



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 de Biologie Appliquée
Présenté En Vue De L'obtention Du Diplôme de Master
Filière : Sciences Biologiques
Option : Pharmacotoxicologie



Sous Le Thème :

**Etude in silico de l'activité antioxydante et
antimicrobienne d'une plante herbacée *Héliotropium
Bacciferum***

Présentée par :

M^{elle} Abdelmalek Radia

M^{elle} Bougrouz Zohor

Devant le Jury composé de :

Mme Ben haroun S

MCB Université de Tébessa

Présidente

Mme Rouachdia R

MCB Université de Tébessa

Promotrice

Mme Bellal W

MCB Université de Tébessa

Examinatrice

Année Universitaire : 2025 / 2026

ملخص

تتناول هذه الدراسة التقييم الحاسوبي للأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات لنبات *Héliotropium bacciferum*، وهو نبات طبي غني بالمركبات النشطة حيويًا مثل الفلافونويدات والمركبات الفينولية. يتمثل الهدف الرئيسي في تحديد أهم الجزيئات الفعالة في هذا النبات ودراسة تفاعلاتها مع مختلف الأهداف البيولوجية باستخدام تقنيات الإرساء الجزيئي.

تُظهر النتائج المتحصل عليها أن عدة مركبات، من بينها الكيرسيتين، الكايمفيرول، النارينجينين، وبعض الأحماض الفينولية، تمتلك قدرة بيولوجية مهمة بفضل خصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات. ويمكن لهذه المركبات أن تساهم في تثبيت الجذور الحرة وفي تثبيط بعض الكائنات الدقيقة الممرضة.

كما تُبرز هذه الدراسة أهمية المقاربات الحاسوبية في البحث الصيدلاني الحديث، حيث تتيح تحليلًا سريعًا وفعالًا للجزيئات الطبيعية مع تقليل الاعتماد على التجارب الحيوانية.

Abstract

This study focuses on the in silico evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of *Héliotropium bacciferum*, a medicinal plant rich in bioactive compounds such as flavonoids and phenolic compounds. The main objective is to identify the major active molecules in this plant and to investigate their interactions with different biological targets using molecular docking techniques.

The results obtained show that several compounds, notably quercetin, kaempferol, naringenin, and certain phenolic acids, exhibit significant biological potential due to their antioxidant and antimicrobial properties. These compounds may contribute to the neutralization of free radicals and the inhibition of certain pathogenic microorganisms.

This study also highlights the importance of in silico approaches in modern pharmacological research, as they enable a rapid and efficient analysis of natural molecules while reducing the need for animal experimentation.

Résumé

Cette étude porte sur l'évaluation in silico des activités antioxydantes et antimicrobiennes de *Hélotropium bacciferum*, une plante médicinale riche en composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques. L'objectif principal est d'identifier les principales molécules actives de cette plante et d'étudier leurs interactions avec différentes cibles biologiques à l'aide des techniques de docking moléculaire.

Les résultats obtenus montrent que plusieurs composés, notamment la quercétine, le kaempférol, la naringénine et certains acides phénoliques, présentent un potentiel biologique important grâce à leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Ces composés pourraient contribuer à la neutralisation des radicaux libres et à l'inhibition de certains micro-organismes pathogènes.

Cette étude met également en évidence l'intérêt des approches in silico dans la recherche pharmacologique moderne, en permettant une analyse rapide et efficace des molécules naturelles tout en réduisant le recours à l'expérimentation animale.

Mots-clés : *Hélotropium Bacciferum*, Activité Antioxydante, Activité Antimicrobienne, In silico, Docking moléculaire.

Remerciement

Nous tenons avant tout à remercier Dieu tout puissant, pour la volonte, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années d'étude, afin que nous puissions en arriver là.

Mes vifs remerciements à :

- Notre promotrice Dr **Rouachdia. R** pour ces précieux conseils, ces encouragements et pour avoir approfondi nos connaissances.

Nos remercie vivement les membres de jury :

- Dr **Ben haroun S** qui a bien voulu nous honorer en présidant notre jury.
- Madame **Bellal W** qui a bien voulu nous honorer en Examinatrice notre Jury.

* Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur Dr **Kthir H**, enseignant chercheur à Annaba, pour son aide précieuse dans l'utilisation des logiciels ainsi que pour ses orientations techniques qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

* Nos remerciements vont aussi à tous nos professeurs, enseignants et toutes les personnes qui nous ont soutenus jusqu'au bout, et qui n'ont pas cessé de nous donner des conseils très importants en signe de reconnaissance.

Dédicace

A ﷻ Tout puissant qui m'a inspiré et guidé dans le bon chemin, je vous dois ce que je suis devenue
louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.

Je dédie ce travail

A mon très cher papa **Boudjemaa**,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours
pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Que Dieu vous apporte santé, bonheur et longue vie.

A ma très chère mère **Ghalia**,

A ma très chère mère

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.

Tu n'as pas cessé de me soutenir et de m'encourager, ton amour et ta présence constante ont fait de moi
ce que je suis aujourd'hui. Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et
bonheur afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

A mes **belles sœurs et Mon Frère**, Je vous souhaite un futur brillant plein de résolutions et de
réussite comme vous le méritez.

A ma binôme : **Zohor**

A tous ceux que j'aime et qui je respecte : ma promotrice **Rouachdia.R** Sans oublier tous les
professeurs que ce soit ceux du primaire, du moyen, du secondaire, ou de l'enseignement supérieure.

RADIA

Dédicace

الحمد لله أولاً وآخرًا، ظاهرًا وباطنًا، الذي وفقني وأعانني ومنحني القوة والصبر لإتمام هذا العمل، فله سبحانه كل الشكر والثناء.

أهدي هذا العمل إلى أبي العزيز عيسى، سندي وفخري وقدوتي في الحياة، الذي لم يبخل عليّ يومًا بعطائه ودعمه ونصائحه. أسأل الله أن يحفظه ويبارك في عمره ويجزيه عني خير الجزاء.

وإلى أمي الحبيبة زهية، نبع الحنان والعطاء، وصاحبة القلب الكبير التي كانت دعواتها ومساندتها سببًا في نجاحي. أسأل الله أن يحفظها ويدعم عليها الصحة والعافية.

وإلى جدي وجدتي رحمهما الله رحمة واسعة، وأسكنهما فسيح جناته، وجعل هذا العمل صدقة جارية في ميزان حسناتهما. ستبقى ذكراهما خالدة في قلبي ما حييت.

وإلى إخوتي وأخواتي الأعزاء: أميرة، وفاء، إبراهيم، صلاح، وحمزة، الذين كانوا مصدر دعم ومحبة وتشجيع دائم، أتمنى لهم دوام التوفيق والنجاح.

وإلى صديقاتي العزيزات، شكرًا لكنّ على المودة الصادقة واللحظات الجميلة والدعم الذي رافقني خلال هذا المشوار.

وإلى زميلتي وشريكة هذا العمل راضية، التي شاركتني الجهد والتعب والتحديات، فكل الشكر والتقدير لها على تعاونها وإخلاصها.

إلى كل من ساندني ولو بكلمة طيبة، وإلى كل من كان له أثر جميل في حياتي، أهدي هذا العمل المتواضع.

ZOHOR

Liste Des Tableaux

N^o	Titres	Pages
01	Systématique de la plante	05
02	Composés phénoliques et flavonoides de <i>Héliotropium Bacciferum</i>	07
03	Types des flavonoides présents dans <i>Héliotropium Bacciferum</i>	14
04	Les acides phénoliques présents dans la plante	15
05	Les caractéristiques de DNA gyrase subnit B (Gyr B)	38
06	Caractéristiques des ordinateurs utilisés	39
07	Scores de docking des flavonoides extraits de plante (activité antimicrobienne)	43
08	Scores de composés phénolique extraits de plante (activité antimicrobienne)	44
09	Scores des Flavonoides d'extraits de plante (activité antioxydante)	
10	Scores de composés phénolique extraits de plante (activité antioxydante)	
11	Prédiction des propriétés ADMET des composés phénoliques étudiés par PKCSM	54
12	Prédiction des propriétés ADMET des Flavonoides étudiés par PKCSM	55

Liste des Figures

N^o	Titres	Pages
01	L'espèce de <i>Héliotropium Bacciferum</i>	05
02	Antioxydant defences in the organisme	11
03	Mécanismes d'action des agents antimicrobiens et mécanismes de résistance bactérienne	21
04	Mécanisme d'action des agents antifongique	23

05	Mécanisme de chitine synthase	25
06	Cycle viral et inhibiteurs	26
07	Schéma du docking moléculaire	30
08	Types d'interactions médicament-récepteur	34
09	Docking récepteur-ligand	35
10	Structures chimiques des polyphénols de plante	37
11	Interface du site protéine Data Bank(pdb)	40
12	Interface du logiciel Chimera(A)	41
13	Interface du logiciel PubChem	41
14	Interface du serveur pkcsn pour la prédiction des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques (ADMET)	43
15	Interactions entre le ligand Feuric acid et les Résidus de site actif de DNA gyrase	46
16	Interactions entre le ligand chlorogenic acid et les Résidus de site actif de DNA gyrase	47
17	Interactions entre le ligand pyro catechol et les Résidus de site actif de DNA gyrase	48
18	Interactions entre le ligand Vanillin et les Résidus de site actif de DNA gyrase	49
19	Interactions entre le ligand Rutin et les Résidus de site actif de DNA gyrase	49
20	Interactions entre le ligand Quercetine et les Résidus de site actif de DNA gyrase	50
21	Interactions entre le ligand Naringenin et les Résidus de site actif de DNA gyrase	51
22	Interactions entre le ligand Kaempferol et les Résidus de site actif de DNA gyrase	52
23	Interactions entre le ligand Apigenin et les Résidus de site actif de DNA gyrase	53
24	Interactions entre le ligand co-cristallisé et les Résidus de site actif de DNA gyrase	54
25	Interactions entre le ligand Acide Ellagique et les Résidus de site actif de DNA gyrase	55

26	Interactions entre le ligand Acide Cafféique et les Résidus de site actif de DNA gyrase	56
27	Interactions entre le ligand Acide chlorogénique et les Résidus de site actif de DNA gyrase	57
28	Interactions entre le ligand Acide Férulique et les Résidus de site actif de DNA gyrase	58
29	Interactions entre le ligand Acide Gallique et les Résidus de site actif de DNA gyrase	59
30	Interactions entre le ligand Gallate de Méthyle et les Résidus de site actif de DNA gyrase	60
31	Interactions entre le ligand Acide Syringique et les Résidus de site actif de DNA gyrase	61
32	Interactions entre le ligand Pyrocatéchol et les Résidus de site actif de DNA gyrase	61
33	Interactions entre le ligand Acide Cinnamique et les Résidus de site actif de DNA gyrase	62
34	Interactions entre le ligand Vanilline et les Résidus de site actif de DNA gyrase	63
35	Interactions entre le ligand co-cristallisé et les Résidus de site actif de DNA gyrase	63
36	Interactions entre le ligand Rutine et les Résidus de site actif de DNA gyrase	64
36	Interactions entre le ligand Naringénine et les Résidus de site actif de DNA gyrase	65
37	Interactions entre le ligand Apigénine et les Résidus de site actif de DNA gyrase	66
38	Interactions entre le ligand Kaempférol et les Résidus de site actif de DNA gyrase	66
39	Interactions entre le ligand Quercétine et les Résidus de site actif de DNA gyrase	67

Liste des Abréviation

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

ADNc : ADN complémentaire

ATP : Adénosine Triphosphate

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

ROS : Reactive Oxygen Species (Espèces réactives de l'oxygène)

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

OH• : Radical hydroxyle

O₂•⁻ : Anion superoxyde

ROO• : Radical peroxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

GSH : Glutathion

GSH-Px : Glutathion peroxydase

SOD : Superoxyde dismutase

CoQ10 : Coenzyme Q10

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme réduite)

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

PDB : Protein Data Bank (Banque de données des protéines)

pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties

UV : Ultra-Violet

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

Table des matières

Résumé

Remerciement

Dédicace

Liste Des Tableaux

Liste des figures

Liste d'Abreviation

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapitre 01

1-Généralité 4

2-Description botanique 4

3-Origine et distribution 5

4-Composition 6

5-Utilisation traditionnelle d '*Heliotropium bacciferum* 7

Chapitre 02

Activité antioxydant 8

1-1 Les radicaux libre : 8

1-2 ERO : 8

1-3 Stress oxydative 9

1-4 Antioxydant 9

1-4-1-Définition 9

1-4-2Mécanismes de l'activité antioxydant 9

1-4-3 Substances antioxydants..... 10

1.5- Les tests d'activité antioxydant 16

Les activités antimicrobiennes 17

2-1 Définition..... 17

2-2 activités antibactériennes..... 17

2-2-1 Bactérie 18

2-2-2 Facteurs influençant l'activité antimicrobienne 20

2-3 activités antifongiques.....	22
2-3-1 champignons.....	24
2-4 activités antivirales.....	24
2-5 activités antiparasitaires.....	28
2-6 activités antiseptiques	28

Chapitre 03

1- Définition	30
2- Intérêt de docking moléculaire	30
3- Les outils de docking moléculaire	31
3- 1 Ligand	31
3-2 Récepteur	32
3-3 le docking ligand-récepteur.....	32
4- les programmes du docking moléculaire	34

Partie Pratique

Matériel et Méthode.....	35
Résultats et Discussion.....	43
Conclusion.....	57
Liste des Références.....	59

Introduction

Les plantes médicinales constituent l'une des plus anciennes formes de thérapie et sont utilisées depuis des milliers d'années en médecine traditionnelle dans de nombreuses régions du monde. Les connaissances relatives à leurs effets bénéfiques se sont transmises de manière empirique de génération en génération au sein des sociétés humaines(Khan, 2014)

Les produits naturels continuent de jouer un rôle important en tant que sources de composés thérapeutiques, et de nombreux médicaments modernes dérivés de la phytothérapie traditionnelle sont actuellement utilisés en pharmacothérapie.

De plus, les activités biologiques de nombreuses espèces végétales traditionnellement utilisées, ainsi que leurs constituants bioactifs, ont été clarifiées au fil du temps. Tant l'approche conventionnelle de découverte de médicaments guidée par des bioessais que les méthodes modernes, notamment le criblage à haut débit(Jamshidi-kia *et al.*, 2018) ;(Harvey & Creel, 2010) et la pharmacognosie inverse(Takenaka, 2001) ont permis l'identification d'un grand nombre de composés phytochimiques bioactifs.

Malgré ces avancées, les plantes médicinales recèlent encore un potentiel considérable, car la composition phytochimique et les bienfaits potentiels pour la santé de nombreuses espèces restent insuffisamment explorés et nécessitent des recherches plus approfondies

Parmi les propriétés biologiques les plus étudiées des plantes médicinales figurent les activités antioxydantes et antimicrobiennes(Jamshidi-kia *et al.*, 2018)

Le stress oxydatif, facteur majeur impliqué dans le développement de nombreuses pathologies, résulte d'un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les mécanismes de défense antioxydants de l'organisme. Ces ROS sont générées au cours des processus métaboliques cellulaires ou sous l'effet de facteurs environnementaux tels que les rayonnements ultraviolets et les rayons X. À des concentrations élevées, elles peuvent endommager des biomolécules essentielles comme l'ADN et les protéines, entraînant ainsi des altérations fonctionnelles et diverses maladies, notamment le cancer. Les antioxydants, en revanche, assurent une protection cellulaire en neutralisant ces radicaux libres. Les composés d'origine végétale constituent ainsi une source naturelle importante d'antioxydants, contribuant efficacement à la prévention de nombreuses maladies.(Devadas *et al.*, 2002).

Par ailleurs, les maladies infectieuses demeurent un problème majeur de santé publique, notamment en raison de l'émergence croissante de souches microbiennes résistantes aux antibiotiques. Cette résistance limite l'efficacité des traitements conventionnels et constitue un défi considérable à l'échelle mondiale. Dans ce contexte, la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes d'origine naturelle suscite un intérêt croissant. Les plantes médicinales représentent une source importante de composés bioactifs, tels que les alcaloïdes, les

flavonoïdes et les terpènes, capables d'inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes. De nombreuses études ont ainsi démontré le potentiel des extraits végétaux comme agents antimicrobiens efficaces, offrant une alternative prometteuse aux antibiotiques classiques.

Parmi ces plantes, le genre *Héliotropium* occupe une place particulière en raison de sa large distribution dans différentes régions, notamment les zones arides et semi-arides.(Manso *et al.*, 2022).

Ce genre appartient à la famille des Boraginacées (Boraginaceae) et regroupe plusieurs espèces reconnues pour leur richesse en métabolites secondaires biologiquement actifs, notamment les alcaloïdes et les composés phénoliques, leur conférant diverses propriétés biologiques (Fayed,M, 2021).

Certaines espèces du genre *Héliotropium* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs affections, bien que leur exploitation reste encore peu documentée sur le plan scientifique. Dans ce contexte, ce genre a fait l'objet de diverses études visant à analyser sa composition chimique ainsi qu'à évaluer ses activités biologiques potentielles(Aissaoui, Mencherini, *et al.*, 2019).

L'Heliotropium bacciferum, une espèce appartenant à la famille des Boraginacées, constitue une source riche en alcaloïdes pyrrolizidiniques, et certains de ces composés présentent des propriétés antihyperlipidémiques, antitumorales, antidiabétiques et antimicrobiennes(Murugesh *et al.*, 2006).

Les antioxydants végétaux revêtent une importance considérable en raison de leur activité biologique contre les espèces réactives de l'oxygène, notamment le peroxyde d'hydrogène et le superoxyde.

Cependant, malgré ce potentiel thérapeutique important, les activités antioxydante et antimicrobienne de nombreuses plantes médicinales restent encore insuffisamment explorées et caractérisées(Ebadi, 2006).

Les outils *in silico* s'appuient sur des données existantes ou sur des informations issues de structures moléculaires pour prédire l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion (propriétés ADME qui déterminent l'exposition interne), ainsi que l'activité biologique, y compris la toxicité ou la dangerosité, d'un produit chimique.

« Les efforts visent actuellement à réduire, à affiner et à remplacer l'expérimentation animale par le recours à des méthodes alternatives » (Juddith. C *et al.*, 2020).

Des alternatives à l'expérimentation animale ont été proposées afin de pallier certains des inconvénients liés aux expériences sur les animaux et d'éviter les procédures contraires à

l'éthique. Une stratégie dite des « 3 R » est actuellement mise en œuvre ; ces lettres désignent la réduction, le raffinement et le remplacement de l'utilisation des animaux en laboratoire.

Le remplacement des animaux est défini comme « toute méthode scientifique utilisant du matériel non sensible susceptible de se substituer à l'utilisation de vertébrés vivants et conscients dans l'expérimentation animale ». On distingue deux types de remplacement : le remplacement « relatif » et le remplacement « absolu ». Dans le cas du remplacement relatif, les animaux sont utilisés, mais ne subissent aucune souffrance pendant l'expérience. La stratégie de remplacement absolu consiste à ne recourir à aucun animal à aucun stade de l'expérience. Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier, par une approche *in silico*, les activités antioxydantes et antimicrobiennes des composés bioactifs de *Hélotropium bacciferum*. (Ranganatha & Kuppast, 2012).

Ce travail vise à identifier les principales molécules bioactives de cette plante et à évaluer leur potentiel biologique, notamment leurs activités antioxydantes et antibactériennes, à l'aide d'outils bioinformatiques.

Il a également pour objectif d'analyser les interactions moléculaires entre ces composés et leurs cibles biologiques afin de mieux comprendre leurs mécanismes d'action.

Ce mémoire est structuré en trois chapitres : le premier présente une synthèse bibliographique sur les activités antioxydantes et antimicrobiennes des plantes médicinales ; le deuxième décrit les approches et méthodes *in silico* utilisées ; tandis que le troisième expose les résultats obtenus ainsi que leur interprétation.

Partie bibliographique



Chapitre I :

Plante herbacée *Héliotropium*

Bacciferum

1-Généralité

La famille des *Boraginaceae* comprend 100 genres et plus de 2 000 espèces. La flore égyptienne compte 49 espèces appartenant à 14 genres de la famille des *Boraginaceae*. *Heliotropium* est l'un des genres de cette famille qui pousse en Égypte (EL- Gazzar *et al.*, 2019)

Les plantes de ce genre sont de nature herbacée et se trouvent dans les régions tropicales et tempérées du monde entier. Elles comprennent environ 300 espèces végétales, communément appelées héliotropes (Dresler *et al.*, 2017) *Heliotropium bacciferum* appartient à la famille des *Boraginaceae* et est une plante herbacée vivace à rhizome ligneux.

Cette plante herbacée vivace se trouve dans la région de Béchar en Algérie. La population utilise cette plante comme remède traditionnel pour soigner l'amygdalite et d'autres maladies de la peau (Aissaoui, Menecherini, *et al.*, 2019) Il a été démontré que cette plante possède des propriétés antimicrobiennes, antihyperlipidémiques, antidiabétiques et antitumorales. Plus précisément, la plante a de bonnes propriétés antibactériennes et antifongiques contre différentes souches bactériennes et fongiques (Ahmad *et al.*, 2016).

2-Description botanique

Bacciferum est une espèce fréquente, en particulier dans les zones côtières du golfe Persique et de la mer d'Oman. Ses habitats varient des dunes littorales aux marais salants, en passant par les plaines salines et les zones graveleuses sèches. Cette espèce présente une grande variabilité au niveau de la forme des feuilles, des akènes et du pubescence. C'est pourquoi certains auteurs (RiEDL 1967 ; Kazmi 1970 ; LEONARD 1985). l'ont divisée en plusieurs espèces et taxons infraspécifiques. La distinction entre *H. bacciferum* et d'autres taxons décrits séparément de ce groupe très complexe n'est pas tout à fait claire. Il est pratiquement impossible de classer des variations aussi extrêmes en espèces ou taxons infraspécifiques bien définis et distincts. Tous les taxons de la région Flora Iranica qui semblent appartenir à *H. bacciferum* s.l. selon les auteurs sont donc provisoirement répertoriés comme synonymes de cette espèce. Le fait que de nombreuses formes intermédiaires puissent être trouvées ne permet pas une séparation exacte entre *H. bacciferum* s.str. (espèce buissonnante à feuilles étroites, quelque peu charnues et semi-cylindriques et à akènes glabres et ailés) et *H. ramosissimum* (dominant dans les déserts intérieurs et caractérisé principalement par des feuilles larges, velues et des akènes entiers) comme l'a fait LtoNARD (1985 : 27/28). Il est plus probable que ces différences soient d'ordre écologique plutôt que génétique (Akham & Further, 1994) .

L'espèce *H. bacciferum* est une herbe annuelle atteignant environ 50 cm de hauteur, pouvant être rampante ou dressée, avec une coloration vert grisâtre. Elle possède des feuilles à limbe polymorphe, oblancéolé, mesurant environ $5 \text{ à } 6 \times 1,5 \text{ cm}$, avec des bords ondulés.



Figure 1: L'espèce de *Héliotropium Bacciferum*

Les cymes scorpioides sont plus ou moins allongées et portent de petites fleurs blanches (Adam et al., 1972) disposées sur un seul rang tandis que les fruits sont glabres (Schmelzer *et al.*, 2008). La plante est généralement ligneuse à la base (Quezel & Santa, 1963).

Tableau 1: systématique de la plante

Range	Classification
Classe	Equisetopsida
Ordre	Boraginales
Famille	Boraginaceae
Genre	Héliotropium
Espèce	<i>Heliotropium bacciferum</i>

3-Origine et distribution

Heliotropium bacciferum Forssk. appartient à la famille des Boraginacées ; c'est une plante herbacée dressée qui se caractérise par une racine ligneuse vivace lui permettant de résister à des conditions environnementales difficiles. Cette plante pousse naturellement dans les régions désertiques arides d'Afrique du Nord et du Sahel, notamment en Mauritanie, au Sénégal, au Mali et dans le nord du Nigeria, où les températures sont élevées et l'eau rare (EL- Gazzar *et*

al., 2019) .Sa répartition s'étend également à l'Arabie saoudite, à la vallée du Nil, à la péninsule du Sinaï et à certaines parties de l'Asie tropicale, ce qui démontre sa capacité d'adaptation à des conditions climatiques variées. Originaire de la vallée du Nil, cette plante prospère en Égypte et au Soudan, où elle affiche une forte croissance sur les terres nouvellement mises en valeur et dans les oueds. Elle est cultivée dans plusieurs zones agricoles récemment mises en valeur dans la région de Taif et la province orientale de l'Arabie saoudite. Cette large répartition et cette adaptabilité font de *H. bacciferum* une plante importante non seulement pour ses usages médicaux et traditionnels, mais aussi en tant qu'espèce résiliente capable de prospérer dans divers contextes environnementaux et agricoles(Al Kamaly *et al.*, 2023).

4-Composition

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *Heliotropium bacciferum*, obtenue par hydrodistillation (réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)) a permis l'identification de 76 composés, représentant 100 % de la composition totale de l'huile essentielle. Les constituants identifiés montrent une grande diversité chimique, caractérisée principalement par une prédominance des terpènes, notamment les sesquiterpènes, suivis des monoterpènes et d'autres composés oxygénés. Les terpènes constituent 81,34 % de l'huile essentielle, avec une forte dominance des sesquiterpènes (68,46 %), tandis que les composés oxygénés tels que les esters, alcools, cétones, phénols, acides et lactones représentent 18,66 %. Parmi les composés identifiés, les constituants majeurs sont l'agarospirol, le rosifoliol, l'elemol, le τ -cadinol, le linalool, le shyobunol et l'oxalic acid, cyclohexylmethyl tridecyl ester. La majorité de ces composés majeurs appartiennent à la classe des sesquiterpènes, à l'exception du linalool, qui est un monoterpène, et de l'ester oxalique qui appartient à la classe des esters. La richesse de l'huile essentielle en sesquiterpènes et en composés oxygénés reflète la complexité chimique de *Heliotropium bacciferum* et explique l'intérêt porté à cette plante pour des études chimiques et biologiques approfondies.(Ganan *et al.*, 2009) .

