



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Larbi Tébessi-Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Sciences de la matière

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des produits naturels

THEME :

Contribution phytochimique et biologique
à l'étude d'une plante algérienne
Daucus aureus

Présenté par :

MIMOUR Laila

Devant le jury :

Dr. Sameh Hadjar	MCB	U. Larbi Tébessi	Présidente
Dr. Brahim Harkati	MCA	U. Larbi Tébessi	Encadreur
Omar Tebboub	MAA	U. Larbi Tébessi	Examinateur

Date de soutenance : 25/06/2019



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessa - Tébessa
Faculté des Science Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Déclaration sur l'honneur de non-Plagiat
(À joindre obligatoirement au mémoire; Remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, prénom: *Nimane Zaila*

N° de carte d'étudiant: *14/34024466/2014*

Régulièrement inscrit (e) en **Master** au Département Sciences de la Matière

Année universitaire: **2018/2019**

Domaine: **Sciences de la matière**

Filière: **Chimie**

Spécialité: *Chimie des produits naturels*

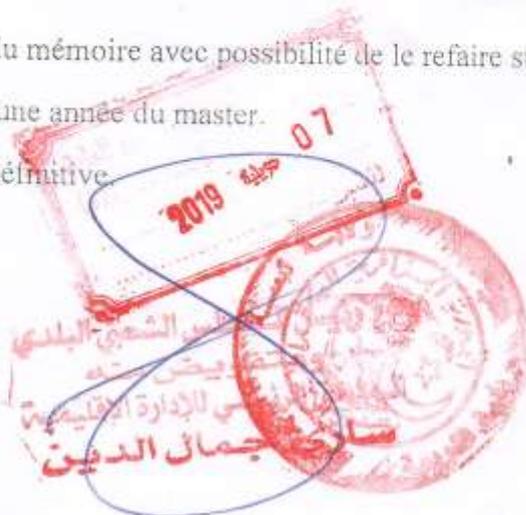
Intitulé du mémoire: *Contribution phytochimique et biologique à l'étude d'une plante algérienne.*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article, ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé:

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont:

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année du master.
- L'exclusion définitive.



Fait à Tébessa, le:

Signature de l'étudiant (e):



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi-Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Sciences de la matière

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des produits naturels

THEME :

Contribution phytochimique et biologique
à l'étude d'une plante algérienne
Daucus aureus

Présenté par :

MIMOUR Laila

Devant le jury :

Dr. Sameh Hadjar	MCB	U. Larbi Tébessi	Présidente
Dr. Brahim Harkati	MCA	U. Larbi Tébessi	Encadreur
Omar Tebboub	MAA	U. Larbi Tébessi	Examineur

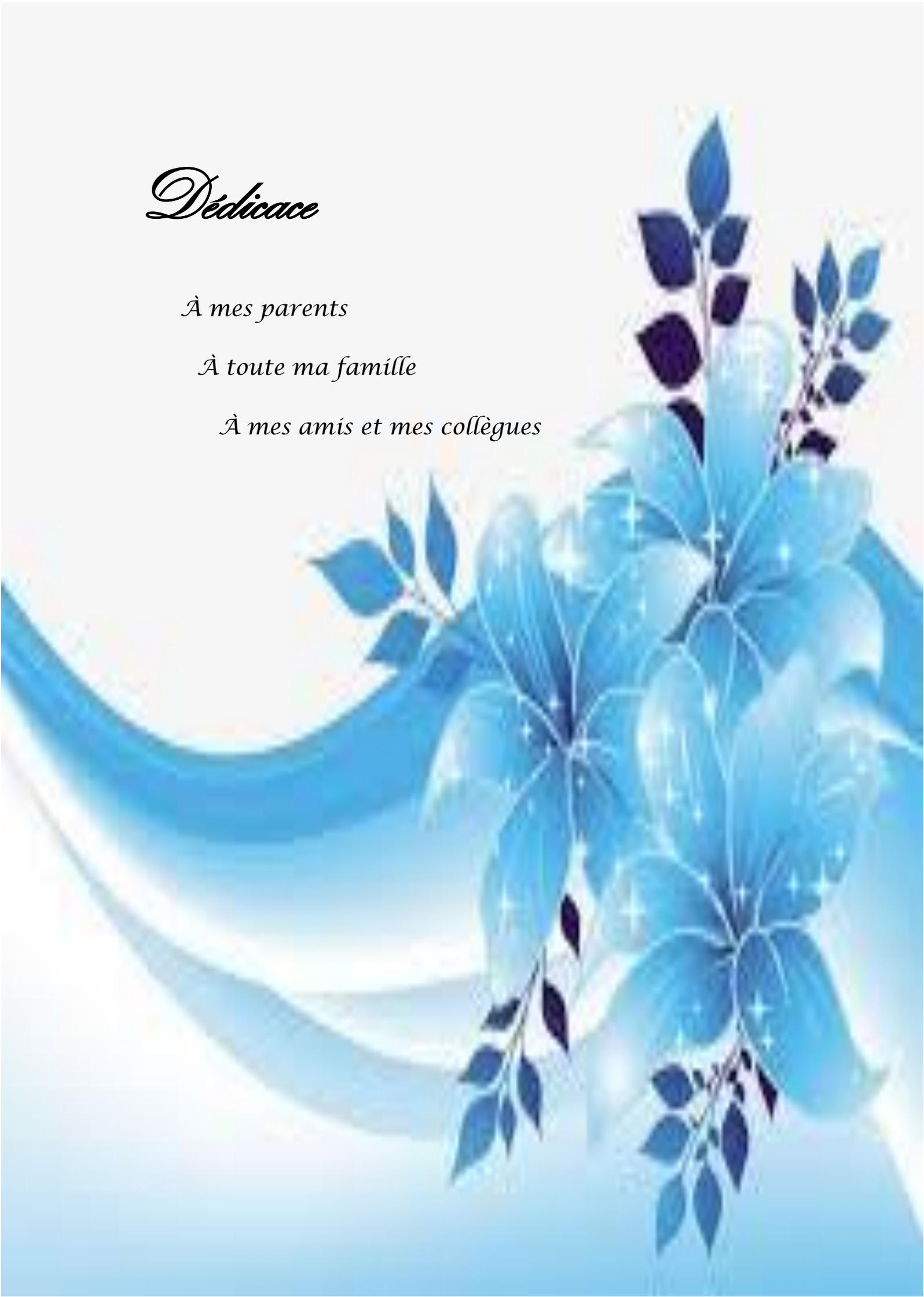
Date de soutenance : 25/06/2019

Dédicace

À mes parents

À toute ma famille

À mes amis et mes collègues



Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu « الله » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

*Je remercie chaleureusement mon encadreur Monsieur **HARKATI Brahim** pour avoir dirigé ce travail. Sa compétence scientifique a largement contribué à la réalisation de ce travail.*

*Mes remerciements vont aussi à Madame **BOUDIBA Sameh** et Monsieur **ROUAG Nouari**, professeurs à l'université de Tébessa pour leur aide.*

*Une partie de notre travail est réalisé à laboratoire de faculté des sciences de la nature et de la vie d'université de Tébessa. Je remercie Madame **BELHADJ mabroka** et tous les membres de l'équipe de ces laboratoires pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives.*

*Je remercie les membres de jury Madame **HADJAR Sameh** et Monsieur **TEBBOUB Omar**, d'accepter de juger notre travail.*

Je veux dire merci à tous les enseignants du département de chimie l'université de Tébessa pour l'aide pendant ma formation d'étude.

Ces remerciements vont inévitablement aussi à mes collègues, et à tous personnes qu'est aidé de proche ou loin.

Résumé

Résumé :

Dans ce travail, nous avons étudié une espèce *Daucus aureus* de famille *Apiaceae*, la récolte de cette plante à la wilaya de Sétif.

Après la récolte et le séchage de différentes parties de la plante à l'abri de la lumière et à une température ambiante. Nous avons macérer la plante par le méthanol pour extraire le maximum de ces composés. En suite l'extraction liquide- liquide par différents solvants polaire pour obtenir trois extraits en plus de l'extrait aqueux.

Nous avons testé les quatre extraits pour leur activité antibactérienne sur trois souches (*Escherichia. Coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), et les résultats ont montré des degrés de résistance variables.

Nous avons également essayé l'activité antioxydante DPPH, FRAP et ont marqué les valeurs et comparées à l'acide ascorbique.

Le docking moléculaire réalisée sur les molécules qui trouvez dans l'espèce *D. aureus* montre que les résultats de l'énergie libre « score », du RMSD, et les distances stériques de nos molécules vis-à-vis à le ligand de référence, nous a permis de prédire que le pouvoir inhibiteur de ces molécules vis-à-vis de l'enzyme 3AX1- α -D-maltoside est potentiellement important, sachant que l'inhibition de cette enzyme peut générer une activité.

Mots clés : *Daucus aureus*, activité antioxydant, activité antibactérienne, docking.

في هذا العمل المنجز قمنا بدراسة نبات *D. aureus* من العائلة الخيمية *Apiaceae* تم قطفه من ولاية سطيف، بعد تجفيف مختلف اجزاء النبتة في غياب الضوء وفي درجة حرارة مناسبة قمنا بنقعها في الميثانول للحصول على اكبر كمية من المواد الفعالة ثم قمنا بعملية الفصل سائل- سائل بواسطة مذيبات مختلفة القطبية للحصول على أربعة مستخلصات بالإضافة الى الطور المائي. بعد ذلك قمنا باختبار الفعالية البيولوجية المضادة للبكتريا للمستخلصات الاربع على ثلاثة انواع من البكتيريا (*Escherichia. Coli, staphylococcus aureus*) و *Pseudomonas aeruginosa*) وبينت النتائج ظهور درجات متفاوتة من المقاومة بالإضافة الى ذلك قمنا بتجربة نشاطها المضاد للأكسدة بطريقتين هما DPPH و FRAP و كانت النتائج متقاربة حيث بينت أن المستخلص البيوتانولي يمتلك لأكبر فعالية.

يوضح *docking moléculaire* الذي تم إجراؤه على الجزيئات التي توجد في النوع *D. aureus* أن نتائج الطاقة الحرة " score " ، و RMSD ، والمسافات الفراغية لجزيئاتنا مقابل الجزيئ المرجعي ، سمحت لنا بالتنبؤ بأن القدرة المثبطة لهذه الجزيئات على إنزيم 3AX1- α -D-maltoside مهمة ، مع العلم أن تثبيط هذا الإنزيم يمكن أن يولد نشاطاً.

الكلمات المفتاحية : *Daucus aureus* , النشاط المضاد للأكسدة , نشاط مضادات المكروبات, *docking*.

Abstract

Abstract

In this work, we studied the plant of *D. aureus* of the *Apiaceae* family, The aerial parts of *D. aureus* were collected during flowering stage from Setif region eastern of Algeria in May 2018, after drying the different parts of the plant in the absence of light and at an appropriate temperature, the dried parts of *D. aureus* was immersed in methanolic solution. The residue was then extracted with petrol ether, diethyl ether, EtOAc and n-BuOH successively to obtain four extracts. We then tested the antibacterial biological efficacy of the four extracts on three types of bacteria (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*) and showed varying degrees of resistance. In addition, we tested antioxidant activity in two ways: DPPH and FRAP, where butanol showed the most effective.

The molecular docking carried out on the molecules that find in the species *D. aureus* shows that the results of the free energy "score", the RMSD, and the steric distances of our molecules, the reference ligand, has allowed us to predict that the inhibitory power of these molecules to the enzyme 3AX1- α -D-maltoside is potentially important, knowing that inhibition of this enzyme can generate activity.

Keywords : *Daucus aureus*, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, docking.

Liste des figures

Liste des figures

N°	Figure	Page
I.1	Structure générale d'un acide aminé	4
I.2	Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques	17
I.3	Représentation schématique des parois bactériennes des bactéries à Gram positif et à Gram négatif	19
II.1	Plante <i>Daucus aureus</i> Desf	24
II.2	Répartition géographique de la plante <i>Daucus aureus</i>	25
II.3	Wilaya de Sétif (lieu de la récolte)	25
II.4	Réduction du fer ferrique en fer ferreux	30
II.5	Les souches bactériennes utilisées	31
II.6	Les souches bactériennes utilisées au microscope électronique	31
II.7	Gélose Mueller Hinton	32
II.8	La structure 3D de 3AX1 non simplifié	33
II.9	(3AX1) simplifié	34
III.1	Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait n-butanol	37
III.2	Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait acétate d'éthyle	38
III.3	Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait éther diéthylique	39
III.4	Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de la phase aqueuse	40
III.5	Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de quatre extraits	41
III.6	Pouvoir réducteur de quatre phases et de l'acide ascorbique	42
III.7	Résultats de l'aromatogramme par les disques et les puits de 2mg/ml	44
III.8	Résultats de l'aromatogramme par les disques et les puits de 3mg/ml	45
III.9	Résultats de l'aromatogramme de trois extraits	47

Liste des figures

III.10	Résultats de l'aromatogramme de trois extraits par deux méthodes	48
III.11	Le site actif et le ligand de référence dans l'3AX1	50
III.12	Les interactions entre les résidus de site actif de 3AX1- α -Dmaltoside	50
III.13	Les interactions entre les résidus et Quercétin-3-O-Glucoside	53
III.14	Les interactions entre les résidus et Apigenin -7-Glucoside	54
III.15	Les interactions entre les résidus et Luteolin -7-O-Glucoside	54

Schéma

II.1 : protocole de l'extraction liquide – liquide

28

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N°	Tableau	Page
I.1	Quelques classes des composés phénoliques	5
I.2	Quelques structures des alcaloïdes	6
I.3	Structure des principaux phytostérols	7
I.4	Structure des composés qui trouver dans <i>Daucus aureus</i>	10
I.5	Les antioxydants synthétiques et leurs structures	15
III.1	Rendement des phases après l'extraction liquide- liquide	36
III.2	Résultat de l'activité antioxydant de l'extrait n- butanol	37
III.3	Résultat de l'activité antioxydant de l'extrait d'acétate d'éthyle	38
III.4	Résultat de l'activité antioxydant de l'extrait éther diéthylique	39
III.5	Résultat de l'activité antioxydant de la phase aqueuse	40
III.6	Résultats du capacité et pouvoir antiradicalaire	41
III.7	Résultats d'absorbance de FRAP	42
III.8	Résultats de l'activité antibactérienne par des extraits à une concentration 2mg /ml.	43
III.9	Résultats des extraits de concentration 3mg /ml contre les trois souches.	45
III.10	Diamètre de zone d'inhibition de l'extrait aqueuse 3mg/ml	46
III.11	Résultats des extraits à concentration 4mg /ml sur trois souches	46
III.12	Diamètre de zone d'inhibition par la méthode de puits	47
III.13	Résultats des extraits à concentration 4mg /ml sur trois souches	48
III.14	Diamètre de zone d'inhibition de trois extraits	48
III.15	Résultats énergétiques de docking moléculaire	51
III.16	Résultats des énergies des meilleurs complexes formés	52
III.17	Ecart quadratique moyen ou RMSD	52

Liste des tableaux

III.18	Distances stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand Quercétin-3-O-Glucoside	53
III.19	Distances stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand Apigenin -7-Glucoside	53
III.20	Distances stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand Luteolin -7-O-Glucoside	54

Liste des abréviations

Liste des abréviations

%	Pourcentage
(v/v)	Volume / volume
°C	Degré Celsius
µl	Micro litre
µm	Micromètre
Abs	Absorbance
ADN	Acide désoxyribonucléique
AGEs	Les produits terminaux avancés de glycation
APG	Angiosperms Phylogeny Group
ATCC	American type culture collection
BHA 320	3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole
BHT321	3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène
D. aureus	Daucus aureus
DMSO	Diméthyle Sulfoxyde
DPPH	2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazine
DSC	Analyse calorimétrique différentielle
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
EVA	Ethylène/Acétate de Vinyle
H •	Radical d'hydrogène
l	Litre
MH	Mueller Hinton
ml	Milli litre
pH	Potentiel d'hydrogène
UV	Ultraviolet
IC₅₀	Concentration inhibitrice

Liste des abréviations

nm	Nanomètre
h	Heures
g	Gramme
PEBD	polyéthylène basse densité
IRTF	spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
TBHQ	tertiobutyl-hydroxyquinone
PG	gallate de propyle
ARP	pouvoir antiradicalaire
3D	Trois dimensions
E. coli	<i>Escherichia. coli</i>
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
HTS	High-Throughput Screening
D	Diamètre
mm	Millimètre
Psodo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
QSAR	Quantitative structure–activity relationship
Å	Angstrom
Kcal	Kilocalorie
RNA	Acide ribonucléique
Stap	<i>Staphylococcus aureus</i>
λ	Longueur d'onde
C. albicans	Candida albicans
Cm	Centimètre
n- BuOH	n-Butanol
AcEt	Acétate d'éthyle
MH	Meulai Hinton
PDB	Protéin data banc

