

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid  
Tlemcen Algérie



جامعة أبي بكر بلقايد

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers  
Département de Biologie Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)



## THESE

Présentée par : M<sup>me</sup> BEN MENNI Dounia épouse KHENAFOU



En vue de l'obtention du diplôme de doctorat en biologie

Option : NUTRITION ET SANTE

## THEME

**Etude des activités anti-inflammatoire, neuroprotective et antiproliférative des extraits (aqueux et saponines) de la partie aérienne d'*Anabasis articulata* de la région de Béchar**

Soutenue le 13/07/2022

Devant le jury

**Présidente :** M<sup>me</sup> BELARBI Meriem      Professeur      Université de Tlemcen

**Examineurs :**

M<sup>me</sup> SOUALEM Zoubida      MCA      Université de Tlemcen

M<sup>f</sup> BENAMAR Houari      MCA      Université d'Oran 1

M<sup>f</sup> GISMONDI Angelo      Professeur      Université de Rome

**Directrice de thèse :**

BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila      Professeur      Université de Tlemcen

Année universitaire : 2021/2022

## **Remerciements**

*Ce travail a été réalisé au Laboratoire des Produits naturels (Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie des Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV-STU), Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen), sous la direction du Professeur **BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila**, à qui j'adresse mes sincères remerciements pour avoir bien voulu encadrer ce travail par ses connaissances, sa compétence, sa disponibilité, et ses conseils avisés prodigués tout au long du projet. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*Je remercie profondément Pr **GISMONDI Angelo** pour son accueil chaleureux au sein de son Laboratoire à l'Université TOR VERGATA à Rome, Italie, C'était dur de débarquer dans un laboratoire où on ne connaît personne mais en revanche, j'en suis ressorti avec un apport appréciable en expériences scientifiques et le cœur rempli de bons souvenirs.*

*J'exprime également mes sincères remerciements à **Mr DJEBLI Norreddine**, Professeur au département de Biologie, Université Abdelhamid IBN BADIS Mostaganem pour son précieux aide et ses conseils pertinents.*

*Mes très vifs remerciements vont à **M<sup>me</sup> BELARBI Meriem**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance de thèse.*

*Mes chaleureux remerciements vont à **M<sup>me</sup> SOUALEM Zoubida**, MCA à l'Université de Tlemcen, pour avoir examiné le contenu de cette thèse.*

*Je souhaite aussi remercier **M<sup>r</sup> BENAMMAR Houari**, MCA à l'Université d'Oran, pour avoir accepté de juger le produit de mon travail et pour m'avoir bien accueilli au sein du laboratoire à l'université d'Oran*

*Je tiens à remercier l'équipe du laboratoire LAPRONA : **BENMEHIEDINNE Assia**, je ne saurai comment lui rendre toute l'aide qu'elle m'a apportée durant ces cinq années. **Mr HACI Imadeddine**, **Imene**, **Othmane**, **Fatima**, **Wahiba**, **Amina**, **Zoulikha**. **Mr LAHBEB**, **M<sup>me</sup> MEDJDOUB Houria** et **Mr CHAOUCH Tarik** pour leur précieux aide, chacun dans son domaine de qualification.*

*Je remercie **M<sup>me</sup> Abdelli Imane** pour son aide et sa participation dans la partie modélisation moléculaire.*

*Un grand merci aussi à l'équipe de laboratoire de TOR VERGATA, **Valentina MONTELEONE**, **Gabriele**, **Alessia**, **Sylvia**, **Giovanna** et **Valentina** ma colocataire, merci à vous, vous m'avez mis à l'aise dès le premier jour, je n'oublierai jamais les moments passés avec vous malgré la pandémie du Covid19.*

## ***Dédicace***

*C'est grâce à Dieu «الله» , le tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour  
achever ce travail que je dédie :*

*À mes très chers parents en reconnaissance de leurs divers sacrifices, de leurs  
précieux conseils, de leur soutien moral et de leurs encouragements tout au long de  
mes études et durant ma thèse. Je ne les remercierai jamais assez, pour tout ce qu'ils  
m'ont fait. Que dieu vous protège.*

*À mon très cher époux KHALIL qui m'a soutenu et a suivi avec attention mon travail de thèse.  
J'espère qu'il sera fier de moi.*

*A mes beaux-parents, Merci pour votre soutien sans faille et permanent, Merci pour  
votre présence. Que dieu vous protège.*

*A mon cher frère Nassim, mes deux sœurs Selma et Hanane, mes neveux Mehdi, Serine,  
Djad et Racim je vous aime énormément. A mes beaux-frères Yassine, Oussama et  
Nadjib et ma belle-sœur Wissem.*

*A mes tantes et oncles, cousins et cousines,*

*A mes amies, Zineb, Nesrine, Mimi, Louiza, Sara de Constantine, Lila.*

*A ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce  
travail.*

***Dounia***

## ملخص

يندرج موضوع دراستنا في إطار البحث والمساهمات التي تهدف إلى اكتشاف فضائل النباتات الطبية واستخدامها في مجال الطب التقليدي. ضمن التراث الهام للنباتات الطبية التي تمتلكها الجزائر، هناك *Anabasis articulata*، والتي بفضل ثرائها في المواد الكيميائية النباتية النشطة، يمكن اعتبارها إمكانات علاجية جديدة. أولاً، تم إجراء تحليل كيميائي نباتي للمستخلص المائي من خلال تحديد محتوى المركبات الفينولية مثل الفينولات الكلية والفلافونويد والعفص المكثف بالطرق اللونية. أظهر تحليل HPLC/DAD وجود 14 حمض فينول و7 فلافونويد في المستخلص المائي بتركيزات مختلفة. بينما أظهر تحليل GC/SM للمستخلص الغني بالاستيرول وجود 4 أنواع مميزة من هذه الأنواع. بعد ذلك، تم إجراء تقييمات في المختبر وخارج الجسم الحي للأنشطة البيولوجية (مضادات الأكسدة، مضادات التكاثري، الحماية العصبية ومضادات التروزين) للمستخلصين. أظهرت النتائج أن *A. articulata* لها قوة كبيرة من مضادات الأكسدة ومضادات التكاثري وقدرة على تثبيط إنزيم التيروزيناز وأسيتيل كولينستراز. تم تحديد الأخير في السيليكو من خلال نهج الالتحام الجزيئي، والذي أعطى درجة طاقة حرة ملزمة جيدة مقارنة بالعقار جالانثامين (التحكم). تمت دراسة نتائج التقييم في الجسم الحي للنشاط المضاد للالتهابات بواسطة المعلمتين اللتين تم فحصهما، وهما؛ نسب زيادة وتثبيط الودمة، الآثار الوقائية المبلغ عنها للمستخلص المائي والمستخلص الغني بالاستيرولات. جعلت هذه الدراسة من الممكن إثبات الإمكانات العلاجية للجزء الجوي من النبات المدروس *A. articulata*، من المحتمل أن تشكل كنزاً يجب أن يستمر البحث فيه من أجل الاستفادة من كل هذه الإمكانات التي لا تزال غير معروفة وغير مستكشفة.

الكلمات المفتاحية: *Anabasis articulata*، مستخلص مائي، مستخلص غني بالاستيرول، HPLC/DAD، GC/SM، الأنشطة البيولوجية، الالتحام الجزيئي.

## Résumé

L'objet de notre étude entre dans le cadre des recherches et contributions visant à découvrir les vertus des plantes médicinales et leur exploitation dans le domaine de la médecine traditionnelle. Au sein de l'important patrimoine de plantes médicinales que possède l'Algérie, figure *Anabasis articulata* qui, grâce à sa richesse en composés phytochimiques actifs, pourrait être considérée comme un nouveau potentiel thérapeutique. En premier lieu une analyse phytochimique de l'extrait aqueux a été réalisée par détermination de la teneur des composés phénoliques tels que les phénols totaux, les flavonoïdes, tanins condensés par les méthodes colorimétriques. L'analyse par HPLC-DAD a révélé la présence de 14 acides phénols et 7 flavonoïdes dans l'extrait aqueux avec différentes concentrations. Alors que l'analyse par GC/SM de l'extrait des saponines a révélé la présence de 4 stérols (Cholestanol, Stigmasterol, 26-Hydroxycholesterol,  $\beta$ -Sitostérol). Ensuite, des évaluations *in vitro* et *ex vivo* des activités biologiques (antioxydante, antiproliférative, neuroprotectrice et antityrosinase) ont été réalisées pour les deux extraits. Les résultats ont montré qu'*A. articulata* possède un pouvoir antioxydant et antiprolifératif assez important et une capacité à inhiber la tyrosinase et l'acétylcholinestérase. Cette dernière a été déterminée *in silico* par approche d'un docking moléculaire, qui a donné un bon score d'énergie libre de liaison par rapport au médicament galanthamine (témoin). Les résultats de l'évaluation *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire étudiée par les deux paramètres investigués à savoir ; les pourcentages d'augmentation et d'inhibition de l'œdème, ont fait état d'effets prophylactiques de l'extrait aqueux et l'extrait des saponines.

Cette étude a permis de démontrer le potentiel thérapeutique de la partie aérienne de la plante étudiée *A. articulata*, susceptible de constituer un trésor sur lequel les recherches doivent se poursuivre afin de profiter de toute cette potentialité encore inconnue et inexplorée.

**Mots clés :** *Anabasis articulata*, extrait aqueux, extrait des saponines, HPLC/DAD, GC/SM, activités biologiques, docking moléculaire.

## Abstract

The purpose of our study is part of the research and contributions aimed at discovering the virtues of medicinal plants and their exploitation in the field of traditional medicine. Within the important heritage of medicinal plants that Algeria possesses, figure *Anabasis articulata* which, thanks to its wealth of active phytochemical compounds, could be considered as a new therapeutic potential. First, a phytochemical analysis of the aqueous extract was carried out by determining the content of phenolic compounds such as total phenols, flavonoids, tannins condensed by colorimetric methods. HPLC-DAD analysis revealed 14 phenol acids and 7 flavonoids in the aqueous extract at different concentrations. While GC/MS analysis of saponins extract revealed the presence of 4 sterols (Cholestanol, Stigmasterol, 26-Hydroxycholesterol,  $\beta$ -Sitostérol). Subsequently, *in vitro* and *ex vivo* assessments of biological activities (antioxidant, antiproliferative, neuroprotective and antityrosinase) were conducted for both extracts. The results showed that *A. anabasis* has a fairly strong antioxidant and antiproliferative power and an ability to inhibit tyrosinase and acetylcholinesterase. The latter was determined *in silico* by approach of a molecular docking, which gave a good binding free energy score compared to the drug galanthamine (control). The results of the *in vivo* evaluation of the anti-inflammatory activity studied by the two investigated parameters, namely: the increase percentages and edema inhibition, reported prophylactic effects of aqueous extract and sterol-rich extract. This study demonstrated the therapeutic potential of the aerial part of the studied plant *A. articulata*, which could constitute a treasure on which research must continue in order to take advantage of all this still unknown and unexplored potential.

**Keywords:** *Anabasis articulata*, aqueous extract, saponins extract, HPLC/DAD, GC/MS, biological activities, molecular docking.

## Productions scientifiques

### ➤ Publications internationales

#### ❖ Waste and biomasse valorasation (2022)

**Titre:** Identification of Sterols from *Anabasis articulata* (Forssk.) Moq. (Chenopodiaceae) Growing in Algeria and Study of Their Potential Bioactivity

**Auteurs :** Dounia Ben Menni, Nabila Belyagoubi-Benhammou, Assia Benmahieddine, Hanane Ben Menni, Angelo Gismondi, Valentina Monteleone, Gabriele Di Marco, Alessia D'Agostino, Antonella Canini, Houari Benamar, Fawzia Atik-Bekkara.

#### ❖ Waste and biomasse valorization (2021)

**Titre:** Valorization of Algerian Saffron: Stigmas and Flowers as Source of Bioactive Compounds.

**Auteurs :** Larbi Belyagoubi, Bouchra Loukidi, Nabila Belyagoubi-Benhammou, Angelo Gismondi, Gabriele Di Marco, Alessia D'Agostino, Antonella Canini, Assia Benmahieddine, Karima Rouigueb, Dounia Ben Menni, Fawzia Atik-Bekkara.

#### ❖ International Journal of Food Sciences and Nutrition (2019)

**Titre:** Anti-inflammatory activity of argan oil and its minor components.

**Auteurs :** Hanane Ben Menni, Meriem Belarbi, Dounia Ben Menni, Hadjer Bendiab, Yamina Kherraf, Riadh Ksouri, Noureddine Djebli, Francesco Visioli.

#### ❖ Article soumis

**Titre:** *In vitro* and *in silico* enzyme inhibitions, antioxidant and *in vivo* anti-inflammatory activities of *Anabasis articulata* aqueous extract from Algeria.

**Auteurs :** Dounia Ben Menni, Nabila Belyagoubi-Benhammou, Imane Abdelli, Sohayb Bekkal Briki, Assia Benmahieddine, Hanane Ben Menni, Outmane Boutrif, Angelo Gismondi, Gabriele Di Marco, Alessia D'Agostino, Antonella Canini, Houari Benamar, Fawzia Atik-Bekkara.

### ➤ Communications internationales

- **Sixth MGIBR International Workshop of Aromatic, Medicinal and condiment plants Virtues and development prospects. That was held in 21-22 December 2020, Tlemcen University, Algeria :** Evaluation du pouvoir antioxydant et neuroprotecteur de l'extrait des stérols d'*Anabasis articulata* de la région de Béchar.

**BEN MENNI Dounia**, BENHAMMOU-BELYAGOUBI Nabila, BENMAHIEDDINE Assia.

- ❖ **4<sup>th</sup> international congress on applied biological sciences: *In vivo* anti-inflammatory activity of argan oil (Algeria).**

BEN MENNI Hanane, BELARBI Meriem, **BEN MENNI Dounia**, BENDIAB Hadjer, DJEBLI Nouredine.