Table 02 : Composés phénoliques et flavonoïdes de *Heliotropium bacciferum* (extrait méthanolique, HPLC).(ABDELKHALEK *et al.*, 2024)

flavonoïdes	Concentration
Daidzein	3935.56
Naringenin	3003.41
Quercetine	519.45

Kaempferol	441.39
Hesperetin	118.19
Apigenin	66.62
Rutin	11.93

Composés phénoliques	Concentration (µg /g)
Acide Galique	4824.75
Acide Chlorogenique	2294.07
Acide Caffeiique	2330.30
Acide Ellagique	1673.13
Acide Coumarique	1178.53
Acide Syringique	996.22
Gallate de Methyle	487.04
Acide Ferulique	345.62
Vanilline	181.64
Pyrocatechole	68.37
Acide Cinnamique	58.77

5-Utilisation traditionnelle d'*Heliotropium bacciferum*

Heliotropium bacciferum est largement utilisé en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. Différentes parties de la plante sont utilisées pour soigner des affections cutanées telles que les abcès, les furoncles, la teigne, les brûlures et les plaies. En Arabie saoudite, il est traditionnellement utilisé comme remède contre les piqûres de scorpion. Les feuilles séchées et réduites en poudre sont parfois mélangées à du lait ou à de l'eau pour traiter la teigne. La plante est également utilisée comme fourrage pour les chameaux en raison de sa valeur nutritionnelle. Divers extraits, notamment les extraits bruts, au chloroforme et à l'acétate d'éthyle, ont démontré des activités antibactériennes et antifongiques conformes à ses applications traditionnelles, ce qui suggère des effets curatifs potentiels. La plante est particulièrement appréciée pour sa richesse en métabolites secondaires, notamment en alcaloïdes pyrrolizidiniques, qui contribuent à ses propriétés médicinales (Aissaoui, Menecherini, *et al.*, 2019).

Chapitre II :

L'Activité antioxydant et antimicrobienne

Activité antioxydant

En biologie moléculaire, l'apparition de processus dégénératifs est associée à un excès de radicaux libres, qui favorise des réactions oxydatives nocives pour l'organisme.

La forte teneur des plantes en composés antioxydants, capables de piéger les radicaux libres (tels que les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, les dérivés d'anthocyanes, les acides gras insaturés, les vitamines, les enzymes et les cofacteurs), a suscité un intérêt croissant pour leur utilisation en phytothérapie, tant à titre préventif que thérapeutique (Munteanu & Apetrei, 2010).

L'Heliotropium bacciferum, de la famille des Boraginacées, constitue une source riche en alcaloïdes pyrrolizidiniques, dont certains présentent des propriétés antihyperlipidémiques, antitumorales, antidiabétiques et antimicrobiennes (Muruges *et al.*, 2006). En raison de leur activité biologique contre les espèces réactives de l'oxygène, telles que le peroxyde d'hydrogène et le superoxyde, les antioxydants végétaux revêtent une importance considérable (Ebadi, 2006).

1-1 Les radicaux libre :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant une configuration électronique instable, ce qui leur confère une forte réactivité vis-à-vis des molécules organiques et des structures cellulaires. Ils sont produits de manière inévitable lors du métabolisme énergétique ainsi que par diverses autres voies biologiques. À des niveaux physiologiques, ils participent au bon fonctionnement de l'organisme et au maintien de la santé des mammifères. Toutefois, une production excessive peut entraîner des effets délétères. Même en l'absence de pathologie, leur formation peut être amplifiée par différents facteurs de stress, tels que les manipulations brutales, l'activité physique intense, le froid, une alimentation excessive ou déséquilibrée. Dans ces conditions, leur accumulation peut devenir nuisible, affectant à la fois les performances quantitatives et la qualité des productions animales (AUROUSSEAU, 2002).

1-2 ERO :

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent être définies comme des métabolites intermédiaires contenant de l'oxygène, avec ou sans électron non apparié. Elles comprennent les oxyradicaux (radicaux libres centrés sur l'oxygène) tels que les anions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$), les radicaux hydroxyles ($OH^{\bullet}$), les radicaux alcoyles ($RO^{\bullet}$) et les radicaux peroxydes ($ROO^{\bullet}$), ainsi que des espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux ($HOCl$) et l'oxygène singulet ($^1O_2$) (Rammal *et al.*, 2010) ; (Bouayed, 2010).

1-3 Stress oxydative

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre biologique où la production de molécules oxydantes, principalement les espèces réactives de l'oxygène (ROS), dépasse la capacité des systèmes antioxydants de l'organisme à les neutraliser, entraînant des dommages aux biomolécules et perturbant le fonctionnement cellulaire normal (HAMMA *et al.*, 2015).

1-4 Antioxydant

1-4-1-Définition

Un antioxydant est défini comme toute substance qui, même à de faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable, peut efficacement retarder ou empêcher son oxydation. Comme le suggère cette définition (Halliwell & Gutteridge, 1995), les antioxydants jouent un rôle physiologique dans la protection des composants cellulaires contre les dommages causés par les réactions chimiques impliquant des radicaux libres (Halliwell, 1989).

1-4-2 Mécanismes de l'activité antioxydant

Mécanismes directs

- **Transfert d'atomes d'hydrogène (HAT)**

Ce mécanisme correspond au transfert d'un atome d'hydrogène de l'antioxydant vers un radical libre, permettant ainsi sa neutralisation. Il s'agit d'un mécanisme fréquent chez de nombreux antioxydants, notamment les polyphénols et les flavonoïdes.

- **Transfert d'un seul électron (SET)**

Les antioxydants peuvent céder un électron à un radical libre, le transformant en une espèce moins réactive. Dans les systèmes complexes, ce mécanisme est souvent associé à un transfert de protons (SET-PT) (Santos_Sanchez *et al.*, 2019) ; (Hamadouche *et al.*, 2024)

- **Transfert d'électrons par perte séquentielle de protons (SPLET)**

Ce mécanisme, observé comme favorable dans la bétanine et la bétanidine, implique d'abord la perte d'un proton suivie d'un transfert d'électrons, ce qui permet de piéger efficacement les radicaux (Ramirez_Velasque *et al.*, 2022).

Mécanismes indirects

- **Modulation de la signalisation redox**

Les antioxydants peuvent agir sur l'homéostasie redox en modulant les niveaux des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, influençant ainsi différentes voies de signalisation (Hunyadi, 2019).

- **Hormèse et fonction mitochondriale**

Certains antioxydants stimulent les voies de détoxification et modulent la fonction mitochondriale, ce qui améliore la capacité des cellules à résister au stress oxydatif (Franco *et al.*, 2019).

- **Influences structurelles et environnementales**

- Structure chimique

La présence de groupes fonctionnels spécifiques, notamment les groupes hydroxyles phénoliques, augmente fortement l'activité antioxydante. Par exemple, le groupe hydroxyle para-phénol des flavonoïdes de la réglisse joue un rôle déterminant dans cette activité (Hu *et al.*, 2023).

- Solvant et conditions environnementales

L'activité antioxydante peut varier selon l'environnement du solvant. Dans le cas des flavonoïdes de réglisse et des dérivés du 1,3,4-oxadiazole, la polarité du solvant influence leur efficacité. (Hu *et al.*, 2023) ; (Bakheit *et al.*, 2024).

1-4-3 Substances antioxydants

1-4-3-1 _antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes, qui sont produits par le métabolisme de l'organisme, peuvent être de nature enzymatique ou non enzymatique (Babulla *et al.*, 2012).

1-4-3-1-1 Les antioxydants enzymatiques

Ils sont classés en deux groupes :

Enzymes primaires : superoxyde dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxydase (GSH-PX) et thiorédoxine, qui maintiennent l'équilibre redox et un environnement réducteur dans la cellule.

Enzymes régulées par l'élément de réponse antioxydante (ARE), activées par le facteur Nrf2 (Alam & Cook, 2007) ; (Kensler *et al.*, 2007) impliquées dans l'inactivation des oxydants et la régulation du GSH et du NADPH.

✓ Antioxydants enzymatiques primaires

SOD : transforme le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en H_2O_2 et O_2 . Elle existe sous trois formes : cytosolique, mitochondriale et extracellulaire.

Catalase et peroxydases : dégradent le H_2O_2 .

La catalase le transforme en eau et oxygène.

Les peroxydases utilisent le H_2O_2 pour oxyder d'autres substrats.

GSH-PX : convertit le H_2O_2 en eau avec le glutathion (GSH) et nécessite le sélénium comme cofacteur.

✓ Enzymes régulées par l'ARE

HO-1 : dégrade l'hème en fer, CO et biliverdine (transformée en bilirubine), avec des effets antioxydants et anti-inflammatoires.

NQO-1 : enzyme impliquée dans la réponse antioxydante. (Birben *et al.*, 2012) ; (Lubos *et al.*, 2011).

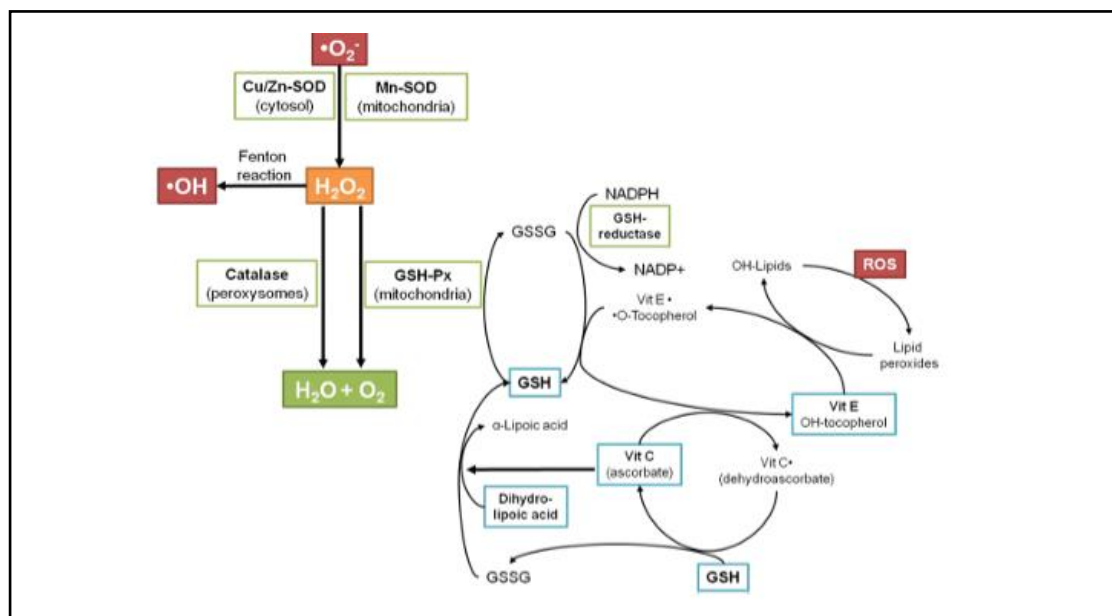


Figure 02 :Antioxydant defences in the organisme(Kurutas, 2016)

1-4-3-1-2 Antioxydant non enzymatique

Les antioxydants non enzymatiques, également appelés antioxydants de faible poids moléculaire, sont présents dans le plasma, les liquides extracellulaires, les liquides intracellulaires, les lipoprotéines et les membranes cellulaires. Outre le GSH, ce groupe comprend plusieurs antioxydants d'origine alimentaire ainsi que des composés synthétisés par l'organisme (Kristien *et al.*, 2018).

Coenzyme Q10 (CoQ10)

La coenzyme Q10 (CoQ10), également connue sous le nom d'ubiquinone ou d'ubiquinol, est synthétisée dans tous les tissus de l'organisme (Petrova *et al.*, 2014) ; (Jankowski *et al.*, 2016). Elle participe principalement au transport d'électrons au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale (Bentinger *et al.*, 2010). La CoQ10 agit en phase lipidique dans des réactions redox (Acosta *et al.*, 2016). Sa forme réduite, l'ubiquinol (CoQ10H₂), peut céder de l'hydrogène aux radicaux libres, ce qui entraîne sa conversion en radical ubiquinone (CoQ10H), qui possède également une activité antioxydante (Navasa *et al.*, 2007).

De plus, l'ubiquinol peut réduire l' α -tocophérol oxydé en sa forme réduite, qui présente de fortes propriétés antioxydantes (Noh *et al.*, 2013) ; (Donnino *et al.*, 2011).

Glutathion (GSH)

Le glutathion (GSH) est un composé constitué de glycine, cystéine et acide glutamique, synthétisé dans divers tissus (Forman *et al.*, 2009). Le GSH joue un rôle majeur en tant qu'antioxydant, en piégeant les radicaux libres et en participant à la réparation des composants cellulaires endommagés (Allil *et al.*, 2014) ; (Nutrients, 2013b).

La capacité antioxydante du GSH est liée au groupe thiol (-SH), qui permet de protéger les protéines contre les dommages oxydatifs (Samuelsson *et al.*, 2011). Il neutralise les ROS, régénère d'autres antioxydants et participe à la réparation des protéines, des acides nucléiques et des lipides (Rahman, 2007) ; (Nutrients, 2013a).

Acide urique (AU)

L'acide urique (AU) est un composé produit lors du métabolisme des purines, agissant comme antioxydant hydrophile (Lippi *et al.*, 2008). Il agit comme un agent réducteur et un antioxydant efficace, capable de piéger différentes espèces réactives de l'oxygène (Ekpenyong & Akpan, 2014) ; (Reyes, 2005). Il peut former des complexes avec les ions fer et cuivre, inhibant ainsi les réactions des radicaux libres (Stinefelt *et al.*, 2005).

De plus, l'acide urique contribue à la protection des enzymes antioxydantes et participe à la régulation de leur activité (Maiuolo *et al.*, 2016).

1-4-3-2 Antioxydants exogènes

Ces composés pénètrent dans l'organisme par le biais de l'alimentation, puisqu'ils sont présents dans certains aliments, ou par le biais de compléments alimentaires antioxydants, associés à des cofacteurs tels que le cuivre, le zinc, le manganèse, le fer et le sélénium. L'apport en antioxydants exogènes peut renforcer les défenses de l'organisme et aider les antioxydants endogènes à lutter contre les maladies (Carlsen, 2010).

1-4 -3-2-1 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques, ou polyphénols, sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles, libres ou liés à un glucide. Ils se retrouvent dans toutes les parties des végétaux supérieurs, notamment les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les pollens, les fruits, les graines et le bois. Ils interviennent dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Parmi les plus représentés, on retrouve les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Nathalie & Jean-paul, 2006).

- **Les composés phénoliques dans *Heliotropium bacciferum***

Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent un groupe de composés naturels caractérisés par des structures phénoliques variées qui dérivent de la structure benzo- γ -pyrone (Ghedira, 2005). On les trouve en abondance dans les fruits, les légumes, les céréales, l'écorce, les racines, les tiges et les fleurs, ainsi que dans le thé et le vin.

Ces composés appartiennent à la classe des métabolites secondaires végétaux et se distinguent par leur structure polyphénolique (Panch *et al.*, 2016). Ils représentent un groupe de plus de 6 composés naturels. Ces substances sont responsables des pigments donnant des colorations jaune, orange et rouge à différents organes des plantes.

Les flavonoïdes peuvent moduler l'activité de certaines enzymes et influencer le fonctionnement de plusieurs systèmes cellulaires. Ils peuvent exercer diverses activités biologiques, incluant des effets antioxydants, vasculoprotecteurs, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, anti-ulcéreux et même antitumoraux (Ghedira, 2005).

Activité antioxydant de flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimutagènes et anticancérigènes. Presque toutes les classes de flavonoïdes ont la capacité d'agir comme antioxydants. Ils peuvent prévenir les dommages causés par les radicaux libres grâce à divers mécanismes, notamment en piégeant directement ces radicaux .

Les flavonoïdes stabilisent les espèces réactives de l'oxygène en interagissant avec les composants réactifs des radicaux (Panch *et al.*, 2016) ils inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupe hydroxyle (C3-OH) hautement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques, qui peuvent amplifier les effets délétères par la formation de radicaux hydroxyles. REF (Ghedira, 2005).

Classification

Les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs sous-groupes, notamment les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanols (ou catéchines), les anthocyanines et les chalcones (Panch *et al.*, 2016).

Tableau 03 : Types de flavonoïdes présents dans *Heliotropium bacciferum* (Ahmed, *et al.* 2024)

Composé (nom)	Type	Formule
Quercetine	Flavanol	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
Rutin	Flavanol glucoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆
Kaempferol	Flavanol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆
Apigenin	Flavone	C ₁₅ H ₁₀ O ₅
Hesperitin	Flavanone	C ₃₅ H ₂₈ ClNO ₉
Diadzein	Isolavone	C ₁₅ H ₁₀ O ₄
Naringenin	Flavanon	C ₁₅ H ₁₂ O ₅

Effets pharmacologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont aujourd'hui considérés comme un composant essentiel dans diverses applications nutraceutiques, pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques. Ils présentent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimutagènes et anticancérigènes. Ils sont également connus pour être de puissants inhibiteurs de plusieurs enzymes, notamment la xanthine oxydase (XO), la cyclo-oxygénase (COX) et la lipoxygénase (Panch *et al.*, 2016).

Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement présents dans les aliments et se classent en deux grands groupes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. La teneur en acides hydroxybenzoïques des plantes comestibles est généralement faible, sauf dans certains fruits rouges, le radis noir et les oignons, où les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de poids frais (Shahidi & Naczk, 1995)

Les acides hydroxycinnamiques sont plus courants que les acides hydroxybenzoïques et comprennent principalement les acides p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (de Groot & Rauen, 1998)

Tableau 04 : Les acides phénoliques présents dans le *Heliotropium bacciferum* (Ahmed, *et al.* 2024)

Acide phénoliques	Formule
Acide Gallique	C ₇ H ₆ O ₅
Acide Chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
Acide Ellagique	C ₁₄ H ₆ O ₈
Acide Coumatrique	C ₁₅ H ₁₈ O ₈
Acide Syringique	C ₁₅ H ₁₈ O ₈
Gallate de Methyl	C ₈ H ₈ O ₅
Acide Ferulique	C ₁₀ H ₁₀ O ₄
Vanilline	C ₈ H ₈ O ₃
Pyro catechole	C ₈ H ₁₂ ClNO ₂
Acide Cinnamique	C ₉ H ₈ O ₂

Les tannins

Les tannins sont des polyphénols, parfois appelés polyphénols végétaux (Haslam, 1989). À l'origine, le terme « tanin » désignait les extraits végétaux présentant une astringence, sans que l'on connaisse leur structure chimique. Les caractéristiques qui distinguent les tanins des autres types de polyphénols végétaux sont principalement liées à leurs propriétés, notamment leur capacité à se lier aux protéines, aux composés basiques, aux pigments, aux composés de grande taille et aux ions métalliques, ainsi qu'à leurs activités antioxydantes (Okuda *et al.*, 1985).

1-4-3-2-2 Les vitamines

La vitamine C

(Acide ascorbique) est un antioxydant extrêmement important et puissant qui agit dans les milieux aqueux de l'organisme, tels que les poumons et le cristallin de l'œil.

Son activité antioxydante est principalement liée à l'AscH⁻, qui agit comme un antioxydant donneur en réagissant avec les radicaux pour former le radical libre ascorbate stabilisé par résonance (Asc•⁻). Lors de l'oxydation par diverses espèces réactives de l'oxygène (ERO), l'ascorbate forme le radical semidéhydroascorbate (Asc•⁻), un radical faiblement réactif considéré comme un antioxydant terminal à petite molécule.

La vitamine C agit en synergie avec la vitamine E en régénérant l' α -tocophérol à partir de sa forme radicalaire dans les membranes et les lipoprotéines. Ses principaux partenaires antioxydants comprennent la vitamine E, les caroténoïdes et les enzymes antioxydants.

La vitamine C est également reconnue pour son rôle dans la protection des membranes contre les dommages oxydatifs (kojo, 2004a) ; (carr & Frei, 1999).

La Vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble qui existe sous huit formes différentes. Parmi celles-ci, l' α -tocophérol est la forme la plus active chez l'être humain et agit comme un puissant antioxydant biologique. Il est considéré comme le principal antioxydant membranaire utilisé par les cellules (Burton & Inglood, 1989).

La principale fonction antioxydante de l' α -tocophérol est de protéger contre la peroxydation lipidique. L' α -tocophérol et l'acide ascorbique agissent ensemble dans un processus cyclique. Au cours de cette activité antioxydante, l' α -tocophérol cède un atome d'hydrogène labile à un radical peroxy lipidique (kojo, 2004a). formant ainsi un radical α -tocophérol. Ce radical peut ensuite être réduit à sa forme initiale d' α -tocophérol par l'acide ascorbique(kojo, 2004).

1.5- Les tests d'activité antioxydant

L'activité de piégeage du radical DPPH de l'extrait brut et des différentes fractions des feuilles, des tiges et des racines *d'Heliotropium bacciferum* a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV à 517 nm contre le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).

L'activité antioxydante a été évaluée selon des procédures décrites précédemment, avec de légères modifications.

Une solution mère (1 000 mg/mL) d'extraits *d'Heliotropium bacciferum* a été préparée, suivie de dilutions en série de l'extrait brut et des fractions à des concentrations de 50, 100, 150, 200 et 250 mg/mL.

La vitamine C (acide ascorbique) a été utilisée comme étalon.

Une solution de DPPH (0,003 g/100 ml) a été préparée et ajoutée à chacune des cinq dilutions d'extrait.

L'absorbance a été mesurée après 30 minutes à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une augmentation de l'activité de piégeage des radicaux libres DPPH correspond à une diminution de l'absorbance de la solution de DPPH(Sohail, shabir, et al., 2014).

Les activités antimicrobiennes

Avant même la découverte des micro-organismes, l'Homme avait déjà identifié que certaines plantes possédaient des propriétés curatives, notamment dans le traitement des maladies infectieuses. Depuis l'Antiquité, l'utilisation des plantes médicinales s'est largement répandue dans la médecine traditionnelle, et plusieurs d'entre elles continuent d'être employées jusqu'à nos jours en raison de leur richesse en composés bioactifs à activité antimicrobienne.

Au cours des dernières décennies, l'intérêt scientifique pour les plantes médicinales n'a cessé de croître, en tant que source potentielle de nouvelles molécules naturelles capables de lutter contre les infections, notamment face à l'augmentation de la résistance microbienne aux antibiotiques. Ces substances actives appartiennent à diverses classes chimiques, telles que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpènes et les composés phénoliques, qui ont démontré une efficacité significative contre différents micro-organismes pathogènes.

Dans ce contexte, *Héliotropium bacciferum* constitue une plante d'intérêt particulier ayant fait l'objet de nombreuses études mettant en évidence son potentiel biologique. En effet, cette espèce renferme des métabolites secondaires susceptibles de lui conférer une activité antimicrobienne notable, ce qui en fait une source prometteuse de nouveaux agents anti-infectieux d'origine naturelle (Aida *et al.*, 2001).

2-1 Définition

L'activité antimicrobienne désigne la capacité d'une substance à inhiber la croissance des micro-organismes ou à les détruire. Elle peut être de nature bactériostatique (inhibition de la croissance) ou bactéricide (destruction des cellules microbiennes). (Grange & Davey, 1990).

2-2 activités antibactériennes

Les composés phénoliques présentent une activité antibactérienne significative reposant sur plusieurs mécanismes d'action. Ils peuvent s'adsorber à la surface de la membrane cellulaire bactérienne et en altérer l'intégrité structurale, entraînant une augmentation de la perméabilité membranaire et une perturbation des fonctions vitales de la cellule. Par ailleurs, ces composés sont capables d'interagir avec les protéines enzymatiques, provoquant une inhibition de l'activité enzymatique et une altération du métabolisme cellulaire.

En outre, les composés phénoliques peuvent former des complexes avec les substrats et les ions métalliques essentiels, limitant ainsi leur disponibilité pour les micro-organismes. Cette privation en éléments indispensables, combinée aux perturbations membranaires et enzymatiques, conduit à une inhibition de la croissance bactérienne, voire à la lyse cellulaire.

Dans ce cadre, la plante *Héliotropium bacciferum*, en tant que plante herbacée riche en métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques et flavonoïdes, pourrait constituer une source potentielle d'agents antimicrobiens naturels. Ces composés bioactifs sont susceptibles de conférer à la plante ses propriétés antibactériennes en agissant selon plusieurs mécanismes.(Shabir *et al.*, 2015) .

2-2-1 Bactérie

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires appartenant au groupe des procaryotes, caractérisés par l'absence d'un noyau véritable. Elles sont omniprésentes dans l'environnement et peuvent être bénéfiques ou pathogènes.

Elles sont classées en deux groupes selon la coloration de Gram :

- Gram positives : paroi épaisse riche en peptidoglycane
- Gram négatives : paroi mince avec membrane externe(Trived *et al.*, s.d).

- Mécanismes de l'activité antibactérienne et de la résistance

L'activité antibactérienne d'un agent repose principalement sur deux mécanismes : l'interférence chimique avec la synthèse ou le fonctionnement de composants bactériens essentiels, et/ou la capacité à contourner les mécanismes classiques de résistance aux agents antibactériens.

Les agents antibactériens agissent sur plusieurs cibles, notamment (I) la biosynthèse des protéines bactériennes, (II) la biosynthèse de la paroi cellulaire, (III) la perturbation de la membrane cellulaire bactérienne, (IV) la réplication et la réparation de l'ADN, et (V) l'inhibition des voies métaboliques.

