe formé entre le récepteur de la télomérase et le ligand de swertisine est stabilisé par plusieurs types de liaisons parmi lesquelles une liaison hydrogène avec le résidu LEU554, et des liaisons hydrophobes avec les résidus d'ARG486, MET483, PHE494, ILE497, ILE550, TYR551, MET483. Le ligand est stabilisé aussi par liaison de van der Waals formé avec les acides aminés ARG557, GLY495, ASP493, THR487 et PHE478.

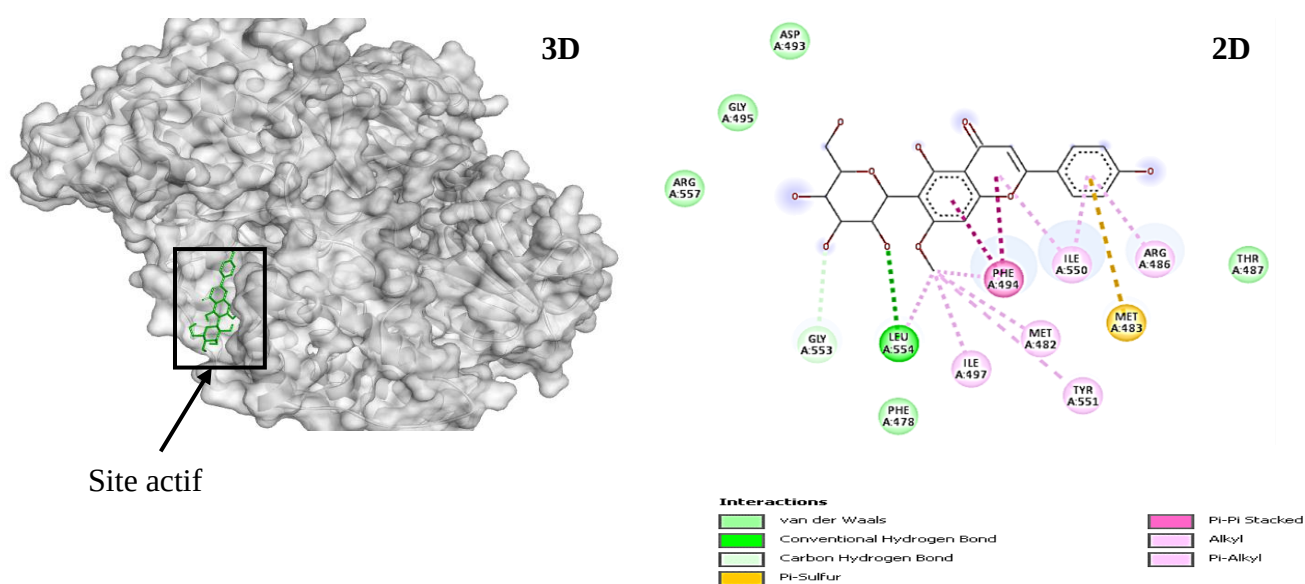


Figure 30. Analyse visuelle du site de liaison la swertisine avec l'enzyme télomérase.

b. Le complexe acide oléanolique-télomérase

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre la télomérase et le ligand acide oléanolique est maintenu fixe par une liaison hydrogène avec l'acide aminé ASN492. Le reste des liaisons entre le ligand et son site de liaison sur l'enzyme sont de type de van der Waals avec les aminés PHE494, GLY553, ARG557, TRP498, LEU554, GLY495, ILE550, GLU549 et ARG486.