➤ **Communications nationales**

❖ **Journée scientifique des doctorales des sciences de la nature et de la vie, 2018 (Tlemcen, Algérie) : Etude phytochimique de l'extrait aqueux des rameaux d'*Anabasis articulata* de la région de Bechar.**

**BEN MENNI Dounia**, BENHAMMOU-BELYAGOUBI Nabila.



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> 2D & 3D représentation des ligands utilisés. La structure des ligands prise du server PubChem.....	<b>20</b>
<b>Tableau 2.</b> Détails liés à l'enzyme acétylcholinestérase .....	<b>25</b>
<b>Tableau 3.</b> Les saponines détectés par GC/SM, leurs pourcentages d'abondance (%) et pourcentages de similarité comparés avec un standard enregistré dans la librairie du GC/SM.....	<b>31</b>
<b>Tableau 4.</b> CAT, réduction du fer, DPPH et blanchiment du $\beta$ -carotène de l'extrait des saponines d' <i>A. articulata</i> .....	<b>33</b>
<b>Tableau 5.</b> Détection et quantification des composés phénoliques par HPLC dans l'extrait aqueux d' <i>A. articulata</i> .....	<b>42</b>
<b>Tableau 6.</b> Teneurs en phénols totaux, en tanins condensés et en flavonoïdes de l'extrait aqueux d' <i>A. articulata</i> .....	<b>44</b>
<b>Tableau 7.</b> DPPH activité anti-radicalaire, pouvoir réducteur, capacité antioxydante totale et blanchiment du $\beta$ -carotène de l'extrait aqueux d' <i>A. articulata</i> .....	<b>45</b>
<b>Tableau 8.</b> Propriétés des molécules.....	<b>48</b>
<b>Tableau 9.</b> Score d'ammarge et distances des liaisons entre les ligands (L1-L21) et l'acétylcholinestérase.....	<b>51</b>
<b>Tableau 10.</b> Les propriétés ADME des molécules testées.....	<b>54</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> La plante <i>Anabasis articulata</i> (Forssk.) Moq.....	10
<b>Figure 2.</b> Structure 3D de l'enzyme acétylcholinestérase (PDB ID: 1ZGC).....	25
<b>Figure 3.</b> Structures de saponines identifiées dans l'extrait des saponines d' <i>A.articulata</i> .....	32
<b>Figure 4.</b> Chromatogramme des saponines identifié par GC/SM (1: Cholestanol; 2: Stigmasterol; 3: 26-Hydroxycholesterol; 4: $\beta$ -Sitosterol).....	32
<b>Figure 5.</b> Effet antityrosinase de l'extrait des saponines d' <i>A. articulata</i> en comparant avec la quercétine (contrôle positif).....	35
<b>Figure 6.</b> Photographie de la bioautographie de l'inhibition de l'acétylcholinestérase de l'extrait des saponines .....	36
<b>Figure 7.</b> Test MTT réalisé dans les cellules MCF-7 (A et B) et MDA-MB-231 (C et D). Des expériences ont été réalisées à 24h (A et C) et 48 (B et D) après traitement avec des saponines d' <i>A. articulata</i> à différentes concentrations (6,6 -132 mg/mL) **p<0.01 .....	38
<b>Figure 8.</b> Pourcentage d'augmentation de l'œdème après traitement avec contrôle, extrait des saponines a 100 et 50 mg/Kg, et diclofenac (n=4 animal par groupe); *p < 0.05;**p < 0.01; ***p < 0.001, comparé avec le contrôle.....	39
<b>Figure 9.</b> Effet anti-inflammatoire de l'extrait des saponines à 100 et 50 mg/Kg en comparant avec diclofénac (n=4 animal par groupe).....	40
<b>Figure 10.</b> Chromatogramme HPLC/DAD représentatif de l'extrait aqueux .....	43
<b>Figure 11.</b> Effet antityrosinase de l'extrait aqueux d' <i>A. articulata</i> en comparant avec la quercétine. ....	45
<b>Figure 12.</b> Photographie de la bioautographie de l'inhibition de l'acétylcholinestérase de l'extrait aqueux .....	46
<b>Figure 13.</b> Les meilleurs complexes formés entre les ligands et leurs récepteurs .....	49
<b>Figure 14.</b> Représentation 2D des meilleurs complexes entre ligands et leurs récepteurs.....	50
<b>Figure 15.</b> Simulation de la dynamique moléculaire. Complexe acide rosmarinique et acétylcholinestérase.....	56
<b>Figure 16.</b> Pourcentage d'augmentation de l'œdème après traitement avec témoin,	

extrait aqueux d'*A. articulata* à 500 et 400 mg/Kg, et diclofénac (n = 4 animaux par groupe) ; \*p < 0.05, par rapport au témoin..... 57

**Figure 17.** Effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d'extrait d'*A. articulata* à 500 et 400 mg/Kg pour différents temps, par rapport au traitement au diclofénac (n = 4 animaux par groupe) ; \*p < 0.05, par rapport au contrôle..... 58

## Liste des abréviations

- % AUG:** pourcentage d'augmentation de l'œdème
- % INH:** pourcentage d'inhibition de l'œdème
- ACh:** acétylcholine
- AChE:** acétylcholinestérase
- ADME:** absorption, distribution, métabolisme et élimination
- ATChI:** acétylthiocholine iodide
- BHA:** butylhydroxyanisole
- CAT :** capacité antioxydante totale
- CCM:** chromatographie sur couche mince
- DMEM:** Eagle's minimal essential medium
- DMSO:** diméthylsulfoxyde
- DPPH:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
- DTNB:** 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)
- EC<sub>50</sub> (IC<sub>50</sub>):** concentration inhibitrice à 50 %
- EtOH:** éthanol
- ERS:** espèces réactives oxygénés
- HepG2:** cellules d'hépatome humain
- HPLC:** chromatographie liquide à haute performance
- MDA-MB-231:** M.D. Anderson - Metastatic Breast 231
- MeOH:** méthanol
- MCF-7:** Fondation du Cancer de Michigan - 7
- MOE:** Environnement d'exploitation moléculaire
- MTT:** 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium
- MV:** volume moléculaire
- OMS:** organisation mondiale de la santé
- PDB:** banque des données des protéines
- PGE<sub>2</sub>:** prostaglandine E<sub>2</sub>
- RE:** réticulum endoplasmique
- RCSB:** collaboratoire de recherche en bioinformatique structurale

**RMSD:** root Mean Square Deviation

**RPMI:** roswell Park Memorial Institute medium

**TNF  $\alpha$ :** facteur de nécrose tumorale

# Sommaire

<i>I. Remerciements</i>	
<i>II. Dédicace</i>	
<i>III. ملخص</i>	
<i>IV. Résumé</i>	
<i>V. Abstract</i>	
<i>VI. Production scientifiques</i>	
<i>VII. Liste des tableaux</i>	
<i>VIII. Liste des figures</i>	
<i>IX. Liste des abréviations</i>	
Partie 1 : Introduction générale .....	1
Partie 2 : Matériel et méthodes .....	12
1. Récolte du matériel végétal.....	13
2. Préparation du matériel .....	13
3. Préparation des extraits .....	13
3.1. Extrait aqueux .....	13
3.2. Extrait des saponines. ....	13
4. Dosages .....	13
4.1. Dosage des phénols totaux .....	13
4.2. Dosage des flavonoïdes.....	14
4.3. Dosage des tanins condensés.....	14
5. Analyse de l'extrait aqueux par HPLC/DAD .....	15
6. Analyse de l'extrait des saponines par GC/SM .....	15
7. Etude du pouvoir antioxydant.....	16
7.1. Capacité antioxydante totale .....	16
7.2. Test du radical libre DPPH.....	16
7.3. Détermination du pouvoir réducteur .....	17
7.4. Essai de blanchiment $\beta$ -carotène/acide linoléique.....	17
8. Inhibition de la tyrosinase.....	18
9. Essai d'inhibition de l'acétylcholinestérase .....	18
9.1. Test de bioautographie par CCM .....	18
9.2. Dosage spectrophotométrique .....	19

10. Analyse bio-informatique .....	19
10.1. Préparation de ligands et de protéines .....	19
10.2. Modélisation moléculaire .....	25
10.3. Propriétés ADME .....	26
10.4. Simulation de la dynamique moléculaire .....	26
11. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	26
12. Culture cellulaire .....	27
• Evaluation antiproliférative ( <i>ex vivo</i> ).....	27
13. Analyses statistiques .....	28
Partie 3 : Résultats et discussion .....	29
❖ Chapitre 1 : Extrait des saponines.....	30
1. Analyse par de l'extrait des saponines par GC/SM.....	31
2. Activité anti-oxydante .....	33
3. Activité antityrosinase .....	34
4. Activité anti-acétylcholinestérase .....	35
5. Activité anti-proliférative .....	36
6. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	38
❖ Chapitre 2 : Extrait aqueux .....	41
1. Analyse de l'extrait aqueux par HPLC/DAD.....	42
2. Quantification des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans l'extrait aqueux .....	44
3. Activité anti-oxydante <i>in vitro</i> .....	44
4. Activité antityrosinase <i>in vitro</i> .....	45
5. Activité anti-acétylcholinestérase <i>in vitro</i> .....	46
6. Analyse bioinformatique .....	46
a. Simulation de la modélisation moléculaire.....	46
b. Evaluation <i>in silico</i> des propriétés ADME et de la "drug-likeness".....	53
c. Simulation de la dynamique moléculaire .....	55
7. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	57
Conclusion générale .....	59
Références bibliographiques.....	62

# **Partie 1 : Introduction générale**



Plusieurs manifestations et sensations appelées communément effets secondaires telles que les nausées, les démangeaisons, les diarrhées, les éruptions cutanées et autres sont définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), comme étant une réaction inattendue due à un traitement médical.

Bien que des tests cliniques soient réalisés en laboratoire avant la commercialisation des médicaments, il est difficile de prévoir l'ensemble des effets secondaires d'un traitement pendant cette phase de tests, et ce, pour diverses raisons : durée limitée, différence de réponses des organismes des patients, modifications des spécifications d'un traitement après les tests cliniques (**Megahed, 2014**). A cet effet, il est nécessaire de réaliser une veille pharmacologique après l'autorisation de mise sur le marché d'un traitement. Parce qu'il est inattendu, un effet secondaire est généralement négatif « effet indésirable », mais peut se révéler positif comme le cas du Baclofène, initialement autorisé pour le traitement de troubles musculaires, mais permet aussi de traiter l'alcoolisme.

Le recours fréquent à la médecine traditionnelle à base de plantes est lié non seulement à des raisons culturelles et de pauvreté, mais aussi à l'inefficacité de nombreux médicaments existants et à leurs effets secondaires (**Tenover, 2006**).

La médecine traditionnelle peut être définie comme la combinaison globale de connaissance et de pratique, explicable ou non, utilisées pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer une maladie physique, mentale ou sociale, et pouvant se baser exclusivement sur l'expérience et les observations anciennes transmises de génération en génération, oralement ou par écrit. (**Sofowora, 2010**).

Le règne végétal a toujours représenté une source importante de molécules bioactives à l'exemple des composés phytochimiques. En effet, depuis l'Antiquité, les communautés humaines ont fondé leur médecine primitive sur les pratiques phytothérapeutiques, ce qui permet aujourd'hui d'affirmer qu'environ 25 % des médicaments modernes sont des métabolites dérivés de plantes ou des composés synthétisés à partir de la structure chimique de ces dernières et qu'environ 60 % des médicaments anticancéreux sont des substances phytochimiques (**Paterson et Anderson, 2005 ; Gordaliza, 2007 ; Greenwell et Rahman, 2015 ; Singh et al., 2016 ; Newman et Cragg, 2020**).

La médecine traditionnelle est très répandue dans le monde. Dans certaines régions, les recettes ethnobotaniques transmises par les connaissances traditionnelles sont toujours d'actualité et employées pour prévenir ou guérir des maladies et des troubles, bien que les raisons scientifiques qui sous-tendent leurs effets biologiques n'aient pas encore été clarifiées.

Lors de la huitième réunion de programme général de travail, couvrant la période de 1990-1995, l'OMS a redéfini la médecine traditionnelle comme comprenant des pratiques thérapeutiques existant souvent depuis des centaines d'années, avant le développement et la diffusion de la médecine scientifique, et étant toujours appliquées aujourd'hui. Ces pratiques varient largement, en accord avec l'héritage social et culturel des différents pays (**OMS. 1978 & 1991**).

L'Algérie possède un riche patrimoine de plantes médicinales qui sont prescrites par les tradipraticiens pour traiter plusieurs maladies, notamment le diabète et les maladies cardiovasculaires (**Eddouks et al., 2002**).

Les plantes médicinales peuvent contenir des centaines voire des milliers de métabolites secondaires, ou de principes actifs qui peuvent produire différentes actions physiologiques sur le corps humain (**Edeoga et al., 2005**).

Nous avons donné une attention particulière aux saponines qui sont des métabolites secondaires, se trouvent sous forme de combinaisons d'une partie aglycone avec un ou plusieurs sucre, il existe 3 types : les saponines triterpéniques, les saponines à alcaloïdes stéroïdique et les saponines stéroïdiques (parmi eux on trouve les stérols ou phytostérols).

Les phytostérols sont un sous-groupe des stéroïdes et représentent une classe importante de molécules bioorganiques dans les profils chimiques des plantes (**Begley, 1994**).

Les glycosides de stérols et les glycosides de stérols acylés coexistent avec les stérols libres dans les membranes cellulaires, participant au contrôle des processus métaboliques associés à la membrane. Etant la forme basale des brassinostéroïdes chez les plantes, les stérols jouent un rôle important dans les processus et développement cellulaires. Enfin, ils servent également de précurseurs à une grande variété de métabolites secondaires, tels que les glycoalcaloïdes, les cardénolides et les saponines (**Benveniste, 1986**). Ces molécules jouent un rôle fondamental dans la santé humaine. Le  $\beta$ -sitostérol est un stérol qui ressemble structurellement au cholestérol, il est connu pour son action d'empêcher l'absorption du cholestérol, à inhiber la croissance de diverses lignées cellulaires cancéreuses (**Awad et al., 2005**), il est considéré aussi comme un anti-inflammatoire, antibactérien et antifongique (**Ling et Jones, 1995**). Le stigmastérol agit comme un précurseur dans la synthèse de la progestérone et agit comme intermédiaire dans la biosynthèse des androgènes, des oestrogènes, des corticoïdes (**Sundararaman et Djerassi, 1977**) et dans la synthèse de la vitamine D3 (**Kametani et Furuyama, 1987**). Selon **Kaur et al. (2011)**, le stigmastérol possède des propriétés anti-hypercholestérolémiantes, anti tumorales, antimutagènes, antioxydantes et anti-inflammatoires.

Les polyphénols végétaux ou les composés phénoliques sont des métabolites secondaires

caractérisés par un ou plusieurs groupes hydroxyles liés à un ou plusieurs cycles aromatiques (Zhou *et al.*, 2019), présents dans plusieurs boissons telles que les thés verts et noirs et le vin rouge, et plusieurs aliments tels que les fruits, les légumes, le chocolat, l'huile d'olive et les plantes (Zibadi *et al.*, 2014). Certains polyphénols sont spécifiques à un groupe d'aliments, comme les isoflavones, qui sont spécifiques au soja, tandis que d'autres, comme la quercétine, se retrouvent dans tous les produits végétaux (Zibadi *et al.*, 2014). Plusieurs molécules à structure polyphénolique ont été retrouvées dans des milliers de plantes. Ces composés peuvent être classés en différents groupes en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et des éléments structuraux qui lient ces cycles entre eux. En conséquence, ils sont classés dans les groupes suivants : acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes et lignanes (Manach *et al.*, 2004) .

Les flavonoïdes eux-mêmes peuvent être divisés en six sous-classes selon le type de structure cyclique : les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, les anthocyanidines et les flavanols (catéchines et proanthocyanidines) (Manach *et al.*, 2004). Les recherches récentes sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antithrombotique, cardioprotective, vasodilatatoire, antiallergique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne et anticarcinogénique (Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007). Ils sont considérés comme bénéfiques par plusieurs mécanismes biologiques (Hu *et al.*, 2013). Ceux-ci incluent l'interaction avec les métaux de transition, l'inactivation des radicaux libres, l'inhibition de la réponse inflammatoire, la modulation de l'activité de différentes enzymes et les effets sur les voies de signalisation intracellulaires et l'expression des gènes (Hu *et al.*, 2013 ; Zibadi *et al.*, 2014) . Ce sont des antioxydants naturels à qui on attribue un rôle dans la prévention et le traitement de plusieurs affections diverses telles que l'obésité, le diabète, l'ostéoporose, la dégénérescence des reins et du foie, les cardiopathies et les maladies gériatriques, et la maladie d'Alzheimer (Schluesener *et al.*, 2014). par contre, les preuves épidémiologiques des gains de santé des polyphénols contre le cancer sont encore limitées et controversées (Zamora-Ros *et al.*, 2014).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est du à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Nijveldt *et al.*, 2001). ). Les antioxydants, tels que les composés phénoliques, sont bien connus comme agents de lutte contre les espèces réactives de l'oxygène (Ha *et al.*, 2009).

Le stress oxydant est un déséquilibre entre la manifestation de l'oxygène réactif et la

capacité du système biologique à éliminer rapidement les intermédiaires réactifs ou à réparer les dommages qui en résultent. En outre, le stress oxydatif est causé soit par une diminution de l'activité des défenses antioxydantes soit par une augmentation de la production de radicaux libres ou les deux (**Valko et al., 2007 ; Chidi et al., 2020**).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) réagissent avec les composés présents dans la cellule entraînant l'oxydation, le réarrangement, la décomposition et la formation de métabolites toxiques, altérant leur activité biologique (**Bazylo et al., 2013**) et par conséquent créant des maladies chroniques dont les maladies neurodégénératives comme l'Alzheimer et la maladie de Parkinson (**Tabner et al., 2001**), et également le cancer, en jouant le rôle de médiateurs dans les phases d'initiation et de promotion (**Wilson et Salamatian, 2003**).