Les bactéries peuvent développer une résistance aux agents antibactériens par différents mécanismes. Certaines espèces présentent une résistance intrinsèque, toutes les souches étant naturellement résistantes à certaines classes d'antimicrobiens. La résistance acquise, dans laquelle des populations bactériennes initialement sensibles deviennent résistantes aux agents antibactériens, constitue une préoccupation majeure.

La compréhension de ces mécanismes de résistance est essentielle pour limiter le développement de la résistance aux antibiotiques. Ces mécanismes comprennent principalement l'activation de pompes d'efflux, la dégradation enzymatique des agents antibactériens, la modification des antibiotiques par des enzymes spécifiques et les altérations structurelles des cibles bactériennes, qui réduisent leur affinité pour la reconnaissance antibactérienne. La résistance peut résulter d'un mécanisme unique ou d'une combinaison de plusieurs mécanismes. La propagation de la résistance aux antibiotiques au sein des populations bactériennes est en grande partie médiée par des plasmides, qui agissent comme du matériel

génétique capable de se répliquer de manière indépendante et de se transférer entre les cellules bactériennes et les espèces (Tenover, 2006).

Mécanismes d'action des agents antibactériens

- **Biosynthèse des protéines bactériennes**

La synthèse des protéines chez les bactéries implique plusieurs étapes moléculaires, notamment l'initiation, l'élongation et la terminaison au niveau du ribosome. L'inhibition de la synthèse des protéines en ciblant les sous-unités ribosomales constitue donc une stratégie efficace pour lutter contre les infections bactériennes.

- **Biosynthèse de la paroi cellulaire**

La paroi cellulaire bactérienne est une cible bien établie pour les agents antibactériens. Elle est constituée d'un réseau de chaînes peptidiques et glycaniques réticulées de manière covalente, qui lui confèrent une résistance mécanique et une protection contre la lyse osmotique. Deux grandes familles d'enzymes interviennent dans sa formation : les transglycosylases et les transpeptidases. Les enzymes possédant ces deux activités constituent des cibles appropriées pour les antibiotiques bactéricides.

La FtsZ est la première protéine à se localiser au niveau du site de division lors de la division cellulaire bactérienne. Elle est essentielle au recrutement d'autres protéines qui finissent par former une nouvelle paroi cellulaire entre les cellules bactériennes en division. Cibler la division cellulaire bactérienne, notamment par l'inhibition de la fonction de la FtsZ, est considéré comme une approche prometteuse dans la lutte contre les infections bactériennes.

- **Inhibition de la synthèse des acides nucléiques**

L'ADN gyrase est l'enzyme responsable du superenroulement et du déroulement de l'ADN bactérien pendant la réplication. Elle joue un rôle crucial dans la synthèse, la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN, ce qui en fait une cible importante pour les agents antibactériens et les antibiotiques.

- **Destruction de la membrane bactérienne**

Certains antibiotiques peuvent se lier au composant lipide A des lipopolysaccharides, entraînant des changements structuraux par échange de phospholipides. Il en résulte un déséquilibre osmotique et, à terme, la mort rapide de la bactérie.

Dans ce contexte, plusieurs enzymes bactériennes jouent un rôle clé et constituent des cibles importantes de l'activité antibactérienne(WHO, 2014).

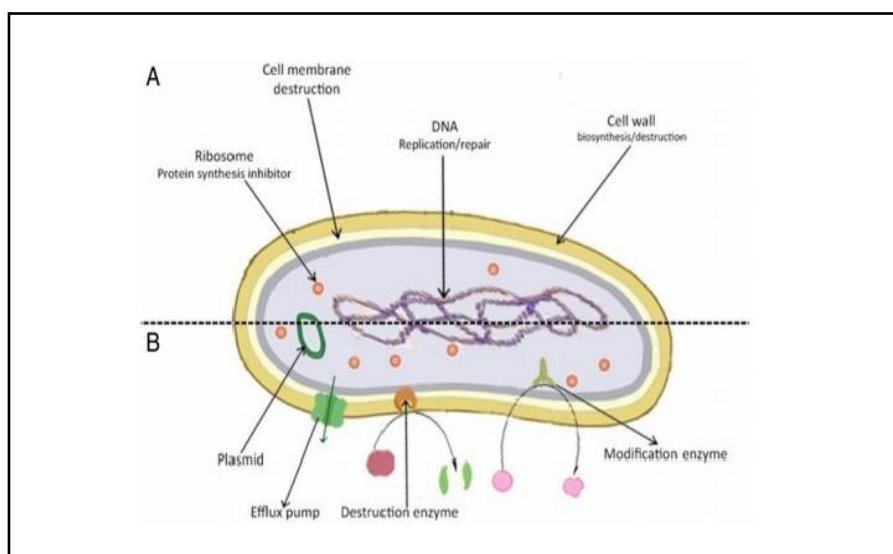


Figure 03 : Mécanismes d'action des agents antimicrobiens et mécanismes de résistance bactérienne(WHO, 2014).

2-2-2 Facteurs influençant l'activité antimicrobienne

2-2-2-1 facteurs liés à l'agent antimicrobien

a) La concentration

La concentration des composés bioactifs constitue un paramètre déterminant. À faible concentration, ils exercent un effet bactériostatique, tandis qu'à forte concentration, ils peuvent provoquer des dommages membranaires irréversibles conduisant à la lyse cellulaire. (Chloé 2017)

Deux paramètres sont utilisés :

- CMI : concentration minimale inhibitrice
- CMB : concentration minimale bactéricide (Cosento & Tuberoso, 1999).

b) la solubilité et la stabilité

La solubilité et la stabilité chimique des composés bioactifs constituent des facteurs essentiels influençant leur activité antimicrobienne. En effet, la solubilité dépend de plusieurs paramètres tels que le pH, la masse molaire et la structure chimique, et elle favorise la diffusion des composés dans le milieu, facilitant ainsi leur interaction avec les cellules microbiennes. Par ailleurs, la stabilité chimique permet aux composés de conserver leur structure et leur activité

biologique au cours du temps, contribuant ainsi au maintien de leur efficacité antimicrobienne (Cosento & Tuberoso, 1999).

c) la nature et la structure chimique du composé

La structure chimique des composés joue un rôle essentiel dans leur activité. Les groupements fonctionnels (hydroxyles, phénoliques) influencent leur capacité à interagir avec les cibles biologiques.

La structure moléculaire conditionne la formation d'interactions telles que :

- liaisons hydrogène
- interactions hydrophobes
- interactions électrostatiques

La richesse de *Hélotropium bacciferum* en flavonoïdes et alcaloïdes pourrait ainsi expliquer sa capacité à interagir avec des protéines bactériennes (Harborne & Baxter, 1999).

2-2-2-2 les facteurs liés au micro-organisme

a. Structure de la paroi bactérienne

La structure de la paroi bactérienne joue un rôle essentiel dans la sensibilité aux agents antimicrobiens. Les bactéries Gram positives sont généralement plus sensibles en raison de leur paroi riche en peptidoglycane, tandis que les bactéries Gram négatives possèdent une membrane externe limitant la pénétration des composés.

b. Formation de biofilm

La formation de biofilm constitue un mécanisme de protection important chez les bactéries. Cette structure réduit la pénétration des agents antimicrobiens et diminue leur efficacité en limitant leur accès aux cellules.

c. Mécanismes de résistance

Les micro-organismes peuvent développer des mécanismes de résistance tels que les pompes d'efflux, la modification des cibles cellulaires ou la production d'enzymes. Ces mécanismes réduisent l'action des agents antimicrobiens et diminuent leur efficacité.

d. État métabolique

L'état métabolique des bactéries influence leur sensibilité aux agents antimicrobiens. Les cellules en phase active sont plus vulnérables, tandis que celles en état de dormance présentent une résistance accrue.

e. Densité bactérienne

Une forte densité bactérienne peut réduire l'efficacité des agents antimicrobiens en limitant leur diffusion et leur accessibilité aux cellules.

Ces facteurs influencent globalement la sensibilité des micro-organismes aux agents antimicrobiens et doivent être pris en compte dans l'interprétation de leur activité (*Trivedi et al.*, s.d).

2-3 activités antifongiques

Les extraits végétaux présentent une activité antifongique importante grâce à leur richesse en métabolites secondaires, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, capables d'inhiber la croissance des champignons (Nozawa & Morita, 1986). Cette activité repose sur leur interaction avec des cibles fongiques essentielles, telles que la membrane cellulaire contenant l'ergostérol et la paroi cellulaire riche en chitine et en glucanes. Ces interactions entraînent des mécanismes d'action tels que la perturbation de la membrane, l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol et la désorganisation de la paroi cellulaire, conduisant à l'inhibition de la croissance fongique. Dans ce contexte, *Héliotropium bacciferum* constitue une source potentielle de composés antifongiques pouvant agir sur ces cibles et limiter le développement des champignons (Shabir *et al.*, 2015).

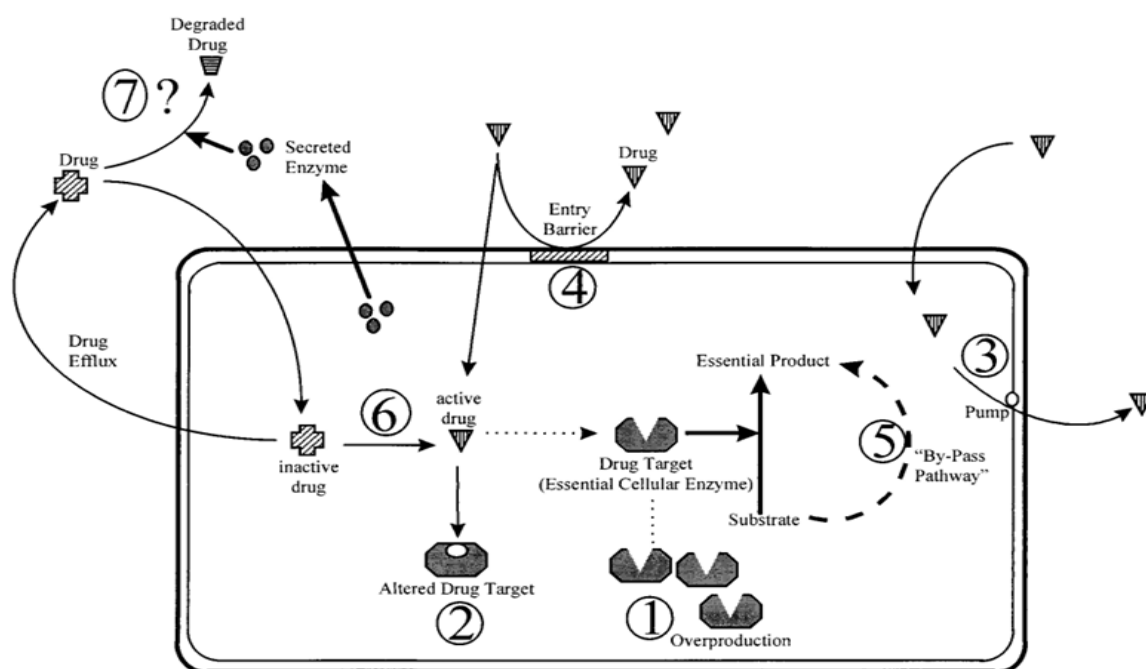


Figure 04 : Mécanisme d'action de des agents antifongique (Shabir *et al.*, 2015b)

Les enzymes :

- **CYP51 (Lanosterol 14 α -demethylase) fongique**

La lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51) fongique est une enzyme appartenant à la famille des cytochromes P450, impliquée dans la biosynthèse des stérols, notamment l'ergostérol chez les champignons.

Mécanisme d'action :

Fixation du substrat (lanostérol) au site actif de l'enzyme

Activation de l'oxygène moléculaire (O₂) en présence de NADPH

Première mono-oxygénation : transformation du groupement méthyle en alcool

Deuxième mono-oxygénation : transformation de l'alcool en aldéhyde

Troisième mono-oxygénation : élimination du groupement sous forme d'acide formique

Formation du produit déméthylé (intermédiaire de la biosynthèse des stérols)(Debeljak *et al.*, 2003).

• β -1,3-glucan synthase (FKS1) chez les champignons

Mécanisme d'action

1. Fixation du substrat :

Le substrat utilisé par FKS1 est UDP-glucose (UDP-Glc), qui se fixe au niveau du site actif de l'enzyme situé à l'interface membrane–cytoplasme.

2. Reconnaissance et activation du site actif :

Le site actif de FKS1 reconnaît le donneur UDP-glucose grâce à plusieurs résidus catalytiques conservés, notamment Y849, E851, K1082, N1085, E1221 et D1222, impliqués dans la liaison du substrat et la catalyse.

3. Transfert glycosidique :

FKS1 catalyse le transfert d'une unité glucose à partir de l'UDP-glucose vers l'extrémité de la chaîne glucan en croissance.

4. Formation de la liaison β (1→3) :

Le glucose transféré est incorporé dans la chaîne par formation d'une liaison glycosidique β (1→3), permettant l'élongation progressive du polymère de β -1,3-glucane.

5. Libération du produit secondaire :

Après le transfert du glucose, la molécule UDP est libérée comme produit secondaire.

6. Translocation du polymère :

La chaîne de β -1,3-glucane nouvellement synthétisée est ensuite transloquée à travers la membrane via un canal transmembranaire formé par FKS1, puis exportée vers l'espace extracellulaire pour participer à la formation de la paroi cellulaire fongique(Stasinopoulos *et al.*, 1999).

• La chitine synthase

La chitine synthase est une enzyme membranaire qui catalyse la synthèse de la chitine, un polysaccharide essentiel de la paroi cellulaire des champignons.

Mécanisme d'action

1-Fixation du substrat

Le substrat est UDP-N-acétylglucosamine (UDP-GlcNAc) qui se fixe sur le site actif de l'enzyme.

2-Activation du groupement accepteur

L'extrémité de la chaîne de chitine en croissance possède un groupe –OH libre (en position C4).

3-Transfert glycosidique

L'enzyme catalyse une réaction de type SN2 :

- Le groupement –OH attaque le carbone anomérique (C1) du GlcNAc
- Formation d'une liaison β (1 $\rightarrow$ 4) glycosidique

4-Libération du produit secondaire

La molécule UDP est libérée.

5-Élongation de la chaîne

Le processus se répète $\rightarrow$ formation d'un polymère linéaire de chitine(Cabib *et al.*, 1989).

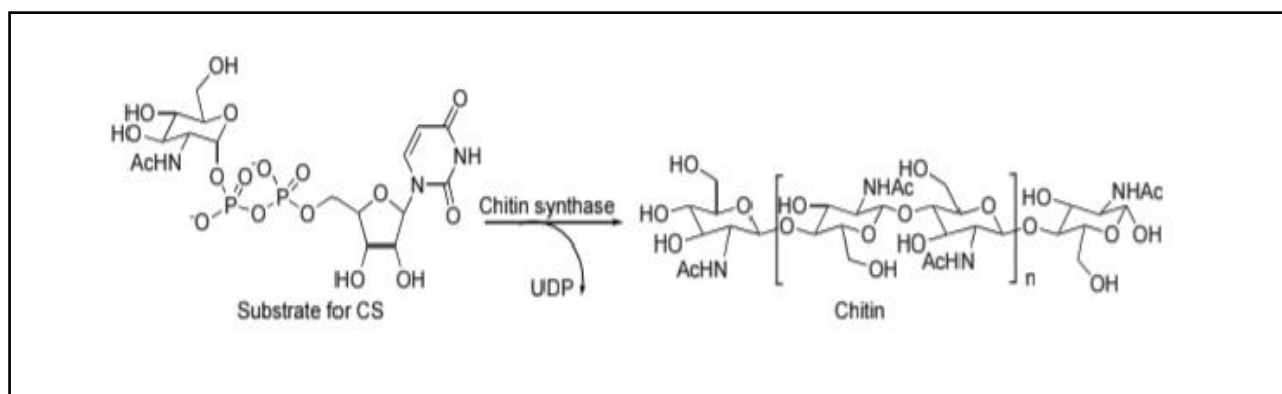


Figure 05 : mécanisme de chitine synthase (Cabib *et al.*, 1989)

2-3-1 champignons

Les champignons sont des organismes eucaryotes, unicellulaires ou pluricellulaires, hétérotrophes, se nourrissant par absorption et possédant une paroi cellulaire riche en chitine. Ils se reproduisent de manière sexuée et/ou asexuée(Deacon, 2006).

2-4 activités antivirales

L'activité antivirale constitue un axe important dans l'étude des composés d'origine végétale, en raison des limites des traitements actuels et de l'émergence de résistances virales. Les flavonoïdes, en particulier, présentent un potentiel significatif grâce à leur capacité à interagir avec des cibles impliquées dans le cycle de réplication virale. Dans ce travail, l'intérêt porté à la plante étudiée repose sur sa richesse en composés phénoliques tels que le kaempferol,

susceptibles d'inhiber des enzymes virales ou de perturber les mécanismes de réplication. Des études antérieures ont également montré l'efficacité de certains extraits végétaux contre des virus tels que HSV-1 et VSV, confirmant ainsi le potentiel des substances naturelles comme agents antiviraux prometteurs (Gonzalez *et al.*, 1987).

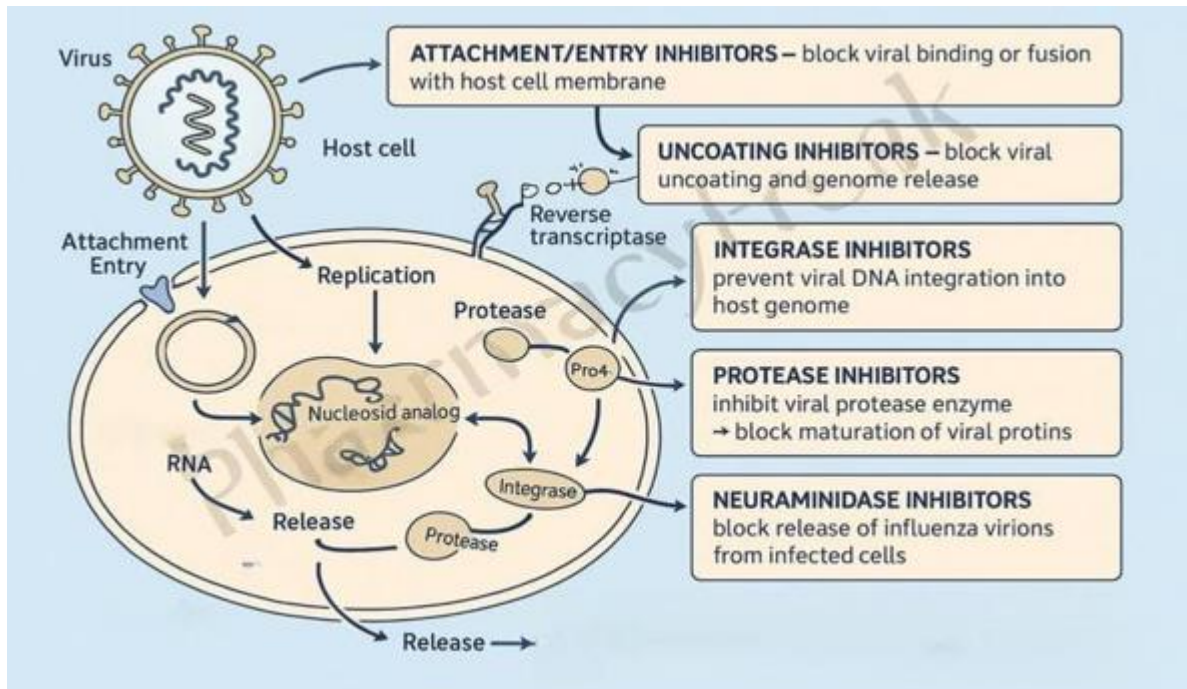


Figure 06 : cycle viral et inhibiteurs (Gonzalez *et al.*, 1987).

Les enzymes

• RNA-dependent RNA polymerase

La RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) est une enzyme virale qui catalyse la synthèse d'un brin d'ARN à partir d'un autre brin d'ARN servant de matrice.

Mécanisme d'action

1. Reconnaissance de l'ARN viral

L'ARN génomique du HDV adopte une structure secondaire particulière de type tige-boucle (stem-loop). Cette conformation permet à l'ARN polymérase II de reconnaître l'ARN viral comme matrice (template).

2. Clivage de l'ARN (RNA cleavage)

En présence du facteur de transcription TFIIS :

_ Un clivage spécifique de l'ARN viral se produit

_ Cela génère une extrémité 3' libre, essentielle pour initier la synthèse

3. Formation du complexe actif

L'ARN viral clivé reste associé à l'enzyme et forme :

Un complexe enzyme–ARN stable

Une structure compatible avec le site actif de Pol II

4. Élongation de l'ARN (activité RdRP)

L'ARN polymérase II :

Utilise l'ARN viral comme matrice

Incorpore des ribonucléotides (NTPs) de manière complémentaire

Synthèse d'un nouveau brin d'ARN (RNA → RNA)

5. Limitation de la processivité

Contrairement à la transcription classique :

L'activité RdRP est plus lente

Elle est moins processive (arrêts fréquents)

Ces limitations sont liées :

À la structure en tige-boucle

À des contraintes stériques dans le site actif (Kettenberger *et al.*, 2004).

• Reverse transcriptase

La reverse transcriptase du Human Immunodeficiency Virus est une enzyme virale appartenant à la famille des ADN polymérases ARN-dépendantes. Elle joue un rôle fondamental dans le cycle de réplication des rétrovirus en catalysant la synthèse d'un ADN complémentaire (ADNc) à partir d'un ARN viral.

Mécanisme d'action

1. Fixation sur l'ARN viral

L'ARN polymérase II se fixe sur l'ARN génomique viral, qui adopte une structure secondaire de type tige-boucle (stem-loop) facilitant sa reconnaissance.

2. Clivage de l'ARN

En présence du facteur TFIIS :

Un clivage de l'ARN est induit

Cela génère une extrémité 3'-OH libre, essentielle pour initier la synthèse

3. Initiation de la synthèse

L'enzyme utilise cette extrémité 3'-OH comme point de départ pour initier la polymérisation.

4. Élongation (activité ARN → ARN)

L'ARN polymérase II :

-Utilise l'ARN viral comme matrice

-Ajoute des ribonucléotides (NTPs) de manière complémentaire

- Formation d'un nouveau brin d'ARN

5. Faible processivité

Contrairement à la transcription ADN → ARN :

L'élongation est lente

Elle présente des arrêts fréquents (stalling)

Cela est dû aux contraintes structurales de l'ARN et du site actif de l'enzyme. (Martin- Alnos *et al.*, 2021).

• Intégrase

L'intégrase du Human Immunodeficiency Virus est une enzyme virale appartenant à la famille des transférase. Elle joue un rôle essentiel dans le cycle de réplication du virus en assurant l'intégration de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte.

Mécanisme d'action

1. Formation de l'ADN viral

Après l'entrée du virus :

L'ARN viral est rétrotranscrit en ADN double brin

Cet ADN possède des extrémités spécifiques (U3 et U5)

2. Clivage 3' (3' processing)

L'intégrase catalyse :

Une coupure hydrolytique au niveau des extrémités 3'

Juste après un dinucléotide conservé (CA)

Résultat :

-Formation d'une extrémité 3'-OH libre

3. Activation du site catalytique

-Le site actif contient le motif : ► D, D(35)E

-Ces résidus coordonnent des ions métalliques (Mg^{2+})

Essentiel pour la catalyse enzymatique

4. Transfert de brin (strand transfer)

L'extrémité 3'-OH attaque l'ADN de la cellule hôte

- Réaction de transestérification (attaque nucléophile)

- Insertion de l'ADN viral dans l'ADN cellulaire

5. Intégration finale

-Les deux brins sont insérés de manière décalée (~5 Pb)

-Il reste des régions non appariées

Complétées par :

-ADN polymérase (cellulaire) et Ligase.

-ADN viral totalement intégré (Cai *et al.*, 1997).

2-5 activités antiparasitaires

Les extraits de *Héliotropium bacciferum* présentent un potentiel antiparasitaire lié à leur richesse en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Ces substances bioactives peuvent perturber les fonctions vitales des parasites en altérant leur membrane cellulaire et leur métabolisme. Elles sont également capables d'inhiber la croissance et la prolifération parasitaire, notamment par l'induction d'un stress oxydatif. Ainsi, cette plante constitue une source prometteuse de composés naturels à visée antiparasitaire et justifie son intérêt dans les études pharmacologiques (Liberata *et al.*, 2020).

2-6 activités antiseptiques

Les composés phénoliques et flavonoïdes présentent une activité antimicrobienne significative, ce qui leur confère un potentiel antiseptique intéressant dans la lutte contre les micro-organismes pathogènes (Liberata *et al.*, 2020).

Chapitre III :

Docking moléculaire

1- Définition

Le docking moléculaire, également appelé amarrage moléculaire, est une technique de modélisation informatique visant à simuler et à prédire la structure ainsi que la conformation tridimensionnelle du complexe formé entre un récepteur et un ligand.

Le récepteur est généralement une macromolécule de nature protéique, tandis que le ligand peut être une petite molécule ou une autre protéine. Cette approche constitue un outil fondamental dans le domaine de la conception rationnelle des médicaments, en raison de son rôle dans la compréhension des interactions moléculaires.

Dans ce contexte, le docking moléculaire permet de déterminer l'orientation optimale du ligand au sein du site actif de la cible biologique, ainsi que d'estimer, de manière approximative, la nature et la force des interactions établies entre les deux entités. Il représente ainsi un outil essentiel pour la conception et l'analyse des composés pharmacologiques (Agarwal et Mehrotra, 2016).