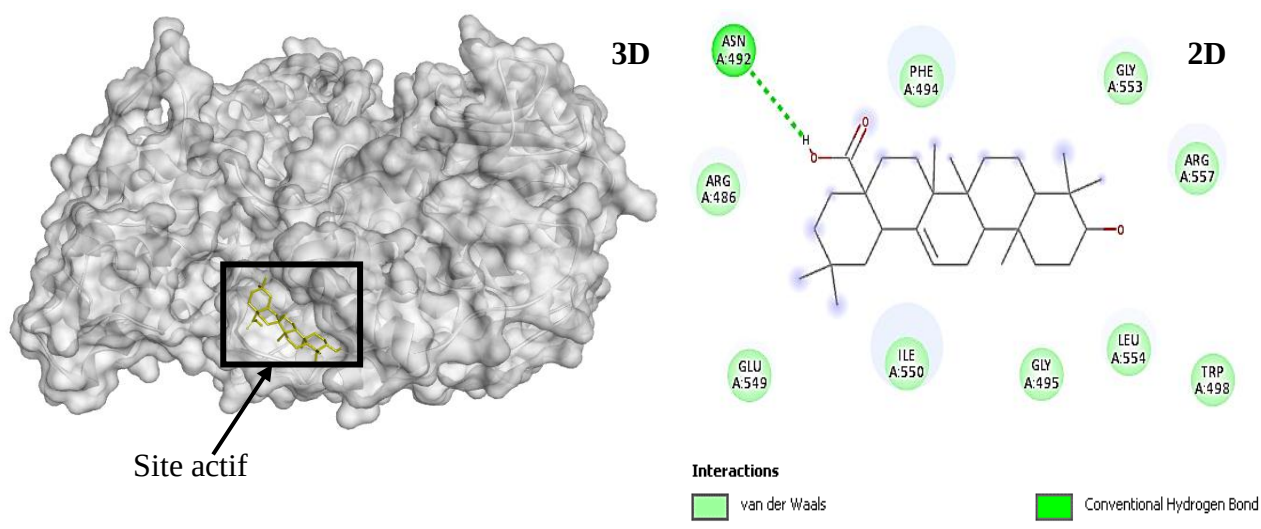


Figure 31. Analyse visuelle du site de liaison de l'oléanolique acide avec l'enzyme télomérase

Nous avons noté que la swertisine et le ligand BIBR1532 ont des résidus identiques : ILE497, MET482, TYR551 ILE550, ARG486 et PHE494 établissent des contacts hydrophobes, sauf LEU554 même résidu forme une interaction hydrogène avec la swertisine et hydrophobe avec BIBR1532. En revanche on remarque que l'acide oléanolique n'a aucun résidu identique avec le ligand standard.

En analysant le site de la liaison de nos ligands avec cette enzyme, nous constatons qu'ils sont associés au même site actif, donc l'enzyme indiquant qu'il s'agit des inhibiteurs compétitifs.

L'étude menée par **Fan et al., (2019)** sur la télomérase a démontré que les flavonoïdes présentaient une activité inhibitrice élevée contre la télomérase. De plus, les flavonoïdes ont montré une activité anticancéreuse puissante. Ces résultats aident à la conception des inhibiteurs de télomérase les plus puissants basés sur les accumulations structurelles des produits naturels pour le traitement du cancer.

Résultats des propriétés pharmacologiques

Tableau 11. Les propriétés pharmacologiques des ligands.

Ligands	LogP	MW	nON	nOHN	nVio	nRot	PSA
Swertisine	0,59	446,41	10	6	1	4	170,05
Acide oléanolique	6,72	456,71	3	2	1	1	57,53

LogP : coefficient de partition octanol / eau ≤ 5 ; **MW** : poids moléculaire ≤ 500 g/mol ; **nOHN** : nombre donneurs de liaisons Hydrogène ≤ 5 ; **nON** : nombre d'accepteurs de liaisons Hydrogène ≤ 10 ; **nRot** : nombre d'angles de rotation < 5 ; **nVio** : nombre de violation ; **PSA** : surface polaire ≤ 140 Å.

L'analyse *in silico* des molécules ont été réalisées à l'aide du serveur Molinspiration pour valider ces propriétés pharmacologiques. Ce moteur nous permet de vérifier les 5 règles de Lipinski et règle Veber.

a) Application de la règle de cinq (règle de Lipinski)

Les résultats du tableau 11 montrent que :

- La valeur de LogP :

Les résultats ont montré que la swertisine est inférieur à 5, tandis que l'acide oléanolique est supérieur à 5 indique qu'une faible liposolubilité ce qui suppose qu'elle s'est faiblement transportée et distribuée dans le corps.

- Le poids moléculaire :

Les deux molécules sont inférieures à 500 g/mol, par conséquent les ligands sont faciles à

pénétrer dans la membrane cellulaire.