Liste des abréviations

mg	Milligramme
mol	Moule
M	Molaire
RMSD	Root-mean-square deviation
ASP	Aspartique
HIS	Histamine
ASN	Asparagine
E	Energie
OH[•]	Radical hydroxyle
Err	Erreur
Aqu	Aqueuse
tr	Toure

Table des matières

Introduction général	1
référence	3
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Chimie des plantes	4
I.1. Molécules issues du métabolisme primaire	4
I.1.1. Les Glucides	4
I.1.2. Les acides aminés et les organiques	4
I.1.3. Les lipides	5
1.2. Molécules issues du métabolisme secondaire	5
1.2.1. Les composés phénoliques	5
1.2.2. Les alcaloïdes	5
1.2.3. Les hétérosides ou glycosides	7
1.2.4. Les phytosterols	7
1.2.5. Les vitamines	8
1.2.6. Les huiles essentielles	8
I.3. Investigation botanique de la famille des <i>Apiacées</i>	8
I.3.1. Classification de la famille des <i>Apiacées</i>	8
I.3.2. Intérêt de la famille des <i>Apiacées</i>	9
I.3.3. Travaux préalables réalisés sur <i>Daucus aureus</i>	9
I.4. Étude de l'activité antioxydant et antibactérienne	11
I.4.1. Activité antioxydant	11
I.4.1.1. Introduction	11
I.4.1.2. Les radicaux libres	11
I.4.1.2.1. Définition	11
I.4.1.2.2. Nature des radicaux libres	11
I.4.1.2.2.1. Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)	11
I.4.1.2.2.1. a. Ion superoxyde	11
I.4.1.2.2.1.b. Radical libre hydroxyle	12
I.4.1.2.2.1.c. Oxygène singulet	12
I.4.1.2.2.2. Espèces libres non oxygénées	12

Table des matières

I.4.1.3. Antioxydants	13
I.4.1.3.1. Introduction	13
I.4.1.3.2. Définition	13
I.4.1.3.3. Utilisation des antioxydants	13
I.4.1.3.4. Classification des antioxydants	13
I.4.1.3.4-a. Antioxygènes de synthèse	13
I.4.1.3.4-b. Substances synergiques	13
I.4.1.3.4-c. Antioxygènes d'origine végétale	14
I.4.1.4. Différents types des antioxydants	14
I.4.1.4-a. Antioxydants de type I	14
I.4.1.4-b. Antioxydants de type II	14
I.4.1.4-c. Antioxydants de type III	14
I.4.1.4-d. Antioxydants synthétiques	15
I.4.1.5. Efficacité des antioxydants	16
I.4.1.6. Mécanismes d'action des antioxydants	16
I.4.1.7. Le piégeage du radical libre DPPH [•]	16
I.4.1.8. Pouvoir antiradicalaire	17
I.4.1.9. La réduction du fer	17
I.4.2. Activité antibactérienne	18
I.4.2.1. Classification des bactéries	18
I.4.2.2. Les caractéristiques des souches bactériennes utilisées	18
I.4.2.2.a. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
I.4.2.2.b. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
I.4.2.2.c. <i>Escherichia coli</i>	19
I.5. Docking moléculaire	19
Références	21
Chapitre II : Partie pratique	
II.1. Description botanique de la plante	24
II.1.1. Floraison	24
II.1.2. Classification systématique et nom vernaculaire	24
II.1.3. Synonymes	25
II.1.4. Répartition géographique	25
II.2. Matériels et Méthodes	25

Table des matières

II.2.1. Matériels	25
II.2.1.1. Matériel végétal	25
II.2.2. Méthode	26
II.2.2.1. Extraction des flavonoïdes	26
II.2.2.2. Macération	26
II.2.2.3. Filtration et évaporation sous vide	27
II.2.2.4. Elimination de la chlorophylle	27
II. 3. Activités biologiques	29
II. 3.1. Détermination de l'activité antioxydant	29
II.3.1.1. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)	29
II. 3.1.1.1. Préparation des solutions (extraits)	29
II. 3.1.1.2. Préparation de la solution (DPPH)	29
II. 3.1.1.3. La concentration inhibitrice (IC₅₀)	29
II. 3.1.1.4. Le pouvoir antiradicalaire	29
II. 3.1.2. Réduction du fer par la méthode de FRAP	29
II.3.2. Détermination de l'activité antimicrobienne	30
II.3.2.1. Souches bactériennes testées	31
II.3.2.2. Préparation des souches bactériennes	31
II.3.2.3. Préparation des disques	31
II.3.2.4. Préparation de l'extrait végétal	31
II.3.2.5. Teste antibactérienne	32
II.3.2.6. Application	32
II.3.2.7. La lecture	33
II.4. Docking moléculaire	33
II.4.1. Préparation de l'enzyme	33
II.4.2. Préparation du ligand	34
Références	35
Chapitre III : Résultat et discussion	
III. RESULTATS ET DISCUSSION	36
III.1. Rendement des extraits	36
III.1.1. Conclusions	36
III.2. Résultat de l'activité biologique	37
III.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante	37

Table des matières

III.2.1.1. Test antioxydant par quantification spectrophotométrique DPPH[•]	37
III.2.1.1.1. Détermination de IC50% et ARP	41
III.2.1.2. Test antioxydant de FRAP	42
III.2.1.2.1. Conclusion	43
III.2.2. Résultat de l'activité antibactérienne	43
III.2.2.1. Lecture de l'aromatogramme	43
III.2.2.2. Conclusion	49
III.3. Résultats de docking moléculaire	49
III.3.1. Le site actif dans l'enzyme (3AX1)	49
III.3.2. Les interactions enzyme-ligand	50
III.3.3. Les énergie d'interactions des inhibiteurs	50
III.3.4. Ecart quadratique moyen ou RMSD	52
III.3.5. Distances stériques	52
Références	56
Conclusion générale	57

Introduction général

Introduction général

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans le domaine thérapeutique de l'humanité. Elles constituent une source importante de molécules bioactives qui font généralement partie des métabolites secondaires [1]. La recherche des extraits active et à large spectre d'action est devenue une nécessité[2]. Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle.

L'étude de la chimie des produits naturels est toujours d'une brûlante actualité malgré son antiquité. Cela est principalement dû au fait que le règne végétal est une source importante d'un grand nombre de molécules bioactives. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes [2].

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes instables possédant un électron célibataire qui lui confère une réactivité vis-à-vis d'autres molécules. Celle-ci est variable selon la nature du radical. Les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l'O₂.

Les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches dans chimie pharmaceutique et une nouvelle l'exploitation des métabolites secondaires généralement les alcaloïdes, les coumarines et les flavonoïdes tant particulièrement dans la santé que dans l'industrie agro-alimentaire.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de la plantes *Daucus aureus* en principes actifs (flavonoïdes) et à déterminer leurs propriétés biologiques.

Notre étude comprend donc deux aspects: le premier est la chimie physique basée principalement sur l'extraction de différents classes des flavonoïdes, Le second aspect est consacré à une évaluation des activités biologiques : antioxydants en utilisant deux méthodes DPPH et FRAP et antimicrobienne contre un panel des bactéries. Ce travail est axé sur trois chapitres :

Introduction général

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Ce chapitre est consacré à une bibliographique liée sur les métabolites primaires et secondaires, notamment, glucides, Les acides aminés et organiques, les flavonoïdes et activités biologique.

Chapitre II : Travaux personnels

Ce chapitre présente les techniques et les méthodes de caractérisation mises en œuvre ainsi que les conditions expérimentales adoptées.

Chapitre III : Résultats et discussions

Ce chapitre sera consacré aux résultats obtenus et leurs discussions.
Une conclusion générale résumera l'ensemble des résultats obtenus et proposera les perspectives générales.

Référence

Références :

- [1] D. Livermore, " β -lactamase mediated resistance: past, present and future," J. Infect. Dis. Sci, vol. 6, p. 75-83, 1995.
- [2] T. Bahorun, B. Gressier, F. Trotin, C. Brunet, T. Dine, M. Luyckx, et al, "Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations," Arzneimittel-forschung, vol. 46, p. 1086-1089, 1996.

CHAPITRE I :
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Chimie des plantes :

Dans toutes les plantes, il y a plusieurs molécules naturellement classées en deux types : métabolites primaires et secondaires.

I.1. Molécules issues du métabolisme primaire :

Sont des composés qui sont produits dans toutes les cellules et qui jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction de ces cellules. Ces molécules comprennent les acides nucléiques, les acides aminés communs, les acides gras et les sucres [1].

I.1.1. Les glucides :

Les glucides sont une famille de molécules familièrement appelées « sucres », ils possèdent tous une fonction aldéhyde ou cétone et plusieurs groupements OH. Les glucides ont donc une formule chimique brute qui est, dans la plupart des cas, $C_n(H_2O)_n$, ce qui explique qu'ils sont également nommés hydrates de carbone. Mais certains possèdent en plus des atomes de phosphore ou d'azote [1].

I.1.2. Les acides aminés et les organiques :

Sont des métabolites primaires polaires présents dans différentes parties des plantes [2], [3]. Leur nature et leur concentration règlent les équilibres acide-base et, de ce fait, commandent le goût acide du vin. La majeure partie des acides organiques présents dans les vins provient du jus de raisins, le reste provenant de l'activité des microorganismes [4]. L'acide aminé est l'unité de base constituant les protéines. Ces éléments possèdent à la fois un groupe carboxyle (-COOH) et un groupe fonctionnel amine (-NH₂), reliés par un carbone central appelé carbone alpha (C_α) attaché à un hydrogène (-H) et une chaîne latérale variable (-R) [5].

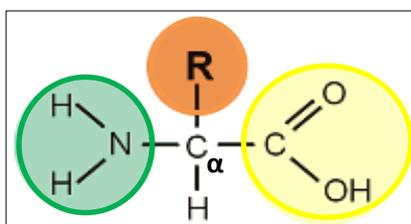


Figure [I.1] : Structure générale d'un acide aminé [5].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1.3. Les lipides :

Les lipides (du grec lipos, graisse), sont des corps insolubles dans l'eau (hydrophobes), et solubles dans les solvants organiques apolaires et ils ne sont pas volatils (huiles fixes) [6].

I.2. Molécules issues du métabolisme secondaire :

Les métabolites secondaires sont des éléments essentiels de coévolution des plantes avec les organismes vivants, qui résultent de réactions chimiques ultérieures dans les plantes [7].

I.2.1. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal [8]. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits [9].

Tableau [I.1] : Quelques classes des composés phénoliques [10].

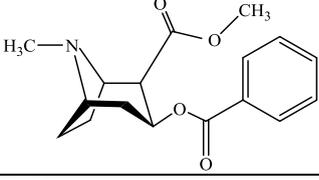
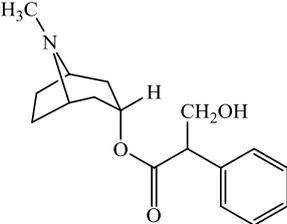
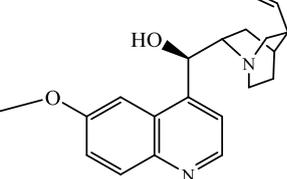
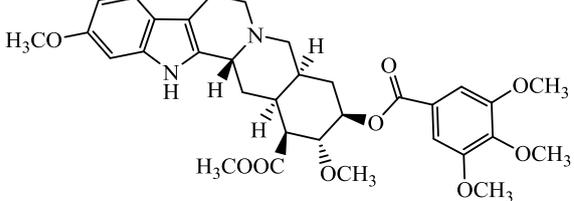
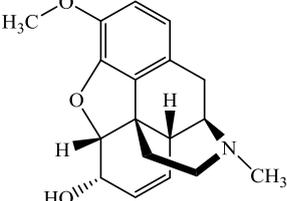
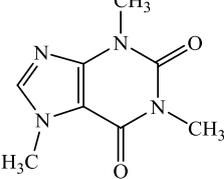
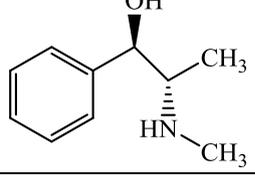
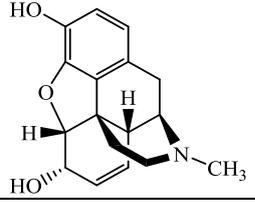
Nombre d'atomes de carbone	Squelette de base	classe
6	C6	Phénols simples, enzoquinones
7	C6 - C1	Acides phénoliques
8	C6 - C2	Acétophénone, acide phénylacétique
9	C6 - C3	Acide hydroxycinnamique, polypropène, coumarine, isocoumarine
10	C6 - C4	Naphetoquinone
13	C6 - C1 - C6	Xanthone
14	C6 - C2 - C6	Stilbène, anthraquinone
15	C6 - C3 - C6	Flavonoïde, isoflavonoïde
18	(C6 - C3) 2	Lignanes, neolignanes
30	(C6 - C3 - C6) 2	Biflavonoïdes

I.2.2. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances organiques complexes (contenant le carbone, l'hydrogène et souvent l'oxygène) [11], Les alcaloïdes sont contenu un atome d'azote dans sa structure, la présence d'azote dans structure chimique est conférer la réaction basique [12].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Tableau [I.2] : Quelques structures des alcaloïdes [13].

Nom	Structure
Atropine	
Cocaïne	
Quinine	
Réserpine	
Codéine	
Caféine	
Ephédrine	
Morphine	

Chapitre I : Synthèse bibliographique

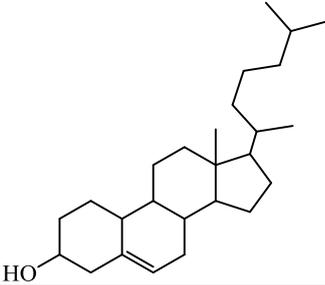
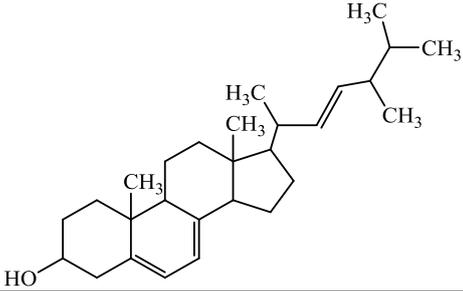
1.2.3. Les hétérosides ou glycosides :

Les composés phénoliques naturels existent dans la plante sous forme hétérosidique, ou éventuellement sous forme d'esters, les hétérosides sont des formes de combinaisons les plus fréquentes dans le cas des flavonoïdes, faisant intervenir une liaison -C-O-C- entre un OH alcoolique ou phénolique du composé phénolique et un OH d'une molécule glucidique [14].

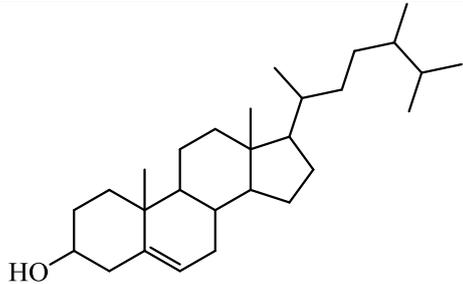
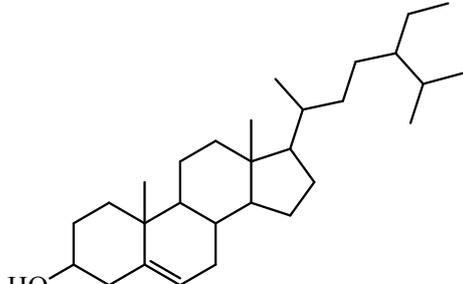
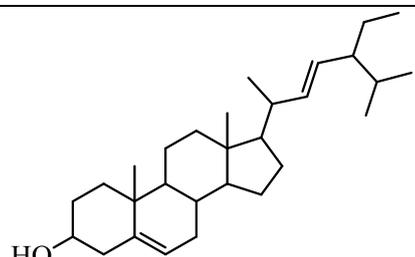
1.2.4. Les phytosterols :

Les stérols sont des stéroïdes contenu un groupement hydroxyle (OH) sur le carbone trois dans la plupart des cas [15], et sont bien représentés chez les animaux. Ils existent en deux formes libre et estérifiée. Ils constituent une famille de lipides dérivés du noyau stérol dont le plus connu est le cholestérol. Les stérols constituent des tampons de fluidité, et de même constituent des tampons de pH, ils permettent de conserver une fluidité à peu près constante dans une gamme de température plus large. Les stérols libres sont des molécules amphiphiles qui sont incorporés dans les membranes, en revanche les esters de stérols sont des composés fortement hydrophobes et forment avec les triglycérides le noyau des particules lipidiques. Le principal stérol de la levure est l'ergostérol, qui se distingue du cholestérol chez les mammifères par une double liaison en position C7 et C22 et la présence d'un groupement méthyle sur le carbone C24 [16].

Tableau [I.3] : structure des principaux phytostérols [17].