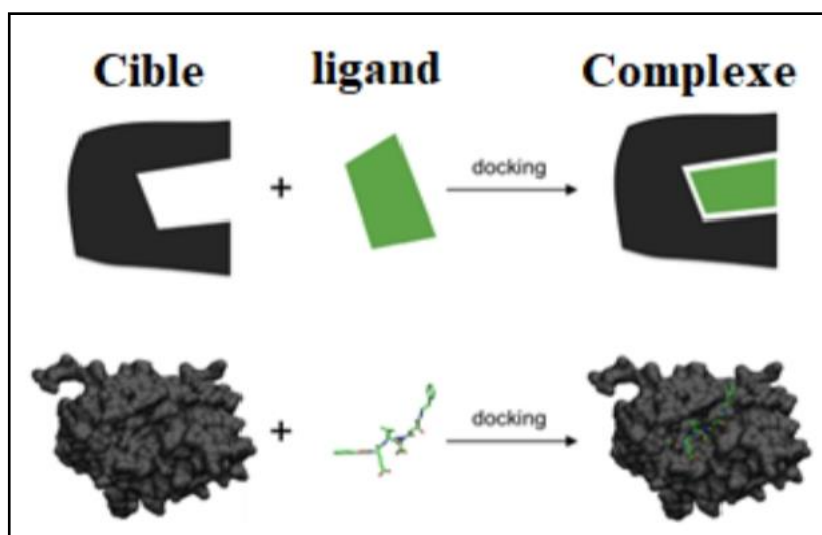


Figure 07 : Schéma du docking moléculaire

2- Intérêt de docking moléculaire

- Étudier les interactions entre les molécules bioactives et les cibles biologiques.
- Prédire la meilleure orientation du ligand dans le site actif du récepteur.
- Évaluer l'affinité chimique et la stabilité du complexe ligand-récepteur.
- Comprendre le mécanisme d'action des composés biologiquement actifs.
- Identifier les interactions impliquées dans la liaison moléculaire (liaisons hydrogène, interactions hydrophobes, Van der Waals, interactions électrostatiques).
- Aider à la découverte et à l'optimisation de nouvelles molécules thérapeutiques.

- Réduire le temps, le coût et les essais expérimentaux en laboratoire grâce à l'approche in silico.
- évaluer le potentiel antioxydant et antimicrobien des composés bioactifs extraits de la plante *Hélotropium bacciferum* à travers l'analyse de leurs interactions avec différentes cibles biologiques (Agarwal et Mehrotra, 2016).

3- Les outils de docking moléculaire

L'utilisation des logiciels du docking dans le domaine médicale et pharmaceutique, est Devenue indispensable, car la plupart des principes actifs (ligands) sont de petites molécules Qui interagissent avec une cible (protéine) biologique d'intérêt thérapeutique.

3- 1 Ligand

Un ligand est défini comme toute molécule ou tout atome capable de se lier à une protéine réceptrice appelée récepteur (Receptor). Lorsqu'un ligand se fixe à son récepteur spécifique, un changement de la forme et/ou de l'activité du récepteur peut se produire, déclenchant ainsi différents types de réponses cellulaires. Ces réponses cellulaires sont essentielles à la prolifération, à la migration, à la survie et à la différenciation des cellules chez tous les organismes multicellulaires (News-Medical.net, 2023).

- **Préparation des ligands**

Un ligand cible peut être fourni sous cinq formats de fichier différents : SMILES, PDB, .mol, .mol2 et .sdf. Il est également possible de soumettre une liste de plusieurs ligands pour des analyses de criblage virtuel.

Dans un premier temps, tous les formats de fichiers d'entrée sont convertis au format .sdf. Les ligands sont ensuite soumis à une minimisation d'énergie à l'aide d'un champ de force sélectionné par l'utilisateur. Les champs de force disponibles comprennent MMFF94(Halgren, 1996), MMFF94s(Halgren, 1999), UFF(Rappe et al., 1992), GAFF(Spenger *et al.*, 2015) et Ghemical(Hassinen & Perakyla, 2001). La minimisation d'énergie est effectuée à l'aide de l'algorithme de descente la plus raide. La génération d'énantiomères de ligands est également activée pour les entrées SMILES.

L'option -p de la première commande spécifie les états de protonation. La deuxième commande effectue la minimisation d'énergie des structures à l'aide du champ de force sélectionné et de l'algorithme de descente la plus raide. La troisième commande convertit les ligands optimisés au format pdbqt.

3-2 Récepteur

Les récepteurs peuvent être définis simplement comme des macromolécules spécifiques auxquelles se lie un ligand, entraînant une modification de l'activité biochimique. La majorité (95 %) des récepteurs sont de nature protéique (Lambert, 2004).

Un ligand peut se lier à un récepteur de manière réversible ou irréversible. Une interaction médicament-récepteur peut entraîner l'ouverture ou la fermeture de canaux ioniques à travers la membrane cellulaire. Les récepteurs sont décrits comme des sites de liaison saturables capables de produire un effet biologique.

Les récepteurs sont généralement activés par dimérisation (Heldin, 1995), où l'activité kinase de chaque monomère phosphoryle l'autre monomère (Cunningham *et al.*, 1991).

- **Préparation des protéines**

La structure cible est importée au format PDB et affinée afin de corriger les ordres de liaison et d'ajouter des atomes d'hydrogène. MzDOCK propose plusieurs options, notamment l'ajout ou la suppression d'atomes d'hydrogène, la modification des charges partielles (par exemple, charges de Kollman ou de Gasteiger (Gasteiger & Marsili, 1980) ; (Singh & Kollman, 1984)) et la suppression ou la conservation d'hétéroatomes. Les ions et les cofacteurs peuvent être sélectionnés manuellement pour être conservés dans la structure cible finale. Il est notamment possible de sélectionner les molécules d'eau cristallographiques structurelles ou fonctionnelles à conserver.

3-3 le docking ligand-récepteur

La relation entre le récepteur (Receptor) et le ligand est définie comme une interaction moléculaire spécifique reposant sur la complémentarité structurale et énergétique entre deux entités chimiques.

D'un point de vue académique, le récepteur est généralement une protéine possédant un site de liaison (binding site) caractérisé par une organisation tridimensionnelle précise et des propriétés physico-chimiques spécifiques. Le ligand, quant à lui, est une petite molécule dotée de caractéristiques chimiques et spatiales lui permettant de s'insérer de manière sélective dans ce site. Cette relation repose sur un ensemble d'interactions non covalentes, notamment :

- les liaisons hydrogène
- les interactions électrostatiques
- les forces de Van der Waals
- les interactions hydrophobes

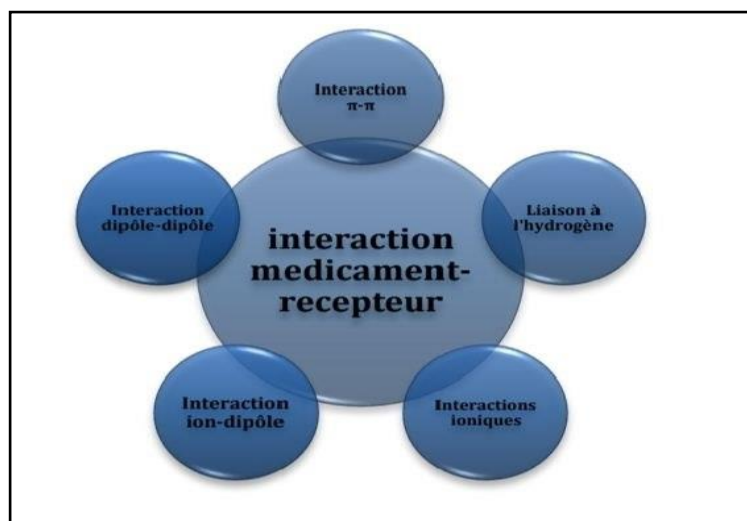


Figure 08 : Types d'interactions médicament-récepteur (Asli, 2020).

Ces forces agissent de manière synergique pour stabiliser le ligand dans la poche de liaison du récepteur, conduisant à la formation d'un complexe relativement stable.

Du point de vue du docking moléculaire, ce processus est considéré comme dynamique, où le ligand explore l'espace conformationnel du récepteur afin d'atteindre la conformation la plus stable thermodynamiquement, correspondant à la plus faible énergie libre de liaison (lowest binding free energy).

Ainsi, la relation ligand-récepteur peut être résumée comme un équilibre entre :

- la complémentarité de forme (shape complementarity)
- la stabilité énergétique (binding stability)(Jain et Nicholls, 2008).

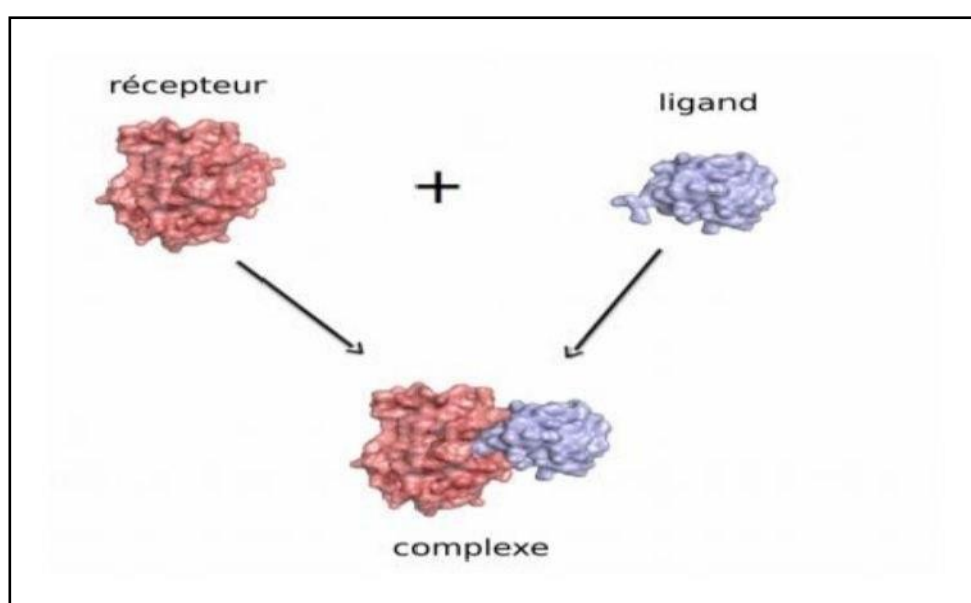


Figure 09: Docking récepteur-Ligand (Hugo, 2018).

4- les programmes du Docking moléculaire

Dans cette étude in silico, plusieurs logiciels et bases de données ont été utilisés afin de réaliser le Docking moléculaire et d'analyser les propriétés des composés bioactifs extraits de *Heliotropium bacciferum*.

- **Protéine Data Bank (PDB)** : utilisé pour récupérer les structures tridimensionnelles des protéines.
- **PubChem** : utilisé pour télécharger les structures chimiques des composés étudiés.
- **PkCSM** : utilisé pour prédire les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des composés sélectionnés.
- **Maestro Schrödinger** : utilisé pour la préparation des structures, la réalisation du Docking moléculaire et l'analyse des interactions moléculaires.

Partie pratique



Matériel et Méthode

Introduction

Cette étude *in silico* a été réalisée dans le but d'évaluer le potentiel biologique des composés issus de *Heliotropium bacciferum* à travers une approche basée sur le docking moléculaire. Cette méthode permet d'analyser les interactions entre les molécules étudiées et l'enzyme cible DNA gyrase, impliquée dans des mécanismes essentiels au niveau bactérien.

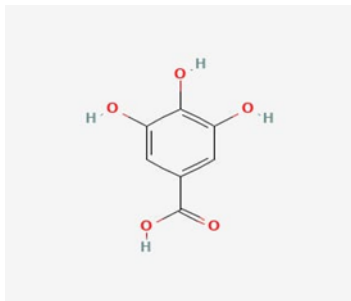
La méthodologie adoptée repose sur plusieurs étapes principales, allant de la sélection des composés bioactifs à partir de bases de données spécialisées, jusqu'à l'analyse des résultats de docking. Les structures chimiques et protéiques ont été récupérées, puis préparées afin d'assurer leur compatibilité avec les outils de simulation.

Cette étude comprend également l'évaluation des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des composés sélectionnés, ainsi que l'analyse détaillée des interactions moléculaires obtenues après le docking, afin d'identifier les molécules les plus prometteuses pour une éventuelle activité biologique.

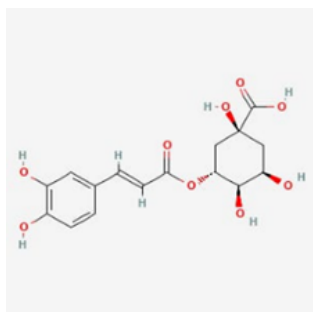
1/ Matériel biologique :

Composés polyphénoliques de *Héliotropium Bacciferum*

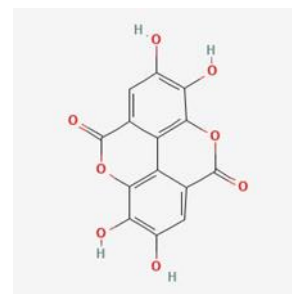
a- composés phénoliques



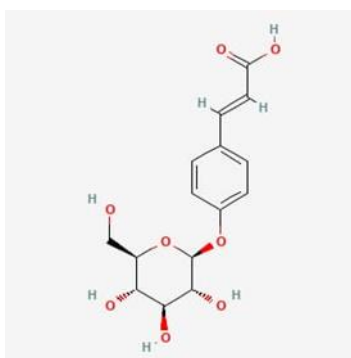
acide Gallique



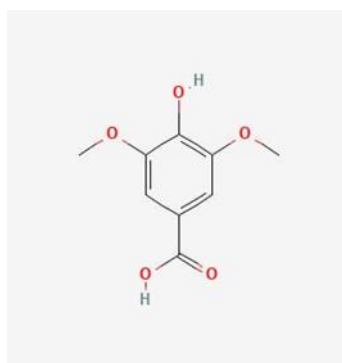
acide Chlorogénique



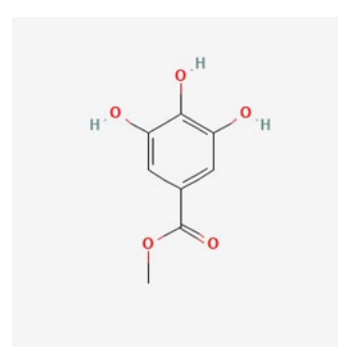
acide Ellagique



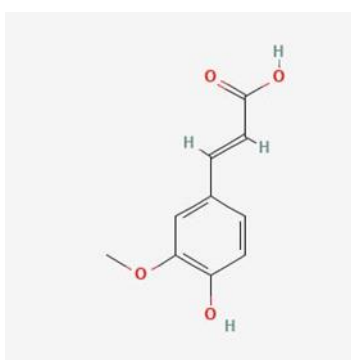
Acide Coumarique



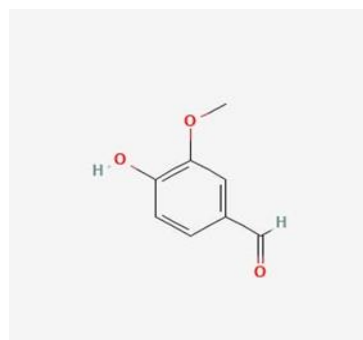
acide Syringique



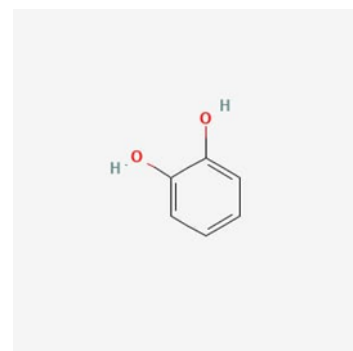
gallate de Méthyle



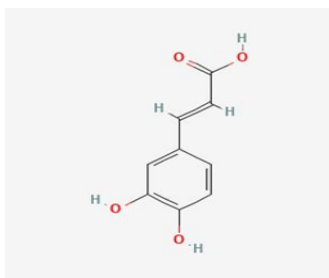
Acide Ferulique



Vanilline

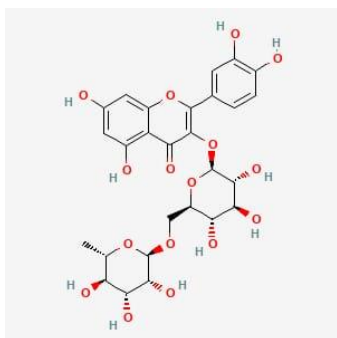


Pyrocatechol

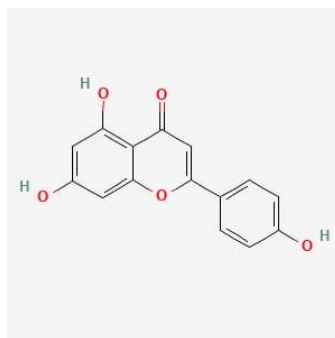


acide Caféique

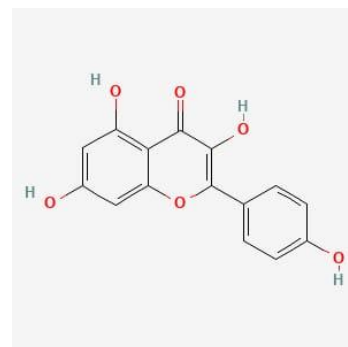
b- composés Flavonoïdes



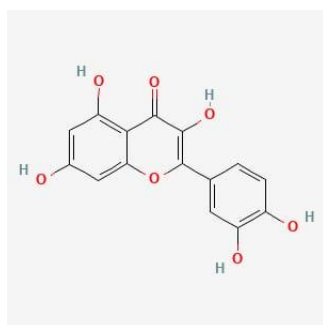
Rutin



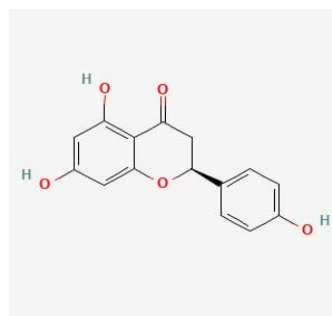
Apigenin



Kaempferol



Quercetine



Naringenin

Figure 10 : Structures chimiques des polyphénols de *Héliotropium Bacciferum* (Pubchem).

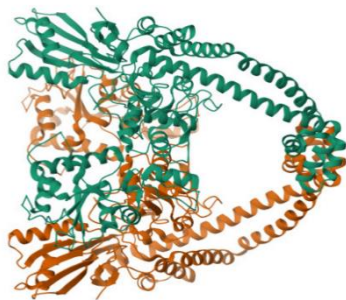
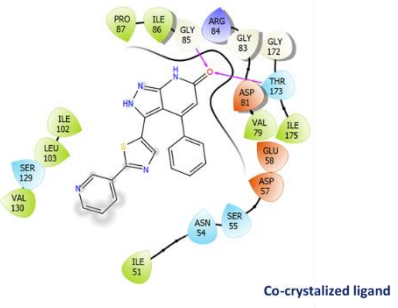
2. L'Enzyme étudié

- **DNA gyrase subunit B (GyrB) :**

Les topoisomérases de l'ADN sont des enzymes qui catalysent des modifications de la topologie de l'ADN (Bates & Maxwell, 2005) ; (Wang, 2009). Elles sont capables de transformer l'ADN détendu en formes superenroulées et inversement, et peuvent également introduire ou éliminer des caténanes et des nœuds (Schoeffler & Berger, 2008); (Dong & Berger, 2008).

Ces enzymes sont présentes dans tous les types de cellules et sont essentielles à la survie. En raison de leur rôle essentiel et de leurs mécanismes d'action, les topoisomérases sont devenues des cibles importantes pour le développement de médicaments, en particulier pour les agents antibactériens (Pommier *et al.*, 2010) ; (Radbury & Pucci, 2008).

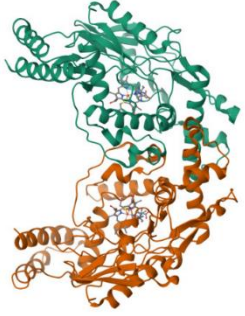
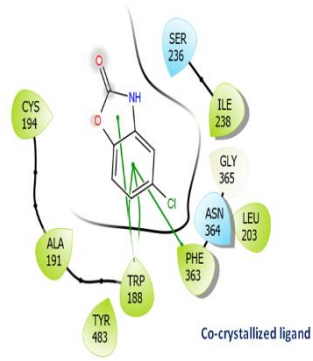
Tableau 05 : Les caractéristiques de DNA gyrase subunit B (GyrB)

	DNA gyrase	Structure 3D de DNA gyrase
Code	DNA gyrase	
Méthodes	X-RAY DIFFRACTION	
Résolution	3.10 Å	
R-value	0.217 (Depositor), 0.213 (DCC)	
Ligand co-cristallisé		

- **Nitric oxid synthase :**

La Nitric Oxide Synthase (NOS) est une enzyme impliquée dans la synthèse du monoxyde d'azote (NO), une molécule de signalisation essentielle dans de nombreux processus physiologiques et biologiques. Elle catalyse l'oxydation de la L-arginine en présence d'oxygène moléculaire et du NADPH, produisant ainsi du NO et de la L-citrulline. L'activité de cette enzyme dépend de plusieurs cofacteurs, notamment le FAD, le FMN, la tétrahydrobioptérine (BH4), le calcium et la calmoduline. Chez les plantes, le NO joue un rôle important dans la régulation de la croissance et du développement, la germ.(Luis A *et al.*, 2004).

Tableau 05 : Les caractéristiques de Nitric oxide synthase

	Nitric oxide synthase	Structure 3D de DNA gyrase
Code	Nitric oxide synthase	
Méthodes	X-RAY DIFFRACTION	
Résolution	3.10 Å	
R-value	0.217 (Depositor), 0.213 (DCC)	
Ligand co-cristallisé		 Co-crystallized ligand

3. Matériel *in silico*

Avant de présenter en détail la méthodologie suivie pour la réalisation de ce travail, nous exposons dans cette section le matériel ainsi que les différents outils utilisés pour mener à bien cette étude.

3.1) Micro-ordinateur

Notre travail a été effectué en utilisant deux micro-ordinateurs dont les caractéristiques sont Présentées dans le (Tableau 08).

Tableau 06 : Caractéristiques des ordinateurs utilisés

Caractéristique	Ordinateur
Mémoire (RAM)	16 G
Processeur	AMD Ryzen 9 7950X 16-Core Processor
Système d'exploitation	Windows 11 Pro
Type de système	64 bits

3.2) Banques (bases) de données et outils logiciels

- protéine Data Bank(PDB)

La Protéine Data Bank (PDB) est la base de données mondiale des données structurales relatives aux macromolécules biologiques.

Au départ, l'accès à la PDB était réservé à un groupe restreint de spécialistes travaillant dans le domaine de la recherche structurale. Aujourd'hui, les contributeurs à la PDB possèdent des niveaux d'expertise variés dans des techniques telles que la détermination de structures cristallines par rayons X et la RMN(Bakheit *et al.*, 2024)

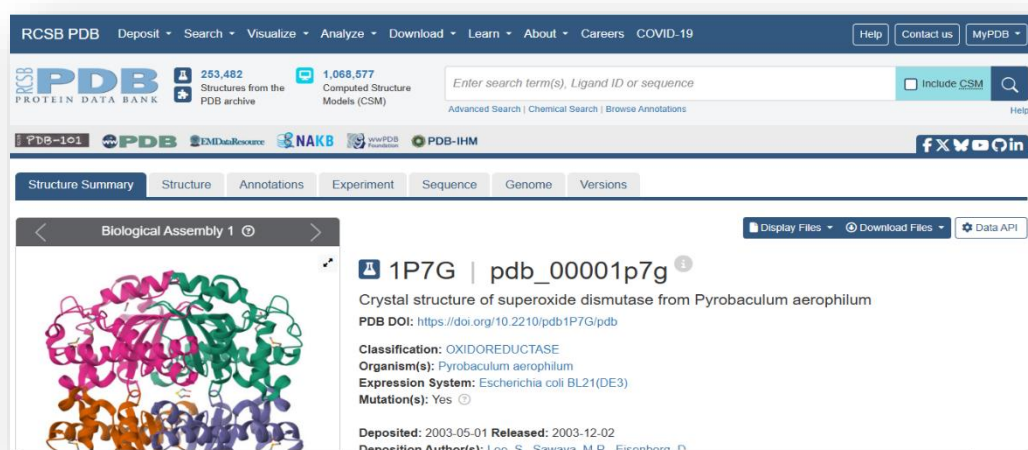


Figure 11 : Interface du site Protéine Data Bank (PDB)

4. Programmes utilisés

4.1) Chimera

Le logiciel UCSF Chimera est un outil récemment développé utilisé dans l'analyse et la visualisation moléculaire. La fonction de score de Chimera repose sur une approche empirique permettant d'estimer l'affinité d'interaction entre les composés et la cible biologique. Ce type de fonction facilite la sélection des molécules présentant la plus forte probabilité d'interaction avec la cible, tout en nécessitant une faible puissance de calcul, ce qui rend le processus de criblage moléculaire plus rapide et plus efficace (Jane, 1981).

4.2) Maestro

Maestro est un logiciel développé par SCM permettant de définir des pièces ainsi que leurs opérations d'usinage afin de les réaliser sur des centres de travail à commande numérique. La conception des pièces s'effectue dans un environnement CAD tridimensionnel, offrant à l'utilisateur la possibilité de visualiser immédiatement les opérations programmées. Les usinages sont réalisés en deux étapes distinctes : la définition de la géométrie puis l'application des outils, conformément au fonctionnement habituel des systèmes CAM. Une fois la pièce et les opérations d'usinage définies, Maestro transmet les informations nécessaires à la machine pour assurer l'exécution du travail (Andrew *et al.*, 2006).