- On peut avoir à travers le tableau.11 que les deux ligands ont de nombres accepteurs d'hydrogène inférieurs à 10.
- La swertisine ayant le nombre donneur d'hydrogène supérieur à 5, tandis que l'acide oléanolique est inférieur à 5. Ce qui conduit à une meilleure perméabilité.
- **Le nombre de violation**

Nous remarquons que nos composés ont une violation $nVio = 1$, car la swertisine a un nombre donneur d'hydrogène supérieur au nombre requis, aussi pour l'acide oléanolique une LogP supérieur à 5. De cela, nous pouvons conclure que : les deux composés répondent aux règles de Lipinski, suggérant que ces ligands théoriquement n'auraient pas de problèmes avec la biodisponibilité orale.

b) Application de la règle Veber

- **Pour le nombre d'angles de rotation (nRot)**

Les composés ont des valeurs d'angles de rotation inférieures à 5. Un faible nombre d'angles de rotation donc une flexibilité réduite pour tous les composés ce qui indique que ces ligands lors de la liaison à une protéine ne changent que légèrement leur conformation.

- **Pour la surface polaire (PSA)**

L'acide oléanolique contiennent une valeur de PSA inférieure à 140 Å ce qui montre la bonne prédiction de la biodisponibilité orale et du transport à travers les membranes biologiques. Alors que la swertisine est une valeur de PSA supérieure à 140 Å (= 170.05) par conséquence, nous prédisons un mauvais transport à travers les membranes.

6. Résultats des propriétés pharmacocinétiques et toxicité

Les propriétés pharmacocinétiques et toxicité des ligands sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 12. Les propriétés pharmacocinétiques et toxicité des ligands.

Propriétés	Swertisine	Acide oléanolique
GI (Gastrointestinal) absorption	Faible	Faible
BBB (Blood Brain Barrier) perméabilité	Non	Non
CYP1A2 inhibition	Non	Non
CYP2C19 inhibition	Non	Non
CYP2C9 inhibition	Non	Non
CYP2D6 inhibition	Non	Non
CYP3A4 inhibition	Non	Non
CL	Faible	Faible
T_{1/2}	< 3h	< 3h
Test d'Ames	Mutagène	Non mutagène
Cancérogénicité	Négative	Négative
hERG_inhibition	Risque faible	Risque faible

CL : clairance (élevée : >15 ml/min/kg ; modérée : 5-15 ml/min/kg ; faible : <5 ml/min/kg) ; **CYP450** : Cytochrome P450 ; **hERG** : human Ether Related Gene channel ; **T_{1/2}** : temps demi-vie (courte demi-vie : <3h ; longue demi-vie : >3h).

En utilisant le moteur de prédiction SwissADME et ADEMTlab pour vérifier les propriétés pharmacocinétiques et toxicité des ligands. Nous constatons d'après les résultats du tableau 12 que les deux molécules :

- Faible absorption intestinale, donc ils ont une mauvaise absorption par le tractus gastro-intestinal.
- La pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB) est négative (faible), ce qui pourrait entraver la capacité des médicaments à agir sur le système nerveux central.

- Ils n'ont pas inhibé le cytochrome P450 (CYP1 A2, CYP2 C19, CYP2 C9, CYP2 D6, CYP3 A4).
- L'excrétion de ce dernier se fait par une faible clairance avec courte demi-vie.
- Le profil de toxicité montre une mutagénicité dans le test d'Ames (swertisine), mais nous avons enregistré un résultat négatif et non mutagène pour les tests de toxicité (acide oléanolique), avec un faible risque d'inhibition pour le gène hERG.

CONCLUSION

Aujourd'hui, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie est largement reconnue l'intérêt pour la recherche biomédicale est devenu aussi important que la chimiothérapie. Cette partie du regain d'intérêt concerne les plantes médicinales en tant que source.

Notre travail est une étude quantitative de la plante *Atractylis humilis* et une contribution à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et l'analyse *in silico* de l'activité inhibitrice de différentes enzymes l'alpha amylase, xanthine oxydase et télomérase par quelques métabolites secondaires de cette plante.