L'inflammation est un processus normal dans l'organisme humain et animal, elle agit pour éliminer les infections et favoriser la cicatrisation des plaies (**Liu et al., 2019**). C'est un mécanisme complexe, constitué d'une cascade d'événements séquentiels dans le tissu pour éliminer la cause initiale du dommage cellulaire (**Dos Reis Nunes et al., 2020**). L'inflammation est donc un mécanisme de défense essentiel à la santé (**Nathan et Ding, 2010**). La persistance du processus inflammatoire augmente la production excessive des ERO (radicaux hydroxyles, radicaux peroxydes et radicaux superoxydes), entraînant ainsi un état de stress oxydatif (**Tungmunnithum et al., 2018**). On distingue alors 2 types d'inflammation. Une inflammation aiguë, qui est la première réponse face à une agression, dès lors qu'elle persiste anormalement et en absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique et on retrouve alors les manifestations pathologiques liées à ce mécanisme (**Schwartz, 2011 ; Gattorno et Martini, 2016**).

Quelque soit son siège et la nature de l'agent agresseur, le déroulement d'une réaction inflammatoire présente des caractères morphologiques généraux et des mécanismes communs. Néanmoins, les différentes étapes présentent des variations liées à la nature de l'agent pathogène, à l'organe où se déroule la réaction inflammatoire et au terrain physiologique de l'hôte :

- les récepteurs de surface des cellules reconnaissent les stimuli nuisibles ;
- les voies inflammatoires sont activées ;
- les marqueurs inflammatoires sont libérés ;
- les cellules inflammatoires sont recrutées.

La réponse inflammatoire implique un réseau hautement coordonné de nombreux types de cellules. Les macrophages, les monocytes et d'autres cellules activées sont les médiateurs des réponses locales aux lésions tissulaires et aux infections. Au niveau des lésions tissulaires, les

cellules épithéliales et endothéliales endommagées libèrent des facteurs qui déclenchent la cascade inflammatoire, ainsi que des chimiokines et des facteurs de croissance, qui attirent les neutrophiles et les monocytes. Les premières cellules attirées sur le site d'une lésion sont les neutrophiles, suivis des monocytes, des lymphocytes (cellules tueuses naturelles [cellules NK], cellules T et cellules B) et des mastocytes (**Robb et al., 2016**). Les monocytes peuvent se différencier en macrophages et en cellules dendritiques et sont recrutés par chimiotaxie dans les tissus endommagés. Les altérations des cellules immunitaires médiées par l'inflammation sont associées à de nombreuses maladies, notamment l'asthme, le cancer, les maladies inflammatoires chroniques, l'athérosclérose, le diabète et les maladies autoimmunes et dégénératives (**Chen et al., 2017**).

De nos jours, le cancer du sein représente environ 24,5% de toutes les tumeurs diagnostiquées chez les femmes et 15,5% des décès par cancer tous types confondus (**Sung et al., 2021**).

Selon l'OMS (2020) dans le monde, plus de deux millions de cas de cancer du sein ont été recensés et 684 996 décès, sont attribuables au cancer du sein. En Afrique du Nord, l'OMS a enregistré 57 128 nouveaux cas et 21 524 nouveaux décès dû au cancer du sein. En Algérie, sur un total de 58418 cas de nouveau cancer de tous types, le cancer du sein domine le podium avec un nombre de 12536 cas, soit 40,3% de la totalité des nouveaux cas de cancer (OMS, 2020).

Le cancer du sein se développe sur un tissu qui subit des modifications cycliques au cours de la vie gynéco-obstetricale, sous l'influence des facteurs hormonaux, génétique, nutritionnels et médicamenteux. Des facteurs étiologiques n'ont pu être mis en évidence, mais des données physiologiques et épidémiologiques permettent de retenir un certain nombre de facteurs de risque (**Mousseau et Garnier, 2002**). On compte :

- Facteur génétique : la mutation génétique
- Facteur familiaux : les antécédents familiaux
- Facteurs hormonaux : endogène et exogène
- Facteurs liés à la reproduction : la multiparité, une grossesse à âge précoce ou tardive, l'allaitement.
- Facteurs sanitaires
- Facteurs sociodémographiques : l'âge et le sexe
- Facteurs liés à l'habitude de vie et nutrition : les activités physiques, l'obésité, la nutrition, le tabac et l'alcool.
- Facteurs environnementaux
- Niveau socioéconomique

Le corps humain est constitué de plusieurs milliards de cellules contenant chacune un noyau qui contient l'ADN. Cette cellule entre en mitose et donc va se diviser pour donner un clone cellulaire contenant la même information génétique que la cellule-mère. Cependant, il arrive des fois qu'il y ait des perturbations du génome au niveau de la cellule-mère, qui lors de la mitose aboutit à une cellule avec un ADN endommagé. Ainsi, ces nouvelles cellules filles seront soit séparées, soit détruite en entrant en apoptose. Ainsi, une cellule saine effectue trois processus au cours de sa vie : elle se divise, se différencie et entre en apoptose donc la mort cellulaire. Il existe alors un équilibre entre la régénération de nouvelles cellules et la destruction des anciennes. On parlera de cancer lorsque cet équilibre sera rompu par des cellules qui échapperont au mécanisme de régulation du corps humain. En effet, lors de la division cellulaire, certaines cellules fille obtenue peuvent échapper à l'apoptose et au fur et à mesure de l'accumulation des mutations elles peuvent devenir immortelles et donc cancéreuse **(BAZAN, 2014)**.

Les cellules MDA-MB-231 sont issues d'un cancer du sein agressif, peu différencié et fortement métastatique. Le caractère invasif de ces cellules est principalement dû à leur production extracellulaire élevée d'enzymes protéolytiques, qui favorisent le développement de foyers tumoraux secondaires. En outre, ce type de lignée tumorale ne peut pas être traité par l'hormonothérapie, habituellement appliquée aux cancers endocriniens, car elle n'exprime pas les récepteurs des œstrogènes et de la progestérone (une condition connue sous le nom de profil double négatif), ce qui rend la pathologie difficile à prévenir ou à éradiquer **(Liu et al., 2003 ; Chavez et al., 2010)**.

La lignée cellulaire MCF-7, a été établie à partir d'un épanchement pleural par Michigan Cancer Foundation en 1973. Malgré son origine, des métastases d'une tumeur avancée, la lignée cellulaire est non invasive et représente un modèle de maladie à un stade précoce due à la présence du récepteur d'estrogène fonctionnel et de dépendance aux œstrogènes pour la croissance à la fois *in vitro* et *in vivo*. En micro réseau profils, la lignée cellulaire MCF-7 appartient au sous type de cancer de sein nommé luminal a **(Kao et al., 2009)**.

Les polluants **(Liyanarachchi, 2018)**, l'exposition quotidienne de la peau au rayonnement solaire **(Nahhas et al., 2019)**, la fumée et les xénobiotiques génèrent des ERO exogènes à l'intérieur du corps humain. Les espèces réactives de l'oxygène limitent les mécanismes de défense antioxydants, entraînant un stress oxydatif sévère endogène dans l'épiderme **(Jiratchayama et Hasakul, 2020)** et contribuent au photo vieillissement, à la carcinogenèse, à l'inflammation et à la prolifération cellulaire, etc. **(Liyanarachchi, 2018)**.

L'enzyme tyrosinase est une oxydoréductase dans la classification générale des enzymes et est

impliquée dans le processus d'oxydation et de réduction dans l'épiderme. Ces réactions chimiques que l'enzyme catalyse sont d'une importance capitale dans le processus de mélanogénèse. Ce dernier est lié à la formation de mélanine, un hétéropolymère de nature indolique qui fournit les différentes tonalités de la peau et aide à la protection contre le rayonnement ultraviolet. Cependant, une surproduction de pigment, provoquée par l'action de la tyrosinase, peut provoquer différents troubles de la peau liée à l'hyperpigmentation. Plusieurs études portant principalement sur les caractéristiques de l'enzyme ont été rapportées (**Huh et al., 2003**).

Un moyen simple et efficace à mettre en œuvre est d'éviter le soleil. Les UV sont en effet des déclencheurs de la pigmentation en stimulant l'ARNm de la tyrosinase. Ils provoquent également la synthèse de la vitamine D3 responsable de l'activation de la tyrosinase et de l' $\alpha$ -MSH (Melanocytes Stimulating Hormone). L'exposition aux UV en outre crée un stress oxydatif qui à son tour entraîne une inflammation qui au final générera un signal qui stimulera le mécanisme pigmentaire. De ce fait, il est possible de combattre les précurseurs de la mélanine dans la réaction d'oxydation à l'aide d'antioxydants (**Huh et al., 2003**).

Dans l'agroalimentaire, la tyrosinase est connue comme l'enzyme responsable du changement de la couleur des fruits et de certains végétaux (brunissement). Ce phénomène est dû à l'oxydation de composés diphénoliques en quinone (**Lee, 2002**).

L'Alzheimer est une maladie neurodégénérative progressive caractérisée par le dépôt neuropathologique de plaques séniles extracellulaires, d'enchevêtrements neurofibrillaires intracellulaires et d'un déclin cognitif progressif (**Castellani et al., 2010**). L'accumulation de protéines  $\beta$ -amyloïdes ( $A\beta$ ) et Tau, se produit de manière spatialement ordonnée (**Braak et al., 2006**). La propagation spatiale de ces protéines pathologiques est indicative à la progression temporelle de la maladie d'Alzheimer. L'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE), l'enzyme clé responsable du clivage du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) en acétate et choline (**Whittaker, 1990**) par des inhibiteurs réversibles, constitue l'une des cibles thérapeutiques pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Étant donné que les inhibiteurs synthétiques de l'AChE présentent des effets secondaires après une administration à long terme aux patients (**Alva et al., 2008**), il existe un besoin de nouveaux médicaments provenant de sources naturelles. Il existe deux principaux processus typiques des polyphénols qui intéressent le développement de la maladie d'Alzheimer : les mécanismes antioxydant et anti-inflammatoire, qui sont également impliqués dans le mécanisme du vieillissement (**Queen et Tollefsbol, 2010**).

Afin de rationaliser au mieux les propriétés des composés phénoliques trouvés dans l'extrait aqueux d'*A. articulata* et de déterminer les processus réactionnels impliquant ces

composés dans l'inhibition de l'enzyme AChE. On a eu recours à une méthode qui permet la caractérisation des grandeurs électroniques, structurales et énergétiques d'un système moléculaire mais également l'élucidation des mécanismes d'interactions mis en jeu entre un ligand et son récepteur (**Doucet et al., 1996 ; Dugas, 2000**). La méthode utilisée est la modélisation moléculaire (Mécanique et Dynamique Moléculaire) qui a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules. Elle permet de prendre en compte un nombre très important d'atomes et/ou de molécules. Ceci est particulièrement intéressant pour l'étude dynamique de systèmes complexes. Les processus biologiques des flavonoïdes impliquent très souvent des systèmes moléculaires complexes tels qu'une enzyme. Il est alors possible de simuler le comportement d'une protéine en phase aqueuse, d'analyser l'évolution des conformations du complexe protéine-ligand au cours du temps et de caractériser les interactions hydrophiles et hydrophobes entre le ligand et le récepteur.

Avec le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (assemblage ou amarrage moléculaire) a rapidement investi le domaine de la recherche en biologie. Celui-ci peut être défini comme la recherche du meilleur appariement entre deux molécules. Le docking moléculaire sert à prédire et à reproduire les interactions protéine-ligand, comme il peut servir à l'optimisation de molécules et au criblage de base de données. En pharmacie, la découverte et la mise au point de nouvelles substances médicamenteuses peut passer par le criblage de bases de données avec des millions de composés pour une même protéine cible, ce qui ne serait pas réalisable en biologie classique. En général, la cible est une protéine et le ligand peut être une petite molécule organique ou une protéine (**Salemme, 1976 ; Wodak et Janin, 1978 ; Sari et al., 2007**).

Dans notre investigation, nous avons donné une attention particulière à une plante endémique saharienne, utilisée par les gens du sud algérien, contre plusieurs pathologies (cancer, diabète, infections, inflammations...), en l'occurrence la plante *Anabasis articulata* (**Forssk.**) Moq.

Le genre *Anabasis* L. appartient à la famille des Amaranthacées et comprend 28 espèces halophytes et xérophytes très adaptées pour survivre dans des environnements salins et arides. Ces plantes sont principalement localisées en Asie centrale et sud-ouest et autour du bassin méditerranéen, colonisant les déserts, les zones pierreuses et les wadies sableuses (**O'leary et Glenn, 1994 ; Lauterbach et al., 2019**).

*A. articulata* (Forssk.) Moq. appartenant à la famille des Amaranthacés (ancienne dénomination : Chenopodiacés) et nommée localement 'ajrem', 'Eshnan', ou 'Ramth', une plante



saharienne endémique à buisson bas, à souche épaisse et tordue, de couleur vert bleuté très clair. Les branches sont articulées et presque sans feuilles, pendant les périodes de grande sécheresse les rameaux meurent et tombent au pied de la plante. Les feuilles opposées, ont une partie libre très courte, obtuse ou terminée par une pointe blanchâtre. Les fleurs blanches- roses sont isolées à l'aisselle de chaque feuille. Le fruit est entouré de trois ailes dues à la dilatation de trois de ces sépales (**Ozenda, 2004**).



**Figure 1:** Photo de la plante *Anabasis articulata* (Forssk.) Moq

Les pratiques ethnobotaniques suggèrent que les décoctions aqueuses de feuilles d'*A. articulata* peuvent être utilisées pour traiter le diabète, les infections rénales, la fièvre, les maux de tête et les maladies de la peau, comme l'eczéma et les démangeaisons (**Hammiche et Maiza, 2006**), les tiges ont de nombreux constituants actifs qui peuvent avoir plus d'un effet pharmacologique (**Kambouch et al., 2009**).

Certaines études ont démontré que les composants phénoliques de cette espèce végétale possède des propriétés antioxydantes (**Benhammou et al., 2013 ; Forni et al., 2019**), d'autres ont associé à cette espèce d'autres bioactivités, telles que l'effet larvicide (**Sathiyamoorthy et al., 1997**), hépatoprotecteur (**Azza et al., 2014 ; Mohamed et al., 2014**), et anti-inflammatoire (**Abdallah et al., 2014**). À propos de ce dernier, les auteurs ont documenté la capacité d'*A. articulata* à réduire les niveaux de prostaglandine (c'est-à-dire PGE2) et de TNF- $\alpha$  et à inhiber l'activité de la Cyclooxygénase-2. Récemment, **Benzineb et al. (2019)** ont mis en évidence pour cette plante un pouvoir antimicrobien important, tandis qu'**El Dine et collaborateurs. (2018)** ont démontré que la fraction n-butanol d'*A. articulata* présentait une forte capacité agonistique envers le récepteur-  $\alpha$  activé par les proliférateurs de peroxyosomes dans les cellules d'hépatome humain (HepG2).

Le criblage phytochimique d'*A. articulata* a montré l'existence de saponines (**El Dine et al., 2018**), de coumarines, de flavonoïdes, de composés phénoliques, d'alcaloïdes,

d'anthraquinones, d'iridoïdes, de glycosides cyanogènes, de glycosides cardiaques, de glucides ou de glycosides, de stérols insaturés ou de triterpénoïdes, et de tanins (Eman, 2014). En outre, 49 alcaloïdes appartenant à 16 classes ont été isolés et identifiés (Belyagoubi-Benhammou et al., 2019). Cependant, les composants les plus abondants seraient les saponines (1.3%), qui ont été détectées dans cette halophyte pour la première fois il y a plus de cinquante ans (Segal et al., 1969 ; Eman, 2011 ; Mroczek, 2015). À cet égard, Kambouche et al. (2009) ont rapporté que ces molécules étaient capables de réduire les niveaux de glucose dans le sang, fournissant une preuve scientifique du potentiel antidiabétique d'*A. articulata*, comme le suggère la phytothérapie traditionnelle algérienne.