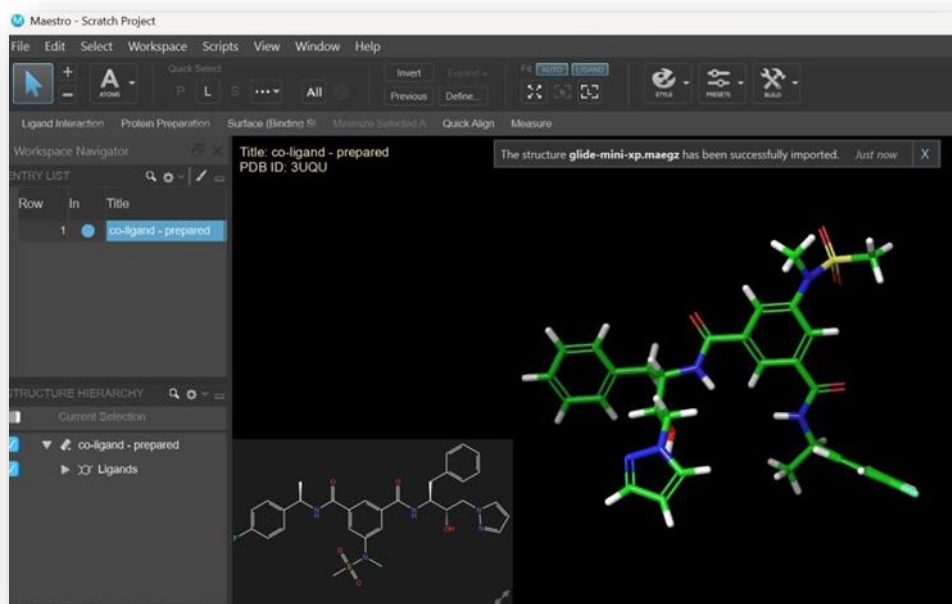


Figure 12 : Interface du logiciel Chimera (A)

Pubchem Explore Chemistry

PubChem est un logiciel comprenant plusieurs fonctionnalités essentielles dans le domaine de la chimie. Il permet de représenter les cycles, les liaisons, les chaînes, les atomes ainsi que les groupes fonctionnels. Le programme intègre également des calculateurs de propriétés

chimiques, des modèles d'équipements de laboratoire et des outils de dessin pour les plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) et les gels d'électrophorèse. La figure 27 illustre l'interface graphique du logiciel PubChem.

Les fonctionnalités de PubChem Prime

1. Le dessin des molécules chimiques.
2. Le calcul des données stœchiométriques (Andrew *et al.*, 2006).

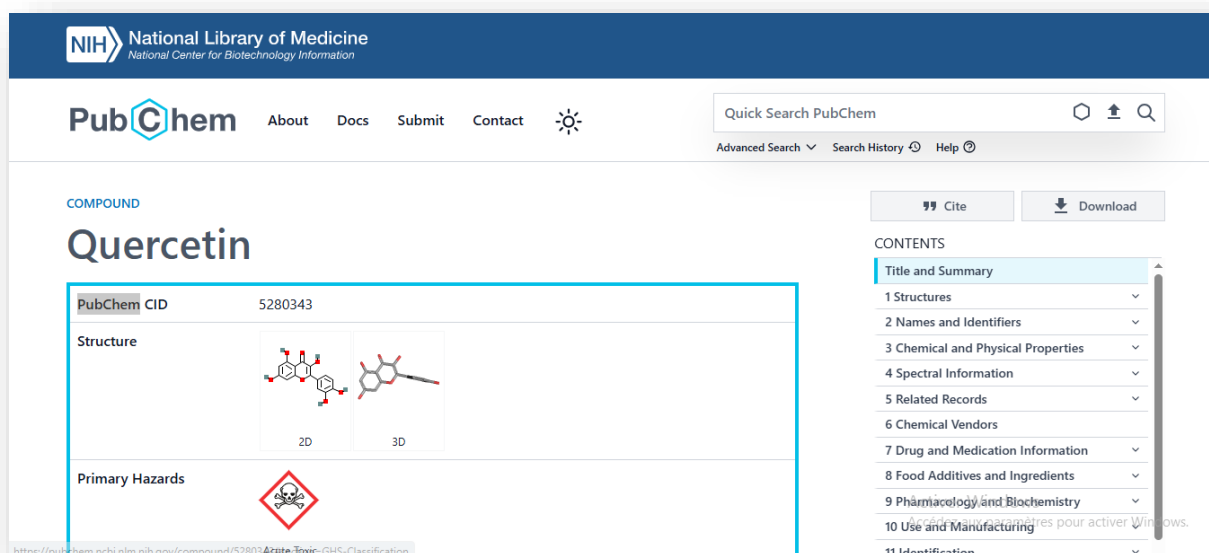


Figure 13 : Interface du logiciel PubChem

4.3) Méthodologie du travail

Les étapes suivies au cours de notre étude sont schématisées dans le schéma suivant (figure).

Préparation du l'enzyme

- Télécharger les structures 3D des protéines cibles depuis la base de données PDB.
- Éliminer les molécules d'eau, les ligands co-cristallisés et les chaînes inutiles.
- Détecter et définir le site actif des protéines.

Préparation des ligands

- Récupérer les composés bioactifs de *Heliotropium bacciferum* à partir de PubChem.
- Télécharger les structures moléculaires au format SDF ou SMILES.
- Convertir les ligands au format MOL ou PDB avant le docking moléculaire.

Docking moléculaire

- Réaliser le docking entre les ligands et les protéines cibles.
- Rechercher la meilleure conformation du ligand dans le site actif.
- Visualiser et analyser les interactions moléculaires du complexe ligand-protéine.

Prédiction des propriétés moléculaires

- Application de la règle de Lipinski.
- Application de la règle de Veber.
- Application de la règle de Ghose.
- Application de la règle d'Egan.
- Application de la règle de Muegge.
- Prédiction des propriétés ADME/Toxicité des composés bioactifs.

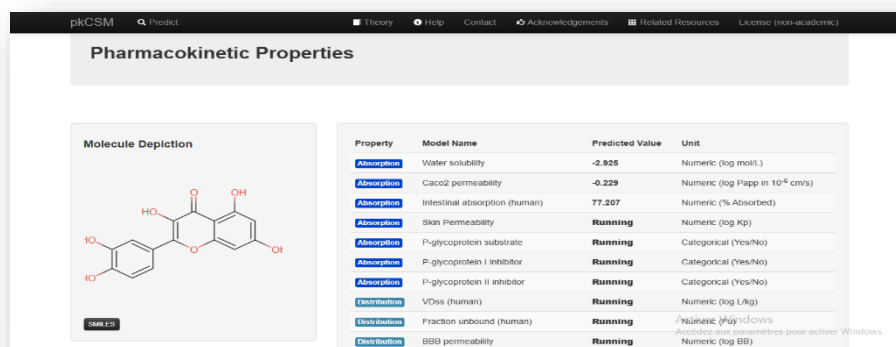
Figure : Méthodologie de Travail

5. pkCSM

Le pkCSM (Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures) est une méthode utilisée pour la prédiction et l'optimisation des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques. Elle repose sur une approche par signatures de graphes.

La modélisation par graphes constitue une méthode mathématique bien établie et intuitive pour décrire des entités chimiques, permettant l'extraction de différents descripteurs liés à la fois à la structure moléculaire et aux propriétés chimiques. Dans cette représentation, les atomes sont considérés comme des nœuds, tandis que les liaisons covalentes sont représentées par des arêtes.

Le pkCSM applique le concept de balayage par seuil pour développer des modèles prédictifs des propriétés ADME/T destinés au développement de médicaments. (Jean Gonfi *et al.*, 2021).



The screenshot shows the pkCSM web interface. On the left, there is a 'Molecule Depiction' section with a chemical structure of a flavonoid-like molecule. On the right, there is a table of predicted properties. The table has four columns: Property, Model Name, Predicted Value, and Unit. The properties listed include Water solubility, Caco2 permeability, Intestinal absorption (human), Skin Permeability, P-glycoprotein substrate, P-glycoprotein I inhibitor, P-glycoprotein II inhibitor, VDes (human), Fraction unbound (human), and BBB permeability. The predicted values and units are provided for each property.

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Water solubility		-2.925	Numeric (log mol/L)
Caco2 permeability		-0.229	Numeric (log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)
Intestinal absorption (human)		77.207	Numeric (% Absorbed)
Skin Permeability		Running	Numeric (log Kp)
P-glycoprotein substrate		Running	Categorical (Yes/No)
P-glycoprotein I inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
P-glycoprotein II inhibitor		Running	Categorical (Yes/No)
VDes (human)		Running	Numeric (log L/kg)
Fraction unbound (human)		Running	Numeric (log fu)
BBB permeability		Running	Numeric (log BB)

Figure14: Interface du serveur pkCSM pour la prédiction des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques (ADMET).

<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>

Résultats et Discussion

1. Introduction

Les polyphénols, composés naturels présents dans de nombreuses plantes médicinales, suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés thérapeutiques potentielles, notamment leurs effets antioxydants et antimicrobiens. Cette étude vise à explorer l'activité des composés bioactifs extraits de *Heliotropium bacciferum* à travers une approche in silico basée sur la méthode du Docking moléculaire. Nous évaluons l'interaction de ces composés avec l'enzyme cible DNA gyrase afin d'identifier des candidats prometteurs pour le développement de nouvelles thérapies naturelles à activité antimicrobienne.

2. Test de fiabilité du programme de Docking glide (Le Re-Docking) :

Dans le but d'étudier l'interaction des polyphénols et des flavonoïdes extraits de la plante *Heliotropium bacciferum* dans les sites actifs de la DNA gyrase et de la Nitric Oxide Synthase, impliquées respectivement dans les activités antimicrobienne et antioxydante, nous avons sélectionné les inhibiteurs les plus importants ayant montré un effet prometteur par rapport aux ligands de référence. L'énergie d'interaction a été calculée à l'aide du logiciel Maestro (kcal/mol).

3. Résultats et discussion d'activité Antimicrobienne :

Tableau 07 : Scores de Docking des flavonoïdes extraits de *Heliotropium Bacciferum*

	Docking score	Glide emodel
Ligande Co-cristallisé	-4.034	-70.180
Rutin	-8.873	-83.585
Quercetine	-7.775	-50.335
Naringenin	-6.296	-44.179
Kaempferol	-5.830	-43.788
Apigenin	-5.094	-44.351

4. Interpretation :

Les scores de Docking et les valeurs de Glide emodel de chaque molécule sont utilisés pour évaluer l'interaction des composés phénoliques et des flavonoïdes avec la cible protéique (le ligand Co-cristallisé). Des valeurs plus négatives indiquent une interaction plus forte avec la cible protéique.

4.1 Interprétation des flavonoïdes de *Hélotropium bacciferum*

- **Rutin** : Avec un score de Docking de -8.873, cette molécule présente l'interaction la plus forte avec la cible protéique, indiquant une excellente affinité de liaison.
- **Quercetine** : Le score de -7.775 suggère également une interaction importante avec la cible, montrant un bon potentiel antimicrobien.
- **Naringenin** : Avec une valeur de -6.296, cette molécule montre une affinité modérée avec la protéine cible.
- **Kaempferol** : Le score de docking de -5.830 indique une interaction acceptable mais moins importante que les composés précédents.
- **Apigenine** : Cette molécule présente un score de -5.094, traduisant une interaction relativement faible avec la cible protéique.
- **Ligande Co-cristallisé** : Le ligand de référence présente un score de -4.034. Plusieurs composés testés montrent des scores plus négatifs, indiquant une meilleure affinité de liaison.

La **Rutin** présente la meilleure affinité de liaison avec la cible protéique, suivie par la **Quercetine**. Les autres flavonoïdes montrent également des interactions intéressantes, mais avec une intensité plus faible. Ces résultats suggèrent que certains flavonoïdes de *Hélotropium bacciferum* pourraient contribuer à l'activité antimicrobienne de la plante.

Tableau 08 : Scores de Docking de La composition phénolique extraits de *Hélotropium Bacciferum*

	Docking score	Glide emodel
Ligande Co-cristallisé	-4.034	-70.180
Acide elagique	-7.150	-55.146
Acide Caffeique	-6.717	-48.156
Acide Ferulique	-6.188	-45.946
Acide galique	-5.964	-37.006
Acide Chlorogenique	-5.337	-58.751
Gallate de Methyl	-5.278	-39.099
Pyro catechole	-4.906	-27.638
Acide Syringique	-4.857	-39.983
Vanilline	-4.460	-34.407
Acide Comarrique	-4.266	-35.875

4.2. Interprétation des composés Phénoliques de *Héliotropium bacciferum*

Les résultats du docking moléculaire des acides phénoliques avec la protéine cible DNA gyrase subunit B montrent que l'ensemble des composés testés présentent une affinité de liaison avec le site actif de la protéine.

- **Acide Ellagique** : Le score de docking (-7.150) indique une très forte interaction avec la cible protéique.
- **Acide Caffeique** : Avec un score de -6.717, cette molécule montre une bonne affinité de liaison avec la cible.
- **Acide Ferulique** : Le score de -6.188 suggère une interaction stable et une affinité intéressante.
- **Acide Gallique et acide Chlorogénique** : Ces composés présentent des scores de -5.964 et -5.337, indiquant une affinité modérée avec la cible protéique.
- **Gallate de Methyl, Pyro catechol et acide Syringique** : Ces molécules montrent des interactions moyennes avec des scores compris entre -5.278 et -4.857.
- **Vanilline et acide Coumarique** : Avec des scores de -4.460 et -4.266, ces composés présentent les interactions les plus faibles avec la cible.
- **Ligand Co-cristallisé** : Le ligand de référence présente un score de -4.034. Plusieurs composés testés montrent des scores plus négatifs, indiquant une meilleure affinité de liaison.

L'**acide ellagique** est le composé le plus prometteur parmi les molécules étudiées, suivi par l'**acide caféique** et l'acide férulique grâce à leurs fortes interactions avec la cible protéique. Avec le site actif de la protéine.

5. Etude des interactions enzyme-ligand

5.1-Interaction des composés phénoliques avec la protéine DNA gyrase

- Acide Feurique

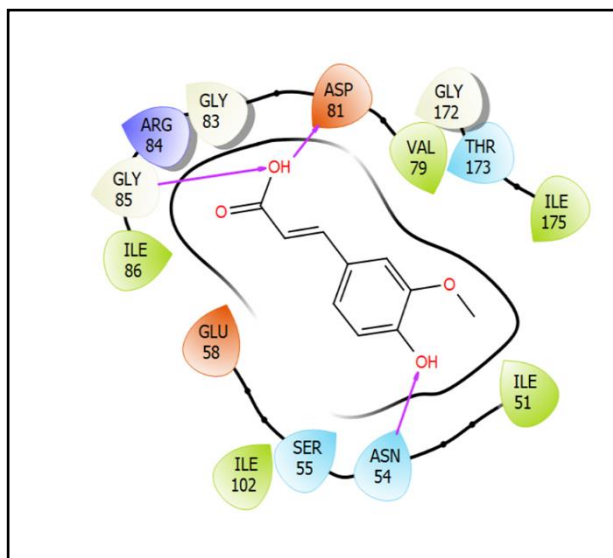


Figure 15 : Interactions entre le ligand acide Feurique et les Résidus de site actif de DNA gyrase

L'acide férulique (Ferulic acid) interagit principalement avec plusieurs résidus du site actif de la DNA gyrase à travers des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes. Des interactions importantes ont été observées avec les acides aminés Lys81, Asn59, Ser55 et Gly83, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche active de l'enzyme. D'autres résidus hydrophobes tels que Val79, Ile51, Ile86, Ile102 et Ile175 participent également à l'ancrage du composé par des interactions hydrophobes.

Cette forte affinité de liaison suggère que l'acide férulique pourrait inhiber l'activité de la DNA gyrase en occupant son site actif et en empêchant la fixation normale du substrat. Par conséquent, ce composé présente un potentiel inhibiteur prometteur contre les mécanismes essentiels de réplication de l'ADN bactérien.

- Acide Chlorogénique

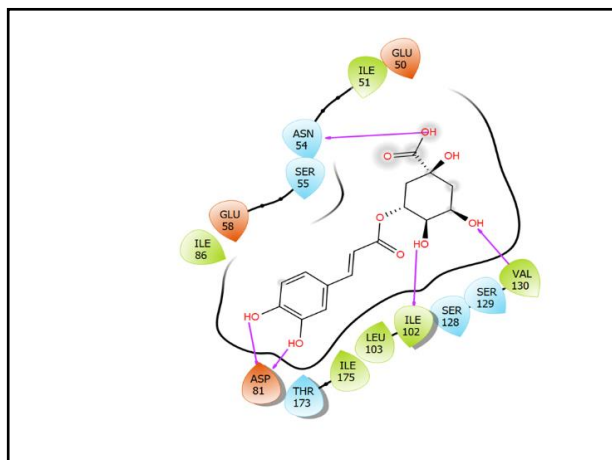


Figure 16 : Interactions entre le ligand Acide Chlorogénique et les Résidus de site actif de DNA gyrase

L'acide chlorogénique (Chlorogenic acid) interagit fortement avec les résidus du site actif de la DNA gyrase grâce à plusieurs liaisons hydrogène impliquant notamment Asn51, Ser129, Asp81 et Arg136. Ces interactions polaires favorisent la stabilisation du ligand dans la poche catalytique de l'enzyme. Des interactions hydrophobes avec des résidus tels que Ile78, Ile82, Ile100, Ile103 et Val130 contribuent également à renforcer l'ancrage du composé dans le site actif.

La multiplicité de ces interactions suggère une forte affinité de liaison de l'acide chlorogénique envers la DNA gyrase, pouvant perturber le fonctionnement normal de l'enzyme et empêcher la réplication de l'ADN bactérien. Ainsi, ce composé présente un potentiel inhibiteur important et pourrait constituer un candidat prometteur dans le développement d'agents antibactériens.

- **Pyro catechol**

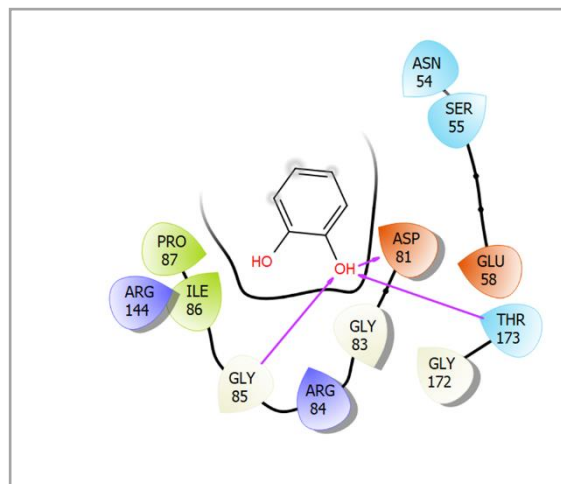


Figure 17 : Interactions entre le ligand Pyrocatéchol et les Résidus de site actif de DNA gyrase

Le pyrocatéchol (Pyrocatechol) interagit avec le site actif de la DNA gyrase par plusieurs liaisons hydrogène impliquant principalement les résidus Asp81, Ser55, Asn54 et Gly83. Ces interactions polaires permettent de stabiliser le ligand dans la poche active de l'enzyme. Des interactions supplémentaires avec des résidus tels que Arg84, Arg144, Ile86, Pro87, Gly85, Gly172 et Thr173 participent également à l'ancrage du composé grâce à des interactions hydrophobes et électrostatiques.

La présence de ces multiples interactions suggère une bonne affinité du pyrocatéchol envers la DNA gyrase, pouvant perturber le fonctionnement normal de l'enzyme et empêcher la réplication correcte de l'ADN bactérien. Ainsi, ce composé pourrait présenter un potentiel inhibiteur intéressant contre les mécanismes enzymatiques essentiels des bactéries.

- **Vanilline**

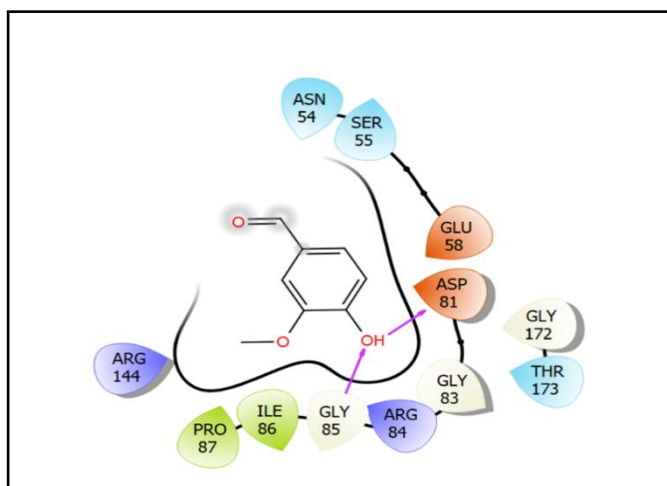


Figure 18 : Interactions entre le ligand Vanilline et les Résidus de site actif de DNA gyrase

La vanilline interagit avec le site actif de la DNA gyrase principalement via des liaisons hydrogène avec les résidus Asp81, Glu58, Ser55 et Asn54, permettant la stabilisation du ligand dans la poche active de l'enzyme.

Des interactions supplémentaires avec Arg84, Arg144, Gly83, Gly85, Ile86, Pro87, Gly172 et Thr173 participent également à l'ancrage du composé grâce à des interactions hydrophobes et électrostatiques.

Ces interactions suggèrent une bonne affinité du vanilline envers la DNA gyrase, pouvant perturber l'activité normale de l'enzyme et inhiber la réplication de l'ADN bactérien.

- **Acide Ellagique :**

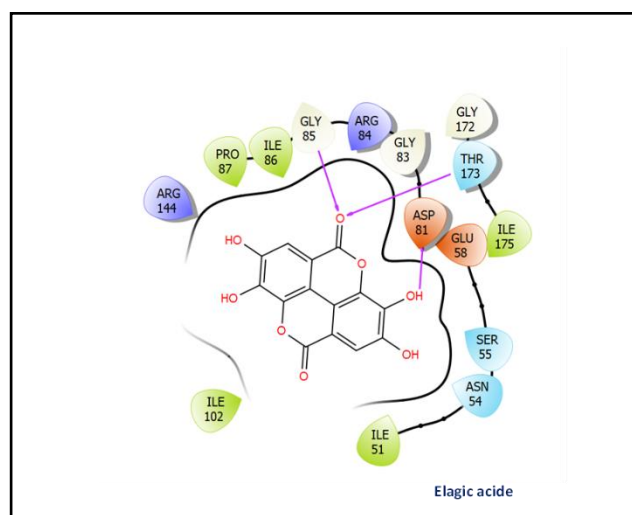


Figure 19 : Interactions entre le ligand Acide Ellagique et les Résidus de site actif de DNA gyrase

L'acide ellagique interagit avec le site actif de la protéine à travers plusieurs interactions hydrophiles et hydrophobes. La présence de nombreux groupements hydroxyles et carbonyles favorise l'établissement de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asp81, Thr173 et Arg84, contribuant à la stabilisation du ligand au sein de la poche de liaison. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide ellagique participe à des interactions hydrophobes avec plusieurs résidus tels que Ile78, Ile51, Ile86 et Pro87, renforçant son ancrage dans le site actif. Des contacts supplémentaires avec Gly85, Gly172, Glu58, Ser55 et Asn54

participent également au maintien de la stabilité du complexe ligand–récepteur. L'ensemble de ces interactions traduit une bonne complémentarité structurale entre l'acide ellagique et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison favorable et un potentiel inhibiteur intéressant vis-à-vis de la DNA gyrase.

- **Gallate de Méthyle :**

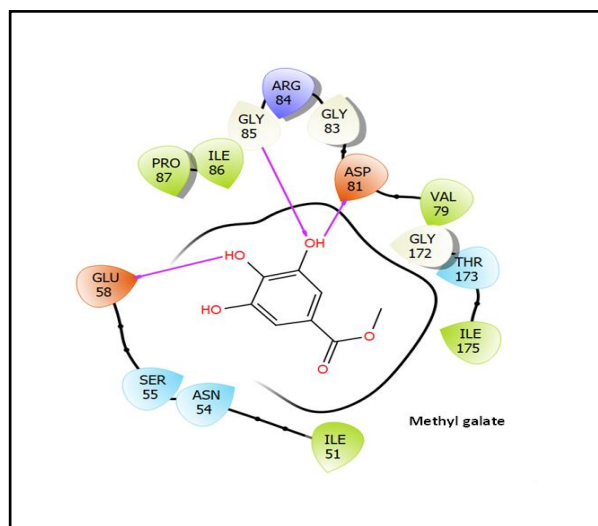


Figure 20 : Interactions entre le ligand Gallate de Méthyle et les Résidus de site actif de DNA gyrase

Le gallate de méthyle interagit avec le site actif de la DNA gyrase à travers plusieurs interactions hydrophiles et hydrophobes qui favorisent sa stabilisation au sein de la poche de liaison. Les groupements hydroxyles présents sur le noyau aromatique ainsi que le groupement ester permettent l'établissement de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Arg84, Glu58 et Asp81. Ces interactions contribuent à renforcer l'affinité du ligand envers la protéine cible. Par ailleurs, le noyau aromatique du gallate de méthyle participe à des interactions hydrophobes avec plusieurs résidus tels que Ile86, Ile51, Ile175, Val79 et Pro87, assurant un ancrage efficace du ligand dans le site actif. Des contacts supplémentaires avec Gly83, Gly85, Gly172, Ser55 et Asn54 participent également à la stabilisation du complexe ligand–récepteur. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre le gallate de méthyle et la DNA gyrase, suggérant une affinité de liaison favorable et un potentiel inhibiteur intéressant vis-à-vis de cette enzyme.