L'étude *in vitro* de l'activité antioxydant des différents extraits testés a été évaluée par la méthode DPPH. Une quantification des composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes) a également été réalisée. Les résultats obtenus durant cette étude nous ont permis de conclure que :

- ✓ Le meilleur rendement qui a donné par l'extraction solide-liquide des racines de cette espèce est l'extrait MéOH (11,51 %), suivi par l'extrait ACT (4,68 %) et enfin l'extrait DCM (1,91 %).
- ✓ La détermination quantitative des contenus composés phénoliques réalisée selon les méthodes de Folin-Ciocalteau et de l' AlCl_3 respectivement. Les résultats révèlent des teneurs variables d'un extrait à un autre, où on enregistre les teneurs les plus élevées en polyphénols dans l'extrait DCM par contre en flavonoïdes, l'extrait de MéOH représente les teneurs les plus élevées.
- ✓ Pour le test de DPPH, la valeur de la plus élevée de VCEAC est représentée dans l'extrait le plus polaire (extrait de MéOH).

Par ailleurs, les résultats de l'étude *in silico* des interactions de nouveaux inhibiteurs sur l'alpha amylase, xanthine oxydase et télomérase, cibles enzymatiques impliquées dans les phénomènes des activités biologiques, montrent que les deux composés étudiés de l'*Atractylis humilis* : la swertisine et l'acide oléanolique sont des inhibiteurs puissants envers notre cible. Dans un deuxième temps, nous avons adopté pour la prédiction des paramètres pharmacologiques et pharmacocinétiques, donc l'acide oléanolique a présenté un bon profil

ADMET, les deux composés en répondant à la règle de Lipinski et celle de Veber indiquant ainsi une bonne biodisponibilité par voie orale.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in silico* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vitro* et *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités biologiques des extraits de cette plante.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Abu-Gharbieh, E., Shehab, N. G., Almasri, I. M., & Bustanji, Y. (2018). Antihyperuricemic and xanthine oxidase inhibitory activities of *Tribulus arabicus* and its isolated compound, ursolic acid: *In vitro* and *in vivo* investigation and docking simulations. *PLoS One*, 13(8), e0202572.
- Adjadj, M. (2018). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale *Paronychia argentea* L. Thèse Dr, Université Ferhat Abbas Sétif 1. 149p.
- Agouazi, O. (2021). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de la vigne rouge .Thèse Dr, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. 97 p.
- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Ayeleso, T. B., Matumba, M. G., & Mukwevho, E. (2017). Oleanolic acid and its derivatives: biological activities and therapeutic potential in chronic diseases. *Molecules*, 22(11), 1915.
- Baginski, M., & Serbakowska, K. (2020). *In silico* design of telomerase inhibitors. *Drug discovery today*, 25(7), 1213-1222.
- Bakli, S. (2021). Activité antimicrobienne, antioxydante et anticoccidienne des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales. 173p.
- Béguel, J. P. (2012). Étude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Thèse Dr, Université de Bretagne occidentale. 172p.
- Belmokhtar, Z. (2015). Identification et caractérisation des molécules du métabolisme secondaire de *Retama monosperma*. L Boiss, intérêt pharmaceutique. .Thèse Dr, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, 97p.
- Ben moussa, M. T., Cherif, R. A., Lekhal, S., Bounab, A., & Hadeif, Y. (2022). Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Brocchia cinerea* VIS de l'Algérie (Sud-Est). 49-59.
- Benbouziane, F. Z., & Beneddra, M. (2016). Contribution à une étude botanique et chimique du chardon à glu, *Atractylis gummifera* L., famille des Asteraceae. .Thèse Dr, Université Abou Beker Belkaid Tlemcen, p5.
- Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. Toxicologie générale, 70-86.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.

- Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53.
- Billard, P. (2017). *La télomérase : fonctions biologiques et ciblage thérapeutique*. Thèse Dr, Université de Lorraine, 71p.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse Dr, Université Mohamed Khider Biskra, 176p.
- Boucherit, S., Djeddou, S., Miloudi, Y., & Azizi, A. (2022). *Evaluation in vitro et in silico de l'activité biologique de quelques extraits organique préparés à partir des plantes*. Thèse Dr, Université Dr. Yahia Farès de Médéa, 68p.
- Bouchoka, E. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse Dr, Université BADJI MOKHTAR –ANNABA, 114p.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14-19.
- Bravard, A., Bonnard, C., Favier, R., Durand, A., Vidal, H., & Rieusset, J. (2009). P250 Implication de la xanthine oxydase dans la production de ROS musculaire induite par l'hyperglycémie. *Diabetes & Metabolism*, 35, A86.
- 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*.
- Chabani, S., Lavaud, C., Benkhaled, M., Harakat, D., Long, C., & Haba, H. (2016). Three new oleanane-type triterpene saponins from *Atractylis flava*. *Phytochemistry letters*, 15, 88-93.
- 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.
- Deng, X. Y., Ke, J. J., Zheng, Y. Y., Li, D. L., Zhang, K., Zheng, X., ... & Xu, X. T. (2022). Synthesis and bioactivities evaluation of oleanolic acid oxime ester derivatives as α -glucosidase and α -amylase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal*

Chemistry, 37(1), 451-461.

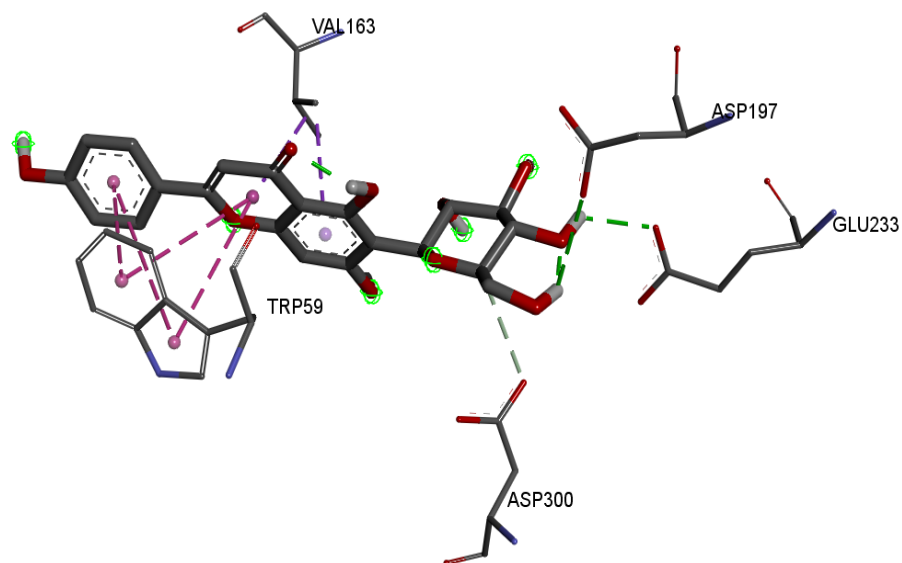
- Durand, K. (2018). Diabète et stress oxydant. Thèse Dr, Université d'Aix-Marseille, 63p.
- El-Hachem, N., Haibe-Kains, B., Khalil, A., Kobeissy, F. H., & Nemer, G. (2017). AutoDock and AutoDockTools for protein-ligand docking: beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1(BACE1) as a case study. *Neuroproteomics: Methods and Protocols*, 391-403
- Etsassala, N. G., Badmus, J. A., Marnewick, J. L., Iwuoha, E. I., Nchu, F., & Hussein, A. A. (2020). Alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitory activities, molecular docking, and antioxidant capacities of *Salvia aurita* constituents. *Antioxidants*, 9(11), 1149
- Fan, Z. F., Ho, S. T., Wen, R., Fu, Y., Zhang, L., Wang, J., ... & Cheng, M. S. (2019). Design, synthesis and molecular docking analysis of flavonoid derivatives as potential telomerase inhibitors. *Molecules*, 24(17), 3180.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- Guan, L., Yang, H., Cai, Y., Sun, L., Di, P., Li, W., ... & Tang, Y. (2019). ADMET-score—a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *Medchemcomm*, 10(1), 148-157.
- Guillemain, H. (2012). Evaluation et application de méthodes de criblage *in silico*. Thèse Dr, Paris, CNAM).
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
- Hamma, S. A. (2016). *Biologie des espèces réactives, stress oxydatif et diabète de type 2*. Éditions universitaires européennes. 48-49.
- Hamma, S., Nouri, N., Fergani, I., Lekhal, A., Cheriet, S., Abadi, N., Lezzar, A., Benlatreche, C. (2015). Biologie des espèces réactives et stress oxydant [en ligne], Mars, vol. 23, n. 2, [Consulté en juin 2023]. 48-53. <https://www.asjp.cerist.dz>.
- Hammad, S. (2020). Conception par bioinformatique et modelisation moleculaire de nouvelles molecules bioactives dans le domaine du cancer. Thèse Dr, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, 140p.
- Hmid I. (2013). Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica Granatum L.*) : caracterisation physicochimique, biochimique et stabilite de leur jus