Selon des renseignements recueillis auprès de la population de Hassi rmel, il s'est avéré qu'*A. articulata* est utilisée contre le cancer du sein, en la mélangeant avec d'autres plantes, la consommation de ce mélange avec un produit laitier comme le yaourt donne un meilleur résultat que sa consommation avec du miel pour atténuer son amertume.

Cependant, aucune preuve expérimentale sur l'effet anti-tumoral d'*A. articulata* n'a été enregistrée dans la littérature, pour cette raison, nous avons évalué le pouvoir antiprolifératif de la plante, sur des cultures cellulaires du cancer sein, 2 lignées cellulaires sont utilisées ; MDA-MB-231 et MCF-7, qui sont différentes génétiquement.

La présente étude vise à évaluer les activités biologiques décrites ci-dessus (antioxydante, anti-inflammatoire, anti-tumoral, antityrosinase, et neuroprotective) et un dosage de composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés), en utilisant deux extraits de cette plante (extrait des saponines et extrait aqueux) qui ont subi une analyse par GC/SM et HPLC-DAD respectivement, suivi par une analyse bio-informatique dans le but d'identifier de nouveaux inhibiteurs d'acétylcholinestérase, sur la base de leur structure 3D, une étude de modélisation moléculaire a été appliquée pour tester le type d'interactions entre les résidus du site actif de l'enzyme et les composés végétaux.

## **Partie 2 : Matériel et méthodes**

## **1. Récolte du matériel végétal**

Ce modeste travail a été réalisé au sein des laboratoires, de recherche des Produits Naturels, de l'Université de Tlemcen, à l'Université Tor Vergata, Rome, Italie et au niveau de la Faculté des sciences naturelles de la vie à l'Université d'Oran 1.

La plante a été récoltée au début du mois de Mars 2018 dans un secteur de la région de Béchar (Ouest algérien). La plante a été identifiée par le laboratoire d'écologie végétale, département de biologie de l'Université de Tlemcen, par le Pr BOUDGHEN STAMBOULI Hassiba.

## **2. Préparation du matériel végétal**

Au laboratoire, c'est la partie aérienne d'*A. articulata* qui a servi aux différentes analyses. Cette partie de la plante est en effet utilisée en médecine traditionnelle, car elle contient probablement les principes actifs recherchés. La plante a été lavée, séchée à l'abri de la lumière pendant quinze jours avant utilisation. Cette opération du séchage est suivie par le broyage qui est réalisé juste avant chaque analyse et de préférence au moyen d'un mortier pour éviter la dégradation des composés chimiques par la chaleur du broyeur.

## **3. Préparation des extraits**

### **3.1. Extrait aqueux**

L'extrait aqueux est obtenu en macérant 3,3 g de la poudre avec 100 mL d'eau distillée, pendant 24h à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'extrait a ensuite été filtré et desséché dans un évaporateur rotatif sous vide à 50 °C par le rotapaveur HAHVAPOR HS-2005. Le résidu a été dissous dans 3 ml d'eau distillée et ensuite soumis à l'analyse.

### **3.2. Extrait des saponines**

500g de poudre d'*A. articulata* ont d'abord été délipidés par 1L d'éther de pétrole (24h x2). Le matériau dégraissé a ensuite été extrait avec 1L du MeOH à température ambiante pendant 24h. L'extrait combiné de MeOH a été évaporé sous vide pour obtenir un extrait brut. Cet extrait brut a été dissous dans MeOH et les saponines ont été précipitées goutte à goutte par l'addition de l'acétone froid en remuant. Cette procédure a été répétée 3 fois pour l'obtention de toute la quantité de saponines présentes (Turhan et al., 1997).

## **4. Dosages**

### **4.1. Dosage des phénols totaux**

Le contenu phénolique total a été déterminé par spectrophotométrie en utilisant le test de réactif Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965). Le réactif est réduit lors de l'oxydation de phénol, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène.

Un volume de 200  $\mu\text{L}$  de l'extrait aqueux à une dilution de 1/50 à partir de 131.06 mg/mL a été mélangé avec 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu, préalablement dilué 10 fois dans l'eau, et 0,8 mL d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% dans un tube à essai. Après 30 min d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 765 nm contre le blanc qui ne contient pas l'extrait et à l'aide d'un spectrophotomètre Specord 200 plus Analytik Jena.

Pour la courbe d'étalonnage, l'acide gallique a été utilisé comme étalon à différentes concentrations. La teneur en phénols totaux a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de la matière sèche de plante (mg EAG /g MS).

#### **4.2. Dosage des flavonoïdes**

Le dosage colorimétrique décrit par **Zhishen et al. (1999)** a été utilisé pour définir les flavonoïdes totaux. 500  $\mu\text{L}$  d'extrait aqueux de plante a une dilution de 1/50 et 1/100 à partir de 131.06 mg/mL, ont été mélangés à 1500  $\mu\text{L}$  d'eau distillée, 150  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  à 5 % (p/v). Au bout de 5 min, 150  $\mu\text{L}$  d' $\text{AlCl}_3$  à 10 % (p/v) ont été ajoutés. Après 6 min d'incubation à température ambiante, 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  (1 M) ont été ajoutés. Le mélange a été immédiatement homogénéisé et l'absorbance a été mesurée à 510 nm par rapport au blanc.

La catéchine, à plusieurs concentrations, a été utilisée pour préparer la courbe d'étalon. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents catéchine par gramme de matière sèche de la plante (mg EC/g MS).

#### **4.3. Dosage des tanins condensés**

La teneur en tanins condensés dans l'extrait aqueux a été déterminée selon la méthode de **(Julkunen-titto, 1985)** en mesurant les proanthocyanidines, en utilisant le dosage de la vanilline. En bref, 50  $\mu\text{L}$  de l'extrait aqueux (131.06 mg/mL) ont été mélangés avec 1500  $\mu\text{L}$  de solution de vanilline/méthanol (4 %, p/v), et la solution a été homogénéisée. Ensuite, 750  $\mu\text{L}$  de  $\text{HCl}$  concentré ont été ajoutés et la solution a été incubée à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance par rapport au blanc a été lue à 550 nm. La catéchine, à plusieurs concentrations a été utilisée pour préparer la courbe standard. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent catéchine par g de matière sèche de la plante (mg EC/g MS).

## 5. Analyse de l'extrait aqueux par HPLC/DAD

Le profil biochimique de l'extrait aqueux d'*A. articulata* a été réalisé à l'aide d'un système HPLC équipé d'une pompe LC-20AD, d'un contrôleur CBM-20A, d'un auto-échantillonneur SIL-20a HT et d'un détecteur à barrette de diodes SPD-M20A (DAD) (Shimadzu, Kyoto, Japon). Basé sur la méthode de **Zanella et al. (2019)**, les analytes ont été séparés par une colonne Phenomenex Luna 3u C18 (2) (150 mm × 4,60 mm × 3 µm, Phenomenex, Italie) en utilisant des phases mobiles constituées d'acide formique à 1% (v/v) (phase A) et MeOH (phase B), à un débit de 0,95 mL par minute. L'élution a commencé à 15% de solvant B; cette condition a été maintenue pendant 20 min et a été augmentée linéairement jusqu'à 35% de solvant B en 20 min et jusqu'à 90% en 60 min. Le volume d'injection était de 100 µL et la température de la colonne était fixée à 40 °C. L'acquisition des données a été réalisée à l'aide du logiciel LAB-SOLUTION (Shimadzu). Les métabolites secondaires ont été identifiés et quantifiés en comparant leur temps de rétention (minutes), leur spectre d'absorption de la lumière UV et leur surface de pic avec ceux de molécules standard pures (Sigma-Aldrich, Milan, Italie) (Acide gallique, 3-Hydroxytyrosol, Acide vanillique, Epicatéchine, Acide rosmarinique, Acide 4-Hydroxybenzoïque, Acide chlorogénique, Acide caféïque, Acide syringique, Acide  $\rho$ -Coumarique, Resveratrol, Acide salicylique, Quercétine-3-glucoside, Myricétine, Quercétine, 5,7-Diméthoxycumarine, Génistéine, Kaempferol, Acide 1,1-Diméthylalyl caféïque, Chryisine, Acide phénéthyle ester caféïque), les concentrations des courbes de calibration utilisés dans cette analyse, varient entre 0 – 500µg/mL. Les résultats ont été exprimés en µg d'équivalent standard par g de la matière sèche de la plante (µg ES / g MS).

## 6. Analyse de l'extrait des saponines par GC/SM

Dix mg d'extrait des saponines ont été remis en suspension dans 2 mL de méthanol pur et incubés, sous agitation, pendant deux heures. Après centrifugation à 11000 g pendant 5 min, deux microlitres de surnageant ont été injectés dans un système GC-MS QP2010 (Shimadzu, Kyoto, Japon) équipé d'une colonne SH-Rtx-5MS (Shimadzu; longueur 30 m × diamètre 0,25 mm × épaisseur 0,25 µm) pour effectuer l'analyse. Le gradient de température a été réglé comme suit: 100 °C pendant 2 min, 220 °C pendant 4 min (atteint à une vitesse de 15 °C / min), 290 °C pendant 7 min (atteint à une vitesse de 10 °C / min) et 310 °C pendant 15 min (atteint à une vitesse de 8 °C / min). L'hélium a été utilisé comme gaz porteur à un débit constant de 1 mL / min. Le spectre de masse a été obtenu par impact électronique (EI) à 70 eV (balayage de 40 à 800 m/z), la source d'ions et les températures d'interface étaient de 250 °C et 280 °C, respectivement, et le temps de coupure du solvant était égal à 3 min. Tous les pics détectés dans

le chromatogramme ont été analysés. Chaque molécule a été identifiée en comparant son profil de masse à ceux des standards purs enregistrés dans la bibliothèque du NIST (National Institute of Standard and Technology), chargé dans le logiciel de détection de l'instrument (logiciel Solution). Les valeurs de similarité n'étaient considérées comme acceptables que si elles étaient supérieures à 85%.

## **7. Etude du pouvoir antioxydant**

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* des deux extraits, nous avons sélectionné quatre méthodes qui ont l'avantage d'être simples et rapides. Ses méthodes sont répétées 3 fois pour la fiabilité des résultats, il s'agit :

- De la capacité antioxydante totale (CAT).
- Du test de piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphényl-1 picrylhydrazyl).
- Du test de la réduction de fer.
- Test de blanchiment de  $\beta$ -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique.

### **7.1. Capacité antioxydante totale**

La capacité antioxydante totale (CAT) a été déterminée en suivant la méthode décrite dans **Prieto et al. (1999)**. Elle consiste à évaluer la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdate Mo (V)  $\text{MoO}^{2+}$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo(V) à pH acide.

Un aliquote d'extrait (0,3 mL) a une dilution de 1/50, a été mélangé avec 3 ml de solution de réactif (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes ont été bouchés et incubés à 95°C pendant 90 min. Ensuite, les échantillons ont été refroidis à température ambiante et l'absorbance a été enregistrée à 695 nm, contre un blanc. L'acide ascorbique a été utilisé comme standard pour extrapoler l'activité antioxydante de l'extrait qui a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS). Cette manipulation a été répétée 3 fois pour la fiabilité des résultats.

### **7.2. Test du radical libre DPPH**

Le DPPH est pratiquement, le radical libre le plus stable, en solution (méthanol ou éthanol). Il est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515nm. En présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pâle (forme d'hydrazine). Ce passage à la deuxième forme est accompagné d'une diminution de l'absorbance (DO) qui peut être exprimée par le pourcentage de réduction de DPPH conventionnellement une grande capacité de piégeage (réduction) des radicaux libres est

considérée comme une grande activité antioxydant (Lee et al., 2003).

L'activité de piégeage des radicaux libres des échantillons a été déterminée par spectrophotométrie par le dosage DPPH, comme décrit dans Sanchez-Moreno et al. (1998) avec une légère modification. La forme radicalaire DPPH absorbe à 517 nm mais lors de la réduction par un antioxydant, son absorption diminue. Brièvement, cinquante microlitres de concentrations comprise entre 0.0625 et 4 mg/mL, des extraits ont été ajoutés à 1.950 mL de solution de méthanol DPPH à 0,025 g/L. Après incubation à température ambiante pendant 30 min, à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 515 nm contre un blanc (extrait végétal et MeOH). La solution de DPPH sans solution d'échantillon a été utilisée comme témoin. L'activité de piégeage des radicaux libres du DPPH a été mesurée en pourcentage (%), en utilisant la formule suivante :

$$I (\%) = (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}} / A_{\text{contrôle}}) \times 100$$

Où  $A_{\text{contrôle}}$  est l'absorbance de la réaction de contrôle et  $A_{\text{échantillon}}$  est l'absorbance en présence de l'échantillon.

La concentration de l'extrait fournissant 50 % d'inhibition ( $EC_{50}$ ) a été extrapolée à partir du graphique tracé des pourcentages d'inhibition obtenus en utilisant différentes concentrations d'échantillon de plante. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif.

### 7.3. Test du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d'un extrait est lié à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été basée sur la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ).

Le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode d'Oyaizu. (1986). Différentes concentrations comprise entre 0.0625 à 2mg/mL, des extraits ont été mélangées avec un tampon phosphate (2,5 ml, 0,2 M, pH 6,6) et une solution aqueuse de ferricyanure de potassium à 1 % (2,5 ml,  $K_3Fe(CN)_6$ ). Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 min. Des aliquotes d'acide trichloracétique (2,5 mL, 10 %) ont été ajoutées au mélange qui a ensuite été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min. La couche supérieure de la solution (2,5 mL) a été mélangée avec de l'eau distillée (2,5 mL) et une solution de  $FeCl_3$  fraîchement préparée (0,5 mL, 0,1 %). L'absorbance a été mesurée à 700 nm. Une absorbance accrue du mélange a été considérée comme une augmentation du pouvoir réducteur. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif. La valeur  $EC_{50}$  est déterminée à une DO égale à 0.5.

### 7.4. Test du blanchiment $\beta$ -carotène/acide linoléique

L'essai de blanchiment  $\beta$ -carotène/acide linoléique a été déterminé en utilisant la méthode de Moure et al. (2000). Deux milligrammes de  $\beta$ -carotène ont été dissous dans 10 ml de



chloroforme ; 1 ml de solution de  $\beta$ -carotène a été mélangé avec 20  $\mu$ l d'acide linoléique purifié et 200 mg d'émulsifiant Tween 40. Le chloroforme a été éliminé dans un évaporateur rotatif sous vide et le mélange résultant a été immédiatement dilué avec 100 ml d'eau distillée. Quatre mL de cette émulsion ont été ajoutés à 200  $\mu$ L d'extrait végétal a des concentrations entre 0.375 et 3mg/mL, ou d'antioxydant de référence. L'absorbance à 470 nm, qui a été considérée à  $t = 0$  min, a été immédiatement mesurée par rapport à un blanc, constitué de l'émulsion sans  $\beta$ -carotène. Les tubes bouchés ont été placés dans un bain-marie à 50 °C pendant 2 h. Ensuite, l'absorbance de chaque échantillon a été mesurée à 470 nm contre un blanc, constitué de l'émulsion sans  $\beta$ - carotène. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. Le contrôle 200  $\mu$ L de méthanol a été utilisé à la place de l'extrait ou du BHA. L'activité antioxydante (AA) a été calculée selon l'équation suivante :

$$AA(\%) = [(A_{A(120)} - C_{C(120)}) / (C_{C(0)} - C_{C(120)})] \times 100$$

Où :  $A_{A(120)}$  représente l'absorbance en présence de l'extrait à 120 min ;  $C_{C(120)}$  représente l'absorbance du contrôle à 120 min ;  $C_{C(0)}$  représente l'absorbance du contrôle à 0 min.