- **Acide Coummarique :**

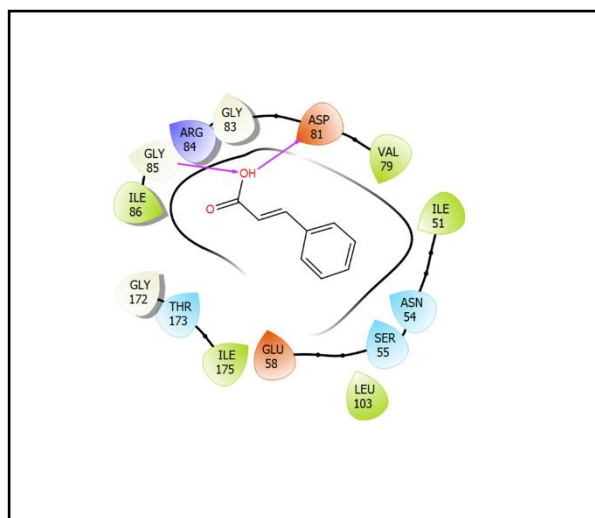


Figure 21 : Interactions entre le ligand Acide Coummarique et les Résidus de site actif de DNA gyrase

L'acide coumarique interagit avec le site actif de la DNA gyrase par l'intermédiaire de plusieurs interactions hydrophiles et hydrophobes contribuant à la stabilité du complexe ligand-récepteur. Le groupement carboxyle de la molécule favorise l'établissement de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Arg84 et Asp81, renforçant ainsi l'affinité du ligand pour la protéine cible. En parallèle, le noyau aromatique de l'acide coumarique participe à des interactions hydrophobes avec plusieurs résidus tels que Ile78, Ile86, Ile175, Leu103 et Val79, permettant un ancrage efficace au sein de la poche de liaison. Des contacts supplémentaires avec Gly83, Gly172, Thr173, Ser55 et Ser108 contribuent également à la stabilisation du ligand dans le site actif. L'ensemble de ces interactions met en évidence une complémentarité structurale favorable entre l'acide coumarique et la DNA gyrase, suggérant une bonne affinité de liaison et un potentiel inhibiteur intéressant vis-à-vis de cette enzyme.

- **Acide Caffeique :**

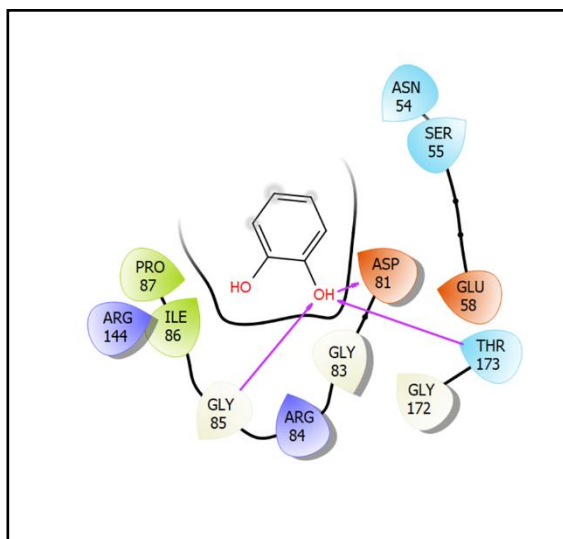


Figure 22 : Interactions entre le ligand Acide Caffeique et les Résidus de site actif de DNA gyrase

L'acide caféique interagit avec le site actif de la DNA gyrase à travers plusieurs interactions qui contribuent à la stabilité du complexe ligand–récepteur. Les groupements hydroxyle et carboxyle de la molécule favorisent la formation de liaisons hydrogène avec certains résidus du site actif, notamment Asp81, Gly83, Arg84 et Thr173, renforçant ainsi l'affinité du ligand pour la protéine cible. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide caféique participe à des interactions hydrophobes avec des résidus tels que Ile86, Pro87 et Glu58, assurant un bon ancrage au sein de la poche de liaison. Des contacts supplémentaires avec Gly85, Gly172, Ser55 et Asn54 contribuent également à la stabilisation du ligand dans le site actif. L'ensemble de ces interactions révèle une complémentarité structurale favorable entre l'acide caféique et la DNA gyrase, suggérant une bonne affinité de liaison et un potentiel inhibiteur prometteur vis-à-vis de cette enzyme.

- **Acide Gallique :**

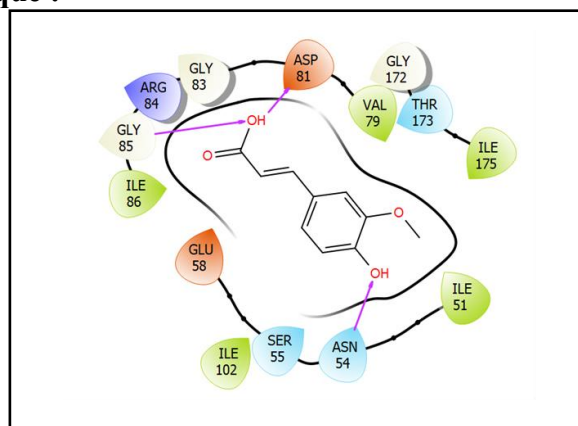


Figure 23 : Interactions entre le ligand Acide Gallique et les Résidus de site actif de DNA gyrase

L'acide gallique interagit avec le site actif de la DNA gyrase par plusieurs interactions hydrophiles et hydrophobes qui assurent la stabilité du complexe ligand–récepteur. Les groupements hydroxyle et carboxyle de la molécule établissent des liaisons hydrogène avec des résidus polaires tels que Asp81, Arg84, Asn54 et Ser55, renforçant ainsi l'affinité du ligand pour la protéine cible. Le noyau aromatique participe également à des interactions hydrophobes avec plusieurs résidus, notamment Ile51, Ile86, Ile102 et Val79, favorisant son ancrage dans la poche de liaison. Des contacts supplémentaires avec Gly83, Gly85, Gly172, Thr173 et Glu58 contribuent à la stabilisation du ligand au sein du site actif. L'ensemble de ces interactions suggère une bonne complémentarité structurale entre l'acide gallique et la DNA gyrase, indiquant un potentiel inhibiteur intéressant vis-à-vis de cette enzyme.

- **Acide Syringique :**

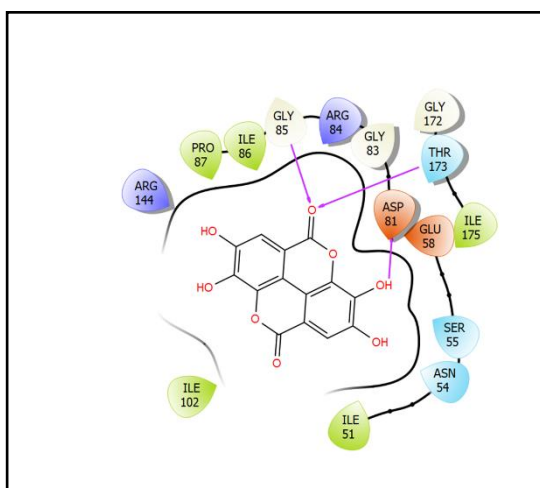


Figure 24 : Interactions entre le ligand Acide Syringique et les Résidus de site actif de DNA gyrase

L'acide syringique interagit avec le site actif de la DNA gyrase par plusieurs interactions favorisant la stabilité du complexe ligand–récepteur. Les groupements hydroxyle et méthoxy de la molécule participent à la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires tels que Arg84, Asp81, Thr173 et Asn54, renforçant ainsi l'affinité du ligand pour la protéine cible. Le noyau aromatique établit également des interactions hydrophobes avec plusieurs résidus, notamment Ile86, Ile51, Ile102, Pro87 et Val79, assurant un bon ancrage dans la poche de liaison. Des contacts supplémentaires avec Gly83, Gly172, Glu58 et Ser55 contribuent à la stabilisation du ligand au sein du site actif. L'ensemble de ces interactions met en évidence une

complémentarité structurale favorable entre l'acide syringique et la DNA gyrase, suggérant une bonne affinité de liaison et un potentiel inhibiteur intéressant vis-à-vis de cette enzyme.

5.2-Interaction des Flavonoïdes avec la protéine DNA gyrase

- **Rutin**

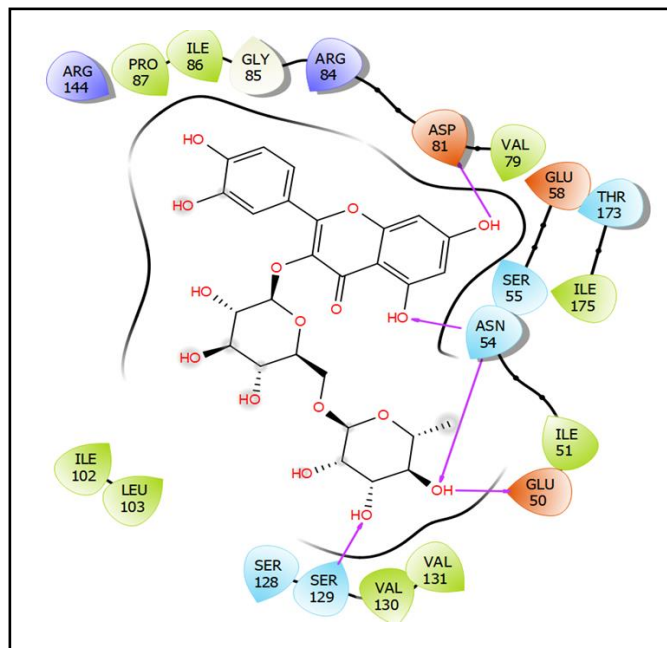


Figure 25 : Interactions entre le ligand Rutin et les Résidus de site actif de DNA gyrase

La rutin se lie au site actif de la DNA gyrase principalement à travers plusieurs interactions hydrophiles, notamment des liaisons hydrogène avec des résidus polaires tels que Asp81, Asn54, Ser55, Glu50 et Ser129.

La présence de nombreux groupements hydroxyles dans la structure de la rutin favorise la formation de multiples liaisons hydrogène, ce qui contribue fortement à la stabilisation du ligand à l'intérieur de la poche de liaison.

Des interactions supplémentaires avec Arg84, Val79, Ile51, Ile86 et Thr173 renforcent l'ancrage du ligand dans le site actif.

Cette multiplicité d'interactions explique le très bon docking score observé (-8.873), suggérant une forte affinité de la rutin envers la DNA gyrase et un potentiel inhibiteur important vis-à-vis de l'enzyme bactérienne.

- Quercétine

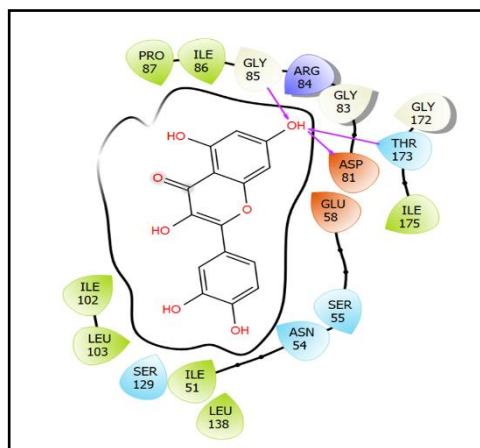


Figure 26 : Interactions entre le ligand Quercétine et les Résidus de site actif de DNA gyrase

La quercétine interagit avec la DNA gyrase principalement via des interactions hydrophiles impliquant des résidus polaires et chargés du site actif, notamment Asp81, Glu58 et Thr173.

Les groupements hydroxyles présents sur la quercétine permettent l'établissement de plusieurs liaisons hydrogène, assurant une bonne stabilisation du ligand dans la poche catalytique.

Des contacts avec Arg84, Gly83, Asn54, Ser55 et Ile175 participent également au maintien du ligand dans le site actif.

Ces interactions traduisent une bonne complémentarité ligand-récepteur et expliquent son docking score favorable (-7.775), indiquant une affinité importante envers la DNA gyrase, bien que légèrement inférieure à celle de la rutin.

- Naringenin

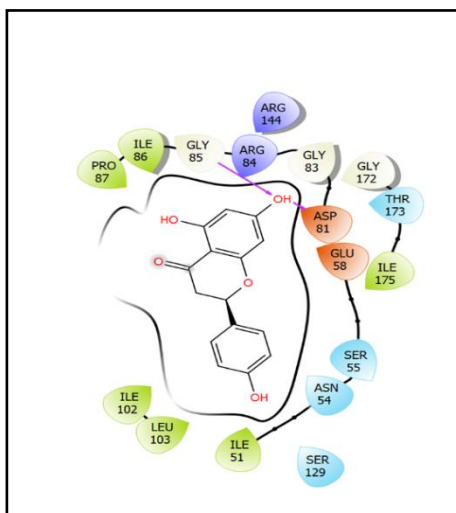


Figure 27 : Interactions entre le ligand Naringénine et les Résidus de site actif de DNA gyrase

La naringénine se lie au site actif de la DNA gyrase principalement à travers plusieurs interactions hydrophiles, notamment des liaisons hydrogène avec des résidus polaires tels que Asp81, Arg84 et Gly83.

La présence de groupements hydroxyles dans la structure de la naringénine favorise la formation de ces liaisons hydrogène, contribuant ainsi à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison.

Des interactions hydrophobes supplémentaires avec Ile51, Ile86, Ile102, Leu103, Pro87, Thr173 et Gly172 renforcent l'ancrage du ligand au niveau du site actif.

Les interactions électrostatiques impliquant Glu58 et Arg144 participent également à la stabilité du complexe ligand-enzyme. Cette diversité d'interactions suggère une bonne affinité de la naringénine envers la DNA gyrase et indique un potentiel inhibiteur intéressant vis-à-vis de cette enzyme bactérienne.

- **Kaempferol**

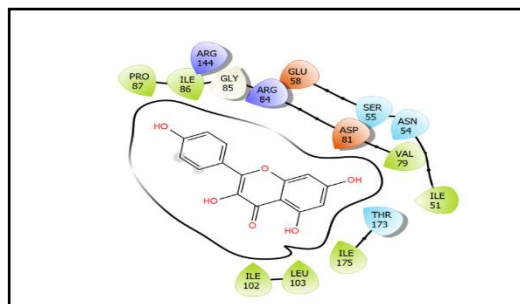


Figure 28 : Interactions entre le ligand Kaempferol et les Résidus de site actif de DNA gyrase

Le kaempférol se fixe au site actif de la DNA gyrase grâce à plusieurs interactions hydrophiles impliquant principalement les résidus Asp81, Arg84, Ser55, Asn54 et Glu58.

Les différents groupements hydroxyles présents dans la structure du kaempférol facilitent la formation de liaisons hydrogène, assurant une bonne stabilisation du ligand dans la poche catalytique.

Des interactions hydrophobes avec Val79, Ile51, Ile102, Ile175, Leu103 et Pro87 contribuent également au maintien du ligand dans le site actif.

Par ailleurs, Thr173 participe à l'orientation correcte du composé à l'intérieur de la cavité enzymatique. L'ensemble de ces interactions indique une affinité favorable du kaempférol envers la DNA gyrase, suggérant ainsi un potentiel inhibiteur prometteur contre l'enzyme bactérienne.

- **Apigenin**

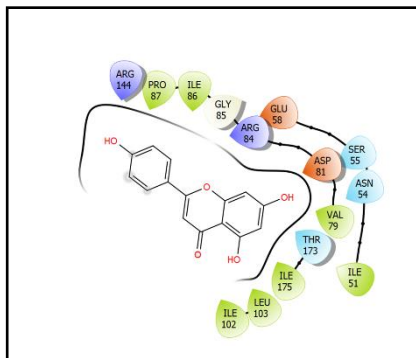


Figure 29 : Interactions entre le ligand Apigenin et les Résidus de site actif de DNA gyrase

L'apigénine interagit avec le site actif de la DNA gyrase à travers plusieurs interactions hydrophiles, notamment des liaisons hydrogène avec Asp81, Arg84, Asn54, Ser55 et Glu58.

Les groupements hydroxyles de l'apigénine jouent un rôle essentiel dans la formation de ces interactions, permettant une stabilisation efficace du ligand dans la poche de liaison.

Des interactions hydrophobes impliquant Val79, Ile51, Ile86, Ile102, Ile175, Leu103 et Pro87 renforcent davantage l'ancrage du composé dans le site actif de l'enzyme.

La participation de Thr173 contribue aussi à la stabilité du complexe ligand–protéine.

Cette multiplicité d'interactions suggère une bonne affinité de l'apigénine pour la DNA gyrase et met en évidence son potentiel comme inhibiteur de cette enzyme bactérienne.

6. Résultats et Discussion d'Activité Antioxydante :

Tableau 09 : Scores de Docking des flavonoïdes extraits de *Hélotropium Bacciferum*

	DOCKING SCORE	EMODEL ENERGIE
Co-crystallized ligand	-5.159	-28.304
Rutin	-13.710	-95.357
Naringenin	-8.381	-42.910
Apigenin	-8.325	-44.171
Kaempferol	-8.207	-46.259
Quercetine	-8.003	-51.791

6.1 Interprétation des flavonoïdes de *Hélotropium bacciferum*

• **Rutin** : Avec un score de docking de -13.710, cette molécule présente l'interaction la plus forte avec la cible protéique, indiquant une excellente affinité de liaison et un potentiel biologique élevé.

• **Naringenin** : Le score de -8.381 suggère une bonne interaction avec la cible, traduisant une affinité de liaison importante.

• **Apigenin** : Avec une valeur de -8.325, cette molécule montre également une bonne affinité envers la protéine cible, proche de celle observée pour la naringénine.

• **Kaempferol** : Le score de docking de -8.207 indique une interaction favorable avec la cible protéique, bien que légèrement inférieure à celle des composés précédents.

• **Quercétine** : Avec un score de -8.003, cette molécule présente une bonne capacité de liaison à la protéine cible, mais demeure la moins active parmi les flavonoïdes étudiés.

• **Ligand co-cristallisé** : Le score obtenu (-5.159) est moins favorable que ceux des flavonoïdes testés, ce qui suggère que ces derniers possèdent une meilleure affinité de liaison avec la cible protéique.

Tableau 10: Scores de Docking de La composition phénolique extraits de *Héliotropium Bacciferum*

	Docking score	Emodel energie
Ligand Co-crystallisé	-5.159	-28.304
Acide Chlorogenique	-9.607	-62.936
Acide elagique	-8.495	-48.991
Acide Caffeique	-7.161	-32.058
Acide Ferulique	-6.712	-32.856
Acide galique	-6.600	-33.024
Gallate de Methyl	-6.492	-33.085
Acide Syringique	-5.950	-33.376
Pyrocatechol	-5.616	-27.915
Acide Cinnamique	-5.611	-24.812
Vanilline	-5.495	-31.772

6.2 Interprétation des composés phénoliques de *Héliotropium bacciferum*

- **acide Chlorogenique** : Avec un score de docking de -9.607, cette molécule présente l'interaction la plus forte avec la cible protéique, indiquant une excellente affinité de liaison.
- **acide Ellagique** : Le score de -8.495 révèle également une interaction importante avec la cible, suggérant un bon potentiel biologique.
- **acide Caffeique** : Avec une valeur de -7.161, cette molécule montre une bonne affinité envers la protéine cible.
- **acide Ferulique** : Le score de docking de -6.712 indique une interaction favorable avec la cible protéique, bien qu'inférieure à celle des composés précédents.
- **acide Gallique** : Avec un score de -6.600, cette molécule présente une affinité modérée pour la protéine cible.
- **gallate de Methylene** : La valeur de -6.492 traduit une interaction modérée avec la cible protéique.
- **acide Syringique** : Le score de docking de -5.950 suggère une affinité relativement faible avec la protéine cible.
- **Pyrocatechol** : Avec un score de -5.616, cette molécule montre une interaction faible avec la cible.

- **acide Cinnamique** : La valeur de -5.611 indique une affinité limitée envers la protéine cible.
- **Vanilline** : Avec un score de docking de -5.495, cette molécule présente l'interaction la plus faible parmi les composés étudiés.
- **Ligand co-cristallisé** : Le score obtenu (-5.159) est inférieur à ceux de la majorité des composés testés, ce qui suggère une meilleure affinité de liaison des polyphénols vis-à-vis de la cible protéique.

7. Etude des interactions enzyme-ligand

7.1-Interaction des composés phénoliques avec la protéine Nitric Synthase

- **Ligande Co-cristallisé** :

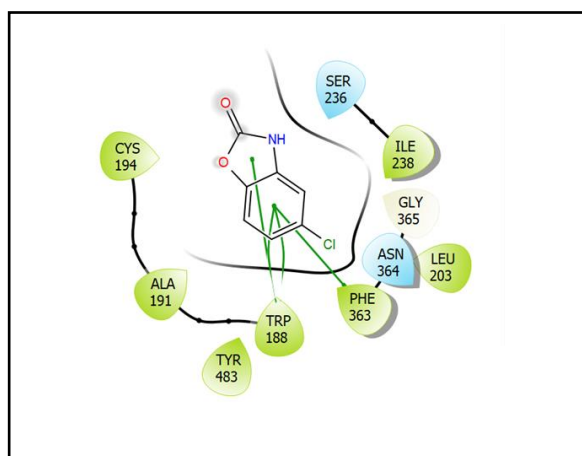


Figure 30 : Interactions entre le ligand co-cristallisé et les Résidus de site actif de nitric synthase

Le ligand co-cristallisé interagit avec la cible protéique principalement via des interactions hydrophobes impliquant plusieurs résidus du site actif, notamment Trp188, Phe363, Leu203, Ala191 et Ile238. La structure aromatique du ligand favorise l'établissement d'interactions de type π - π et π -alkyl, contribuant à sa stabilisation au sein de la poche de liaison. Une liaison hydrogène est également observée avec le résidu Ser236, renforçant l'ancrage du ligand dans le site actif. D'autres contacts avec Asn364, Gly365, Cys194 et Tyr483 participent au maintien de la conformation du complexe ligand-récepteur. L'ensemble de ces interactions traduit une bonne complémentarité structurale entre le ligand et la protéine, assurant une stabilisation efficace du complexe dans la poche catalytique.