- frais. Alimentation et Nutrition. Thèse Dr, Université d'Angers France, Grappes, 177.
- Khelfallah, A., (2013). Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires. Magister, Université Constantine 1, 160p.
- Khiati, H., (2022). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits polaires de la plante *Atractylis humilis*. Master, Université Amar Telidji Laghouat, 46p.
- Kholkhal, F. (2014). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse Dr, Université Abou Beker Belkaid de Tlemcen, 180p.
- 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.
- Leão, R., Apolónio, J. D., Lee, D., Figueiredo, A., Tabori, U., & Castelo-Branco, P. (2018). Mechanisms of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) regulation: clinical impacts in cancer. *Journal of biomedical science*, 25(1), 1-12.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(25), 7292-7295.
- 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 1PII 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.
- Liu, N., Xu, H., Sun, Q., Yu, X., Chen, W., Wei, H., & Lu, W. (2021). The role of oxidative stress in hyperuricemia and xanthine oxidoreductase (XOR) inhibitors. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Macheix, J., Fleuriot, A., Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Suisse : Presses polytechniques et universitaires romandes, 4-6.
- Mbarga, A. J. M., Omgba, C. B. E., Djessissem, R., & Sop, M. M. K. (2020). Evaluation of the activity of alpha amylase and antioxidant potential formulations of three varieties of oyster mushrooms: *Pulmonarius*, *floridanus* and *sajor-caju*. *Journal of the Cameroon Academy of Sciences*, 15(3), 151-162.
- Nazaruk, J., & Borzym-Kluczyk, M. (2015). The role of triterpenes in the management of diabetes mellitus and its complications. *Phytochemistry Reviews*, 14, 675-690.