Nom	Structure
cholestérol	 The chemical structure of cholesterol is shown. It features a four-ring steroid nucleus with a hydroxyl group (HO) at C3, a double bond at C5, and a branched hydrocarbon side chain at C17.
ergostérol	 The chemical structure of ergosterol is shown. It features a four-ring steroid nucleus with a hydroxyl group (HO) at C3, a double bond at C5, a methyl group (CH3) at C10, another methyl group (CH3) at C13, and a side chain at C17 that includes a double bond at C22 and a methyl group at C24.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Campesterol	
Sitosterol	
Stigmasterol	

1.2.5. Les vitamines :

Les vitamines sont des substances organiques indispensables à l'organisme, et sont classées selon leur solubilité en deux groupes, les vitamines liposolubles (A, D, E et K) et les vitamines hydrosolubles (B1, B2, B3, B5, B-, B8 B9, B12 et C) [18].

1.2.6. Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des liquides huileux très contenant des substances volatils, obtenus à partir des différents composants de plantes aromatiques comme les fleurs, les bourgeons, les graines, les permissions, les brindilles, les herbes, les bois, les fruits et les racines [19].

I.3. Investigation botanique de la famille des *Apiacées* :

I.3.1. Classification de la famille des *Apiacées* :

La famille des *Apiacées* ou appelées Ombellifères, sont des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces, cette famille comprend environ 300 - 455 genres et 3000 - 3750 espèces [20], et leur plantes appartiennent à l'embranchement des *Spermatophytes* ou *Phanérogames* car ce sont des plantes à graines.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.3.2. Intérêt de la famille des *Apiacées* :

Dans la famille des *Apiacées*, il y a des plants peuvent être utilisées comme aliments : les racines de la carotte (*D. carota* L.) et du céleri (*Apium graveolens* L.). Les fruits d'anis vert (*Pimpinella anisum* L.) contiennent de l'huile essentielle. Celle-ci renferme de l'anéthole (90%) et de l'estragole ayant des propriétés stomachiques, Les fruits de l'aneth (*Anethum graveolens* L.) renferment une huile essentielle riche en carvone (50 à 60%) et en limonène ayant des propriétés stomachiques, carminatives et diurétiques. *Bupleurum chinense* DC (= *Bupleurum falcatum* L.) est utilisé en médecine traditionnelle chinoise comme antipyrétique et antigrippal [23].

I.3.3. Travaux préalables réalisés sur *Daucus aureus* :

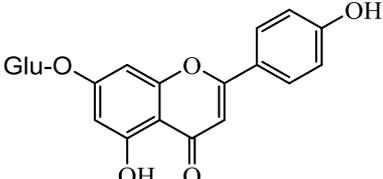
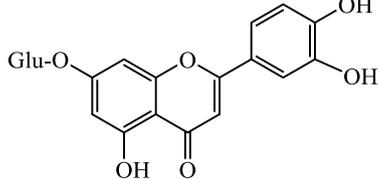
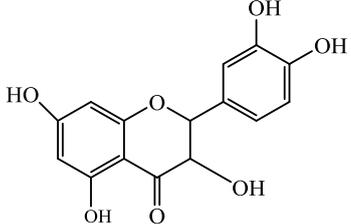
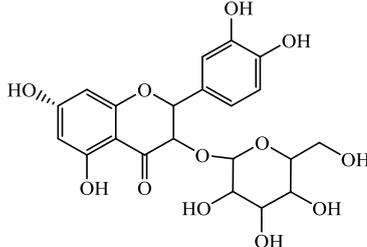
Il y a des travaux réalisé sur l'espèce *Daucus aureus*. Présenter par Dr. **Mekhlofi El hani** sous-titre contribution phytochimique de deux espèces médicinales algériennes à la famille *apiaceae* avec étudier leur activités biologiques *Daucus aureus*.

L'étude phytochimique de l'espèce *Daucus aureus*, sur les extraits acétate d'éthyle et butanolique, a résulté la séparation de : Lutéoline-7-O-glucoside, Apigenine-7-O-glucoside, Quercétine, Quercétine 3-O-Rhamnoglucoside et Quercétine 3-O-glucoside.

L'étude biologique réalisée lors ce travail s'est intéressée de l'évaluation de l'activité Anti-AGEs de différents extraits provenant de l'espèce *Daucus aureus*, et en particulier les extraits: hexanique, chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique. Ce sont uniquement les extraits acétate d'éthyle et butanolique qui ont montré une activité significative [22].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Tableau [I.4]: Structure des composés qui trouver dans *Daucus aureus*.

Nom	Structure	Plante
Apigénine-7-O-glucoside		<i>Daucus aureus</i>
Lutéoline-7-O-glucoside		
Quercétine		
Quercétin-3-O-Glucoside		

L'autre travail est présenté par Dr.**ZAIBET Wafaa** sous-titre : composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (*Desf*) et de *Reutera lutea* (*Desf.*) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD). IL est basé sur l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *D. aureus* et *R. lutea* par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Les huiles de *D. aureus* (Sétif, Oum Elbouaghi) présentent une activité antimicrobienne sur *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*. La collection des huiles essentielles *D. aureus* est incorporée dans le polymère PEBD pour avoir des films qui ont des propriétés antimicrobiennes par la méthode de micro atmosphère (phase vapeur). Les techniques qui ont été utilisées pour la caractérisation des mélanges PEBD/EVA/*D. aureus* sont: IRTF, DSC et teste de traction. L'étude de l'activité antimicrobienne des films PEBD/EVA/*D. aureus* en phase vapeur, a montré que la phase volatile de l'huile essentielle *D. aureus* était active sur *S. aureus* et *C. albicans* et sur *B. subtilis* [23].

I.4. Étude de l'activité antioxydant et antibactérienne:

I.4.1. Activité antioxydant :

I.4.1.1. Introduction :

L'oxygène est un élément très important dans la vie, et en même temps il est causé des effets délétères, comme l'oxydation, donc la protection contre ces effets apparie être par les radicaux oxygénés à l'aide de trois types d'agents différents : les protéines non enzymatiques, les enzymes telles que les superoxyde-dismutases, les glutathion-peroxydases et les antioxydants d'origine nutritionnelle telle que les caroténoïdes, les tocophérols (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les polyphénols [24].

I.4.1.2. Les radicaux libres :

I.4.1.2.1. Définition:

Les radicaux libres sont la somme des atomes ou des fragments moléculaires qui portent un électron non apparié ou plus, sur ses couches électroniques externes. Il y a plusieurs sources des radicaux libres, ces derniers existent dans deux grands types [25], [26] :

- Le premier type consiste en un transfert d'électrons catalysé par les métaux de transition (Fe, Cu).
- Le deuxième type se fait au niveau de la scission homolytique des liaisons covalentes des molécules.

I.4.1.2.2. Nature des radicaux libres [26] :

I.4.1.2.2.1. Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) :

L'oxygène possède une grande réactivité à sa structure particulière. Parce qu'il possède deux électrons célibataires non appariés sur sa couche externe. Cette molécule est très importante pour bon fonctionnement de l'organisme.

I.4.1.2.2.1.a. Ion superoxyde :

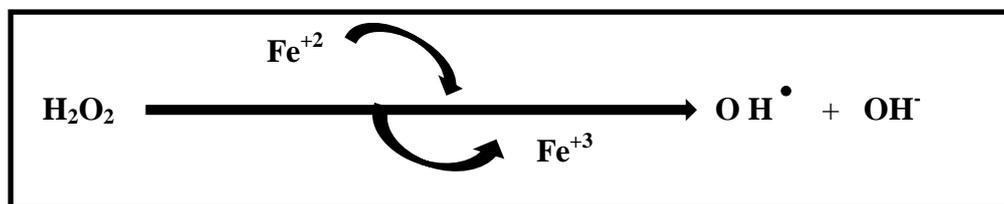
L'ion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est le dérivé oxygéné le très réactif, et relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme.

I.4.1.2.2.1.b. Radical libre hydroxyle :

Le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) est très réactif. Il peut réagir avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides et les protéines. Le radical

Chapitre I : Synthèse bibliographique

hydroxyle est l'un des dérivés les plus importantes de l'ion superoxyde, il peut être produit à la réaction de Fenton par exemple [27] :



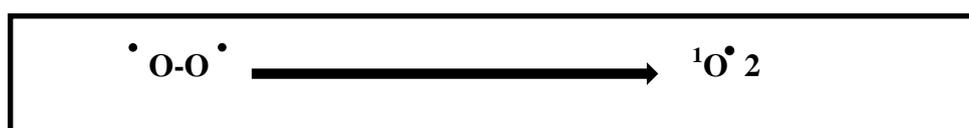
Cette équation représente la production des radicaux hydroxyles à partir de peroxyde d'hydrogène catalysée par des sels ferreux.

La réaction de Fenton écrite dans le cas d'oxydation des lipides à la manière suivante [28] :



I.4.1.2.2.1-c. Oxygène singulet :

C'est une forme très énergétique, et il peut oxyder de nombreuses molécules. Le déplacement à l'état singulier $^1\text{O}_2^\bullet$ (la forme activée), se fait par l'énergie qui apporte à l'oxygène, la réaction suivante représente la formation d'oxygène singulier à partir de l'ion superoxyde [29] :



I.4.1.2.2.2. Espèces libres non oxygénées :

Les réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) produisent des espèces libres non oxygénées, et à autre coté cette dernière peuvent réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs.

I.4.1.3. Antioxydants :

I.4.1.3.1. Introduction :

Chapitre I : Synthèse bibliographique

L'oxydation est une partie d'une réaction d'oxydo-réduction, et il est responsable de la transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant, où les radicaux libres sont produites, et qui à son tour interfère dans les réactions en chaîne destructrices. Les antioxydants sont capables de stopper ou de retarder ces réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux libres.

I.4.1.3.2. Définition :

Les antioxydants sont des molécules responsables de neutraliser des radicaux libres qui sont provoqué de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent l'avancement d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives [30].

I.4.1.3.3. Utilisation des antioxydants :

L'utilisation des antioxydants touche le domaine de l'industrie chimique, agro-alimentaire, et teinturerie :

- L'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- L'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.
- L'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture.

I.4.1.3.4. Classification des antioxydants :

Les antioxydants sont branchés en trois sections différentes :

I.4.1.3.4-a. Antioxygènes de synthèse :

Les antioxydants de synthèse sont trouvés dans toutes les formulations contenant des corps gras insaturés, et parfois dans des phases aqueuses qui contient des extraits végétaux riches en oxydases [30], [31].

I.4.1.3.4-b. Substances synergiques :

Ce sont des molécules qui renforcent l'action d'une partie antioxydants, augmentant ainsi la durée de la protection, il se trouve : les acides lactique, tartrique et orthophosphorique et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés s'expliquent par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose [31], [32].

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.4.1.3.4-c. Antioxygènes d'origine végétale :

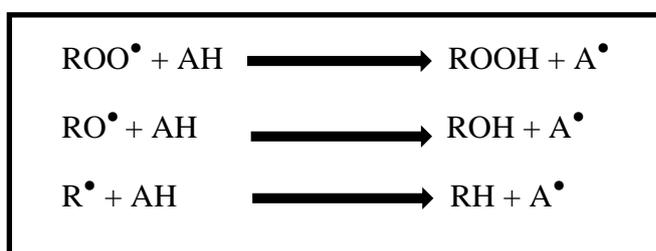
Les plantes sont les principales sources d'antioxydants, ces dernières sont appelés antioxydants naturels, qui utilisent dans l'industrie agroalimentaire, parmi eux : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols [33].

I.4.1.4. Différents types des antioxydants :

Les antioxydants peuvent être divisés en :

I.4.1.4-a. Antioxydants de type I :

Sont des substances capables d'interrompre la chaîne radicalaire en cédant un radical d'hydrogène (H^\bullet) à un radical libre lipidique présent.



AH : antioxydant, A^\bullet : radical de l'antioxydant.

Les radicaux A^\bullet résultantes sont stables et ne possèdent pas d'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides [34].

I.4.1.4-b. Antioxydants de type II :

Les antioxydants de ce type empêche ou diminue la formation de radicaux libres, Les des agents complexant sont plus utilisés les ions métalliques réduisant l'effet prooxydant des ions, dans le cas des acides phosphorique, citrique et les ascorbates [35].

I.4.1.4-c. Antioxydants de type III :

Les facteurs de l'environnement regroupent dans une action antioxydant, par le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, et la lumière. La mise sous vide permet de limiter les réactions de l'oxydation et de prolonger la durée de vie des produits [35].

I.4.1.4-d. Antioxydants synthétiques :

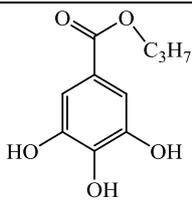
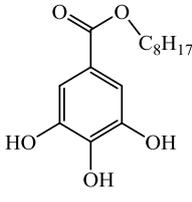
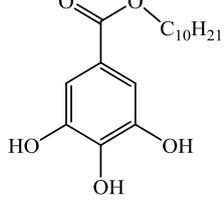
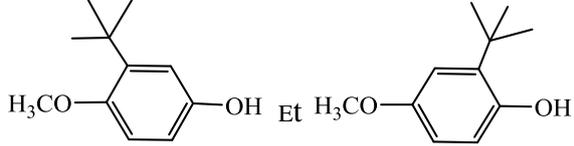
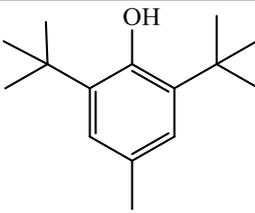
Il y a des composés synthétiques comme les antioxydants phénoliques qui sont autorisés dans certains aliments: le BHT 321(3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA

Chapitre I : Synthèse bibliographique

320 (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole), sont l'un et l'autre soluble dans les lipides et résistent bien à la chaleur, et ils ont une action synergique, et leur inconvénient c'est l'odeur désagréable et s'évapore rapidement.

Le TBHQ (tertiobutyl-hydroxyquinone) est moins soluble dans les graisses et le PG (gallate de propyle) à l'avantage d'être relativement soluble dans l'eau, mais l'inconvénient d'être peu soluble dans les lipides, et peu résistant à la chaleur, à autre coté donner une couleur foncée avec le fer des sels. Le nitrite possède les propriétés des antioxydantes, qui produit les nitrosamines cancérigènes. Les chélateurs de métaux utilisés et plus efficaces sont les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique [36], [35], [37].

Tableau [I.5] : les antioxydants synthétiques et leurs structures [37].

Nom	Structure
Gallate de propyle (E310)	
Gallate d'octyle (E311)	
Gallate de dodécyle (E312)	
Butylhydroxyanisole ou BHA (E320) 2 isomères	
Butylhydroxytoluène ou BHT(E321)	

I.4.1.5. Efficacité des antioxydants :

Les antioxydants efficaces sont ceux qui possèdent des énergies de liaison les plus faibles au niveau du groupe donneur d'hydrogène. À l'autre côté, l'efficacité des antioxydants phénoliques est dépendante de la stabilisation des radicaux phénoxyliques par la délocalisation des électrons autour du cycle aromatique. Le nombre de fonction OH à hydrogène labile qui détermine l'efficacité d'un composé phénolique [38], [31].

I.4.1.6. Mécanismes d'action des antioxydants:

La classification des antioxydants sous forme primaire ou secondaire basée sur leur mécanisme d'action [31] :

- **Antioxydants primaires :**

Ils sont caractérisés par la position d'atomes d'hydrogènes faibles à soustraire. Ces antioxydants sont des évacuateurs des radicaux. Dès lors qu'ils fonctionnent au stade de la propagation, leur action est essentiellement palliative. On notera bien que les antioxydants primaires sont consommés au cours de la transformation [31].

- **Antioxydants secondaires :**

Ils fonctionnent au moyen de la décomposition des hydroperoxydes en produits inertes, et évitent ainsi ou ralentissent le taux d'initiation de la chaîne. Pour cette raison, on fait parfois référence aux antioxydants secondaires sous le nom d'antioxydants préventifs. Les antioxydants secondaires sont presque toujours utilisés en conjonction avec les antioxydants primaires, ils sont connus également sous le nom d'agents synergiques. Les phosphites et les thioesters constituent les deux types chimiques les plus importants au sein de cette catégorie [31].

I.4.1.7. Le piégeage du radical libre DPPH • :

La méthode de mesure du pouvoir antioxydant par le DPPH repose sur la capacité d'un composé à réduire le DPPH [39] :



La réduction se traduit par un changement de couleur de la solution qui vire du violet au jaune. La réaction est alors quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotométrie à 515-517 nm. Chaque composé antioxydant réagit avec le DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle) selon une cinétique qui lui est propre.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

L'absorbance est mesurée à λ 515 nm chaque minute jusqu'à atteindre un plateau. On détermine alors par lecture graphique la quantité d'oxydant /mg un DPPH nécessaire pour dégrader 50% du DPPH soit IC50 ainsi que le pouvoir anti radicalaire.

I.4.1.8. Pouvoir antiradicalaire :

Le pouvoir antiradicalaire (ARP) ne peut être mesuré directement, mais à partir de la concentration Inhibitrice, c'est l'inverse de cette dernière.