- Acide Ellagique :

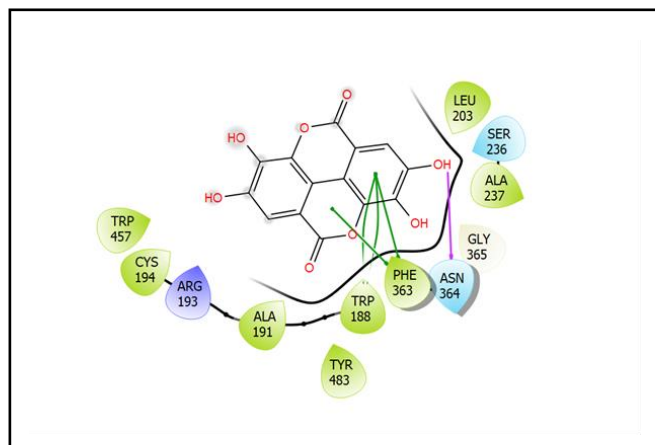


Figure 31 : Interactions entre le ligand Acide Ellagique et les Résidus de site actif de nitric synthase

L'acide ellagique interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyles et carbonyles présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Ser236 et Asn364, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365 et Ala237 participent également au maintien du complexe ligand-récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide ellagique établit plusieurs interactions hydrophobes et de type π - π avec des résidus tels que Trp188, Phe363 et Tyr483, renforçant l'ancrage du ligand dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Arg193, Cys194, Leu203 et Trp457 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre l'acide ellagique et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Acide Caffeique :**

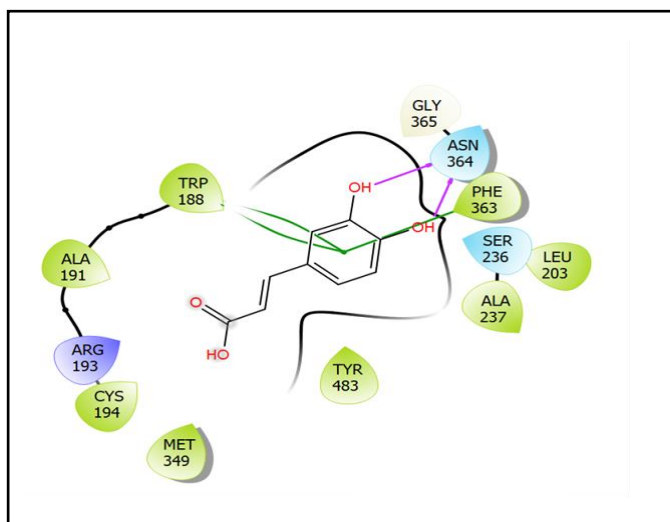


Figure 32 : Interactions entre le ligand Acide Caffeique et les Résidus de site actif de nitric synthase

L'acide caféique interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyles et carboxyles présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asn364 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365 et Ala237 participent également au maintien du complexe ligand–récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide caféique établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Phe363 et Tyr483, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Arg193, Cys194, Leu203 et Met349 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre l'acide caféique et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Acide Chlorogénique :**

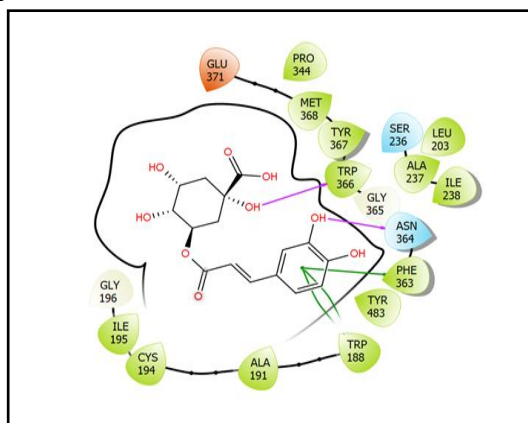


Figure 33 : Interactions entre le ligand Acide Chlorogénique et les Résidus de site actif de nitric synthase

L'acide chlorogénique interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les nombreux groupements hydroxyles ainsi que les fonctions oxygénées présentes sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec plusieurs résidus polaires du site actif, notamment Asn364, Ser236 et Arg193, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365 et Ala237 participent également au maintien du complexe ligand-récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide chlorogénique établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Tyr483 et Phe363, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Cys194, Leu203 et Met349 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre l'acide chlorogénique et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Acide Féulique :**

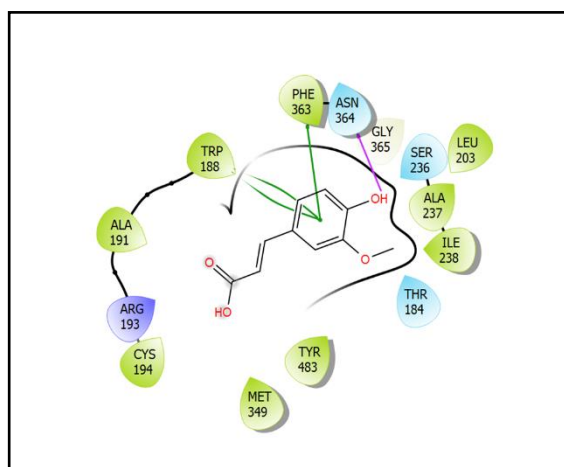


Figure 34 : Interactions entre le ligand acide Féulique et les Résidus de site actif de nitric synthase

L'acide férulique interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyle et carboxyle présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asn364 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365 et Ala237 participent également

au maintien du complexe ligand–récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide férulique établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Phe363 et Tyr483, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Arg193, Cys194, Leu203 et Met349 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre l'acide férulique et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Acide Gallique :**

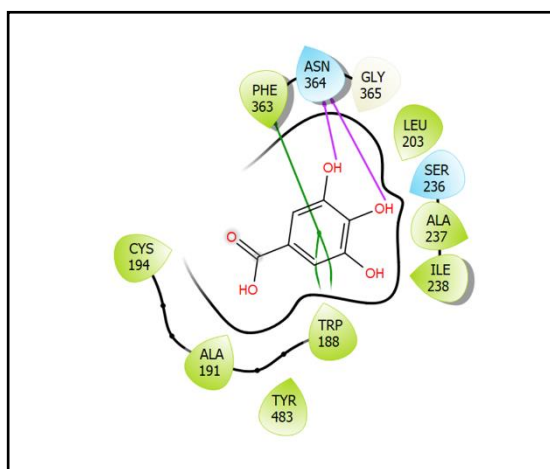


Figure 35 : Interactions entre le ligand acide Gallique et les Résidus de site actif de nitric synthase

L'acide gallique interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyles et carboxyle présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asn364 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365, Ala237 et Ile238 participent également au maintien du complexe ligand–récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide gallique établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Phe363, Trp188 et Tyr483, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Cys194 et Leu203 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre l'acide gallique et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Gallate de Méthyle :**

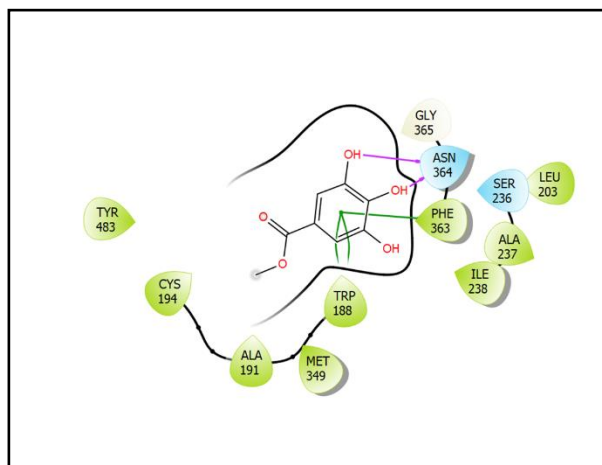


Figure 36 : Interactions entre le ligand gallate de Méthyle et les Résidus de site actif de nitric synthase

Le gallate de méthyle interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyles ainsi que la fonction ester présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asn364 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365, Ala237 et Ile238 participent également au maintien du complexe ligand-récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique du gallate de méthyle établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Tyr483 et Phe363, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191 et Cys194 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre le gallate de méthyle et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Acide Syringique :**

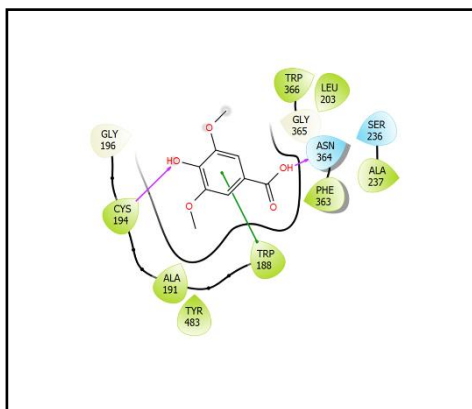


Figure 37 : Interactions entre le ligand acide Syringique et les Résidus de site actif de nitric synthase

L'acide syringique interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyle, méthoxy et carboxyles présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asn364 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365 et Ala237 participent également au maintien du complexe ligand–récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide syringique établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Phe363, Trp188 et Tyr483, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Cys194 et Ile238 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre l'acide syringique et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Pyrocatechol :**

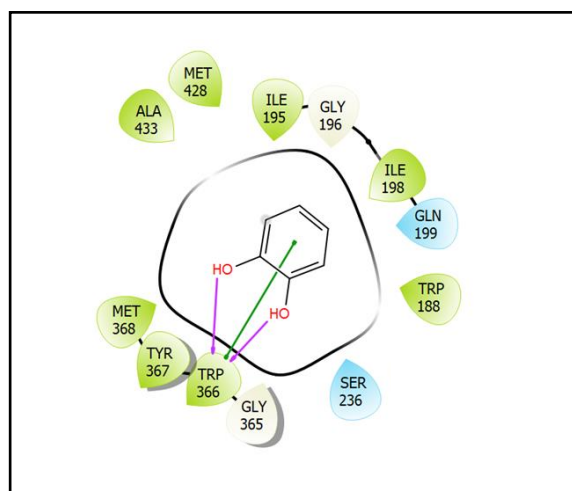


Figure 38 : Interactions entre le ligand Pyrocatechol et les Résidus de site actif de nitric synthase

Le pyrocatechol interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les deux groupements hydroxyles présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Gln199 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gln365 participent également au maintien du complexe ligand–récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique du pyrocatechol établit plusieurs

interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Trp366, Ile195 et Ile198, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Met349 et Met368 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre le pyrocatechol et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Acide Cinnamique :**

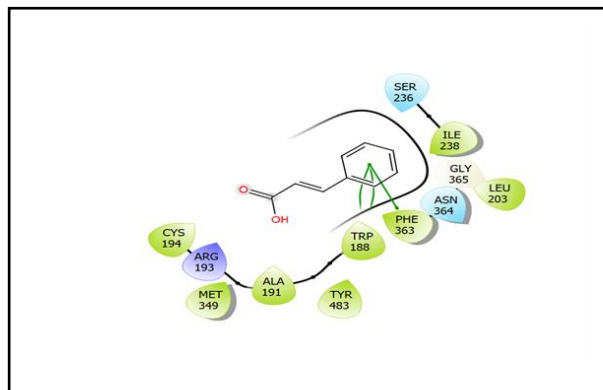


Figure 39 : Interactions entre le ligande Acide Cinnamique et les Résidus de site actif de nitric synthase

L'acide cinnamique interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophobes et de liaisons hydrogène. Le groupement carboxyle présent sur sa structure favorise la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asp190 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'acide cinnamique établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Phe363 et Tyr483, renforçant son ancrage dans le site actif. Des contacts supplémentaires impliquant Ala191, Ile238, Met349 et Asn364 participent également au maintien du complexe ligand-récepteur et à la stabilité globale de l'interaction. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre l'acide cinnamique et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Vanilline :**

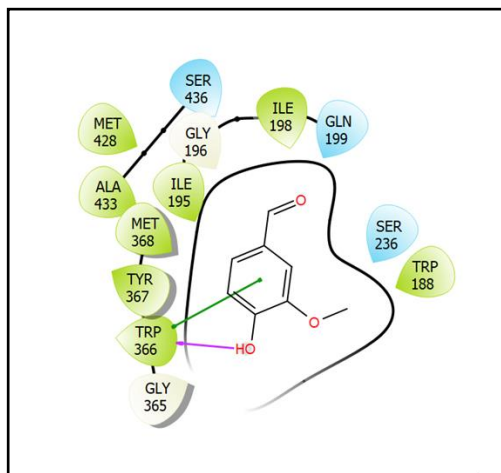


Figure 40 : Interactions entre le ligande Vanilline et les Résidus de site actif de nitric synthase

La vanilline interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements aldéhyde, hydroxyle et méthoxy présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Ser236 et Gln199, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Par ailleurs, le noyau aromatique de la vanilline établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Trp366 et Ile198, renforçant son ancrage dans le site actif. Des contacts supplémentaires impliquant Ala191, Met349, Ile195, Tyr483 et Gly365 participent également au maintien du complexe ligand-récepteur et à sa stabilité globale. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre la vanilline et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

7.2-Interaction des Flavonoïdes avec la protéine Nitric Synthase

- **Ligand co-cristallisé :**

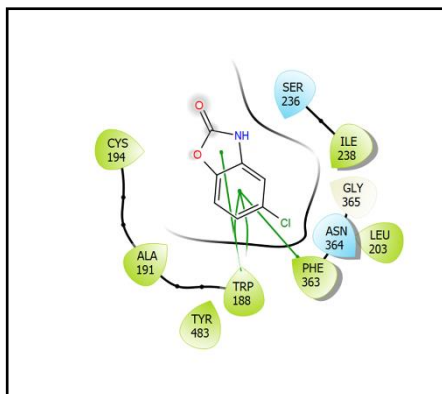


Figure 41 : Interactions entre le ligande co-cristallisé et les Résidus de site actif de nitric synthase

Le ligand co-cristallisé interagit avec le site actif de la Nitric Oxide Synthase grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements oxygénés présents sur sa structure favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Ser236 et Asp190, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365 participent également au maintien du complexe ligand-récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique du ligand établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Tyr483 et Ile198, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Cys194 et Ile238 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre le ligand co-cristallisé et la protéine cible, expliquant sa forte affinité de liaison et son rôle de référence dans l'étude de docking moléculaire.

- **Rutine :**

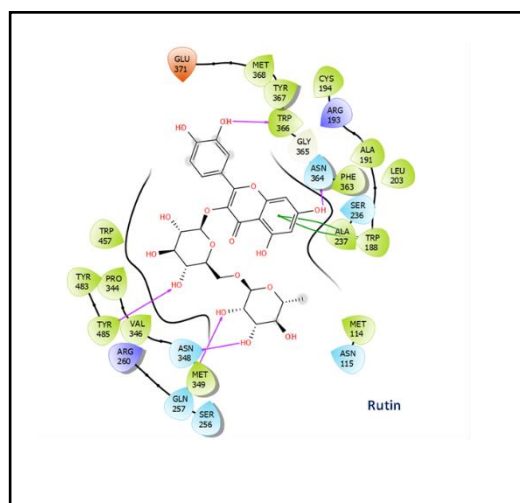


Figure 42 : Interactions entre le ligande Rutine et les Résidus de site actif de nitric synthase

La rutine interagit fortement avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison complexe d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les nombreux groupements hydroxyles présents sur sa structure flavonoïdique glycosylée favorisent la formation de plusieurs liaisons hydrogène avec différents résidus polaires du site actif, contribuant à une stabilisation importante du ligand dans la poche de liaison. Ces interactions impliquent notamment des résidus tels que Ser236, Asp190, Asn364 et Gly365. Par ailleurs, le noyau flavonoïdique aromatique de la rutine établit plusieurs interactions hydrophobes et de type π - π avec des

résidus aromatiques du site actif, renforçant son ancrage au sein de la protéine. Des contacts supplémentaires avec des résidus tels que Trp188, Tyr483, Ala191, Ile198 et Ile238 contribuent également à la stabilité globale du complexe ligand–récepteur. L'ensemble de ces interactions met en évidence une excellente complémentarité structurale entre la rutine et la protéine cible, suggérant une forte affinité de liaison et un potentiel inhibiteur particulièrement intéressant.

- **Naringénine :**

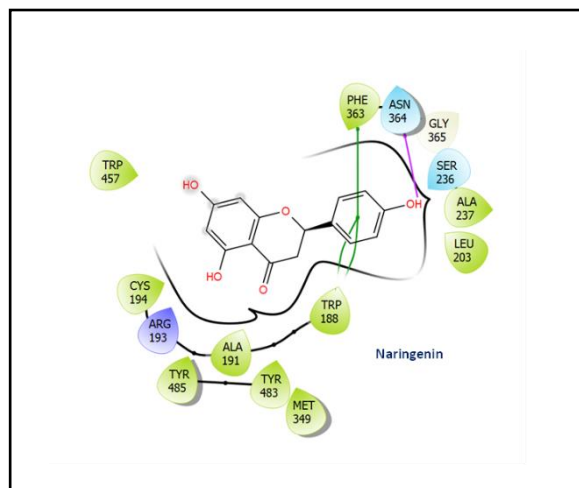


Figure 43 : Interactions entre le ligande Naringénine et les Résidus de site actif de nitric synthase

La naringénine interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyles et carbonyle présents sur sa structure flavonoïdique favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asn364 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions supplémentaires impliquant Gly365 participent également au maintien du complexe ligand–récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique de la naringénine établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Phe363 et Tyr483, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Arg193, Cys194, Ile198 et Ile238 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre la naringénine et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Apigénine :**

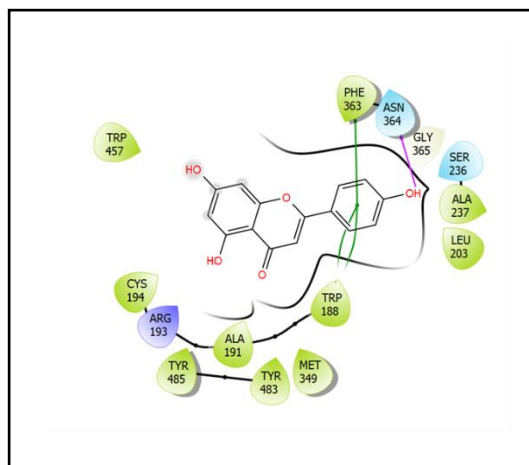


Figure 44 : Interactions entre le ligande Apigénine et les Résidus de site actif de nitric synthase

L'apigénine interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyles et carbonyle présents sur sa structure flavonoïdique favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asn364 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Des interactions impliquant également Gly365 participent au maintien du complexe ligand-récepteur. Par ailleurs, le noyau aromatique de l'apigénine établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Phe363 et Tyr483, renforçant son ancrage dans le site actif. D'autres contacts avec Ala191, Arg193, Cys194, Ile198 et Ile238 contribuent également à la stabilité globale du complexe. L'ensemble de ces interactions met en évidence une bonne complémentarité structurale entre l'apigénine et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison significative et un potentiel inhibiteur intéressant.

- **Kaempférol :**

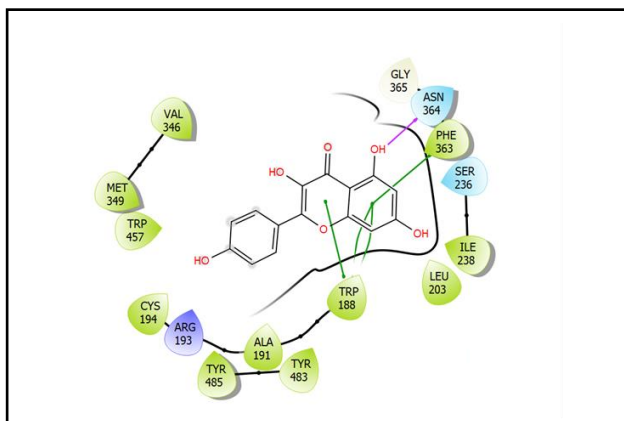


Figure 45 : Interactions entre le ligande Kaempférol et les Résidus de site actif de nitric synthase

Le kaempférol interagit avec le site actif de la protéine grâce à une combinaison d'interactions hydrophiles et hydrophobes. Les groupements hydroxyles et carbonyle présents sur sa structure flavonoïdique favorisent la formation de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Asn364, Ser236 et Gly365, contribuant à la stabilisation du ligand dans la poche de liaison. Par ailleurs, le noyau aromatique du kaempférol établit plusieurs interactions hydrophobes avec des résidus tels que Trp188, Phe363 et Tyr483, renforçant son ancrage au sein du site actif. Des contacts supplémentaires avec Ala191, Arg193, Cys194, Ile198 et Ile238 participent également à la stabilité globale du complexe ligand-récepteur. L'ensemble de ces interactions traduit une bonne complémentarité structurale entre le kaempférol et la protéine cible, suggérant une affinité de liaison favorable et un potentiel inhibiteur prometteur.

- **Quercétine :**

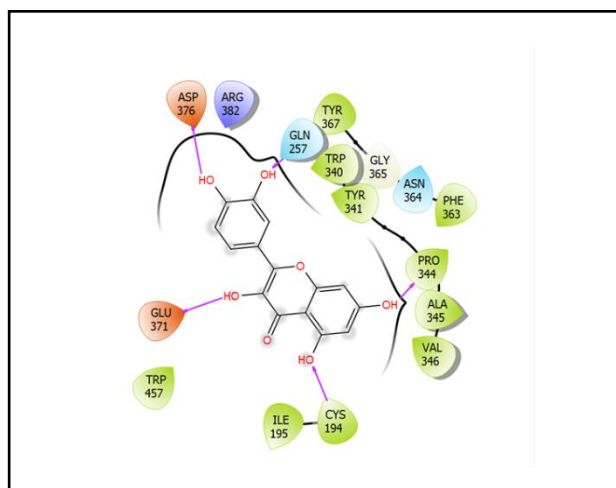


Figure 46 : Interactions entre le ligande Quercétine et les Résidus de site actif de nitric synthase

La quercétine interagit avec le site actif de la protéine par l'intermédiaire de plusieurs interactions hydrophiles et hydrophobes. La présence de nombreux groupements hydroxyles ainsi que du groupement carbonyle favorise l'établissement de liaisons hydrogène avec des résidus polaires du site actif, notamment Arg366, Glu371, Gln257 et Ser236, contribuant à la stabilisation du ligand au sein de la poche de liaison. En parallèle, le squelette aromatique de la quercétine participe à des interactions hydrophobes avec plusieurs résidus tels que Phe363, Tyr483, Ala191, Ile198 et Cys194, renforçant son ancrage dans le site actif. Des contacts supplémentaires avec Trp188 et Gly365 contribuent également à la stabilité du complexe

ligand–récepteur. L’ensemble de ces interactions traduit une forte complémentarité structurale entre la quercétine et la protéine cible, suggérant une bonne affinité de liaison et un potentiel inhibiteur prometteur.

5. Résultats des propriétés pkCSM :

Tableau 11 : Prédiction des propriétés ADMET des composés phénoliques étudiés par PKCSM

		C14H6O8	C9H8O4	C10H10O4	C7H6O5	C16H18O9	C8H8O5	C8H12ClNO2	C15H18O8	C8H8O3	C15H18O8
Classe	Properties	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10
Absorption	Water solubility	-3.181	-2.33	-2.817	-2.56	-2.449	-2	-1.88	-2.223	-1.308	-2.393
	Intestinal absorption	86.684	69.407	93.685	43.374	36.377	76.635	85.848	73.076	84.976	14.12
Distribution	BBB permeability	-1.272	-0.647	-0.239	-1.102	-1.407	-1.046	-0.312	-0.191	-0.243	-1.076
Metabolism	CYP3A4 substrate	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
	CYP1A2 inhibitor	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Excretion	Total Clearance	0.537	0.508	0.623	0.518	0.307	0.635	1.397	0.646	0.601	0.278
	Renal OCT2 substrate	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Toxicity	AMES toxicity	No	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No
	Hepatotoxicity	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
	hERG I inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No

Tableau 12 : Prédiction des propriétés ADMET des Flavonoïdes étudiés par PKCSM

		C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	C ₁₅ H ₁₀ O ₅
Classe	Properties	01	02	03	04	05
Absorption	Water solubility	-2.892	-2.925	-3.224	-3.04	-3.329
	Intestinal absorption	23.446	77.207	91.31	74.29	93.25
Distribution	BBB permeability	-1.899	-1.098	-0.578	-0.939	-0.734
Metabolism	CYP3A4 substrate	No	No	No	No	No
	CYP1A2 inhibitor	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Excretion	Total Clearance	-0.369	0.407	0.06	0.477	0.566
	Renal OCT2 substrate	No	No	No	No	No
Toxicity	AMES toxicity	No	No	No	Yes	No
	Hepatotoxicity	No	No	No	No	No
	hERG I inhibitor	No	No	No	No	No

8. Discussion des Résultats:

-Activité antimicrobienne :

Les résultats du Docking moléculaire obtenus dans cette étude ont montré que plusieurs composés phénoliques et flavonoïdes possèdent une forte affinité de liaison avec les protéines cibles microbiennes, suggérant ainsi un potentiel important d'activité antimicrobienne. Parmi les flavonoïdes étudiés, le composé Rutin a présenté le meilleur docking score (-8.873), suivi de Quercétine (-7.775) puis de Naringénine (-6.296), tandis que Kaempférol et Apigénine ont montré des valeurs légèrement plus faibles.

Concernant les composés phénoliques, l'acide ellagique a enregistré la meilleure affinité (-7.150), suivi de l'acide caféique (-6.717) et de l'acide férulique (-6.188).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par l'étude de Ahmed Abdelkhalek et al. (2024), qui ont montré que l'extrait méthanolique de *Heliotropium bacciferum* est riche en composés phénoliques et flavonoïdes à activité antimicrobienne, notamment l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide ellagique, la quercétine, le kaempférol, la naringénine, l'apigénine et la rutine.

L'étude de (Ahmed *et al.*, 2024) a également démontré que l'extrait méthanolique possède une activité antibactérienne et antifongique importante contre plusieurs microorganismes pathogènes, en particulier contre *Ralstonia solanacearum*, *Botrytis cinerea* et *Fusarium oxysporum*. Les auteurs ont attribué cette activité à la richesse de l'extrait en métabolites secondaires bioactifs, principalement les flavonoïdes et les composés phénoliques.

Les résultats actuels du Docking moléculaire soutiennent fortement cette hypothèse. En effet, les molécules ayant montré les meilleures valeurs de Docking sont connues pour leurs propriétés antimicrobiennes. Par exemple, la quercétine est capable d'altérer l'intégrité de la membrane bactérienne et d'inhiber certaines enzymes essentielles à la survie cellulaire bactérienne. De même, le kaempférol inhibe des enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN bactérien. Par ailleurs, l'acide ellagique et l'acide caféique possèdent plusieurs groupes hydroxyles favorisant la formation de liaisons hydrogène avec les résidus d'acides aminés présents dans le site actif des protéines cibles, ce qui pourrait expliquer leurs bonnes affinités de liaison (Ahmed *et al.*, 2024).

D'une manière générale, les flavonoïdes ont présenté de meilleurs Docking scores que plusieurs composés phénoliques simples. Cette différence pourrait être liée à leur structure

chimique plus complexe ainsi qu'à la présence d'un plus grand nombre de groupements fonctionnels capables d'établir des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène avec les protéines cibles. Il est également intéressant de noter que la rutine a montré la meilleure affinité moléculaire malgré sa faible concentration dans l'analyse HPLC rapportée par (Ahmed *et al.*, 2024). Cela indique que l'activité biologique potentielle d'un composé ne dépend pas uniquement de son abondance dans l'extrait végétal, mais aussi de sa capacité à interagir efficacement avec la cible moléculaire.

En conclusion, les résultats *in silico* obtenus dans cette étude sont cohérents avec les résultats expérimentaux *in vitro* rapportés dans l'article de référence (Ahmed *et al.*, 2024). Cette concordance confirme le rôle potentiel des composés phénoliques et flavonoïdes comme agents antimicrobiens prometteurs. Toutefois, des études complémentaires *in vitro* et *in vivo* restent nécessaires afin de confirmer leur efficacité biologique et de mieux comprendre leurs mécanismes d'action.

-Activité antioxydante :

Les résultats du docking moléculaire obtenus dans cette étude montrent que les composés phénoliques et flavonoïdes présentent des affinités de liaison importantes vis-à-vis des protéines antioxydantes cibles, notamment la superoxide dismutase, la catalase et les peroxydases. Ces résultats suggèrent un potentiel antioxydant élevé des molécules étudiées.

Parmi les flavonoïdes analysés, la rutine a présenté la meilleure affinité avec un score de docking de -13.710, suivie de la naringénine (-8.381) et de l'apigénine (-8.325). La quercétine et le kaempférol ont également montré des énergies de liaison significatives, respectivement de -8.003 et -8.207, indiquant une interaction stable avec les sites actifs des enzymes cibles.

Concernant les composés phénoliques, l'acide chlorogénique a affiché la meilleure affinité (-9.607), suivi de l'acide ellagique (-8.495). Les autres composés tels que l'acide caféique (-7.161), l'acide férulique (-6.712), l'acide gallique (-6.600), le méthyl gallate (-6.492), ainsi que la syringic acid, la pyrocatechol, la cinnamic acid et la vanilline ont montré des interactions modérées mais significatives avec les protéines cibles.