## **8. Inhibition de la tyrosinase**

L'effet de l'extrait des saponines et de l'extrait aqueux sur l'activité de la tyrosinase de champignon (EC 1.14.18.1) a été déterminé par spectrophotométrie comme décrit précédemment par **Chang. (2009)**, avec de légères modifications. En bref, les échantillons ont été dissous dans du DMSO à la concentration initiale de 3 mg/ mL et ensuite dilué avec un tampon phosphate (pH 6,8 ; 0,05 M). Quatre cents  $\mu$ L d'échantillon ont été mélangés avec 400  $\mu$ L de L-tyrosine (0,5 mg / mL). Ensuite, 200  $\mu$ L de solution de tyrosinase de champignon (0,1 mg / mL dans un tampon phosphate) ont été ajoutés et le mélange a été incubé pendant 30 min, à 37 °C. Le tampon phosphate et la quercétine ont été utilisés, respectivement comme contrôle négatif et positif. L'absorbance a été lue à 475 nm et le pourcentage d'inhibition de l'enzyme a été calculé en pourcentage par rapport au témoin en utilisant l'équation suivante :

$$AT(\%) = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :  $A_C$  représente l'absorbance en présence du contrôle;  $A_E$  représente l'absorbance de l'extrait.

## **9. Essai d'inhibition de l'acétylcholinestérase**

### **9.1. Test de bioautographie par CCM**

Le test CCM-AChE a été réalisé comme décrit par **Mroczek. (2009)**. L'AChE d'anguille électrique (EC 3.1.1.7) a été dissoute dans le tampon tris-HCl 50 mM, pour faire une solution mère à 1000 U / ml, puis diluée avec du tampon tris-HCl 50 mM, pour obtenir 3 U/ ml. La solution mère a été maintenue à -20 °C. Les deux extraits ont été appliqués à un niveau de 15

µg sur des feuilles d'aluminium TLC gel de silice 60 F254. De la galanthamine (1 µg) a été appliquée sur les plaques en tant que contrôle positif. Après migration des échantillons dans une phase mobile appropriée EtOH/MeOH/H<sub>2</sub>O (100:13,5:12,5) mais contenant en plus 1,5 mg mL d'acétate de 2-naphtyle, les plaques CCM ont été séchées à l'air. Les plaques ont ensuite été pulvérisées avec 3 U/ml de solution d'enzyme, soigneusement séchées à nouveau et incubées pendant 10 min à 37°C dans une atmosphère humide. Ensuite, les plaques ont été pulvérisées par la solution rapide de sel bleu B (1,25 mg/mL, dans l'eau). Le fond violet a été révélé après 1 min.

## **9.2. Dosage spectrophotométrique**

L'activité inhibitrice de l'AChE de l'extrait des saponines a été déterminée en utilisant la méthode **d'Ellman et al. (1961)**, menée comme décrit par **Ingkaninan et al. (2000)**, avec une légère modification. Dans chaque cuvette, 295µL de tampon tris-HCl 50 mM ont été ajoutés à 100µL de 0,226 U/mL AChE en tampon tris-HCl 50 mM, 5µL d'extrait (ou galanthamine comme contrôle positif ; ou méthanol comme contrôle négatif) dans du méthanol à différentes concentrations, et 500 µL de 3 mM de DTNB dans du tampon tris-HCl 50 mM. Le mélange est ensuite vortexé et incubé 15 min à 37 °C. La réaction est alors initiée par ajout de 100 µL d'iodure d'acétylthiocholine 15 mM dans l'eau. L'hydrolyse de l'ATChI a été suivie par la formation de l'anion 5-thio-2- nitrobenzoate de couleur jaune, en mesurant l'absorption à la longueur d'onde de 405 nm toutes les 20 s pendant 4 min, avec le spectrophotomètre UV Optizen 2120. Les taux initiaux ont été mesurés en tant que changement d'absorbance/temps. Le pourcentage d'inhibition de l'AChE a été calculé à l'aide de la formule :

$$I (\%) = 1 - (RR_{\text{échantillon}} / RR_{\text{contrôle}}) \times 100$$

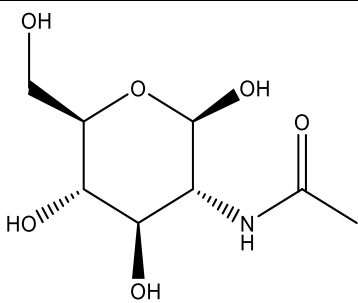

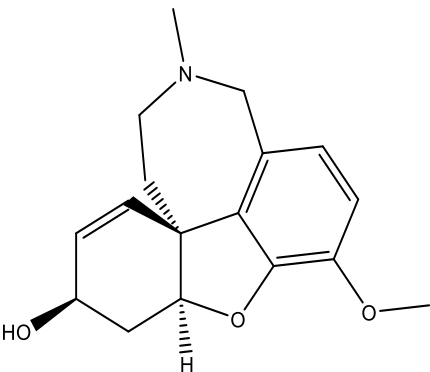
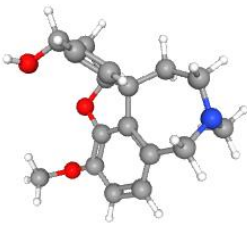
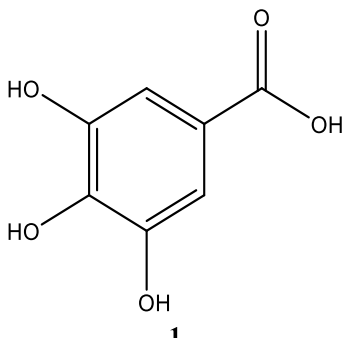
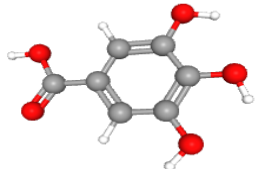
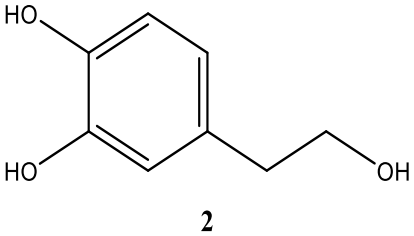
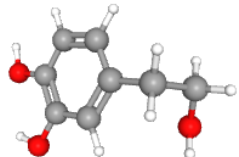
Où :  $RR_{\text{échantillon}}$  est la vitesse de réaction de l'échantillon et  $RR_{\text{control}}$  est celle du contrôle négatif. L'activité inhibitrice de l'AChE a été exprimée en termes de valeurs  $EC_{50}$  (à savoir la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber l'hydrolyse du substrat de 50%).

## **10. Analyse bio-informatique**

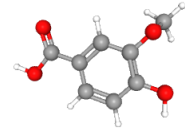
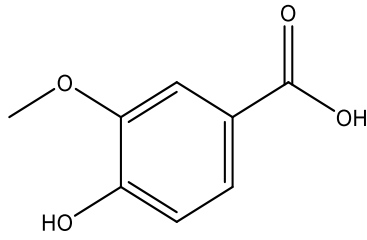
### **10.1. Préparation de ligands et de protéines**

Les structures tridimensionnelles (3D) de 21 composés d'*A. articulata* (L1-L21) ont été préoptimisées au moyen du champ de force de la mécanique moléculaire (MM+) (**Tableau 1**).

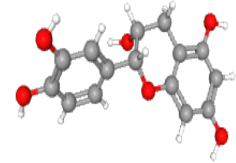
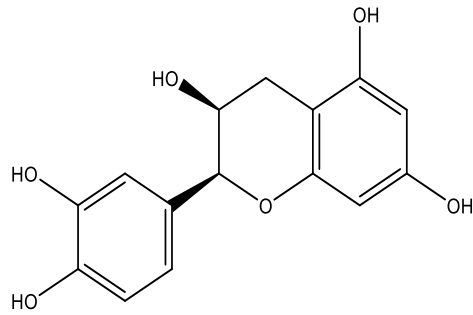
**Tableau 1.** 2D & 3D représentation des ligands utilisés. La structure des ligands été prise du server PubChem.

Nom de la molécule	Représentation 2D	Représentation 3D
Acétylglucosamine (co-cristallisation ligand)	 <p>Acetylglucosamine</p>	
Gаланthamine	 <p>Gаланthamine</p>	
L1 : Acide gallique	 <p>1</p>	
L2 : 3-Hydroxytyrosol	 <p>2</p>	

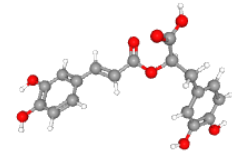
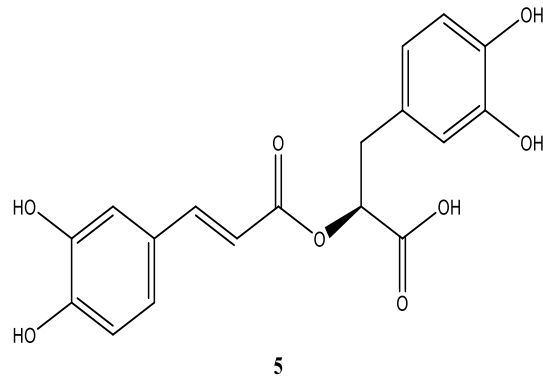
L3 : Acide vanillique



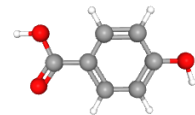
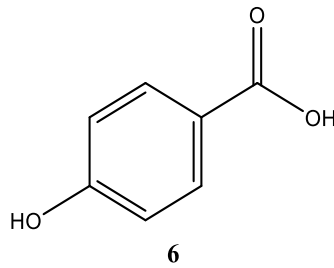
L4 : Epicatechine



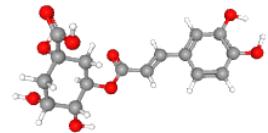
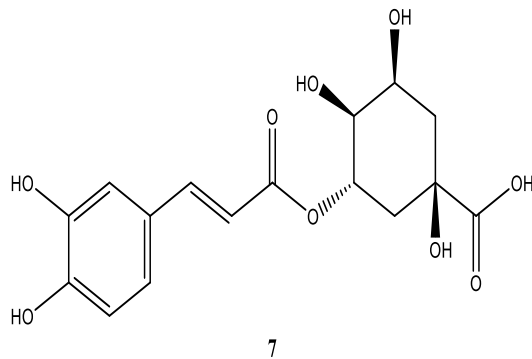
L5 : Acide  
rosmarinique



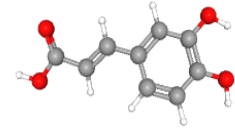
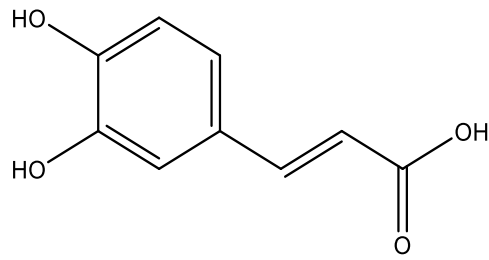
L6 : Acide 4-  
hydroxybenzoïque



L7 : Acide  
chlorogénique

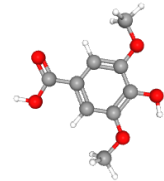
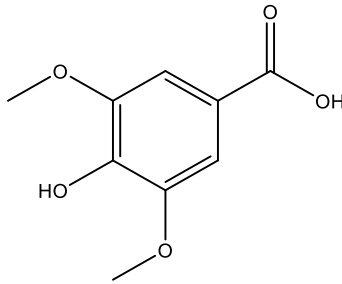


L8 : Acide caféique



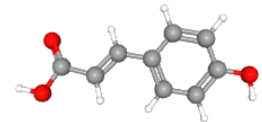
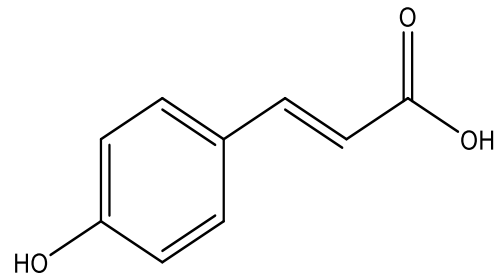
8

L9 : Acide syringique



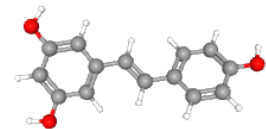
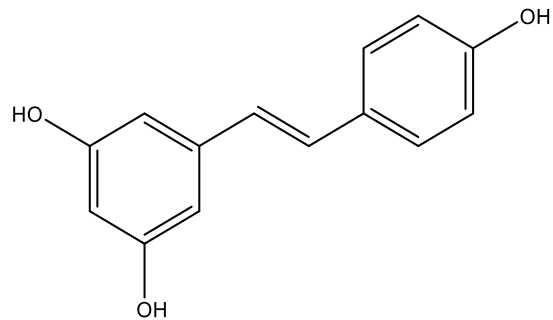
9

L10 : Acide *p*-coumarique



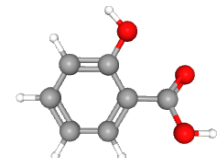
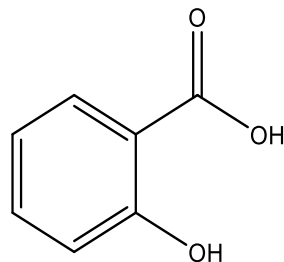
10

L11 : Resveratrol



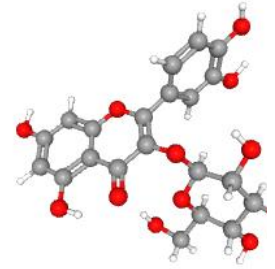
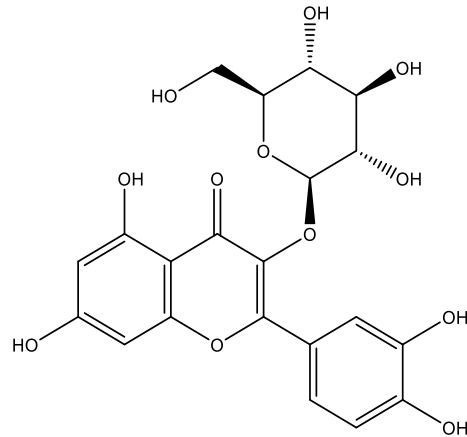
11

L12 : Acide salicylique

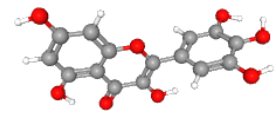
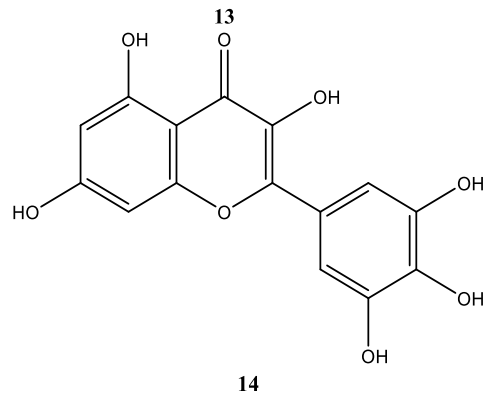


12

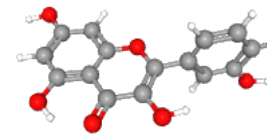
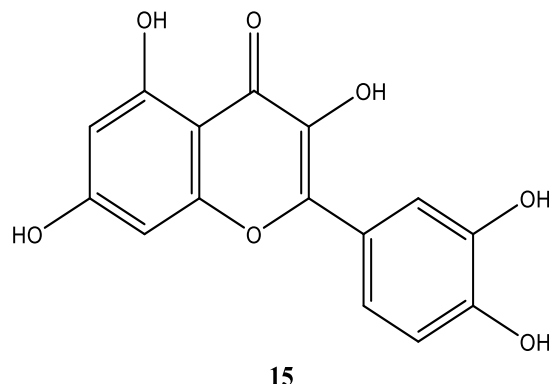
L13 : Quercétine-3-O-glucoside