I.4.1.9. La réduction du fer :

Les ions ferreux (Fe^{2+}) sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant (Fe pour la catalase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle (OH^\cdot) par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon les réactions de Fenton et Haber Weiss :



Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques (ferrique, Fe^{2+}) [39]. Les études sur la chélation du fer par certains flavonoïdes, ont pu ressortir les sites potentiels pour la chélation des ions métalliques (**figure I.2**).

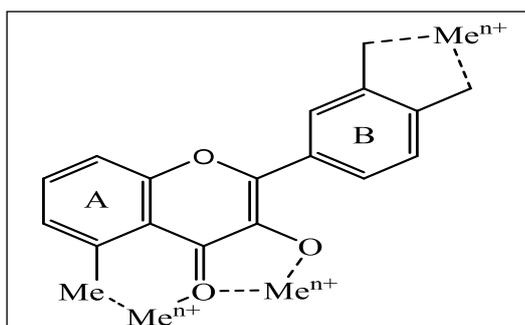


Figure [I.2] : Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques.

I.4.2. Activité antibactérienne :

L'environnement est plein des petits êtres vivants comme les bactéries, ce dernier sont des micro-organismes unicellulaires, visible au microscope, et appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal [40]. Les bactéries sont classées parmi les procaryotes, parce que ne possèdent pas de membrane nucléaire.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Donc ils sont distingués des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscope électronique [41], [42].

I.4.2.1. Classification des bactéries :

Les bactéries sont des êtres vivants procaryotes et unicellulaires, classées parmi les procaryotes, car ils l'absence de membrane nucléaire. Il existe plusieurs types de bactérie qui classer à partir leur formes, soit sphérique on dit cocci, et se forme bâtonner s'appeler bacille, et la forme spérale, leur taille peut être déférente aussi généralement inférieur à 1µm de longueur [39].

I.4.2.2. Les caractéristiques des souches bactériennes utilisées :

I.4.2.2-a. *Staphylococcus aureus* :

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des germes aérobies – anaérobies facultatif [43], et appartient elle au des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré [44].

I.4.2.2-b. *Pseudomonas aeruginosa* :

L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est la plus connue du genre *Pseudomonas*, C'est un bacille, Gram négatif, mobile, grâce à un flagelle polaire, et est une bactérie aérobie stricte, oxydase positif [45], ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales [46].

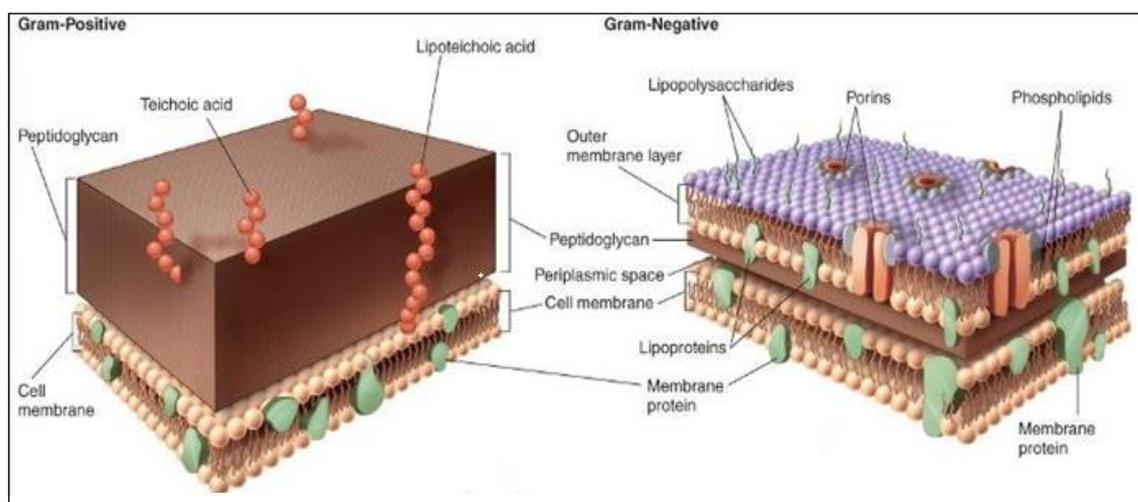


Figure [I.3]: Représentation schématique des parois bactériennes des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

I.4.2.2-c. *Escherichia coli* :

Cette espèce est aérobie ou anaérobie facultative, catalase positif et oxydase négatif appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Sa longueur entre 2 à 6 μm , et sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm [47].

I.5. Docking moléculaire :

Le logiciel UCSF Chimera l'interface AutoDock Vina est utilisé pour mieux comprendre le mécanisme moléculaire de l'inhibition. Nous avons analysé les énergies de la conformation des composés pyrazoliques et de 3AX1- α -D-maltoside (3AX1) L'état initial du ligand (position, orientation et conformation aléatoire ou précise) :

- Dimensions de la grille à utiliser.
- Enfin lancer le processus de Docking.

A la fin de chaque cycle d'exploration, AutoDock Vina va enregistrer la meilleure interaction avec le ligand.

Pour permettre l'exécution des calculs ligand-récepteur à l'aide du logiciel UCSF Chimera et son champ de force AMBERff03.r1 avec l'interface AutoDock Vina, qui est un programme pour l'amarrage moléculaire et criblage virtuel, on doit suivre les étapes suivantes :

- Les noms des fichiers contenant le récepteur et ligand.
- Représenter la macromolécule 3AX1- α -D-maltoside (3AX1) avec ses hydrogènes polaires ainsi que les charges partielles de tous ses atomes.

Référence

Références:

- [1] S. Y. Pan, A.-M. Ugnat, Y. Mao, S. W. Wen, K. C. Johnson, and C. C. R. E. R. Group, "A case-control study of diet and the risk of ovarian cancer," *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, vol. 13, p. 1521-1527, 2004.
- [2] Z.-H. Lei, S. Yahara, T. Nohara, T.-B. Shan, and J.-Z. Xiong, "Cardenolides from *Erysimum cheiranthoides*," *Phytochemistry*, vol. 41, p. 1187-1189, 1996.
- [3] Z.-H. Lei, Z.-X. Jin, Y.-L. Ma, B.-S. Tai, Q. Kong, S. Yahara, et al, "Cardiac glycosides from *Erysimum cheiranthoides*," *Phytochemistry*, vol. 49, p. 1801-1803, 1998.
- [4] H. Akin, "Evolution du pH pendant la fermentation alcoolique de moûts de raisins: modélisation et interprétation métabolique," Institut National Polytechnique de Toulouse, 2008.
- [5] Y. Ghouzam, "Nouvelles approches pour l'analyse et la prédiction de la structure tridimensionnelle des protéines," Sorbonne Paris Cité, 2016.
- [6] K. Bouhadjera, "contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* r. br. et *Aristida pungens* l," Thèse de Doctorat en chimie organique appliqué. Université Abou Bekr Belkaid , 2005.
- [7] W. S. Judd, C. S. Campbell, E. A. Kellogg, and P. Stevens, *Botanique systématique: une perspective phylogénétique: De Boeck Supérieur*, 2002.
- [8] W. Hopkins, "Physiologie végétale. 2ème édition. De Boeck," p. 103, 2003.
- [9] T. Matsumoto, S. Asano, and T. Itoh, "24-Methylene-25-methylcholesterol, a sterol from the seeds of *Brassica juncea*," *Phytochemistry*, vol. 22, p. 2619-2620, 1983.
- [10] J. Harborne and N. Simmonds, "The natural distribution of the phenolic aglycones," *Biochemistry of phenolic compounds*, p. 77-127, 1964.
- [11] J. Verdrager, *Medicine we obtain from plants*. Paris: Maloine, 1978.
- [12] A. K. Tiwari, "Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy," *Current science*, vol. 81, p. 1179-1187, 2001.
- [13] M. Badiaga, "Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali," Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 2011.

Référence

- [14] J. Bruneton, "Pharmacognosie," Phytochimie. Plantes medicinales, Paris, Ed. Tec-Doc, p. 721-741, 1999.
- [15] W. Ren, Z. Qiao, H. Wang, L. Zhu, and L. Zhang, "Flavonoids: promising anticancer agents," Medicinal research reviews, vol. 23, p. 519-539, 2003.
- [16] J. González-Gallego, M. V. García-Mediavilla, S. Sánchez-Campos, and M. J. Tuñón, "Anti-inflammatory and immunomodulatory properties of dietary flavonoids," in Polyphenols in Human Health and Disease, ed: Elsevier, p. 435-452, 2014 .
- [17] E. Wolff, "Étude de l'absorption intestinale du cholestérol chez l'homme à l'aide des marqueurs directs et indirects: influence des facteurs nutritionnels et génétiques," Aix-Marseille 2, 2010.
- [18] M. Sperte, "Vitamines et oligoéléments: manifestations buccales des déficits et implications thérapeutiques en chirurgie dentaire," éditeur inconnu, 2016.
- [19] M. Bouheroum, "Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes," 2007.
- [20] N. Tabanca, B. Demirci, T. Ozek, N. Kirimer, K. H. C. Baser, E. Bedir, et al., "Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of essential oils from Pimpinella species gathered from Central and Northern Turkey," Journal of Chromatography A, vol. 1117, p. 194-205, 2006.
- [21] P. Molyneux, "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity," Songklanakarin J. Sci. Technol, vol. 26, p. 211-219, 2004.
- [22] م. الهاني, "دراسة فيتوكيميائية لنوعين من النباتات الطبية ذات الأصل الجزائري من العائلة الخيمية مع دراسة فعاليتها البيولوجية," vol. 249, p. 247, 2014.
- [23] W. Zaibet, "Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD)," UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF-1, UFAS (ALGERIE), p.5-7, 2018.
- [24] W. Zaibet, "Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD), p.48-49, 2018.

Référence

- [25] J. F. Turrens, A. Alexandre, and A. L. Lehninger, "Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria," *Archives of biochemistry and biophysics*, vol. 237, p. 408-414, 1985.
- [26] F. Memmou, "Synthese, etudes cinetiques et evaluation de l'activite de derives de l'eugenol. composition de l'huile essentielle extraite du clou de girofle." p.83-84, 2015- 2016.
- [27] H. Fenton, "LXXIII.—Oxidation of tartaric acid in presence of iron," *Journal of the Chemical Society, Transactions*, vol. 65, p. 899-910, 1894.
- [28] J. Cillard and P. Cillard, "Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations," *Oleagineux, corps gras, lipides*, vol. 13, p. 24-29, 2006.
- [29] F. Memmou, "Synthes, etudes cinetiques et evaluation de l'activite de derives de l'eugenol. composition de l'huile essentielle extraite du clou de girofle," université aboubekr belkaid de tlemcen, 2015- 2016.
- [30] J.-L. Perrin, "Les composes mineurs et les antioxygenes naturels de l'olive et de son huile," *Revue française des corps gras*, vol. 39, p. 25-32, 1992.
- [31] K. Bouhadjra, "Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge," UMMTO, 2011.
- [32] M.-C. Martini and M. Seiller, "Actifs et additifs en cosmétologie," p. 337 - 352, 1999.
- [33] C. BASSET and D. STIEN, "Recherche de nouvelles molécules antifongiques et mise en évidence de synergie dans l'activité antifongique," 2008.
- [34] J. Pincemail, M. Meurisse, R. Limet, and J. Defraigne, "Mesure et utilisation des antioxydants," *J. Med. Sphere*, vol. 73, p. 233-239, 1998.
- [35] Z. Hellal, "Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*)," Université Mouloud Mammeri, 2011.
- [36] M.-C. Pibiri, "Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles," EPFL2006.
- [37] E. Portes, "Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes: propriétés photochimiques et antioxydantes: applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle," Bordeaux 1, 2008.
- [38] R. Yaacoub, "Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux: intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés," Paris, AgroParisTech, 2009.

Référence

- [39] F. Memmou, "Synthes, etudes cinetiques et evaluation de l'activite de derives de l'eugenol. composition de l'huile essentielle extraite du clou de girofle," université aboubekr belkaid de tlemcen, 2015- 2016.
- [40] J. Nicklin, "Graeme-Cook, K., Paget, T. & Killington, R." Instant Notes in Microbiology, 1999.
- [41] C. Nauciel and J.-L. Vildé, Bactériologie médicale: Elsevier Masson, 2005.
- [42] K. C. Ong and H.-E. Khoo, "Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats," Life sciences, vol. 67, p. 1695-1705, 2000.
- [43] H. F. Chambers, "Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications," Clinical microbiology reviews, vol. 10, p. 781-791, 1997.
- [44] P. Berche, J.-L. Gaillard, M. Simonet, and M. Simonet, Bactériologie: bactéries des infections humaines: Flammarion médecine-sciences, 1988.
- [45] W. Irving, T. Boswell, and D. Ala'Aldeen, BIOS Instant Notes in Medical Microbiology: Taylor & Francis, 2004.
- [46] I. P. C. d. l. d. r. e. d'expertise, C. Richard, and M. Kiredjian, Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à Gram négatif aérobies stricts (Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucella, Bordetella): Institut Pasteur, 1995.
- [47] S. L. Percival, R. Chalmers, M. Embrey, P. R. Hunter, J. Sellwood, and P. Wyn-Jones, "Microbiology of waterborne diseases," p. 71-132, 2004.

CHAPITRE II :
PARTIE
PRATIQUE

Chapitre II : Partie pratique

II.1. Description botanique de la plante :

C'est une plante annuelle de 15-80 cm. Tige dressée, ramifiée hispide ou scabrescente. Feuilles 3-4 pennatiséquée, à pétiole et gaine courts, à segments linéaire-lancéole, aigus, scabres, les fles, caulinares semblables, réduites. Ombelles pédonculée rayon rigide, inégaux. Fleurs à pétales blancs à jaunâtre, bilobés, les externe des marginales plus grands. Stérile poupre au centre de l'ombelle. Fruit 4-8 mm ellipsoïde, à stylopoide annulaire, conique, épais. Méricarps papilleux à côte primaire peu visibles à poiles courts; côte secondaire armées d'aiguillons fins, rigides, jaunâtres, élargie à la base, mais peu confluent, leur largeur [1].



Figure [II.1] : Plante *Daucus aureus* Desf.

II.1.1. Floraison : avril-juin.

II.1.2. Classification systématique et nom vernaculaire [2] :

Règne	Plantae
Embranchement	<i>Spermatophyta (Angiospermae)</i>
Classe	<i>Dicotyledones</i>
Ordre	<i>Araliales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Daucus</i>
Espèce	<i>Daucus aureus</i> Desf
Nom français	<i>Carotte dorée</i>

II.1.3. Synonymes :

Peltactila aurea (Desf)

Platyspermum aureum (Desf) Pomel

II.1.4. Répartition géographique :



Figure [II.2] : Répartition géographique de la plante *Daucus aureus* [3].

II.2. Matériels et Méthodes :

II.2.1. Matériels :

II.2.1.1. Matériel végétal :

La plante est récoltée durant la période de la floraison au moins de juin 2018 à Sétif, elle est séchée dans la température ambiante dans un endroit aéré à l'ombre pour mieux conserver les molécules sensibles aux chaleurs et à la lumière. Le poids de la matière végétale séchée globale est de 930,841 g (flore, tige, racine).



Figure [II.3] : Wilaya de Sétif (lieu de la récolte).

II.2.2. Méthode :

II.2.2.1. Extraction des flavonoïdes :

L'extraction des flavonoïdes est réalisée selon la méthode de Markham (1982), avec une modification inspirée selon la méthode de Bruneton (1993) [5]. Elle est basée sur le degré de solubilité des flavonoïdes dans les solvants organiques (**schéma1**). Cette méthode comprend deux grandes étapes : la première phase d'extraction se fait avec le méthanol pour solubiliser les flavonoïdes et le deuxième est réalisée avec l'éther diéthylique (extraction des génines libres) et l'acétate d'éthyle (extraction des monoglycosides) et le n-butanol (pour solubiliser les di et les triglycosides).

L'extraction des flavonoïdes est effectuée à partir de la matière sèche finement macérer dans le méthanol. Le macérât est filtré sur un Büchner sous pression réduite puis soumis à une évaporation à basse pression à 38°C (Rota Vapor, Büchi 461, Germany). Le filtrat est débarrassé des cires, des lipides et de la chlorophylle par trois lavages successifs avec l'éther de pétrole (v/v) pour donner une phase aqueuse purifié. Afin de séparer les flavonoïdes en phases aglycones, monoglycosides et di et triglycosides, la phase aqueuse est mélangée avec l'éther diéthylique (v/v) pour obtenir une phase organique contenant les flavonoïdes aglycones et les aglycones méthoxylés. La phase aqueuse restante subit à son tour trois extractions avec l'acétate d'éthyle afin de récupérer dans la phase organique certains flavonoïdes aglycones mais surtout les monoglycosides. La phase aqueuse encore restante est mélangée avec le n-butanol pour récupérer notamment les flavonoïdes di et triglycosides. La phase aqueuse finale contient surtout les flavonoïdes glycosylés plus polaires. Les quatre phases récoltées sont concentrées par évaporation à basse pression.

II.2.2.2. Macération:

Après le séchage de la plante, nous avons pesé 700 g de la matière verte (feuilles, racines et tiges). Cette masse est macérée dans 4 l de méthanol. Le contenu est gardé au repos pendant 24 h à température ambiante pour dissoudre les constituants solubles.