Ces résultats sont en accord direct avec l'étude de (Sohail, Shabir, *et al.*, 2014), "Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity, Fatty Acids Composition, and Functional Group Analysis of *Heliotropium bacciferum*" publiée dans The Scientific World Journal, qui a démontré que cette plante est riche en composés phénoliques et flavonoïdes responsables d'une

forte activité antioxydante, notamment via le test DPPH. Les auteurs ont également mis en évidence la présence de flavonoïdes tels que la rutine, la quercétine, la naringénine et l'apigénine, ainsi que des acides phénoliques comme l'acide chlorogénique, l'acide caféique et l'acide ellagique.

De plus, les deux études mettent en évidence que les flavonoïdes présentent généralement de meilleures énergies de liaison que les acides phénoliques simples. Cette différence est attribuée à la structure chimique plus complexe des flavonoïdes et à la présence de plusieurs groupements hydroxyles, permettant la formation de nombreuses liaisons hydrogène avec les résidus des sites actifs.

Ainsi, la concordance entre les résultats de cette étude et ceux rapportés par Ahmad et al. Confirme que les composés phénoliques et flavonoïdes jouent un rôle essentiel dans l'activité antioxydante, en particulier par leur capacité à interagir avec les enzymes impliquées dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène.

En conclusion, les résultats du docking moléculaire suggèrent un fort potentiel antioxydant des molécules étudiées, en parfaite cohérence avec les données *in silico* et expérimentales de la littérature. Cependant, des études complémentaires *in vitro* et *in vivo* restent nécessaires pour confirmer ces interactions et leur impact biologique réel.

Conclusion

Cette étude a permis d'explorer, par une approche *in silico*, les activités antioxydantes et antimicrobiennes des composés bioactifs présents dans *Héliotropium bacciferum*. Les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel thérapeutique important de cette plante herbacée appartenant à la famille des Boraginacées, notamment grâce à sa richesse en flavonoïdes, composés phénoliques et autres métabolites secondaires biologiquement actifs.

Les analyses réalisées ont montré que plusieurs composés identifiés dans *Héliotropium bacciferum*, tels que la quercétine, le kaempférol, la naringénine, l'acide gallique, l'acide chlorogénique et l'acide caféique, possèdent une capacité significative à interagir avec différentes cibles biologiques impliquées dans les mécanismes du stress oxydatif et des infections microbiennes. Ces interactions suggèrent un potentiel antioxydant important, lié principalement à leur capacité de neutralisation des radicaux libres et à leur action protectrice contre les dommages oxydatifs cellulaires.

Par ailleurs, les résultats obtenus concernant l'activité antimicrobienne indiquent que les composés bioactifs de *Héliotropium bacciferum* pourraient agir efficacement contre différents micro-organismes pathogènes. Les interactions observées avec certaines enzymes et protéines cibles impliquées dans la biosynthèse de la paroi cellulaire bactérienne, la réplication de l'ADN ou encore la synthèse des protéines confirment l'intérêt de cette plante comme source potentielle de nouveaux agents antimicrobiens naturels. Ces propriétés sont particulièrement importantes dans le contexte actuel marqué par l'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques conventionnels.

L'étude met également en évidence l'intérêt des approches *in silico* dans la recherche pharmacologique moderne. Les outils bio-informatiques et le Docking moléculaire permettent de prédire efficacement les interactions entre les molécules naturelles et leurs cibles biologiques, tout en réduisant le recours à l'expérimentation animale conformément à la stratégie des « 3R » (Réduction, Raffinement et Remplacement). Ces méthodes constituent ainsi une approche rapide, économique et prometteuse pour l'identification de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique.

En conclusion, *Héliotropium bacciferum* apparaît comme une source naturelle prometteuse de composés à activités antioxydantes et antimicrobiennes. Toutefois, des études complémentaires *in vitro* et *in vivo* restent nécessaires afin de confirmer expérimentalement les résultats obtenus, d'évaluer la toxicité éventuelle de certains composés et de mieux comprendre leurs mécanismes d'action avant toute application thérapeutique potentielle.

Perspectives

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude *in silico* sur l'activité antioxydante et antimicrobienne des composés bioactifs de *Hélotropium bacciferum* ouvre plusieurs perspectives intéressantes pour de futures recherches :

1. Approfondissement des études de Docking moléculaire : Des analyses supplémentaires peuvent être réalisées sur d'autres protéines cibles impliquées dans les mécanismes du stress oxydatif et des infections microbiennes afin d'identifier de nouvelles interactions moléculaires potentielles.

2. Identification de nouveaux composés bioactifs : L'exploration phytochimique approfondie de *Hélotropium bacciferum* pourrait permettre l'identification d'autres polyphénols et flavonoïdes présentant un potentiel biologique important.

3. Étude des propriétés pharmacocinétiques : Des analyses ADMET plus détaillées pourraient être effectuées afin d'évaluer davantage la biodisponibilité, la toxicité et la stabilité des composés les plus prometteurs.

4. Développement de molécules thérapeutiques naturelles : Les composés ayant montré les meilleures affinités moléculaires pourraient constituer des candidats intéressants pour le développement futur d'agents antioxydants et antimicrobiens d'origine naturelle.

Références:

- ABDELKHALEK, A., ELSHAER, M., AL-ASKAR, A., KOWALCZEWSKI, P., & BEHIRY, S. (2024). *Antimicrobial activities and metabolites profiling of Heliotropium bacciferum forssk. Methanolic extract*. 7-8.
- Acosta, M., Vazquez Fonseca, L., Desbats, M., Cerqua, C., Zordan, R., & Trevisson, E. (2016). *Coenzyme Q biosynthesis in health and disease*. 1860, 1079_1085.
- Adam, J. G., Echard, N., & Lescot, M. (1972). *Plantes médicinales hausa de l'Ader*. 19, 259_399.
- Agarwal, S., & Mehrotra, R. (2016). *An overview of molecular docking*. 4(2), 1042.
- Ahmad, S., Abd El_Salam, N. M., & Ullah, R. (2016). *In vitro antimicrobial bioassays, DPPH radical spectroscopy analysis of Heliotropium bacciferum*. 2016, 1_12.
- Ahmed, A., Moustafa, E., Adulaziz, A. A., Przemyslaw, K., & Said, B. (2024). *Antimicrobial activities and metabolites profiling of Heliotropium Bacciferum forssk, methanolic extract*. 52, 13602.
- Aida, P., Rosa, v, Blamea, F., Tomas, A., & Salvador, C. (2001). *Antifungal activity of paraguayen plants used in traditional medicine*. *J. Ethnopharm.* 93-98.
- Aissaoui, H., Mencherini, T., Esposito, T., de Tommasi, N., Gazzero, P., Benayache, S., Benayache, F., & Mekkiou, R. (2019). *Heliotropium bacciferum forssk.(boraginaceae) extracts : Chemical constituents, antioxidant activity and cytotoxic effect in human cancer cell lines*. 33(12), 1813-1818.
- Aissaoui, H., Menecherini, T., Esposito, T., Tommasi, N., Gazzero, P., Benayache, S., Benayache, F., & Mekkiou, R. (2019). *Heliotropium bacciferum forssk. (Boraginaceae) extracts : Chemical constituents, antioxidant activity and cytotoxic effect in human cancer cell lines*. 33.
- Akham, H., & Further, H. (1994). *The genus Heliotropium L.(Boraginaceae) in Flora Iranica Area* (Vol. 2, p. 187_276).
- AL Kamaly, O., ALanazi, A. S., Noman, O., & Imatara, H. (2023). *In Vitro Evaluation of Chemical Compounds, Antiproliferative Activity, Efficacy in Apoptosis Induction and Cell Cycle Arrest of Heliotropium Bacciferum Extract and Fractions on the A549 Cell Line*. 6412.
- Alam, J., & Cook, J. (2007). *Haw many transcription factors does it take to turn on the heme oxygenase_I gene*. 36, 166_174.
- Allil, J., Kehinde, A., Kosoko, A., & Ademowo, O. (2014). *Oxidative stress and reduced vitamins C and E levels are associated with multi_drug resistant tuberculosis*. 2, 52_58.
- Andrew, R. L., Brian, k. schoichet, & and Catherine, E. P. (2006). *Docking and scoring prescriptive*. 49(20), 5852-5855.
- Asli, F. (2020). *Étude de docking moléculaire : Application au récepteur du facteur de croissance épidermique*. Mohamed khider de Biskra.
- AUROUSSEAU, B. (2002). *Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : Concéquences sur la reproduction la physiologie et la qualité de leurs produits*. 67-82.
- Babulla, p, Masarik, M., Adam, V., Eckschlager, T., Stiborova, M., & Trankova, L. (2012). *Mammalian metallothioneins : Properties and functions*. 4, 739_750.
- Bakheit, A. H., Wani, T. A., Al-Majed, A. A., Alkahtani, H. M., Alanazi, M. M., Alqahtani, F. R., & Zargar, S. (2024). *Theoretical study of the antioxidant mechanism and structure-activity relationships of 1,2,3-oxadiazol-2-ylthieno[2,3]Pyrimidin-4- amine derivatives : A computatiol approach*. 12.

- Bates, A. D., & Maxwell, A. (2005). *DNA topology*. Oxford university press.
- Bentinger, M., Tekle, M., & Dallner, G. (2010). *Coenzyme Q biosynthesis and function*. 396, 74_79.
- Birben, E., Murat, U., Sackesen, C., Eruzurm, S., & Kalayci, O. (2012). *Oxidative stress and antioxidant defense*. 5, 9_19.
- Bouayed, J. (2010). *polyphenols : A potential new strategy for the prevention and treatment of anxiety and depression*. 6, 13-18.
- Burton, G. W., & Inglood, k. U. (1989). *Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant*. 570, 7-22.
- Cabib, E., Sburlati, A., Bowers, B., & Silverman, S. (1989). *Chitin synthase 1 : Counterbalancing activities in cell separation of saccharomyces cervisiae*. 1665-1672.
- Cai, M., Zheng, R., Caffrey, M., Craigie, R., Clore, G. M., & Gronenborn, A. m. (1997). *Solution structure of the N- terminal zinc binding domain of HIV-1 Integrase*. 4(7), 567-577.
- Carlsen, M. (2010). *The total antioxidant content of more than 3100 foods , beverages, spices, herbs and supplelements used worldwide*. 9.
- carr, A., & Frei, B. (1999). *Does vitamin C act as a pro- oxidant underr physiological conditions?* 13, 1024-1007.
- Cosento, S., & Tuberoso, C. I. G. (1999). *In vitro antimicrobial activity and chemical composition of sardinian thymus essential oils*. *Letters in applied microbiology*. 130-135.
- Deacon, J. W. (2006). *Fungal biology* (4th edition).
- Debeljak, k, Fink, M., & Rozman, D. (2003). *Many facets of mammalian lanosterol 14 alpha- -demethylase from the evolutionarily conserved cytochrome p450 family cyp51*. 409, 159-171.
- de Groot, H., & Rauen, U. (1998). *Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids*. 12, 249_255.
- Devadas, S., Zaritskaya, L., & Rhee, S. (2002). *Discrete generation of superoxide and hydrogen peroxide by T cell receptor stimulation : Selective regulation of mitogen-activated protein kinase activation and fas ligand expression*. 59-70.
- Dong, k. c, & Berger, J. M. (2008). *Structure and function of DNA topoisomerases*. In *Protein- nucleic acid interactions : Structural biology*.
- Donnino, M., Cocchi, M., Saliccioli, J., Kim, D., Naini, A., & Buettner, C. (2011). *Coenzyme Q10 levels are low and may be associated withe the inflamamatory cascade in septic shock*. 15.
- Dresler, S., Szymczak, G., & Wojcik, M. (2017). *Comparaison of some secondary metabolite content in the seventeen species of the Boraginaceae family*. 55, 691_695.
- Ebadi, M. S. (2006). *Pharmacodynamic basis of herbal medicine* (2nd edition).
- Ekpenyong, C., & Akpan, E. (2014). *Abnormal serum uric acid levels in health and disease : Adouble-edged sword*. 2, 113_130.
- EL- Gazzar, A., Elhusseini, N., khafagi, A., & NAA, M. (2019). *Computer- generated keys to the flora of egypt*.9. *The spiny taxa of Asteraceae*. 107-138.
- Fayed,M, A. A. (2021). *Heliotropium; a genus rich in pyrrolizidin alkaloids : A systematic review following its phytochemistry and pharmacology*. *Phytomedicine plus*,. 1(1), 100036.

- Forman, H., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). *Glutathion: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis*. 30, 1_12.
- Franco, R., Navarro, G., & Martinez-pinilla, E. (2019). *Hormetic and mitochondria-related mechanisms of antioxidant action of phytochemicals*. 8.
- Ganan, M., Martinez-Rodriguez, A., & Carrascosa, A. (2009). *Antimicrobial activity of phenolic compounds of wine against campylobacter jejuni*. 739-742.
- Gasteiger, J., & Marsili, M. (1980). *Iterative partial equalization of orbital electronegativity-a rapid access to atomic charges*. 36, 3219_3228.
- Ghedira, K. (2005). *Les flaonoides : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique*. 163-169.
- Gonzalez, M. E., Alarcon, B., & CARRASCO, L. (1987). *Polysaccharides as antiviral agents : Antiviral activity of carrageenan. Antimicrobe. agents chemother.* 31, 1388-1393.
- Grange, J., & Davey, R. (1990). *Antimicrobial properties of propolis (bee glue)*. 60-159.
- Halgern, T. A. (1999). *MMFF VI. MMFF94s option for energy minimization studies*. 20, 720_729.
- Halgren, T. A. (1996). *Merck molecular force field. I. Basis, from, scope, parameterization, and performance of MMFF94*. 17, 519_490.
- Halliwell, B. (1989). *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon press.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1995). *The definition and measurement of antioxidants in biological systems*. 18, 125_126.
- Hamadouche, S., Merouani, H., May, A. A., Ouddai, N., Alam, M., Micoli, L., Erto, A., & Benguerba, N., Y. (2024). *Theoretical exploration of enhanced antioxidant activity in copper complexes of tetrahydroxysilbenes : Insights into mechanisms and molecular interaction*. 9, 9076_9089.
- HAMMA, S. A., NOURI, N., FERGANI, I., LEKHAL, A., CHERIET, S., ABADI, N., LEZZAR, A., & BENLATRECHE, C. (2015). *BIOLOGIE DES ESPECES REACTIVES ET STRESS OXYDANT*. 48-53.
- Harborne, J., & Baxter, H. (1999). *The handbook of natural flavonoids, vols 1 et 2, chichester UK*. 60-159.
- Harvey, A. L., & Creel, I. A. (2010). *High-throughput screening of natural products for cancer therapy*. 76, 1080_1086.
- Haslam, E. (1989). *Plant polyphenols*. Cambridge University Press.
- Hassinen, T., & Perakyla, M. (2001). *New energy terms for reduced protein models implemented in an off-lattice force field*. 22, 1229_1242.
- Hu, Y., Liang, P., Wang, Z., Jiang, C., Guo, Y., Chen, H., & Shen, C. (2023). *Exploring the molecular mechanism of the antioxidant activity of medicine and food homology licorice flavonoids based on pharmacophore theory and quantum calculations*. 2023.
- Hugo, S. (2018). *Développement d'une méthode in silico pour caractériser le potentiel d'interaction des surfaces protéiques dans un environnement encombré*. Paris-sclay.
- Hunyadi, A. (2019). *THE mechanism(s) of action antioxidants : From scavenging reactive oxygen/ nitrogen species to redox signaling and the generation of bioactive secondary metabolites*. 39, 2533-2505.

- Jain, A. N., & Nicholls, A. (2008). *Recommendations for evaluation of computational methods*. 22, 133-139.
- Jamshidi-kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). *Medicinal plants : Past history and future perspective*. 7, 1_7.
- Jane, S. R. (1981). *The anatomy and taxonomy of protein structure*. 34, 167-339.
- Jankowski, J., Korzeniowska, K., Cieslewicz, A., & Jablecka, A. (2016). *Coenzyme Q10 _Anew player in the treatment of heart failure*. 68, 1015_1019.
- Jean Gonfi, M. M., Aristote, M., Dani T, M., Sylvie, - Mireille N.Bambi, Blaise M, M., & and Pierre O., L. (2021). *In silico ADME/T Properties of quinine derivatives using Swiss ADME and pkCSM Webservers*. 42(11), 2278-1005.
- Juddith. C, M., Steven J, E., Alicia, P., & and Mark T.Dk, C. (2020). *A Review of in silico tools as Alternatives to Animal Testing : Principales, Resources and Applications*. 146-172.
- Kensler, T., Wakabayashi, N., & Biswal, S. (2007). *Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1 _Nrf2 _ARE pathway*. 47, 89_116.
- Kettenberger, H., Armache, k-j, & cramer, P. (2004). *complete RNA polymerase II elongation complex structure and its interactions with NTP and TFIIIS*. Mol. Cell. 955-965.
- Khan, H. (2014). *Journal of Evidence-Integrative Medicin (J Evid Based Integr Med)*. 19, 216_219.
- kojo, S. (2004a). *Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress*. 11, 1064-1041.
- kojo, S. (2004b). *Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress*. 11, 1064-1041.
- Kristien, D., Asmin, A., Djalila, M., Ann van, schepdael, Francois, J., & Bert, B. (2018). *Oxidative stress in chronic kidney disease*.
- Kurutas, E. B. (2016). *the importance of antioxidants wich play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress : Current state*. 15.
- Liberata, N., Stanislas, N., & Léonard, N. (2020). *Tests d'activités antiparasitaires et antibactériennes des extraitsndes feuilles de psidium guajava L*. 17-18-19.
- Lippi, G., Cocchi, M., Franchini, M., Favaloro, E., & Targher, G. (2008). *The paradoxical relationship between serum uric acid and cardiovascular disease*. 392, 1_7.
- Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. (2011). *Glutathione peroxidase_1 in health and disease :from molecular mechanisms to therapeutic opportunities*. 15, 1957_1997.
- Luis A, del R., Javier corpas, F., & Juan B, B. (2004). *Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plantes*. 783-792.
- Maiuolo, J., Oppedisano, F., Gratteri, S., Muscoli, C., & Mollace, V. (2016). *Regulation of uric acid metabolism and excretion*. 213, 8_14.
- Manso, T., lores, M., & de Miguel, T. (2022). *Antimicrobial Activity of polyphenols and natural polyphenolic extracts on clinical isolates antibiotics*. 11-64.
- Martin- Alnos, S., Frutos -Beltran, E., & Menéndez-Arias, L. (2021). *reverse transcriptase : From transcriptomics to genome editing*. 39(2), 1946210.

- Munteanu, I., & Apetrei, C. (2010). *Analytical methods used in determining antioxidant activity : A review*. 22, 3380.
- Murugesh, K., Yeligar, V., Dash, D. K., Sengupta, P., Maiti, B. C., & Maity, T. K. (2006). *Antidiabetic, antioxidant and antihyperlipidemic status of Héliotropium zeylanicum extract on streptozotocin—Induced diabetes in rats*. 29, 2205-2202.
- Nathalie, B., & Jean-paul, C. (2006). *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier*. 79-82.
- Navasa, P., Villalba, J., & de Cabo, R. (2007). *The importance of plasma membrane coenzyme Q in agina and stress responses*. 7, 34_40.
- News-Medical.net. (2023). <https://www.news-medical.net/life-sciences/Ligands-An-Overview.aspx>.
- Noh, Y., Kim, K., Shim, M., Choi, S., Choi, S., & Ellisman, M. (2013). *Inhibition of oxidative stress by coenzyme Q10 increases mitochondrial mass and improves bioenergetic function in optic nerve head astrocytes*. 4.
- Nozawa, Y., & Morita, T. (1986). Molecular mechanisms of antifungal agents associated with membrane ergosterol. Dysfunction of membrane ergosterol and inhibition of biosynthesis. In *In vitro and in vivo evaluation of antifungal agents* (p. 111). Elsevier Science publishers B.V.
- Nutrients. (2013a). *Reduced glutathion : A radiolioprotector or a modulator of DNA repair activity*. 5, 525_542.
- Nutrients. (2013b). *Reduced glutathione : A radioprotector or a modulator of DNA repair activity*. 5, 525_542.
- Okuda, T., Mori, K., & Hatano, T. (1985). *Relationship of the structures of tannins to the binding activities with hemoglobing and methylene blue*. 33, 1424_1433.
- Panch, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). *Flavinoid:an overview*. 1-14.
- Petrova, E., Korotkova, E., Katochvil, B., Voronova, O., Dorozhko, E., & Bulycheva, E. (2014). *Investigation of coenzyme Q10 by voltammetry*. 10, 173_178.
- Pommier, Y., Leo, E., Zhang, H., & Marchand, C. (2010). *DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs*. 17, 421-433.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Radbury, B. J., & Pucci, M. J. (2008). *Recent advances in bacterial topoisomerases inhibitors*. 7.
- Rahman, K. (2007). *Studies on free radicals, antioxidant, and co_factors*. 2, 219_236.
- Ramirez_Velasque, I. M., Velez, E., Bodya_Calle, A., & Caro-Lopera, F. J. (2022). *Mechanism of antioxidant activity of betanin, betanidin and respective C15-epimers via shape theory, molecular dynamics, density functional theory and infrared spectroscopy*. 27.
- Rammal, H., Bouayed, J., & Soulimani, R. (2010). *A direct relationship between aggressive behavior in the resident/ intruder test and cell oxidative status in adult male mice*. 627, 173-176.
- Ranganatha, N., & Kuppast, I. J. (2012). *A Review on alternatives to animal testing methods in drug development*. 4, 28-32.
- Rappe, A. K., Casewit, C. J., Colwell, K. S., Goddard, W. A., & Skiff, W. M. (1992). *UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations*. 114, 10024_10035.

- Reyes, A. (2005). *The increase in serum uric acid concentration caused by diuretics might be beneficial in heart failure*. 7, 461_467.
- Samuelsson, M., Vainikka, L., & Ollinger, K. (2011). *Glutathione in the blood and cerebrospinal fluid : A study in healthy male volunteers*. 45, 287_292.
- Santos_Sanchez, N., Salas_Coronado, R., Villanueva_Canongo, C., & Hernandez_Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In *Antioxidant*. IntechOpen.
- Schmelzer, G. H., Gurib_Fakim, A., Arroo, R., Bosch, C. H., Ruijter, A., Simmonds, M. S. J., Lemmens, R. H. M. J., & Oyen, L. P. A. (2008). *Ressources végétales de l'Afrique tropicale:Plantes médicinales I. Plant Resources of Topical Africa.: (1)II*.
- Schoeffler, A. J., & Berger, J. M. (2008). *DNA topoisomerases : Harnessing and constraining energy to govern chromosome topology*. 78, 31-54.
- Shabir, A., Sohail, A., Ihteram, bibi, Naser M, A.-S., Hidayat, H., Saqib Ishaq, M., Adnan, M., Akash, T., & Riaz, U. (2015a). *ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF THE EXTRACTS OF AERIAL PARTS OF HELIOTROPIMUM BACCIFERUM*. 33-34.
- Shabir, A., Sohail, A., Ihteram, bibi, Naser M, A.-S., Hidayat, H., Saqib Ishaq, M., Adnan, M., Akash, T., & Riaz, U. (2015b). *ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF THE EXTRACTS OF AERIAL PARTS OF HELIOTROPIMUM BACCIFERUM*. 33.
- Shahidi, F., & Naczki, M. (1995). *Food phenolics : Sources,chemistry,effects,applications*. Technomic Publishing Co Inc.
- Singh, U. C., & Kollman, P. A. (1984). *An approach to computing electrostatic charges for molecules*. 5, 129_145.
- Sohail, A., shabir, A., Ahtaram, B., Muhammad, saqib I., Muhammad, siddique A., Farina, kanwal, Muhammad, Z., & and Farid, F. (2014). *Phytochemical Analysis,Antioxidant Activity,Fatty Acids Composition, and Function Group Analysis of Heliotropium bacciferum*. 2-8.
- Sohail, A., Shabir, A., Ahtaram, B., Muhammad Shaqib, I., Muhammadsiddique, A., Farina, K., Muhammad, Z., & and Farid, F. (2014). *Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity, Fatty Acids Composition, and Functional Group Analysis of Heliotropium bacciferum*. 1-8.
- Spenger, K. G., Jaeger, V. W., & Pfendtner, J. (2015). *The general AMBER force field (GAFF) can accurately predict thermodynamic and transport properties of many ionic liquids*. 119, 5882_5895.
- Stasinopoulos, S., Fisher, P., Stone, B., & Stanisich, V. (1999). *Detection of two loci involved in (1,3)- β -glucan (curdlan) biosynthesis by Agrobacterium sp. ATCC31749, and comparative sequence analysis of the putative curdlan synthase gene*. 9, 31-41.
- Stinefelt, B., Leonard, S., Blemings, K., Shi, X., & Klandorf, H. (2005). *Free radical scavenging,DNA protection, and inhibition of lipid peroxidation mediated by uric acid*. 35, 37_45.
- Takenaka, T. (2001). *Classical vs reverse pharmacology in drug discovery*. 88, 7_10.
- Tenover, F. (2006). *Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria*. 3-10.
- Trivedi, P. C., Pandey, S., & Bhaduria, S. (s.d). *Texte book of microbiology*.
- Trivedi, P. C., Pandey, S., & Bhaduria, S. (s.d). *Text book of microbiology*. 97-98-99.
- Wang, J. C. (2009). *A journey in the world of dna rings and beyond*.
- WHO. (2014). *Antimicrobial resistance:global report on surveillance*.