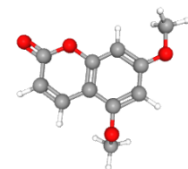
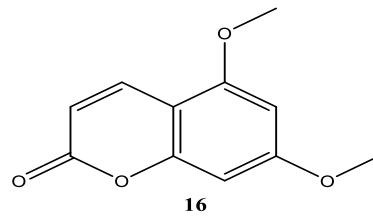
L14 : Myricétine



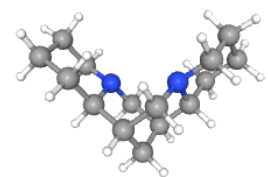
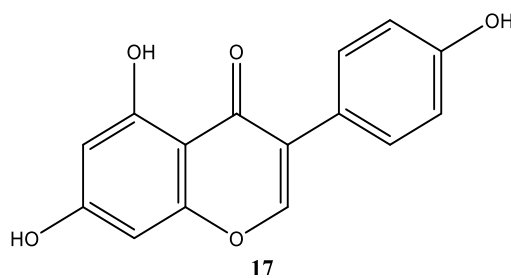
L15 : Quercétine



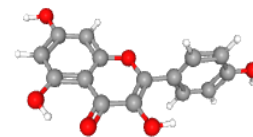
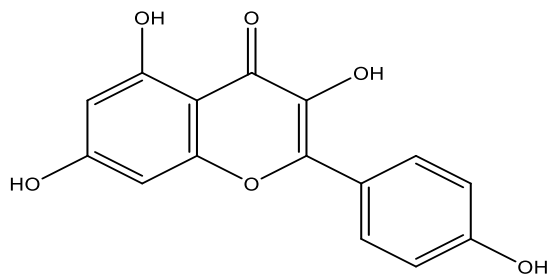
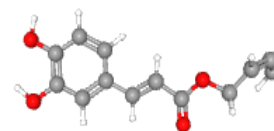
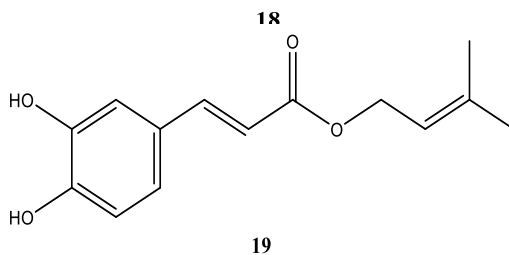
L16 : 5,7-Diméthoxycoumarine



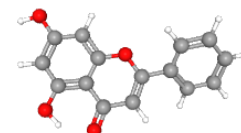
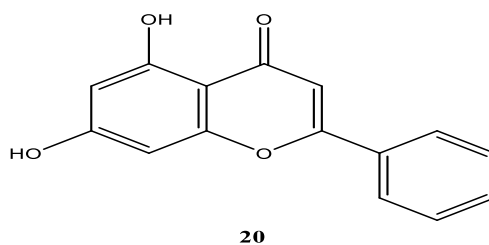
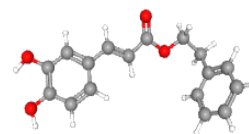
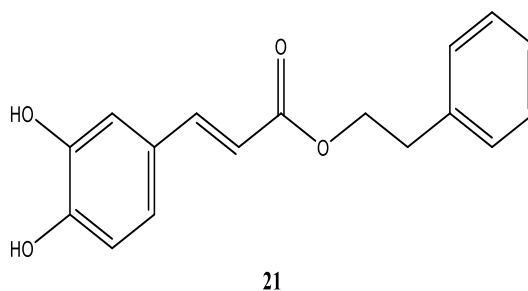
L17 : Génistéine



L18 : Kaempferol

L19 : Acide caféique  
1,1-diméthylallyl  
ester

L20 : Chrysin

L21 : Acide caféique  
ester phenethyl

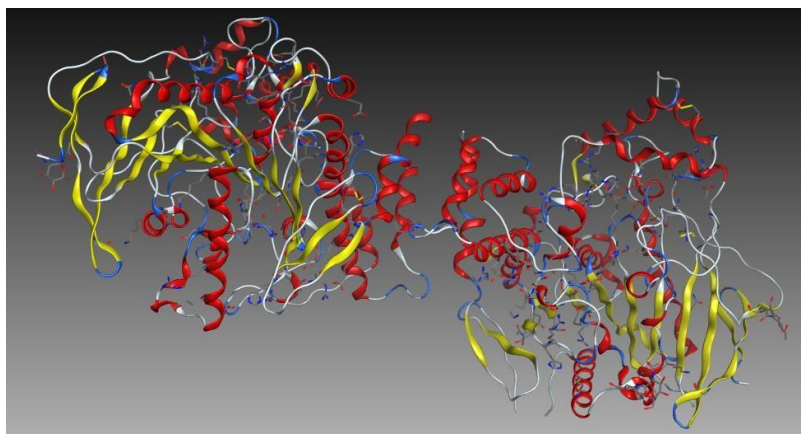
Après cela, les structures minimisées résultantes ont été affinées à l'aide de la méthode semi-empirique AM1 (Stewart, 2007), avec l'algorithme de gradient conjugué de Polak-Ribiere de 0,01 kcal/Åmol. Toutes les méthodes ont été implémentées dans le logiciel Hyperchem 8.0.8 (HyperChem v8. Molecular Modelling System, 2009); une base de données où tous les ligands végétaux ont été convertis dans leurs structures 3D a été créée et a été utilisée comme entrée dans le logiciel d'amarrage moléculaire (Molecular Operating Environment, 2013); désormais MOE.

Les coordonnées cristallines aux rayons X de l'acétylcholinestérase (Protein Data Bank : PDB ID : 1ZGC) à l'état lié avec l'enzyme avec l'acétylglucosamine ont été rapportées dans la base de données Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) (Tableau 2). Ces PDB (Figure 2) ont été sélectionnés pour les études de modélisation. Dans le dernier cas, l'énergie des structures protéiques est minimisée à l'aide de l'algorithme de minimisation

d'énergie de l'outil MOE. Cette énergie des protéines a été calculée (en kcal/mol) par MOE en utilisant le champ de force MMFF94x avec la méthode du gradient conjuguant.

**Tableau 2.** Détails de l'enzyme acétylcholinestérase

Protéine	Acétylcholinestérase (PDB ID: 1ZGC)
Méthodes	X-ray diffraction
Résolutions (Å)	2.10
R-Value	0.196
Nombre de résidues	543
ligands co-cristallisés	Acétylglucosamine
Score du docking	-5.77641153



**Figure 2.** Structure 3D de l'enzyme acétylcholinestérase (PDB ID: 1ZGC).

### 10.2. Modélisation moléculaire

Une étude d'amarrage moléculaire a été réalisée à l'aide de l'outil LigX, afin de :

- 1) Découvrir les interactions entre l'atome de ligand et les résidus de site actif (en tenant également compte de leurs distances) ;
- 2) Comparer les affinités des composés végétaux (L1-L21) à l'enzyme acétylcholinestérase
- 3) La formation d'un complexe ligand-enzyme et son score énergétique. Les calculs d'amarrage ont été effectués en utilisant les paramètres standards par défaut du progiciel MOE (**Molecular Operating Environment, 2013**).

Dans ce programme, les ligands sont considérés comme flexibles tandis que les protéines ont une structure rigide. Dans ce cas, le ligand de référence (acétylglucosamine) et le médicament galanthamine ont d'abord été réinstallés dans la poche du site de liaison de l'acétylcholinestérase et les valeurs de l'écart quadratique moyen (RMSD) entre l'amarrage et les poses initiales ont été calculées. En général, la structure protéique avec une résolution



comprise entre 1,5 et 2,5 Å a été évaluée de bonne qualité pour des études ultérieures (**Clément et Slenzka, 2006**), (**Didierjean et Tête-Favier, 2016**). A la fin de docking moléculaire, les meilleures conformations des ligands ont été analysées pour leurs interactions de liaison et ont été évaluées en termes d'énergies libres de liaison (S-score, kcal/mol) et d'interactions de liaisons entre l'atome de ligand et les résidus du site actif (**Simon et al., 2017**).

### 10.3. Propriétés ADME

De nombreux agents thérapeutiques potentiels ne parviennent pas à faire l'objet d'essais cliniques en raison de leurs paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination (ADME) défavorables ; en outre, ils ne vérifient pas la similitude avec le médicament. Les règles de **Lipinski et al. (1997)**, **Veber et al. (2002)**, et **Egan et al. (2000)** ont été appliquées et la surface polaire (TPSA), le nombre de liaisons rotatives (n-ROTB) et le volume moléculaire (MV) ont été calculés à l'aide de la méthode SwissADME (**Daina et al., 2017**).

### 10.4. Simulation de dynamique moléculaire

L'étude de simulation de dynamique moléculaire a été réalisée pour le ligand qui était déclaré comme le meilleur parmi les molécules sélectionnées. Cette analyse a été réalisée par iMODS, il s'agit d'un outil de simulation de dynamique moléculaire rapide, convivial et efficace qui peut être utilisé efficacement pour étudier la dynamique structurelle des complexes protéiques. Il fournit les valeurs de déformabilité, le facteur B (profil de mobilité), les valeurs propres, la variance, la carte de co-variance et le réseau élastique. Pour un complexe ou une protéine, la déformabilité dépend de la capacité à se déformer au niveau de chacun de ses résidus d'acides aminés. La valeur propre est liée à l'énergie nécessaire pour déformer la structure donnée; plus la valeur propre est faible, plus la déformabilité du complexe est facile. De plus, la valeur propre représente également la rigidité des mouvements du complexe protéique. Ainsi, iMODS est un serveur rapide et facile pour déterminer et mesurer la flexibilité des protéines (**Lopez-Blanco et al., 2011**; **Lopez-Blanco et al., 2014**; **Prabhakar et al., 2016**; **Awan et al., 2017**).

## 11. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

Les procédures et protocoles expérimentaux utilisés dans cette étude ont été approuvés par le comité institutionnel d'éthique animale (1205/c/08/CPCSEA, le 21.04.08). Des rats adultes mâles et femelles pesant de 150 à 250 g ont été obtenus auprès du service des animaux de laboratoire de l'Institut Pasteur d'Alger, Algérie. Les animaux étaient logés dans des cages en polypropylène, à une température de  $20 \pm 2$  °C et une humidité relative de 60 à 70 %, avec un accès libre à l'eau et des granulés alimentaires standard. On a laissé les rats s'acclimater dans l'animalerie pendant 1 semaine avant l'expérimentation. Toutes les expériences ont été menées

après un jeûne d'une nuit (l'eau était disponible).

L'extrait des saponines (50 et 100 mg/kg) et l'extrait aqueux (400 et 500 mg/kg) ont été administrés à seize rats par gavage. Tous les animaux ont été observés pour évaluer l'éventuelle toxicité aiguë induite par l'extrait végétal après 15 jours de traitement.

Les animaux ont également été soumis à un test d'œdème inflammatoire de la patte, selon la méthode de **Trovato et al. (2001)**. Vingt-quatre rats ont été répartis de manière aléatoire et égale en six groupes. L'extrait des saponines a été dissous et dispersé dans du Tween 80 (15 %) et administré aux groupes 1 et 2 à des doses de 100 et 50 mg/Kg respectivement. L'extrait aqueux a été administré aux groupes 3 et 4 à des doses de 400 et 500mg/kg respectivement. La même quantité de Tween 80 (15 %) a été administrée au groupe témoin 5. L'activité anti-inflammatoire des deux extraits a été comparée à celle d'un groupe de référence 6 qui a été traité avec 50 mg/Kg de diclofénac. Une heure après l'administration orale, un œdème a été induit par l'injection de 0,1 mL de solution de carragénine (0,5 %) dans la région sous-plantaire de la patte arrière droite de tous les rats. La taille de l'œdème a été mesurée par un pléthysmomètre de 1 à 6 h après l'injection. Le pourcentage d'augmentation et d'inhibition de l'œdème a été calculé par les formules suivantes :

$$\text{Pourcentage d'augmentation de l'œdème (\%)} = (V_1 - V_0) / (V_0) \times 100$$

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l'œdème (\%)} = (E_c - E_t / E_c) \times 100$$

D'où  $V_1$  est le volume de patte du rat après injection de carragénine ;  $V_0$  est le volume de patte du rat avant injection de carragénine ;  $E_c$  est le volume d'œdème du groupe témoin ;  $E_t$  est le volume d'œdème du groupe traité.

## **12. Culture cellulaire**

Deux lignées humaines de cancer du sein, MCF-7 et MDA-MB-231, ont été cultivées dans des conditions standard dans le milieu Eagle modifié de Dulbecco (DMEM) et RPMI- 1640 respectivement, additionné de 10 % de sérum bovin fœtal et d'antibiotiques (100 U/mL de pénicilline ; 100 µg/mL de streptomycine), et cultivé à 37 °C en atmosphère humidifiée avec 5 % de CO<sub>2</sub>.

- **Évaluation antiproliférative (*ex vivo*)**

L'extrait des saponines d'*A. articulata* a été incubé dans une solution alcoolique (100 % d'éthanol) et laissé sous agitation à température ambiante pendant 24 heures, afin d'obtenir une concentration finale de 6,6 mg d'équivalent d'échantillon frais par µL de solvant. L'extrait a été filtré (0,2 µm) et centrifugé, pour éliminer le culot résiduel. Les échantillons ont été conservés à -80 °C jusqu'à leur utilisation. Pour les traitements cellulaires, de 1 à 20 µL d'extrait alcoolique

d'*A. articulata*, correspondant à 6,6-132 mg équivalent de matériel végétal, ont été utilisés pour chaque mL de milieu de culture (MCF-7 et MDA-MB-231). Les cellules témoins (CNT) ont été traitées uniquement avec EtOH, au volume de traitement le plus élevé, pour vérifier l'influence de ce solvant non toxique sur les cellules.

Les courbes de prolifération et de la cytotoxicité ont été mesurées en utilisant le colorant bleu Trypan (Sigma-Aldrich) et en comptant les cellules vivantes et mortes par chambre Neubauer. Ensuite, la croissance cellulaire a été quantifiée en fonction de l'activité mitochondriale grâce au kit de bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5- diphényltétrazolium (MTT) (Sigma-Aldrich), selon les instructions du fabricant. Les résultats ont été exprimés en nombre absolu de cellules dans les graphiques de prolifération, en pourcentage de cellules mortes ou en pourcentage de variation par rapport au contrôle (CNT), pris comme unité (100%), dans le test MTT.

### **13. Analyses statistiques**

Des analyses statistiques, ANOVA à un facteur et un test t de Student, ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT 2018. Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  erreur standard (n=3). Les valeurs de  $p < 0,05$  et  $p < 0,01$  ont été considérées comme significatives (\*) et très significatives (\*\*), respectivement.