Cette opération est répétée 2 fois avec le même solvant après sa séparation par filtration.

Chapitre II : Partie pratique

II.2.2.3. Filtration et évaporation sous vide :

Après filtration simple sur un papier filtre et coton, on a obtenu une solution d'une couleur vert. Une évaporation sous vide été effectuée à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température inférieure à 38 °C pour récupérer le méthanol utilisé durant cette macération, on s'assurant de l'élimination totale de solvant. Ainsi on obtient un résidu concentré de 59,148 g.

II.2.2.4. Elimination de la chlorophylle :

On ajoute 300 ml de l'eau chaude après 24 h, on versée sur un papier filtre porté entonnoir. La chlorophylle se fixe sur le fond de ballon, on obtient une solution marron.

Chapitre II : Partie pratique

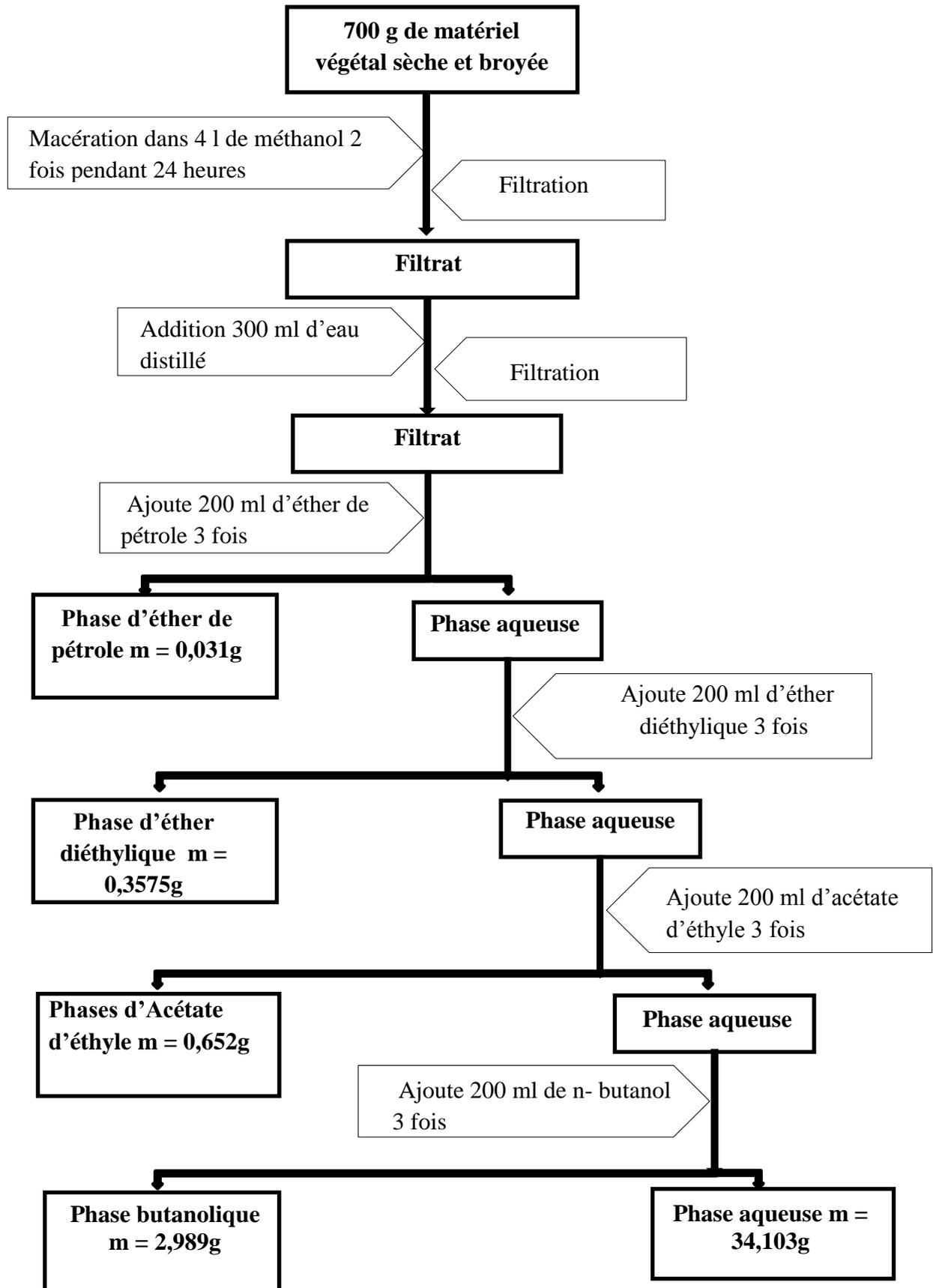


Schéma [II.1] : protocole de l'extraction liquide – liquide.

II.3. Activités biologiques :

II.3.1. Détermination de l'activité antioxydant :

II.3.1.1. Piégeage du radical libre DPPH[•](2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle) :

II.3.1.1.1. Préparation des solutions (extraits) :

4 mg d'extrait dans 4 ml de méthanol (solution mère 1 mg/ ml). A partir de cette solution, préparer les différentes concentrations (1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 mg/ml).

II.3.1.1.2. Préparation de la solution (DPPH) :

Dissoudre 1 mg de DPPH[•] dans 25 ml de méthanol pour préparer une 0,04 mg/ml ou 0.004%. 100 µl de chaque solution méthanolique des extraites à différentes concentrations (de 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 mg/ml), sont ajoutés à 1,9 ml de la solution méthanolique du DPPH[•]. Les solutions d'échantillons ainsi préparées sont maintenues dans l'obscurité à température ambiante et les absorbances sont mesurées à 517 nm après 30 min à l'aide d'un spectrophotomètre. Le pourcentage de l'activité antiradicalaire est calculé selon les modèles mathématiques trouvés [6].

II. 3.1.1.3. La concentration inhibitrice (IC₅₀) :

Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydante.

On calcule cette valeur à partir l'équation suivante par programme algorithme génétique :

$$y = \alpha_0 + \alpha_1 e^{-\frac{x}{\alpha_2}} \quad \Longrightarrow \quad x = -\alpha_2 \ln\left(\frac{y-\alpha_0}{\alpha_1}\right)$$

II. 3.1.1.4. Le pouvoir antiradicalaire :

$$\text{ARP} = \frac{1}{IC_{50\%}}$$

II. 3.1.2. Réduction du fer par la méthode de FRAP :

Cette méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe³⁺ présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe²⁺, la réaction est révélée par le virement de

Chapitre II : partie pratique

la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu verte du fer ferreux (Fe^{2+}), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Le protocole expérimental utilisé où : 0,5 ml de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 1,25 ml d'une solution tampon de phosphate à 0.2 M (pH = 6,6) et 1,25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à température ambiante. 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction, et les tubes sont centrifugés à 3000 tr pendant 10 min. 1,25 ml du surnageant sont ajoutés à 1,25 ml d'eau distillée et 250 μl d'une solution de chlorure de fer $[\text{FeCl}_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_6]$ à 0,1 %. La lecture des absorbances se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV contre un blanc préalablement préparé de la même manière sauf qu'on a remplacé l'extrait par de l'eau distillée [7].



Figure [II.4] : Réduction du fer ferrique en fer ferreux.

II.3.2. Détermination de l'activité antimicrobienne :

Détermination de l'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en utilisant des souches de référence de laboratoire American Type Culture Collection "ATCC".

- Bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* : (ATCC 25293),
- Bactéries à Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa*: (Isolé colonie),
- Bactéries à Gram négatif *Escherichia coli* : (ATCC 25922).

Chapitre II : partie pratique

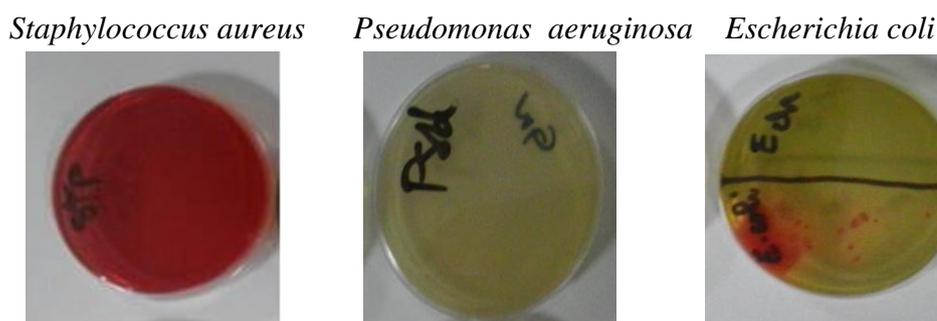


Figure [II.5] : Les souches bactériennes utilisées.

II.3.2.1. Souches bactériennes testées :

Les souches bactériennes utilisées pour l'activité antibactérienne dans ce travail sont des souches référencées un gram positif c'est : (*Staphylococcus aureus*), des souches gram négatif (*Escherichia. coli*) et (*Pseudomonas aeruginosa*).

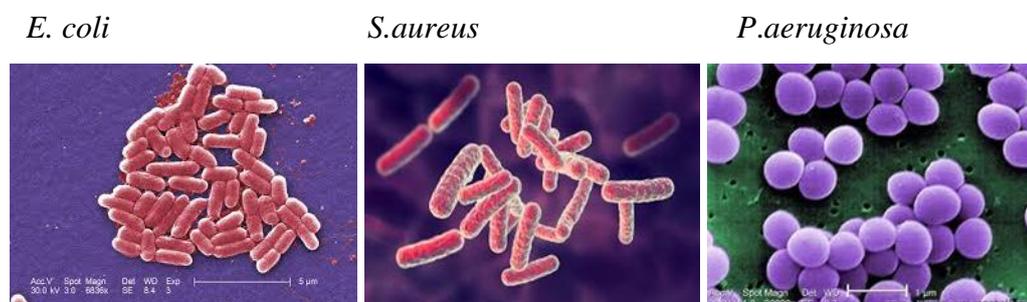


Figure [II.6] : Les souches bactériennes utilisées au microscope électronique.

II.3.2.2. Préparation des souches bactériennes :

Les trois souches ont étéensemencées dans un bouillon nutritif dans des tubes à essai stériles, avec incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 h, avant les utiliser pour l'activité antibactérienne.

II.3.2.3. Préparation des disques :

On a utilisé le papier Whatman coupé on disques de 6 mm de diamètre, ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques une fois préparés, sont placés à l'étuve à 100 °C pendant 12 h pour les sécher.

II.3.2.4. Préparation de l'extrait végétal :

A partir chaque extrait (éther d'éthylque, acétate d'éthyle, n-butanol et l'aqueuse), on préparer déférents concentrations (2 ; 3 ; 4 ; 5 mg/ml), et utilise le

Chapitre II : partie pratique

DMSO comme un solvant pour solubiliser les extraits, parce qu'il ne possède pas une toxicité sur les bactéries.

II.3.2.5. Teste antibactérienne :

On verse gélose nutritive dans une boîte de pétri, puis on ajoute quelques gouttes de chaque bouillon nutritif contenant une souche bactérienne, et par un écouvillon stérile, on distribue les bactéries autour de l'intérieur de la boîte de pétri pour favoriser une répartition homogène du bouillon nutritif, et on pose trois disques et trois puits et injecte la même concentration dans chaque boîte et injecte une seule concentration.

II.3.2.6. Application :

Par disques :

Les disques stériles sont placés sur la gélose nutritiveensemencée avec la bactérie puis injecter 5µl par mêmes concentrations d'extraits. En fin, les boîtes de pétri ont été placées à l'étuve, pour incubation à 37 °C pendant 18 à 24 h.

Par les puits :

L'autre méthode par les puits d'environ 6mm de diamètre a été effectuée dans la gélose, chaque puits a reçu 15 µl de la substance à tester.

Milieu de culture :

L'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode des disques et les puits, et le milieu de culture utilisé est Mueller Hinton.

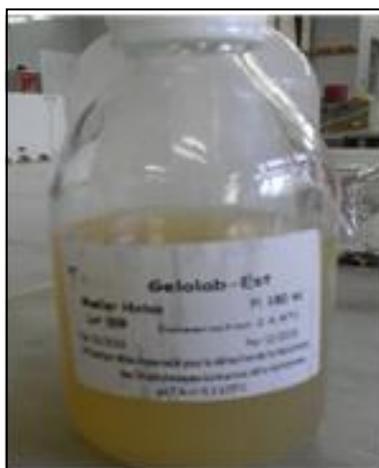


Figure [II.7] : Gélose Mueller Hinton.

II.3.2.7. La lecture :

Après incubation, on a mesuré avec précision les diamètres des zones d'inhibition, en millimètres, ce diamètre détermine la sensibilité bactérienne vis-à-vis des extraits de plante.

II.4. Docking moléculaire :

La théorie de l'inhibition des enzymes est considérée comme l'une des stratégies les plus efficaces pour lutter contre la maladie d'Alzheimer [8,9]. Le test d'inhibition enzymatique est considéré comme un outil très utile pour étudier les propriétés biologiques des extraits de plante ou de composés isolés [10].

II.4.1. Préparation de l'enzyme :

- Téléchargement d'enzymes à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank.
- Simplification une des deux chaînes.
- Elimination des molécules d'eau.



Figure [II.8]: La structure 3D de 3AX1 non simplifié.

La structure 3D de 3AX1- α -D-maltoside a été obtenue par diffraction en rayon X avec une résolution (2.74 Å), R-value free (0.286) et R-value work (0.243), l'enzyme a été préparée comme corps rigide.

Le monomère est constitué de 2546 atomes et 334 résidus.

Par l'élimination des molécules d'eau, nous permet d'obtenir un modèle simplifié de l'enzyme. Notre étude est basée sur la simplification d'enzyme comme une étape clé

et essentielle pour accélérer et simplifier les calculs. Avec l'effet réducteur de la modélisation moléculaire, le modèle des enzymes est simplifié.

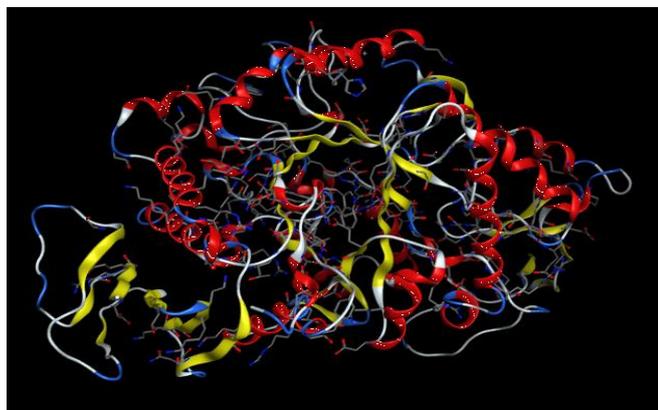


Figure [II.9] : (3AX1) simplifié.

II.4.2. Préparation du ligand :

Les ligands (inhibiteurs) sont dessinés en utilisant le logiciel Chemdraw 8.0.

L'optimisation de la géométrie du ligand a été effectuée à l'aide du champ de forces (MM+) implanté dans le logiciel Hyperchem 7.5 version professionnelle pour déterminer la conformation la plus stable.

Référence

Références :

- [1] Quézel, P. & S. Santa. 1962–1963. Nouvelle flore de l'Algérie Tome 2, 663.
- [2] Al-Safadi, B. Characterization and distribution of *Daucus* species in Syria. *Biologia (Bratislava)*. 63, 177-182, 2008.
- [3] Meikle, R. D. *Flora of Cyprus*, 1977-1985.
- [5] J. Bruneton, "Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales," 1993.
- [6] F. Memmou, "Synthese, etudes cinetiques et evaluation de l'activite de derives de l'eugenol. composition de l'huile essentielle extraite du clou de girofle."p.138-139, 2015- 2016.
- [7] A. A. Karagözler, B. Erdağ, Y. Ç. Emek, and D. A. Uygun, "Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*," *Food Chemistry*, vol. 111, p. 400-407, 2008.
- [8] Murray, A. P., Faraoni, M. B., Castro, M. J., Alza, N. P., and Cavallaro, V. (2013). Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. *Curr. Neuropharmacol.* 11, 388–413.
- [9] Mocan, A., Zengin, G., CriÅşan, G., and Mollica, A. (2016). Enzymatic assays and molecular modeling studies of *Schisandra chinensis* lignans and phenolics from fruit and leaf extracts. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 1–11.
- [10] Dinparast, L., Valizadeh, H, Bahadori, M. B, Soltani, S, Asghari, B, and Rashidi, M.-R. (2016). Design, synthesis, α -glucosidase inhibitory activity, molecular docking and QSAR studies of benzimidazole derivatives. *J. Mol. Struct.* 1114, 84-94.

CHAPITRE III :
RESULTAT
ET
DUSCUTION

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Rendement de l'extraction liquide- liquide:

Tableau [III.1]: Rendement des phases après l'extraction liquide- liquide.

Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
Ether de pétrole	0,031	0,052
n-Butanol	2,989	5,053
Acétate d'éthyle	0,652	1,102
Ether diéthylique	0,357	0,604
Aqueuse	34,103	57,657

A la lumière des résultats donnés dans le (**tableau III.1**), les rendements des phases dans la plante *Daucus aureus Desf*, étudiée sont :

- la phase éther de pétrole (0,052%)
- la phase éther diéthylique (5,053%)
- la phase l'acétate d'éthyle (1,102%)
- la phase butanolique (0,604%)
- la phase aqueuse (57,657%)

III.1.1. Conclusion :

On peut conclure que la plante *Daucus aureus* étudiée contient :

- Les flavonoïdes aglycones et les aglycones méthoxylés (phase éther diéthylique).
- Les flavonoïdes aglycones mais surtout les monoglycosides (phase d'acétate d'éthyle).
- Les flavonoïdes di et triglycosides (phase butanolique).
- Les flavonoïdes glycosylés plus polaires (phase aqueuse).

Résultat et discussion

III.2. Résultat de l'activité biologique :

III.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante :

III.2.1.1. Test antioxydant par quantification spectrophotométrique DPPH[•] :

Tableau [III.2] : Résultat de l'activité antioxydant de l'extrait n- butanol.

Concentration (mg/ml)	Absorbance d'extrait	Absorbance de DPPH
0,50000	0,103	0,897
0,25000	0,157	0,843
0,12500	0,31	0,69
0,06250	0,431	0,569
0,03125	0,517	0,483
0,01560	0,566	0,434

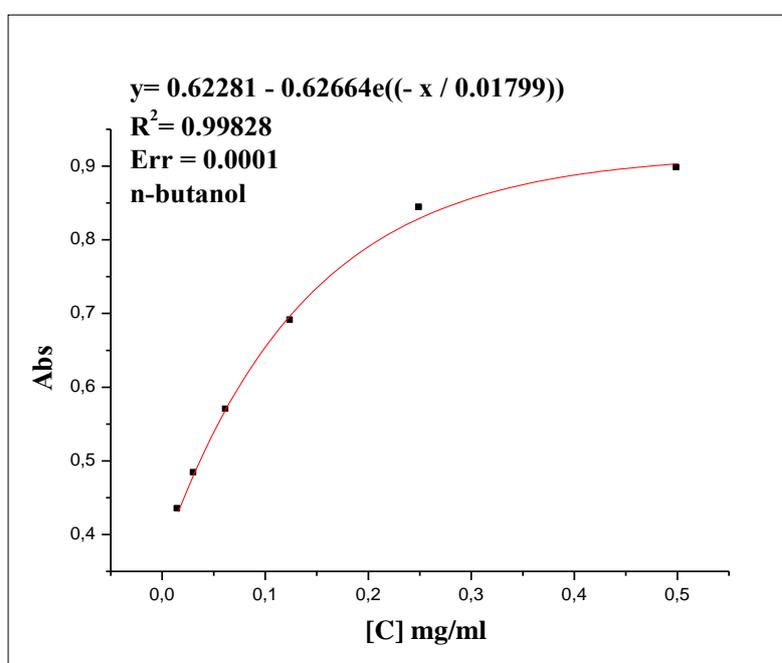


Figure [III.1] : Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait n-butanol.

Nous observons que le graphe de variation du l'inhibition de DPPH en fonction de la concentration, est une fonction logarithmique du type : $y = 0,62281 - 0,62664e^{\frac{x}{0,01799}}$ avec une bonne corrélation : coefficient de corrélation R^2 : ($R^2=0.99828$) pour l'extrait de n- butanol et d'erreur relatif : $Err = 0,0001$ (figure III.1).

Résultat et discussion

Tableau [III.3] : Résultat de l'activité antioxydant de l'extrait acétate d'éthyle.

Concentration (mg/ml)	Absorbance d'extrait	Absorbance de DPPH
0,50000	0,11	0,89
0,25000	0,123	0,877
0,12500	0,266	0,734
0,06250	0,359	0,641
0,00780	0,669	0,331

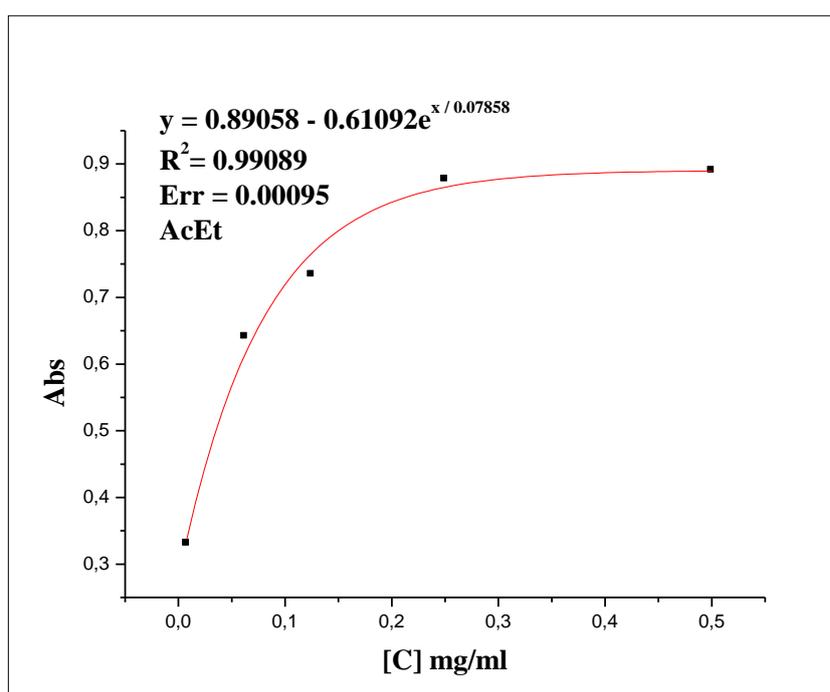


Figure [III.2] : Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait acétate d'éthyle.

Dans le cas de l'acétate d'éthyle, l'allure de la courbe est logarithmique du type : $y = 0,89058 - 0,61092e^{-\frac{x}{0,07858}}$, avec un coefficient de corrélation R^2 : ($R^2=0,99089$) pour l'extrait de l'acétate d'éthyle et une erreur : $Err = 0,00095$ (**figure III.2**).

Résultat et discussion

Tableau [III.4] : Résultat de l'activité antioxydant de l'extrait éther diéthylique.

Concentration (mg/ml)	Absorbance d'extrait	Absorbance de DPPH
0,25000	0,349	0,651
0,12500	0,379	0,621
0,06250	0,433	0,567
0,03125	0,484	0,516
0,01560	0,626	0,374
0,00780	0,792	0,208

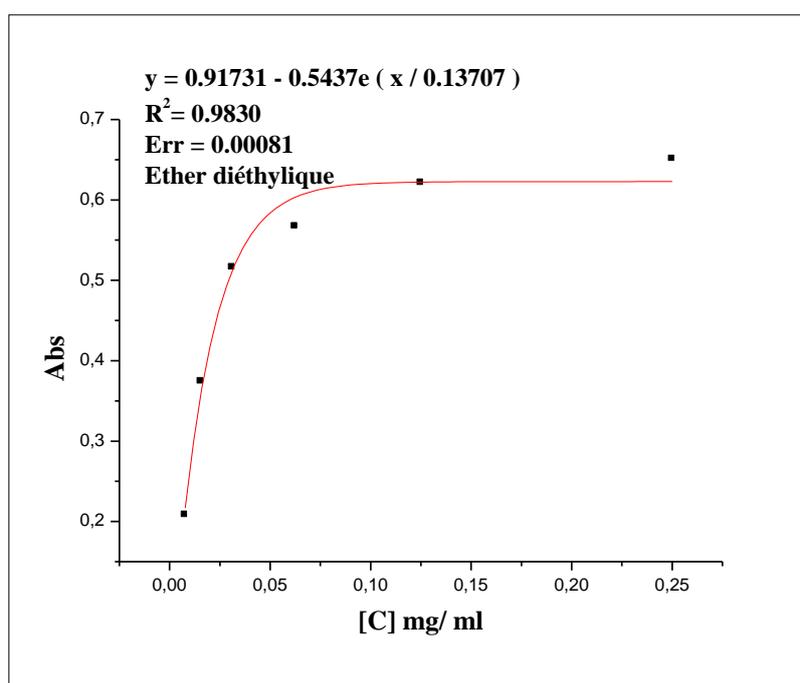


Figure [III.3] : Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait éther diéthylique.

La variation de l'absorbance DPPH en fonction de la concentration, est une courbe logarithmique du type : $y = 0,91731 - 0,54537e^{\frac{x}{0,13707}}$, avec un coefficient de corrélation R^2 : ($R^2=0,9830$) pour l'extrait de éther diéthylique, avec une erreur : $Err = 0,00081$ (**figure III.3**).

Résultat et discussion

Tableau [III.5] : Résultat de l'activité antioxydante de la phase aqueuse.

Concentration (mg/ml)	Absorbance d'extrait	Absorbance de DPPH
0,50000	0,374	0,626
0,25000	0,422	0,578
0,12500	0,477	0,523
0,06250	0,553	0,447
0,03125	0,595	0,405
0,01560	0,635	0,365
0,00780	0,675	0,325

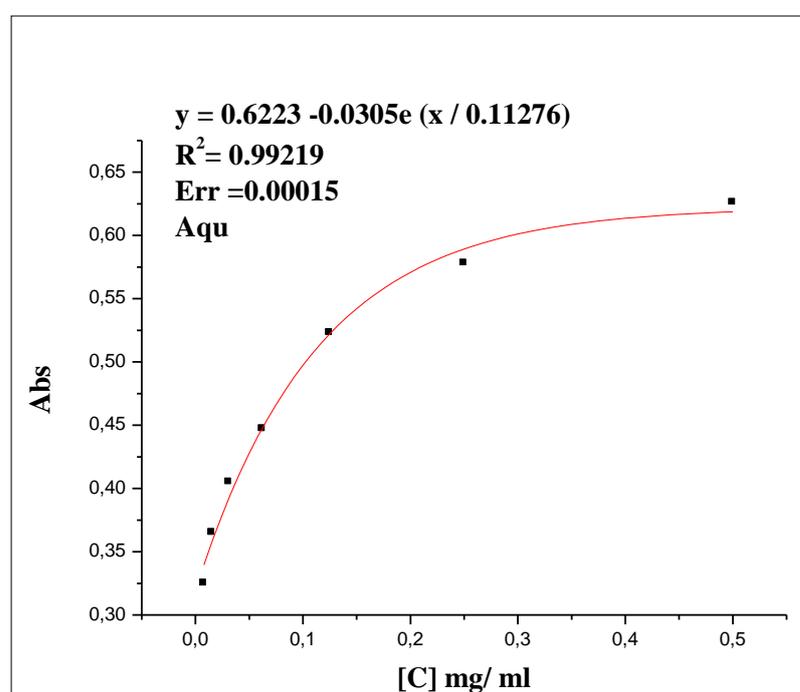


Figure [III.4] : Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de la phase aqueuse.

Pour l'extrait aqueuse, le type de fonction est $y = 0,6223 - 0,0305e^{\frac{x}{0,11276}}$, le coefficient de corrélation R^2 : ($R^2=0,99219$, $\text{Err} = 0,00015$) (**figure III.4**).

Résultat et discussion

III.2.1.1.1. Détermination de IC50% et ARP :

Tableau [III.6] : Résultats du capacité et pouvoir antiradicalaire.

Extrait	IC50% (mg/ml)	ARP
n- Butanol	0,02933	34,09
Acétate d'éthyle	0,03515	28,44
Ether diéthylique	0,03668	27,26
Aqueuse	0,15724	6,35

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%.

Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. D'après les résultats, on remarque l'éther diéthylique le plus actif puis l'acétate d'éthyle, n-butanol, aqueuse (**tableau III.6**).

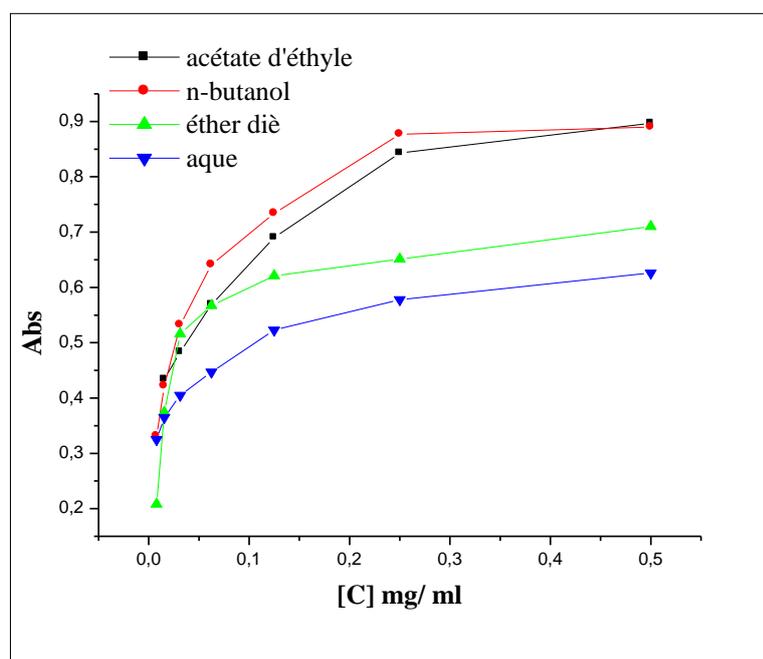


Figure [III.5] : Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH de quatre extraits.

Les quatre courbes représentent la réduction de radicaux DPPH• dans les quatre extraits, d'après les résultats de IC50%, on remarque l'extrait n-butanol donne une activité antioxydante supérieure avec un IC50 de 0,02933 (mg/ml), puis l'extrait acétate

Résultat et discussion

d'éthyle avec un IC50 de 0,03515 (mg/ml), et l'extrait éther diéthylique avec un IC50 de 0,03668 (mg/ml), par contre la phase aqueuse possède une activité antioxydant inférieure un IC50 de 0,15724 (mg/ml) (**figure III.5**).

III.2.1.2. Test antioxydant de FRAP :

Tableau [III.7] : Résultats d'absorbance de FRAP.

Concentration (mg/ml)	Acide ascorbique	Éther diéthylique	Acétate d'éthyle	n-Butanol	Aqueuse
1,0000	1,595	0,089	0,561	0,694	0,111
0,5000	1,434	0,087	0,467	0,618	0,109
0,2500	1,062	0,083	0,401	0,520	0,094
0,1250	0,475	0,075	0,272	0,363	0,086
0,0625	0,221	0,063	0,170	0,182	0,059
0,0312	0,084	0,058	0,065	0,065	0,054

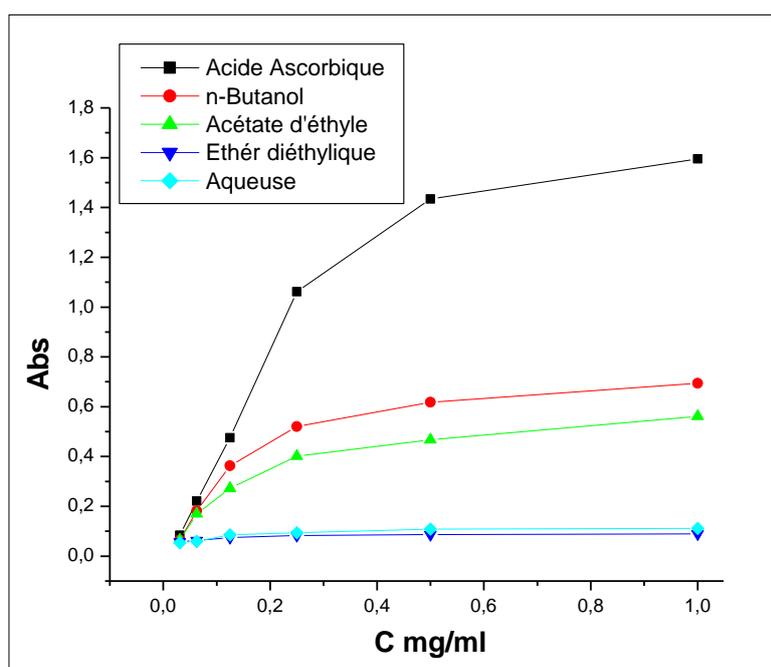


Figure [III.6] : Pouvoir réducteur de quatre phases et de l'acide ascorbique.

D'après les résultats obtenus, pour toutes les phases testées il y a une augmentation de la réduction du fer en fonction aux concentrations utilisées, La phase n-butanolique est la plus active suivie par la phase acétate d'éthyle puis les deux autres phases : éther diéthylique et aqueuse (**figure III.6**).

Résultat et discussion

III.2.1.2.1. Conclusion :

On conclure que la phase butanolique possède une bonne action vis-à-vis de Fe^{3+} , le pouvoir réducteur de l'extrait acétate d'éthyle est supérieur aux autres phases (aqueuse, éther diéthylique).