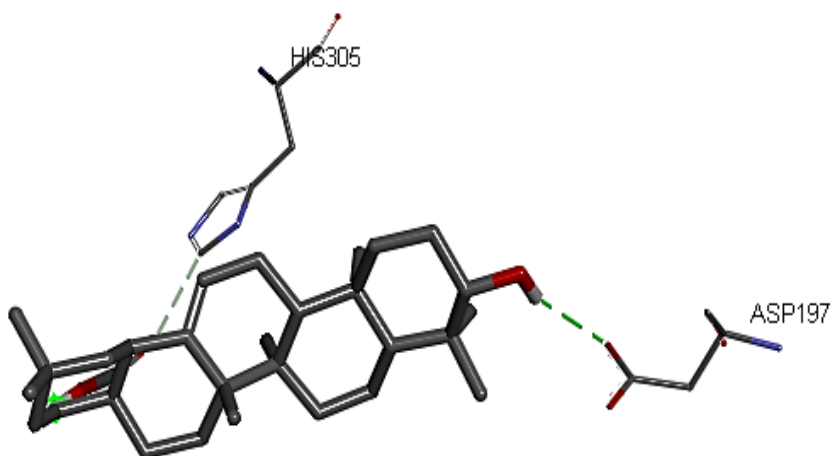
- Orchidées du Nord. *Atraclylis humilis* [en ligne]. [Consulté en mars 2023].
<https://www.orchid-nord.com>
- Paul, A., Adnan, M., Majumder, M., Kar, N., Meem, M., Rahman, M. S., ... & Kabir, M. S. H.(2018). Anthelmintic activity of *Piper sylvaticum* Roxb.(family: Piperaceae): *In vitro* and *in silico* studies. *Clinical Phytoscience*, 4(1), 1-7.
- 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.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.
- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4(8).
- Remko, M. ; Swart, M. ; Bickelhaupt, F. M., J. Bioorg. Med. Chem., (2006), Theoretical study of structure, pKa, lipophilicity, solubility, absorption, and polar surface area of some centrally acting antihypertensives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14, 1715- 1728.
- Sadeghi, M., Miroliaei, M., & Ghanadian, M. (2022). Inhibitory effect of flavonoid glycosides on digestive enzymes: *In silico*, *in vitro*, and *in vivo* studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 217, 714-730.
- Saidi, I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse Dr, Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès.
- Sales, P. M. D., Souza, P. M. D., Simeoni, L. A., Batista, P. D. O. M. D., & Silveira, D. (2012). α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source, 141 – 183.
- Santi, M. D., Zunini, M. P., Vera, B., Bouzidi, C., Dumontet, V., Abin-Carriquiry, A., ... & Ortega, M. G. (2017). Xanthine oxidase inhibitory activity of natural and hemisynthetic flavonoids from *Gardenia oudiepe* (Rubiaceae) *in vitro* and molecular docking studies. *European journal of medicinal chemistry*, 143, 577-582.
- Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., ... & Diop, Y. M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.
- Segall, M. (2012). Multi-parameter optimization: identifying high quality compounds with a balance of properties. *Current pharmaceutical design*, 18(9), 1292.

- Sifouane, S., Benabdelaziz, I., Benkhaled, M., Gómez-Ruiz, S., Carralero, S., & Haba, H. (2020). A new aryltetralin lignan and other phytoconstituents from *Atractylis humilis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 90, 104018.
- Sifouane, S. (2021). Etude phytochimique de deux plantes *Atractylis humilis* et *Carduncellus pinnatus* (Asteraceae). Thèse Dr, Université Hadj Lakhdar – Batna 1, 173p.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). Based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical sciences*, 34(7), 795-800.
- Tela Botanica. (2012). *Atractylis humilis* [en ligne]. [Consulté en février 2023]. <https://www.tela-botanica.org>
- Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H.Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D., *Med. Chem.*, (2002), 45, 2615-23.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., & Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chemistry*, 108(3), 1019-1022.
- Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., Hsieh, C., ... & Cao, D. (2021). ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*, 49(W1),W5-W14.
- Zhao, Q., Meng, Y., Liu, J., Hu, Z., Du, Y., Sun, J., & Mao, X. (2022). Separation, identification and docking analysis of xanthine oxidase inhibitory peptides from pacific cod bone-flesh mixture. *LWT*, 167, 113862.