## **Partie 3 : Résultats et discussion**

## **Chapitre 1 : Extrait des saponines**

- **Analyse par GC/SM**
- **Activité antioxydante (4 méthodes) *in vitro***
- **Activité antityrosinase *in vitro***
- **Activité neuroprotectrice (2 méthodes) *in vitro***
- **Activité antiproliférative *ex vivo***
- **Activité anti-inflammatoire *in vivo***

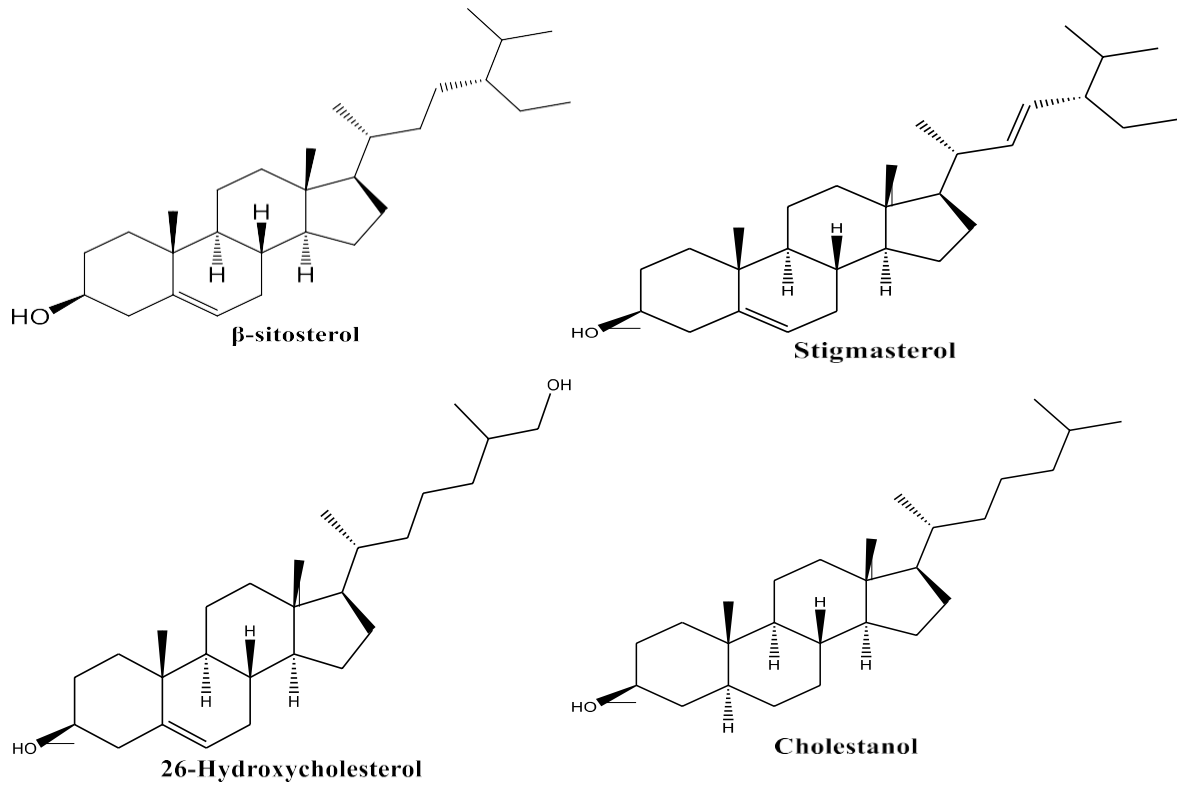
### 1. Analyse de l'extrait des saponines par GC/SM

L'analyse GC-MS visait à détecter et identifier les saponines extraites de la partie aérienne d'*A. articulata*. La structure et le chromatogramme des saponines identifiées sont représentés sur les **Figures 3 et 4**, respectivement. Ainsi, 4 saponines ont été identifiées et reconnues, pour la première fois, dans cette plante : le  $\beta$ -sitostérol, le stigmastérol, le 26-hydroxycholestérol et le cholestanol (**Tableau 3**). En effet, à ce jour, pour cette espèce, **Belyagoubi-Benhammou et al. (2019)**, ont détecté 49 alcaloïdes, tandis qu'**El Dine et al. (2018)**, ont trouvé 4 saponines. Les phytostérols ont fait l'objet d'une attention particulière au fil des ans, en raison de leur capacité à réduire le cholestérol et à prévenir les maladies cardiovasculaires (**Garcia-Llatas et Rodriguez-Estrada, 2011**). Le  $\beta$ -sitostérol est l'un des nombreux phytostérols ayant une structure chimique similaire à celle du cholestérol (**Bouic et al., 1999**). Il a des activités antioxydantes, antimicrobiennes, angiogéniques, immunomodulatrices, antidiabétiques, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antinociceptives sans toxicité majeure (**Awad et al., 2007**). Le stigmastérol stoppe le développement de divers cancers, dont l'hépatome (**Kim et al., 2014**), le cancer de la peau (**Ali et al., 2015**) et le cancer du sein (**Ayaz et al., 2019**).

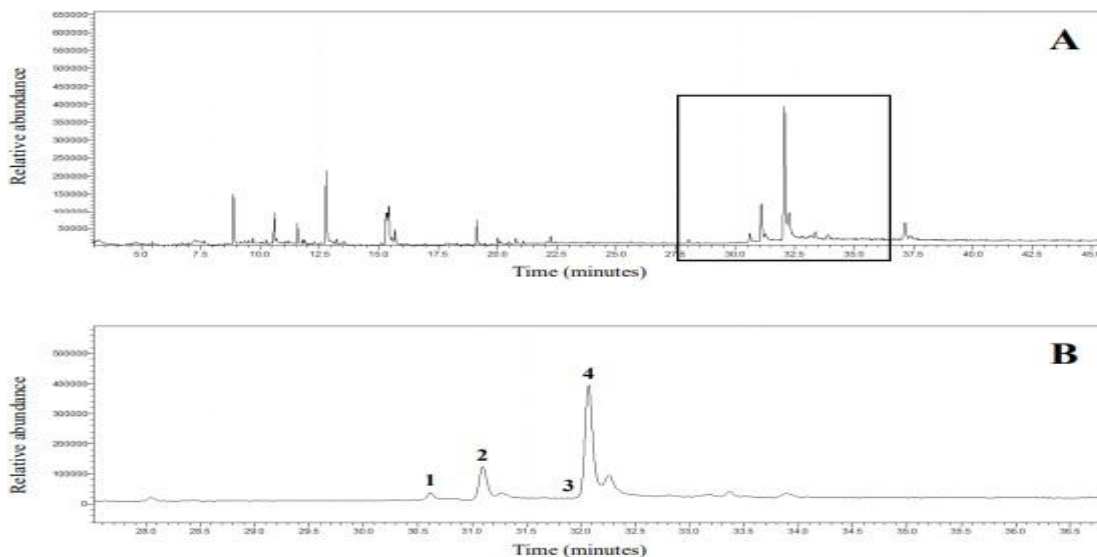
Les résultats obtenus par **Metwally et ses collaborateurs. (2012)**, ont rapporté, dans la partie aérienne d'*A. articulata* d'Egypte, la présence de quatre saponines, 3-O- glucopyranosyl (stigmastérol,  $\beta$ -sitostérol, sitostanol) et 3-O-[ $\beta$ -D glucopyranosyl] oléanolique l'acide 3-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-28-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl] oléanolique, en plus de l'acide procérique.

**Tableau 3.** Les saponines détectées par GC/SM, leurs pourcentages d'abondance (%) et pourcentages de similarité comparés avec un standard enregistré dans la librairie du GC/SM.

Composés détectés	Pourcentage d'abondance (%)	Pourcentage de similarité (% Sim)
Cholestanol	10.60	91
Stigmastérol	28.05	96
26-Hydroxycholestérol	0.37	85
$\beta$ -Sitostérol	60.98	95



**Figure 3.** Structures des saponines identifiées dans l'extrait des saponines d'*A. articulata*.



**Figure 4 :** Analyse par GC/SM. **A:** Chromatogramme GC-MS représentatif de l'extrait des saponines d'*A. articulata*, avec une sélection sur la zone comprenant les saponines. **B:** Agrandissement du chromatogramme avec les stérols identifiés (1 : Choléstanol ; 2 : Stigmasterol ; 3 : Stigmasterol ; 4 :  $\beta$ -Sitostérol).

## 2. Activité antioxydante

La capacité antioxydante totale (CAT) de l'extrait des saponines était égale à  $0.40 \pm 0.01$  mg d'EAA/g MS (**Tableau 4**). Les propriétés du pouvoir réducteur sont généralement associées à la présence de réactions de réduction, qui ont la capacité de donner un électron aux radicaux libres et de les convertir en produits plus stables. La capacité électrodonneuse de l'extrait était dose-dépendante et égale à  $1.45 \pm 0.51$  mg/mL. Le potentiel antioxydant des extraits végétaux dépend non seulement de la quantité de métabolites antiradicalaires mais également de la structure chimique de ces molécules et de leur capacité d'interaction avec les espèces radicalaires. À cet égard, plusieurs études ont suggéré que le  $\beta$ -sitostérol a un effet antioxydant significatif (**Gupta et al., 2011**).

**Tableau 4.** Tests du pouvoir antioxydant (DPPH, réduction de fer,  $\beta$ -carotène et CAT) de l'extrait des saponines d'*A. articulata*.

	EC <sub>50</sub> (mg/mL)			CAT (mg EAA/g MS)
	DPPH	Réduction du fer	$\beta$ -carotène	
<b>Extrait des saponines</b>	$1.54 \pm 0.03$	$1.45 \pm 0.51$	$0.32 \pm 0.008$	$0.40 \pm 0.01$
<b>Acide ascorbique</b>	$0.09 \pm 0.002$	$0.06 \pm 0.02$	$0.01 \pm 0.002$	

Comme le montre le **Tableau 4**, l'activité de piégeage des radicaux DPPH de l'extrait d'*A. articulata* semble être modéré, avec une valeur EC<sub>50</sub> égale à  $1.54 \pm 0.03$  mg/mL. Son activité était plus au moins faible à celle de l'acide ascorbique utilisée comme contrôle positif (EC<sub>50</sub> =  $0.09 \pm 0.002$  mg/mL).

A propos du test de la  $\beta$ -carotène, le résultat a montré que le pourcentage d'inhibition du blanchiment du  $\beta$ -carotène est proportionnel à la concentration en antioxydant introduit. L'extrait des saponines a une bonne activité antiradicalaire avec une valeur EC<sub>50</sub> de  $0.32 \pm 0.008$  mg/mL, quant à l'acide ascorbique qui possède une meilleure activité avec une valeur EC<sub>50</sub>  $0.01 \pm 0.002$  mg/mL.

Les résultats d'une étude de **Baskar et al. (2012)**, ont montré que le  $\beta$ -sitostérol administré à des rats provoquait une augmentation des antioxydants endogènes enzymatiques et non enzymatiques, suggérant que le composé végétal est un médicament chimio préventif efficace pour la carcinogenèse du côlon. En particulier, il a été démontré que le  $\beta$ -sitostérol stimule les enzymes antioxydantes en activant la voie dépendante du récepteur des œstrogènes/PI3- kinase. De plus, il a été rapporté que le  $\beta$ -sitostérol était capable de régénérer le GSH. Toutes ces



preuves indiquaient que ce phytostérol pourra être considéré comme un véritable piègeur de radicaux libres (**Vivancos et Moreno, 2005**). De même que **Yoshida et Niki. (2003)**, ont montré les effets antioxydants des phytostérols  $\beta$ -sitostérol, stigmastérol et campestérol, contre les lipides peroxydase.

L'étude menée par **Belyagoubi-Benhammou et al. (2019)**, sur *A. articulata* de Béchar, (Algérie) a montré un pouvoir piègeur de radicaux libres DPPH pour les extraits riches en alcaloïdes avec une  $EC_{50}$  allant de 1,24 à 5,35 mg/mL. Ce constat est en accord avec le résultat de la présente étude.

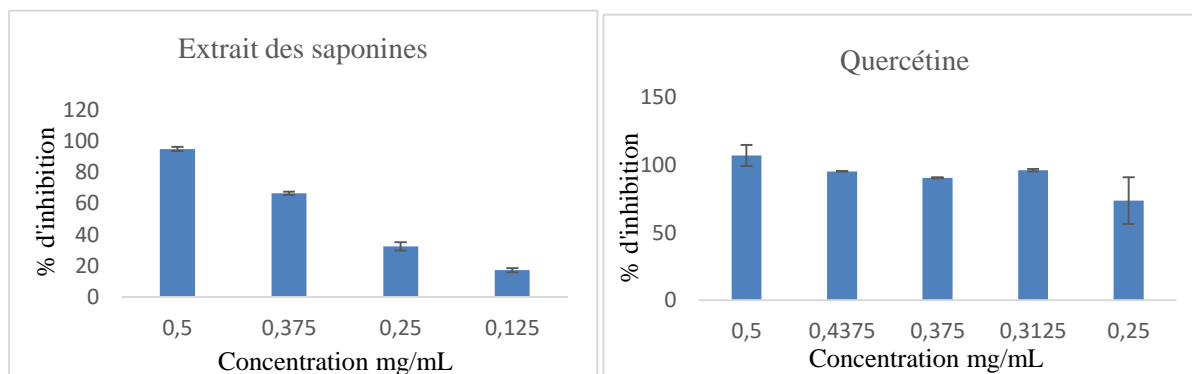
En comparaison avec la littérature, la partie aérienne d'*A. aphylla* d'Iran n'a montré aucune activité antioxydante par le test DPPH (**Bozin et al., 2008**). Les extraits d'*A. aretioïdes* ont révélé une bonne capacité à éliminer les radicaux libres et à prévenir la peroxydation des lipides, bien que ces effets aient été principalement attribués à sa teneur en composés phénoliques (**Senhaji et al., 2020**). De même, **El-Haci et ses collaborateurs. (2013)**, ont mis en évidence que les extraits acétate d'éthyle, méthanolique et chloroformique de la partie aérienne d'*A. aretioïdes* algériens ont un pouvoir piègeur de radicaux libres mesuré par le radical DPPH avec des  $EC_{50}$  allant de 72.15 à 86.73 mg/ mL.

### **3. Activité antityrosinase**

Au cours des dernières années, les inhibiteurs de la tyrosinase ont gagné une importance en raison de l'impact de cette enzyme sur la mélanogénèse humaine, le brunissement des plantes et des champignons. Dans la méthode utilisée, l'activité inhibitrice de l'enzyme tyrosinase est basée sur la mesure du dopachrome formé en présence de tyrosinase et de L-DOPA comme substrat enzymatique (**Chang, 2009**).

L'extrait des saponines a montré une bonne capacité à inhiber l'enzyme tyrosinase avec une valeur  $EC_{50}$  de  $0.31 \pm 0.003$  mg/mL, en comparant avec la quercétine ( $EC_{50} = 0.12 \pm 0.05$  mg/mL) (**Figure 5**). On peut considérer cet extrait comme un nouveau traitement contre les troubles de l'hyperpigmentation. Les résultats de ce travail pourraient être utiles dans l'identification d'autres molécules végétales et/ou pour la synthèse chimique de nouveaux composés à activité antityrosinase, en utilisant les informations obtenues sur l'interaction des saponines et de l'enzyme tyrosinase.

En réalité, bien que d'autres inhibiteurs naturels de la tyrosinase, tels que l'arbutine, l'acide kojique et l'acide azélaïque soient utilisés dans les cosmétiques et l'industrie pharmaceutique pour leur capacité à réduire la production de mélanine, des désaccords sur leur efficacité et la sécurité persistent encore. (**Chang, 2009**).



**Figure 5.** Effet antityrosinase de l'extrait des saponines d'*A. articulata* en comparant avec la quercétine.

#### 4. Activité anti-acétylcholinestérase

L'extrait des saponines d'*A. articulata* (15  $\mu\text{g}$ ) a été testé sur TLC pour son activité inhibitrice potentielle contre l'AChE. La galanthamine a été utilisée comme contrôle positif (1  $\mu\text{g}$ ). L'extrait et le contrôle étaient actifs, montrant des taches blanches sur le fond violet (**Figure 6**).

Le test spectrophotométrique a montré que l'extrait avait une activité plus faible (valeur  $\text{EC}_{50}$  de  $14,96 \pm 1,21$  mg/mL) devant la galanthamine ( $\text{EC}_{50} = 0,0003 \pm 0,003$  mg/mL). Probablement, les composés présents dans l'extrait pourraient agir à la fois comme inhibiteurs de l'AChE et agonistes des récepteurs de l'acétylcholine. L'étude menée par **Shi et al. (2013)** a révélé que l'incorporation de  $\beta$ -sitostérol dans la cellule, est susceptible d'éviter le stress oxydatif et la peroxydation lipidique induite par le glucose oxydase, cette observation indique que le  $\beta$ -sitostérol pourrait avoir un effet bénéfique sur les maladies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer.