III.2.2. Résultat de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Daucus aureus* (n-butanol, acétate d'éthyle, éther diéthylique et aqueuse), sont testées par trois souches bactériennes.

III.2.2.1. Lecture de l'aromatogramme :

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un diamètre d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques et puits contenant l'extrait à tester.

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signaux. La souche ayant un diamètre :

- $D < 0,8\text{cm}$: Souches résistante (-).
- $0,8\text{cm} < D \leq 1,4\text{cm}$: Souches sensible (+).
- $1,4\text{cm} < D \leq 2\text{cm}$: Souches très sensible (++)
- $D > 2\text{ cm}$: Souches extrêmes sensible (+++) [1].

La technique de diffusion sur les disques et les puits qui utilisée donner les résultats suivant :

- Pour une concentration de 2mg/ml:

Tableau [III.8]: Résultats de l'activité antibactérien par des extraits à une concentration de 2mg /ml.

Extrait \ Méthode	Disque			Puits		
	E.coli	Stap	Psodo	E.coli	Stap	Psodo
n- Butanol	-	-	-	-	-	-
Acétate d'éthyle	-	-	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-	-	-
Aqueuse	-	-	-	-	-	-

Résultat et discussion

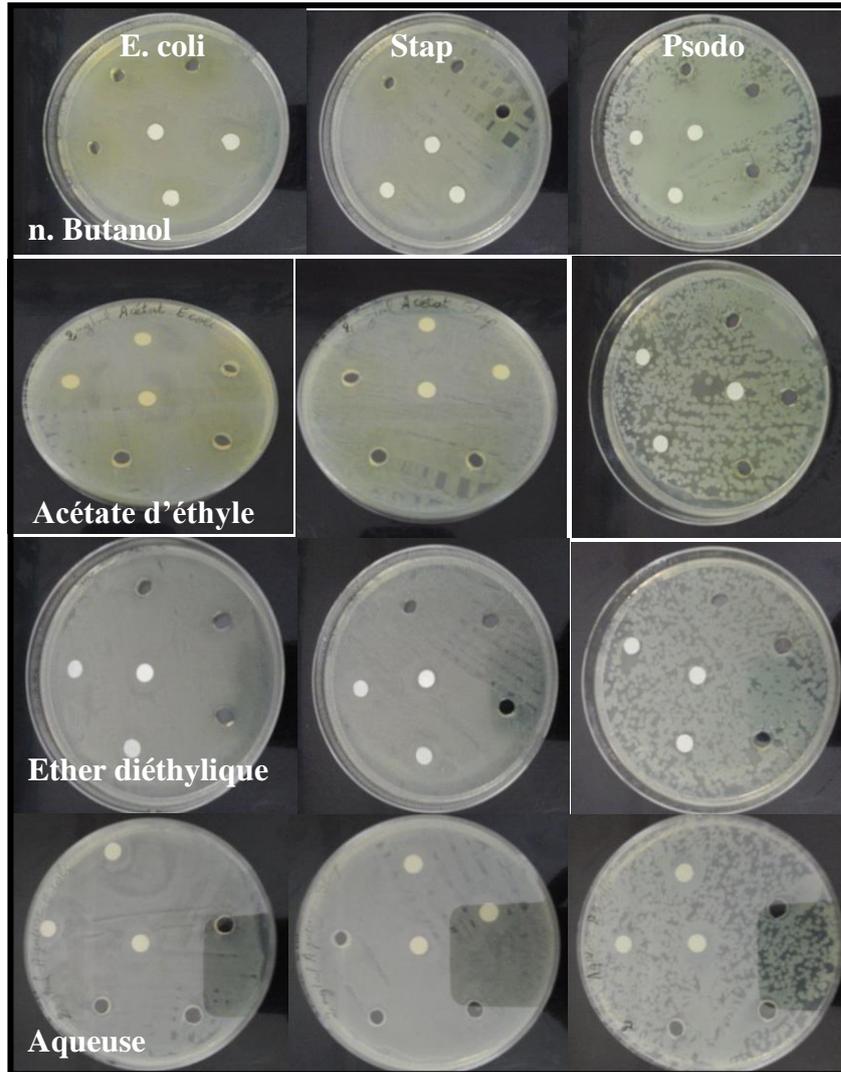


Figure [III.7]: Résultats de l'aromatogramme par les disques et les puits pour 2mg/ml.

Le teste de sensibilité des trois souches par les quatre extraits de même concentration 2mg/ml, on remarque que l'*E. coli* et *S. aureus* procède aucun activité antibactérienne vis-à-vis au les quatre extraits tests (diamètres de zones d'inhibition allant de 6 à 8 mm). D'autre coté on remarque un développement de *P. aeruginosa* dans toutes les boites de Pétri (**figure III.7**).

- Pour une concentration de 3mg/ml :

Résultat et discussion

Tableau [III.9]: Résultats des extraits pour une concentration de 3mg /ml contre les trois souches.

Méthode Extrait	Disque			Puits		
	E.coli	Stap	Psodo	E.coli	Stap	Psodo
n- Butanol	-	-	-	-	-	-
Acétate d'éthyle	-	-	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-	-	-
Aqueuse	+	-	-	+	++	-

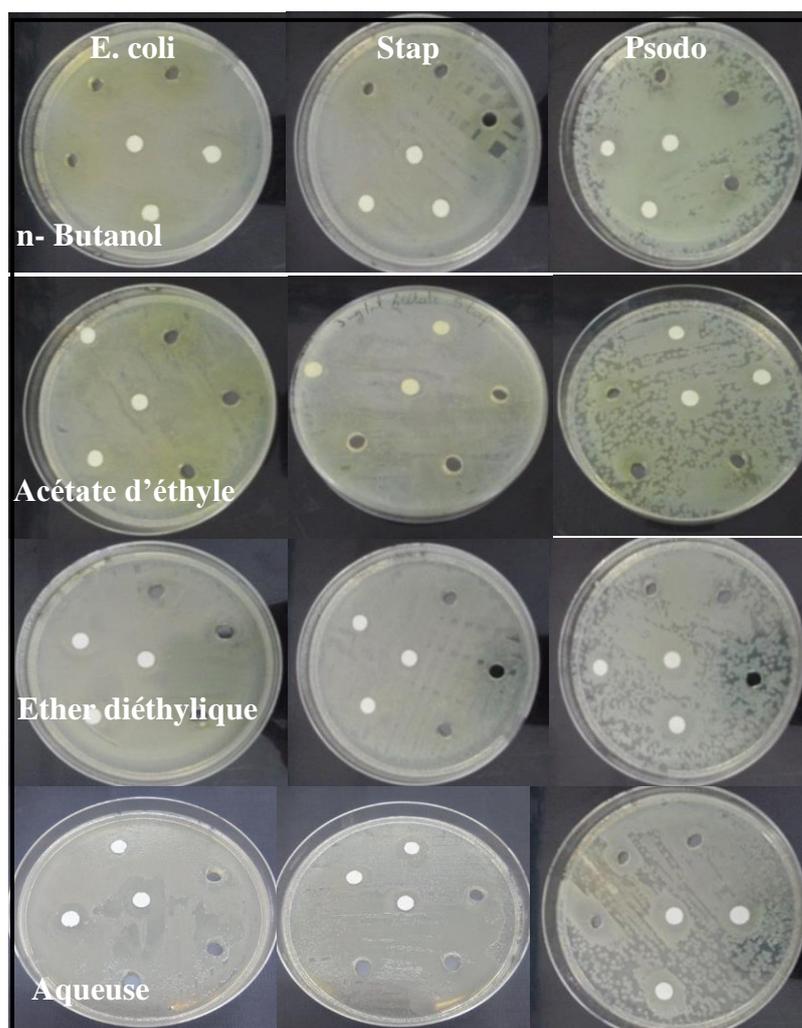


Figure [III.8] : Résultats de l'aromatogramme par les disques et les puits pour 3mg/ml.

Le tableau suivant montre les résultats de l'activité antibactérienne, obtenir par les techniques : des disques et puits.

Résultat et discussion

Tableau [III.10]: Diamètre de zone d'inhibition de l'extrait aqueuse pour 3mg/ml.

Méthode \ Bactérie	par disque (cm)	par puits (cm)
<i>Escherichia. coli</i>	0,83	0,74
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,03	1,42

Pour la concentration 3mg/ml, on n'observe pas une zone inhibitrice pour n-butanol, acétate et l'éther diéthylique avec les trois souches. Pour l'extrait aqueux on remarque un diamètre de 0,83 cm pour *E. coli* par la méthode des disques, et 0,74 cm par les puits, en même temps possède une activité contre *S. aureus* par les disques 1,03 cm, par les puits 1,42 cm. Dans cette cas on peut dire la souche *E. coli* est sensible et *S. aureus* très sensible (**tableau III.10**).

- Pour une concentration de 4 mg/ml :

Tableau [III.11]: Résultats des extraits à une concentration de 4mg /ml sur trois souches.

Extrait \ Méthode	Disque			Puits		
	E.coli	Stap	Psodo	E.coli	Stap	Psodo
n- Butanol	-	-	-	-	-	+
Acétate d'éthyle	-	-	-	-	-	-
Ether diéthylique	-	-	-	-	-	-

Résultat et discussion

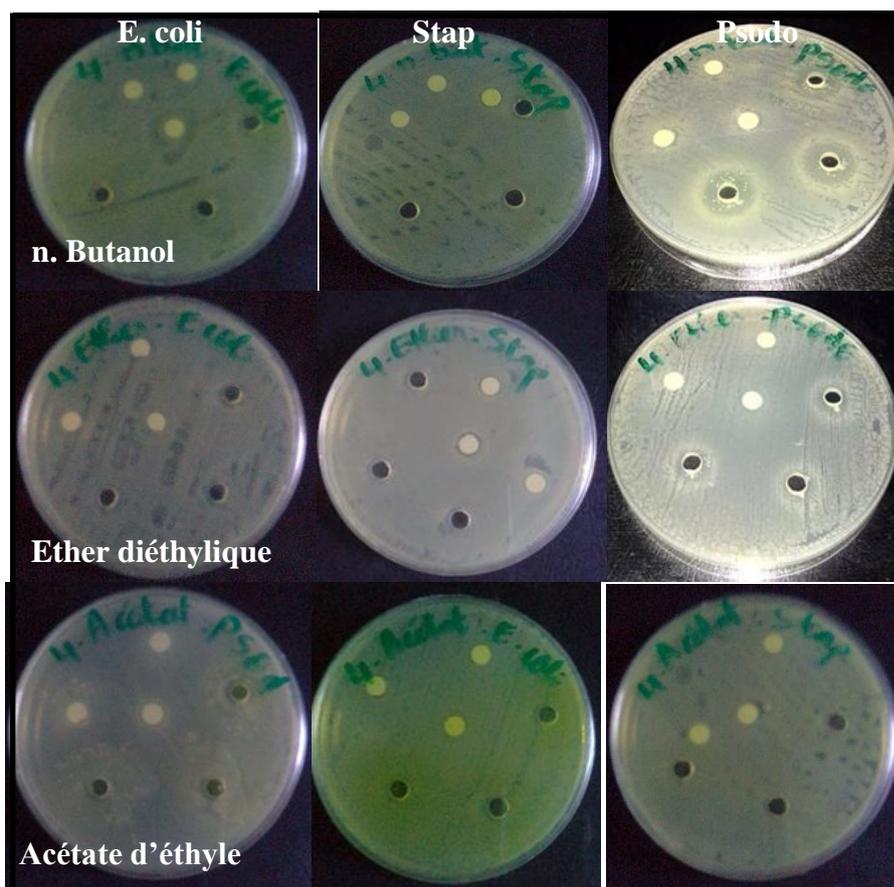


Figure [III.9] : Résultats de l'aromatogramme de trois extraits.

Tableau [III.12]: Diamètre de zone d'inhibition par la méthode de puits.

Extrait \ Souche	n- Butanol	Ether diéthylique
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,83cm	0,4 cm

Dans ce cas, on teste trois extraits le n-butanol, acétate et l'éther diéthylique sur trois souches (*Escherichia. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), après la lecture on observe un 0,83cm pour le n-butanol et 0,4 cm pour l'éther contre *P. aeruginosa* par la méthode de disque. Pour les autres souches on n'observe pas une activité, au-delà plus des souches *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* possèdent résistance contre l'extrait acétate d'éthyle (tableau III.12).

Résultat et discussion

- Par une concentration de 5mg/ml :

Tableau [III.13]: Résultats des extraits à concentration 4mg /ml sur trois souches.

Méthode \ Extrait	Disque			Puits		
	E.coli	Stap	Psodo	E.coli	Stap	Psodo
n- Butanol	-	-	+	-	-	+
Acétate d'éthyle	-	-	+	-	-	+
Éther diéthylique	-	-	+	-	-	+

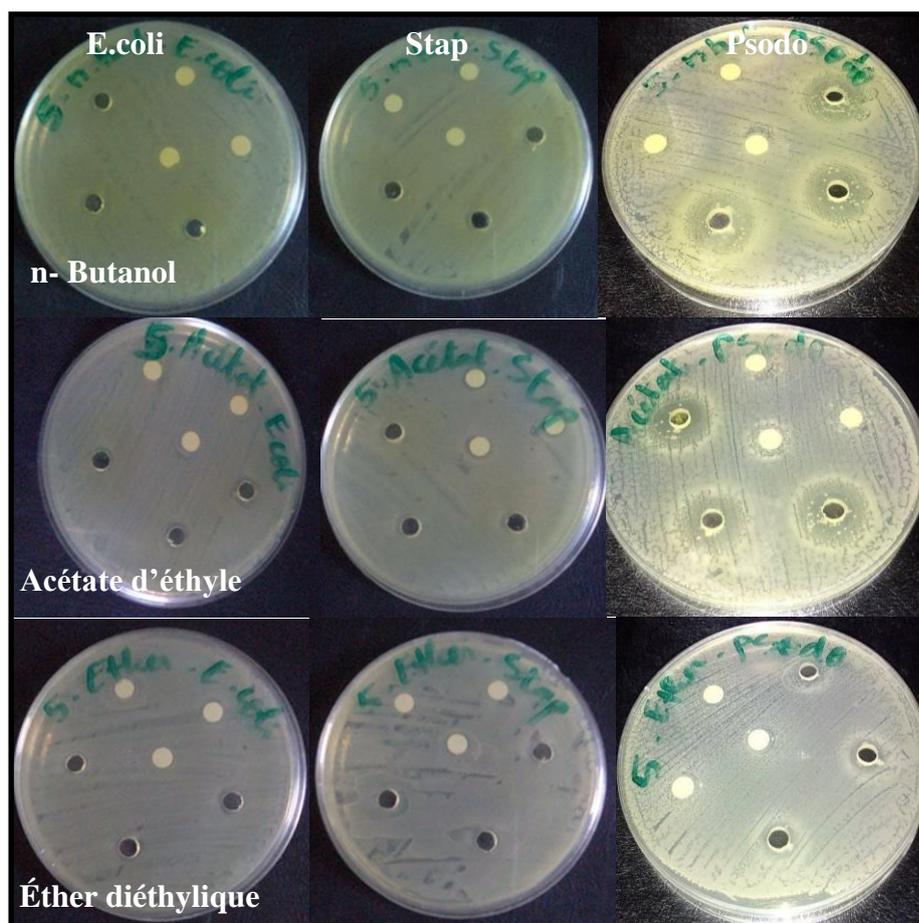


Figure [III.10]: Résultats de l'aromatogramme de trois extraits par deux méthodes.

Tableau [III.14]: Diamètre de zone d'inhibition de trois extraits.

Extrait \ Souche	n. Butanol	Acétate d'éthyle		Éther diéthylique
	Puits (cm)	Puits (cm)	Disque (cm)	Puits (cm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,11	1,1	0,42	0,3

Résultat et discussion

Pour la concentration 5mg/ml, le test de sensibilité des trois souches contre les extraits (n. butanol, acétate d'éthyle, éther diéthylique) donne une activité antibactérienne significative ; *P. aeruginosa* est sensible contre l'extrait n-butanol et l'acétate d'éthyle, mais elle est résistante contre l'extrait éther diéthylique. Les souches *E. coli*, *S. aureus* résistent contre les extraits n. butanol, acétate d'éthyle et l'éther diéthylique (**tableau III.14**).

III.2.2.2. Conclusion :

La lecture des résultats a été faite après 24 heures d'incubation à 37°C. Pour confirmer les résultats obtenus, à partir les résultats des diamètres les zones d'inhibition, on remarque que chaque extrait possède une activité antibactérienne déférente.

Les extraits butanolique, acétate d'éthyle et éther diéthylique possèdent une activité contre *Pseudomonas aeruginosa*, et l'extrait aqueux contre *Escherichia. Coli*.

Le DMSO n'a aucune activité antibactérienne, donc une zone d'inhibition autour de disque par DMSO, est absente.

III.3. Résultats de docking moléculaire :

L'enzyme est une protéine, joue le rôle de catalyseur cellulaire, elle est constituée des milliers d'acides aminés liés en une chaîne linéaire, sont liés entre eux par des liens covalents appelés liens peptidiques.