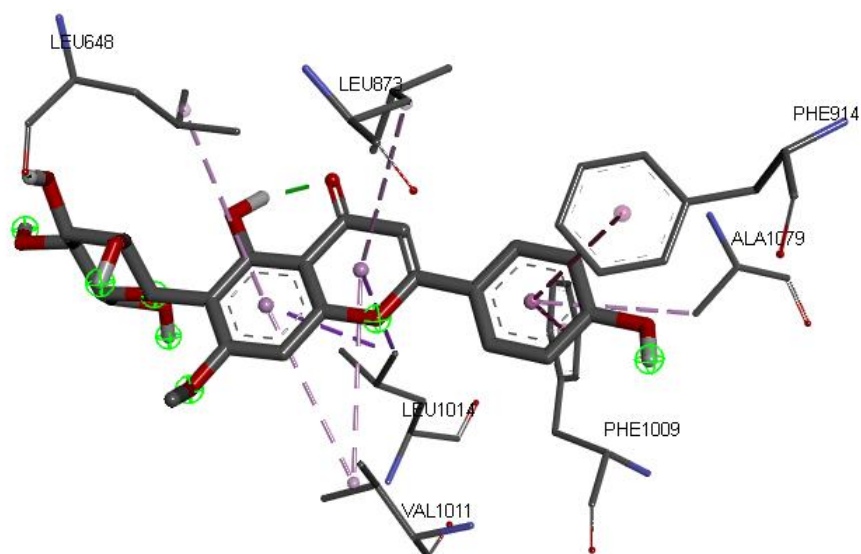
ANNEXES



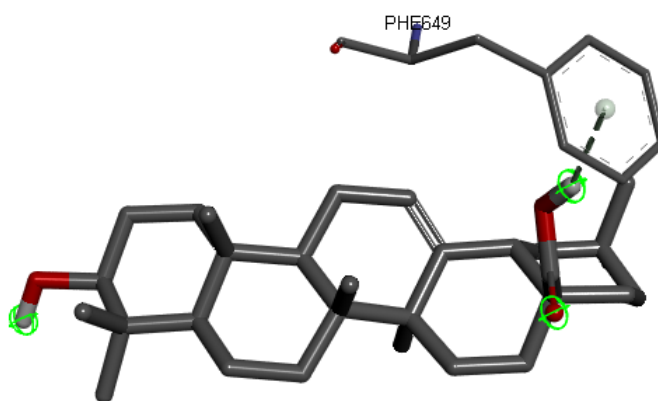
Annexe 1. Image d'interaction entre l'alpha amylase avec la swertisine.



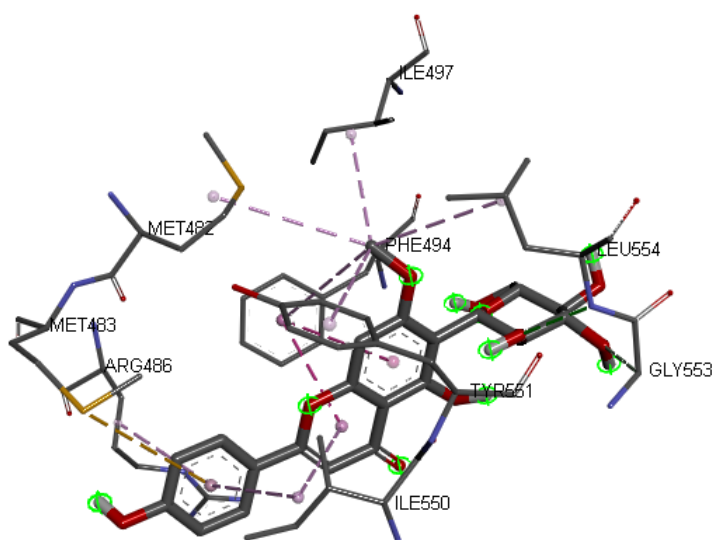
Annexe 2. Image d'interaction entre l'alpha amylase avec l'acide oléanolique.



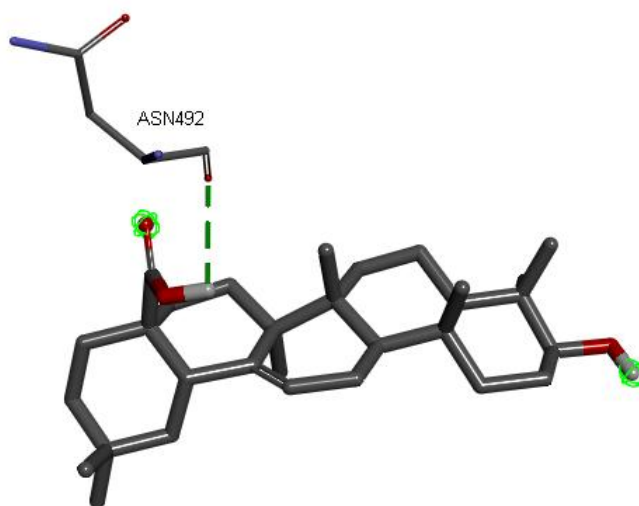
Annexe 3. Image d'interaction entre la xanthine oxydase avec la swertisine.



Annexe 4. Image d'interaction entre la xanthine oxydase avec l'acide oléanolique.



Annexe 5. Image d'interaction entre la télomérase avec la swertisine.



Annexe 6. Image d'interaction entre la télomérase avec l'acide oléanolique.