III.3.1. Le site actif dans l'enzyme (3AX1) :

Le site actif d'une enzyme est la région privilégiée de l'enzyme qui interagit avec le substrat.

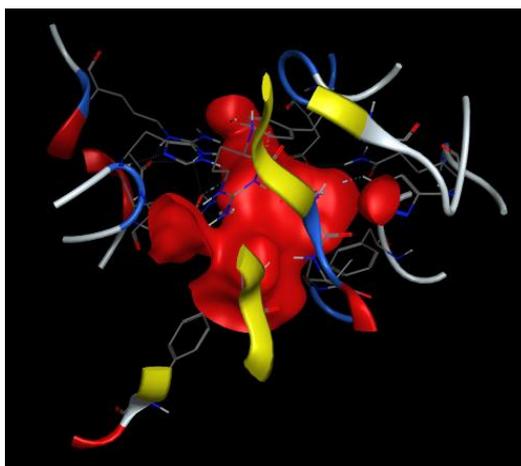


Figure [III.11] : Le site actif et le ligand de référence dans l'3AX1.

III.3.2. Les interactions enzyme-ligand:

Dans notre étude l'interaction entre l'enzyme (3AX1) et le ligand de référence c'est-à-dire formation du complexe (3AX1- α -D-maltoside), nous permet d'obtenir les résultats suivantes :

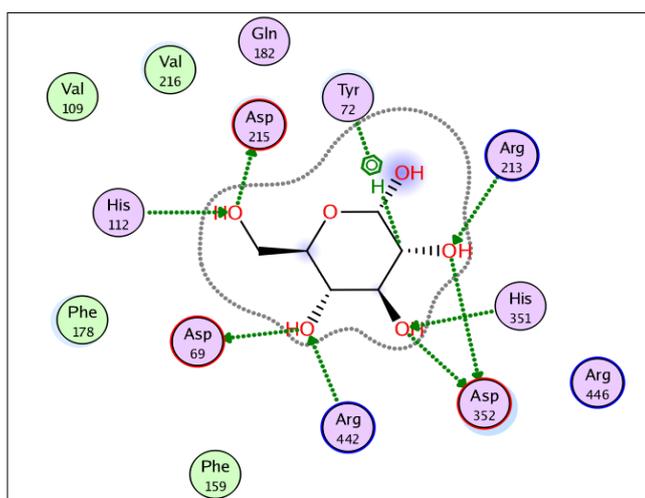


Figure [III.12] : Les interactions entre les résidus de site actif de 3AX1- α -D-maltoside.

III.3.3. Les énergies d'interactions des inhibiteurs :

Les énergies d'interaction entre l'3AX1 et les résidus du site actif sont calculées au cours du docking moléculaire. Elles sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

La formation du complexe protéine/ligand par liaison covalente se fait en deux étapes, une première étape de reconnaissance, où le ligand entre dans le site, puis une seconde étape où le lien covalent se forme.

Résultat et discussion

Le docking permet d'appréhender la situation lors de la première étape. Le but du docking est d'anticiper la possibilité d'un ligand quelconque puisse ou non se loger dans une poche de la protéine avec une bonne affinité. Ainsi, le docking de chaque ligand génère un ensemble de modes de liaison appelés « poses » pour lesquelles un score est calculé. Ce score est une approximation de l'énergie de liaison du complexe (Kcal/mol) et donc plus il est négatif, meilleur est l'affinité prédite. Cependant, le score en lui-même est peu informatif et il est plus intéressant de le comparer au score obtenu pour un inhibiteur (**Quercétin-3-O-Glucoside**, **Luteolin -7-O-Glucoside**, **Quercétin** et **Apigenin -7-Glucoside**), dont l'affinité et le mode de liaison sont connus. Le ligand Co-cristallisé représente alors souvent la référence idéale.

Tableau [III.15] : Résultats énergétiques de docking moléculaire.

Molécule	S	RMSD	Molécule	S	RMSD
Quercétin-3-O-Glucoside	-6.5542274	2.5413835	Quercétin	-7.6411333	3.6365905
Quercétin-3-O-Glucoside	-6.1515002	2.6571469	Quercétin	-5.9387522	2.2512314
Quercétin-3-O-Glucoside	-5.6264238	5.1922574	Quercétin	-5.7441397	2.3984447
Quercétin-3-O-Glucoside	-5.5991459	4.6920762	Quercétin	-5.5394082	4.1326461
Quercétin-3-O-Glucoside	-5.2792406	5.4253387	Quercétin	-5.1837845	2.5244126
Quercétin-3-O-Glucoside	-3.8248074	2.6619327	Quercétin	-5.053863	0.69515449
Quercétin-3-O-Glucoside	-2.2751498	2.1051741	Quercétin	-4.8323402	2.6752288
Quercétin-3-O-Glucoside	-0.11383139	2.0762148	Quercétin	-4.56146	1.0824734
Quercétin-3-O-Glucoside	0.35151839	2.5309165	Quercétin	-0.69505799	1.2505727
Quercétin-3-O-Glucoside	3.9383924	1.7492162	Quercétin	0.90746278	0.97040862
Luteolin -7-O-Glucoside	-6.0909638	2.1971276	Apigenin -7-Glucoside	-6.4297252	0.99480128
Luteolin -7-O-Glucoside	-1.1196554	2.9219592	Apigenin -7-Glucoside	1.3085536	1.5513978
Luteolin -7-O-Glucoside	1.8068585	1.376006	Apigenin -7-Glucoside	3.1130588	1.9003899
Luteolin -7-O-Glucoside	1.9880017	1.4523356	Apigenin -7-Glucoside	3.2158604	1.9803174
Luteolin -7-O-Glucoside	2.3783574	2.8531263	Apigenin -7-Glucoside	3.4734278	1.5303593
Luteolin -7-O-Glucoside	4.2714186	1.3516061	Apigenin -7-Glucoside	3.6678092	0.9382301
Luteolin -7-O-Glucoside	4.2776933	1.8662887	Apigenin -7-Glucoside	3.7392659	1.7152847
Luteolin -7-O-Glucoside	4.3902831	1.3757812	Apigenin -7-Glucoside	4.6674709	1.4929982
Luteolin -7-O-Glucoside	4.4082932	1.239161	Apigenin -7-Glucoside	6.1266561	1.034656
Luteolin -7-O-Glucoside	5.9512339	3.1168532			

Résultat et discussion

D'après les résultats obtenus, on peut conclure que les interactions mises en jeu entre les résidus de site actif et les ligands **Quercétin-3-O-Glucoside**, **Luteolin -7-O-Glucoside**, **Quercétin** et **Apigenin -7-Glucoside** peut former des complexes stables.

Tableau [III.16] : Résultats des énergies des meilleurs complexes formés.

Les ligands	Score	RMSD
Quercétin-3-O-Glucoside	-6.5542274	2.5413835
Luteolin -7-O-Glucoside	-6.0909638	2.1971276
Quercétin	-7.6411333	3.6365905
Apigenin -7-Glucoside	-6.4297252	0.99480128

III.3.4. Ecart quadratique moyen ou RMSD :

Le RMSD entre deux poses est une mesure géométrique de la distance entre les positions atomiques de deux structures. Plus la prédiction du positionnement est précise, plus les différences entre les deux structures sont faibles, plus la valeur du RMSD est basse [2].

Tableau [III.17] : Ecart quadratique moyen ou RMSD.

RMSD	RMSD < 1.5	1.5 < RMSD < 3.5	3.5 < RMSD < 6	6 < RMSD
Structure	Parfait	Acceptable	Inadéquat	Inacceptable

D'après les résultats obtenus (**Tableau III.15**), on note que les valeurs sont considérées comme parfait pour le ligand **Apigenin -7-Glucoside**, acceptable pour les 2 ligands, **Quercétin-3-O-Glucoside**, **Luteolin -7-O-Glucoside** et Inadéquat pour **Quercétin**.

III.3.5. Distances stériques :

En se basant essentiellement sur les liaisons hydrogène et d'après Anne Imberty et col, les interactions ayant des distances comprises entre 2.5 Å et 3.1 Å sont considérées comme fortes, celles ayant des distances comprises entre 3.1 Å et 3.55 Å sont supposées moyennes et quand leurs distances sont supérieures à 3.55 Å, elles sont considérées faibles [3].

Résultat et discussion

Tableau [III.18] : Distances stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand **Quercétin-3-O-Glucoside**.

Ligand	Récepteur	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 48	ASP 69	H-donneur	2.73	-2.1
O 50	ASP 69	H-donneur	3.23	-1.1
O 52	ASP 352	H-donneur	2.69	-4.2
O 54	ASP 215	H-donneur	2.72	-3.4
O 29	ASN 350	H-accepteur	2.89	-0.9

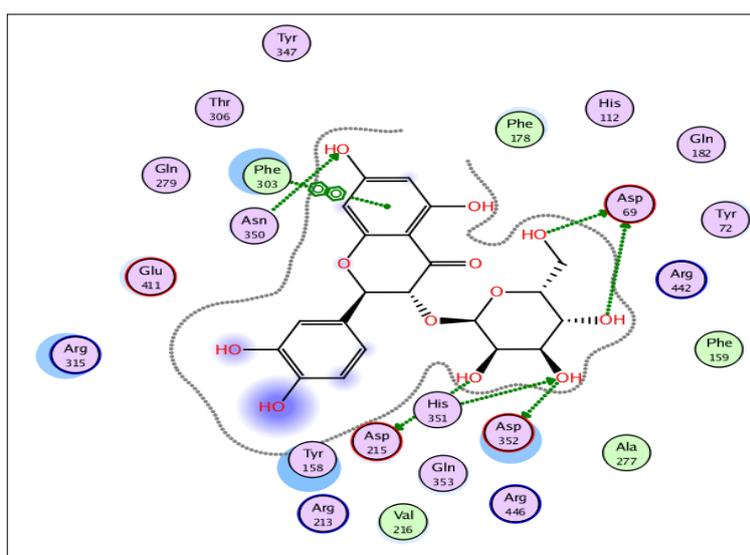


Figure [III.13] : Les interactions entre les résidus et Quercétin-3-O-Glucoside.

Tableau [III.19] : Distances stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand **Apigenin -7-Glucoside**.

Ligand	Récepteur	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 46	ASP 352	H-donneur	2.60	-3.5
O 48	ASP 69	H-donneur	3.06	-1.9
O 50	ASP 215	H-donneur	2.71	-2.5

Résultat et discussion

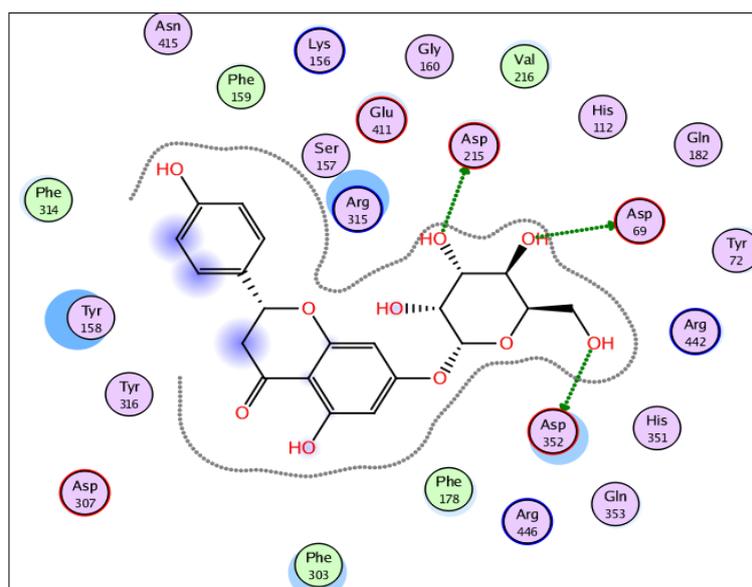


Figure [III.14] : Les interactions entre les résidus et Apigenin -7-Glucoside.

Tableau [III.20] : Distances stériques entre les résidus de site actif et les atomes de ligand **Luteolin -7-O-Glucoside**.

Ligand	Récepteur	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O 45	ASP 215	H-donneur	2.67	-1.7
O 47	ASP 69	H-donneur	2.54	-2.3
O 45	HIS 112	H-accepteur	2.83	-2.1
O 49	HIS 351	H-accepteur	2.82	-2.9

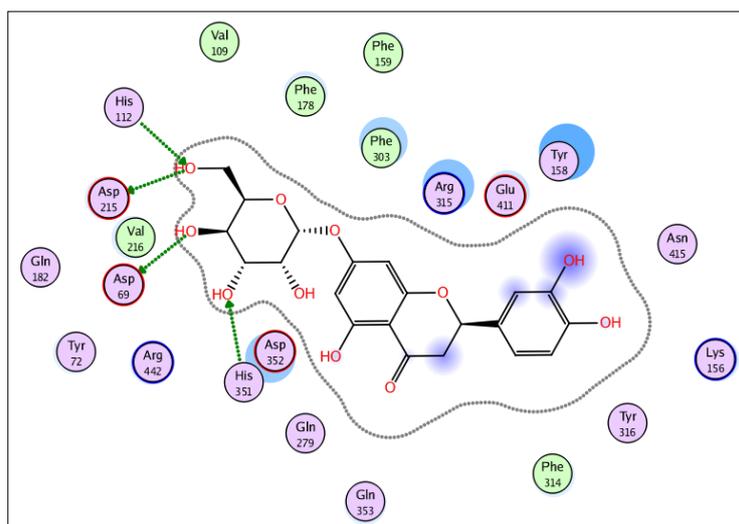


Figure [III.15] : Les interactions entre les résidus et Luteolin -7-O-Glucoside.

Résultat et discussion

Les distances entre les résidus du site actif et les ligands **Luteolin -7-O-Glucoside** et **Apigenin -7-Glucoside**, varient entre 2.54Å et 3.06 Å, dans ce cas on peut considérer que la plus part de ces interactions sont des interactions fortes avec quelques interaction moyennes stabilisent les complexes formés par ces 2 ligands.

Par contre les distances entre les résidus et le ligand **Quercétin-3-O-Glucoside** varient entre 2.69 Å et 3.23 Å, alors ces interactions sont considérées comme fortes qui stabilisent les complexes formés ce ligands, ce qui donne une meilleure fixation de ce ligand au niveau du site actif.

D'après les résultats obtenus, on remarque que le ligand **Quercétin-3-O-Glucoside** forme des interactions avec la majorité des acides aminés qui existent dans le site actif de notre enzyme par rapport aux ligands (**Luteolin -7-O-Glucoside** et **Apigenin -7-Glucoside**). On note aussi que les deux résidus **ASP 69** et **ASP 215** sont les plus impliqués dans la reconnaissance et dans le mécanisme d'inhibition d'enzyme.

Référence

Références :

- [1] C. Duraffourd and J.-C. Lapraz, Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine: Elsevier Masson, 2002.
- [2] Trouillas P. Chapitre 4 - Modélisation Moléculaire et Biologie. Thèse de doctorat en biophysique. Université de Lille. France.p.17, 2009.
- [3] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble: Université Joseph Fourier. France.p.90, 2007.

Conclusion général

Conclusion générale :

Nous avons réalisé plusieurs travaux dans ce mémoire de master qui sont divisés en trois parties.

La première partie consiste à préparer des dérivés extraits de la plante *Daucus aureus*

Le deuxième partie consiste à étudié l'activité antioxydante de différent extrait, par deux méthodes : piégeage de radical libre DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle) et FRAP.

Les résultats ont montré que les deux extraits n-butanol et acétate d'éthyle possèdent une activité antioxydante très importante, grâce à leur constituants, et on observe que cette activité elle est moins élevée dans l'extrait éther diéthylique et aqueuse. La détermination de la concentration inhibitrice (IC₅₀) et le pouvoir anti-radicalaire ARP confirmé l'activité antioxydant des extraits n- butanol avec ARP = 34,09 et pour l'acétate d'éthyle avec ARP = 28,44.

Dans cette partie, nous avons étudié l'activité antimicrobienne de trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), par deux méthodes ; la diffusion de disque et de puits, la souche *Pseudomonas aeruginosa* étudiée présente une sensibilité vis-à-vis a les extraits n- butanol, acétate d'éthyle de la plante, avec un diamètre de 1,11 cm et 1,1cm. Les deux suoches *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus* possède une sencibilité contre la phase aqueuse, avec un diamètre 0,83cm et 1,42cm.

L'étude de docking moléculaire a été réalisée avec UCSF Chimera qui est un programme extensible pour la visualisation et l'analyse des structures moléculaires.

L'optimisation de la géométrie de 3AX1- α -D-maltoside a été réalisée par des calculs d'énergie AutoDock. Les résultats de cette étude montrent que les ligands possédant un groupement glucosidique forment des complexes « enzyme-ligand » plus stables que les trois ligands **Apigenin -7-Glucoside**, **Quercétin-3-O-Glucoside**, **Luteolin -7-O-Glucoside** et par conséquent sont de meilleurs inhibiteurs.