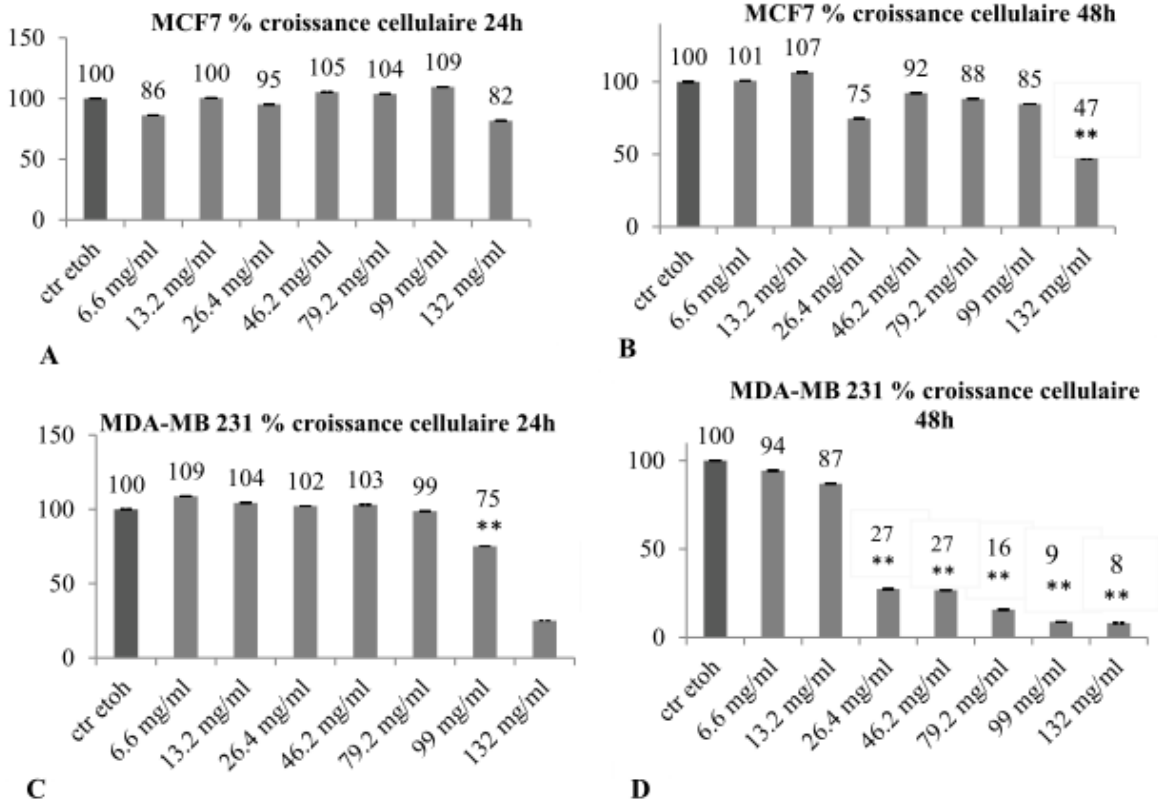
**Figure 6.** Photographie de la bioautographie de l'inhibition de l'acétylcholinestérase de l'extrait des saponines.

### 5. Activité antiproliférative

Le test MTT a été réalisé pour évaluer l'effet de l'extrait des saponines sur la croissance des cellules tumorales. Des expériences de criblage ont été réalisées en traitant des cellules, pendant 24 et 48 h, à différentes concentrations (de 6.6 à 132 mg/mL), afin d'individualiser les doses d'extrait végétal capables d'affecter la croissance des cellules tumorales, sans induire de toxicité élevée. Après 24 h de traitement, l'extrait des saponines n'a pas exercé d'effet anti-prolifératif pertinent sur MCF-7, alors qu'il a induit une réduction modérément significative des cellules MDA-MB-231 à la dose la plus élevée (99 et 132 mg/mL) (\*\* $p < 0,01$ ) comme le montrent les **Figures 7A** et **7C**. À 48 h, l'extrait d'*A. articulata* a induit une réduction de la prolifération cellulaire indépendante de la dose, atteignant un niveau significatif uniquement à la concentration de 132 mg/mL (\*\*  $p < 0,01$ ), par rapport à l'échantillon CNT (**Figure 7B**). Les meilleurs résultats antiprolifératifs ont été obtenus pour les cellules MDA-MB-231 après exposition à 26.4, 46.2, 79.2, 99 et 132 mg d'extrait végétal par mL de milieu de culture. Ces résultats très préliminaires ont indiqué que les saponines présentes dans *A. articulata* pourraient être utilisées comme composés antiprolifératifs potentiels pour les thérapies contre le cancer du sein. En particulier, il semblait que l'extrait végétal était plus efficace contre les cellules MDA-MB-231 que MCF-7. Ce phénomène pourrait être dû à la différence génétique existant entre ces deux lignées de cellules tumorales, comme la présence de récepteurs qu'elles exposent à leur surface. En fait, alors que le MCF-7 possède à la fois des récepteurs aux œstrogènes et à la

progestérone, le MDA-MB-231 est double négatif et n'est pas sensible à ce type d'hormones.

Les phytostérols sont chimiquement très similaires aux hormones œstrogéniques et ils peuvent probablement se lier aux récepteurs MCF-7, maintenant actif le taux de prolifération basale de ces cellules. Au contraire, ces métabolites végétaux pourraient activer d'autres voies de signalisation sur MDA-MB 231, induisant l'apoptose, la différenciation ou la sénescence. Assurément, d'autres études devraient être menées pour confirmer ces preuves et clarifier les mécanismes moléculaires induits par l'extrait végétal sur ces cellules tumorales. Le  $\beta$ -sitostérol identifié dans l'extrait des saponines d'*A. articulata* pourrait être responsable, selon **Chai et al. (2008)**, de la réduction de la prolifération cellulaire. **Saeidnia et al. (2014)**, ont révélé une augmentation de l'activité de la caspase dans les cellules MCF-7 après exposition à  $\beta$ -sitostérol, entraînant l'induction de l'apoptose. En outre, ce composé a également montré une activité antiproliférative et apoptotique dans les cellules leucémiques humaines U937, en activant la caspase-3 et le changement du rapport Bax/Bcl-2 (**Park et al., 2007**). Cependant, les résultats de **Ju et al. (2004)**, ont montré que le  $\beta$ -sitostérol présentait un effet stimulateur sur les cellules MCF-7, corroborant les données actuelles. **Awad et al. (2000)**, ont documenté que les cellules MDA-MB-231 traités avec  $\beta$ -sitostérol ont augmenté leur taux d'apoptose et réduit leur croissance cellulaire. Ces travaux indiquent que les phytostérols peuvent être utilisés pour prévenir le cancer du sein, tel que proposé par notre étude.



**Figure 7.** Test MTT réalisé dans les cellules MCF-7 (A et B) et MDA-MB-231 (C et D). Des expériences ont été réalisées à 24h (A et C) et 48 (B et D) après traitement avec des saponines d'*A. articulata* à différentes concentrations (6,6 -132 mg/mL) \*\*p<0.01.

## 6. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

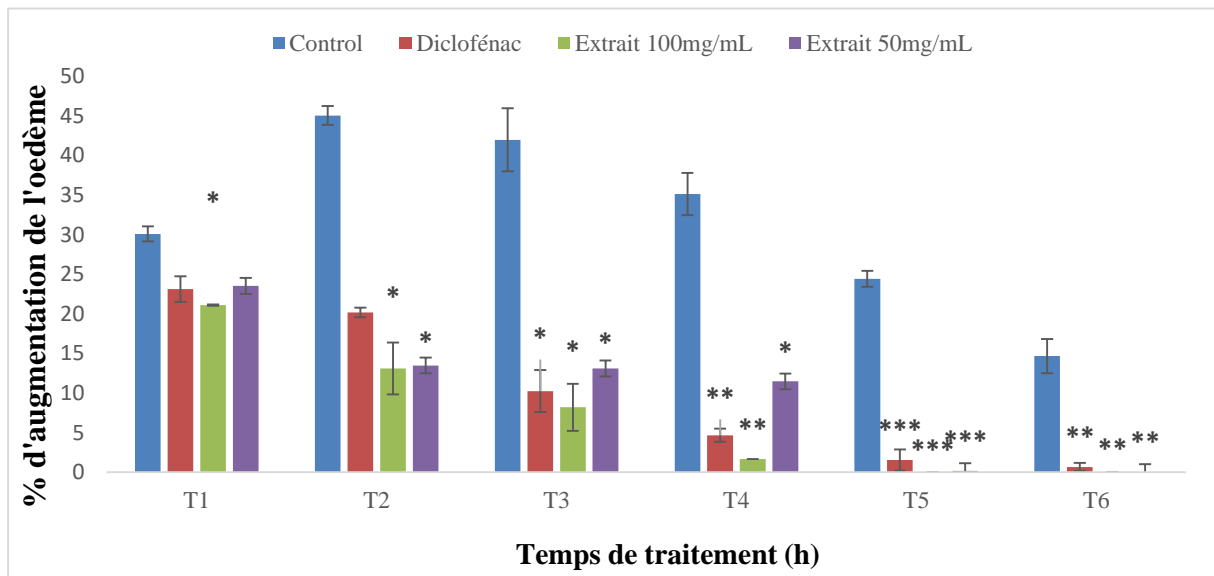
Après l'administration orale des deux extraits, aucun changement de comportement ni de mortalité n'ont été enregistrés chez tous les animaux observés 15 jours après l'administration des échantillons.

L'activité anti-inflammatoire d'*A. articulata* a été étudiée en administrant de faibles doses physiologiques d'extrait des saponines et en utilisant du diclofénac comme témoin positif représentatif. Après 3 h de prétraitement avec l'extrait, le volume de la patte a été réduit pour les deux groupes de rats traités par rapport au témoin, de la même manière que le rat traité au diclofénac (exposé à 50 mg/Kg) (**Figure 8**). L'extrait à la dose de 100 mg/Kg a atteint son activité maximale 3 h après l'injection du carragénine moins efficace à 50 mg/Kg. L'effet d'inhibition de l'extrait semblait dépendre du temps et de la dose (**Figure 9**).

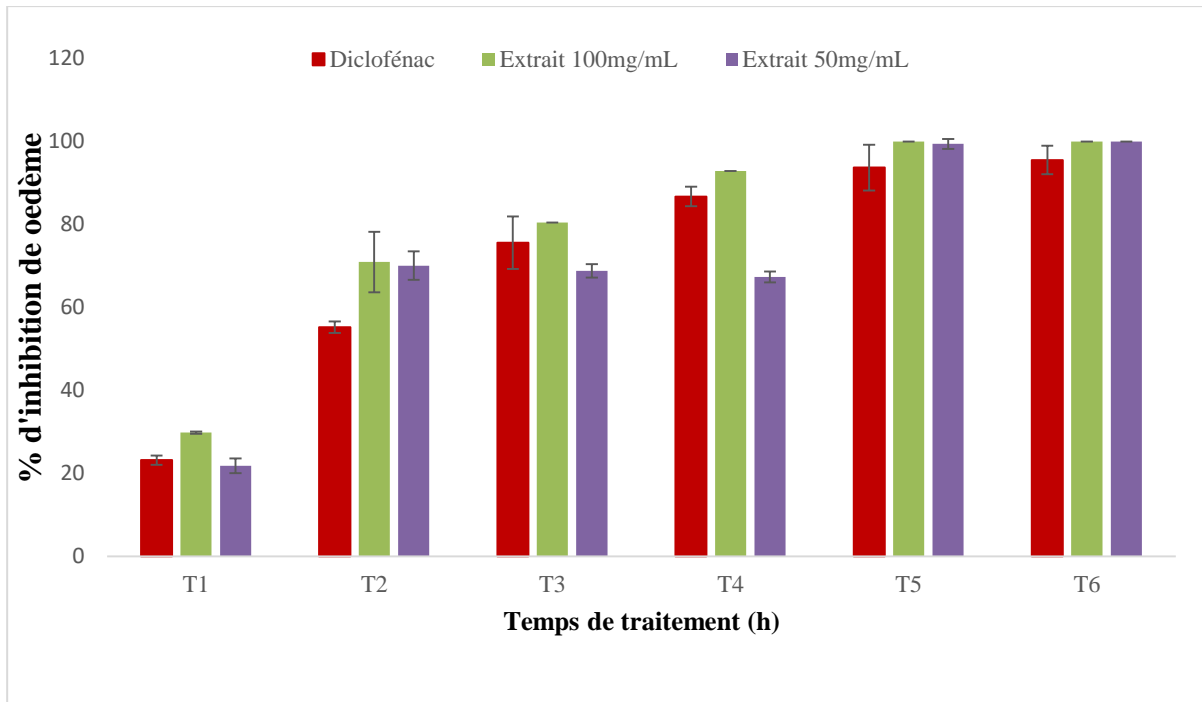
L'effet anti-inflammatoire a persisté même après six heures d'induction de l'inflammation, en particulier à 100 mg/Kg. L'œdème inflammatoire de la patte a disparu de manière intensive chez

les animaux traités avec des concentrations de 50 et 100 mg/kg, où l'effet anti-inflammatoire était constant après la quatrième heure d'injection. L'analyse ANOVA appliquée au pourcentage d'œdème accru et à l'effet anti-inflammatoire avec le test t de Student a été considérée comme statistiquement significative pour les valeurs  $P < 0.05$ , modérément significative pour  $p < 0.01$  et hautement significative pour  $p < 0.001$ . Le pourcentage d'œdème accru du diclofénac sodique était hautement significatif par rapport au témoin à la troisième heure. Ce pourcentage d'œdème accru était hautement significatif pour l'extrait à 50 et 100 mg/kg à la quatrième heure par rapport au témoin.

Dans ce contexte, **Abdallah et al. (2014)**, ont trouvé que les fractions n-butanol d'*A. articulata* étaient très efficaces, avec une valeur de 68 % d'inhibition de l'œdème, contre treize plantes sélectionnées originaires d'Arabie Saoudite. Cette littérature est en accord avec nos conclusions.



**Figure 8.** Pourcentage d'augmentation de l'œdème après traitement avec contrôle, extrait des saponines à 100 et 50 mg/Kg, et diclofénac (n=4 animal par groupe); \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ , comparé avec le contrôle.



**Figure 9.** Effet anti-inflammatoire de l'extrait des saponines à 100 et 50 mg/Kg en comparant avec diclofénac (n=4 animaux par groupe).

## **Chapitre 2 : Extrait aqueux**

- **Analyse par HPLC/DAD**
- **Activité antioxydante (4 méthodes) *in vitro***
- **Activité antityrosinase *in vitro***
- **Activité neuroprotectrice *in vitro***
- **Docking moléculaire**
- **Activité anti-inflammatoire *in vivo***



### 8. Analyse de l'extrait aqueux par HPLC/DAD

Les résultats chromatographiques ont été exprimés en  $\mu\text{g}$  d'équivalent standard par g du poids sec de la plante ( $\mu\text{g ES/g PS}$ ) (**Tableau 5**). En détail, vingt et un composés phénoliques ont été détectés, identifiés et quantifiés dans l'extrait aqueux. Comprenant quatorze acides phénoliques (acide gallique ; 3-hydroxytyrosol ; acide vanillique ; acide rosmarinique ; acide 4 hydroxybenzoïque ; acide chlorogénique ; acide caféique ; acide syringique ; acide  $\rho$ -coumarique ; resvératrol ; l'acide salicilique ; la 5,7 diméthoxycumarine ; l'acide 1,1-diméthyl allyl caféique ; l'ester phénétique de l'acide caféique) et sept flavonoïdes (épicatechine ; quercétine-3-O-glucoside ; myricétine ; quercétine ; génistéine ; kaempférol ; chryisine) (**Figure 10**).

Par rapport à la littérature, *A. articulata* semble être riche en acides phénoliques selon **Ghembaza et al. (2015)**. A notre connaissance, aucun travail n'a effectué la caractérisation chimique de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A. articulata*, bien que certains auteurs aient identifié la saponine  $\beta$ -sitoglucoside dans les feuilles de cette plante et ont associé à ce métabolite secondaire une activité antihyperglycémique (**Kambouche et al., 2009**).

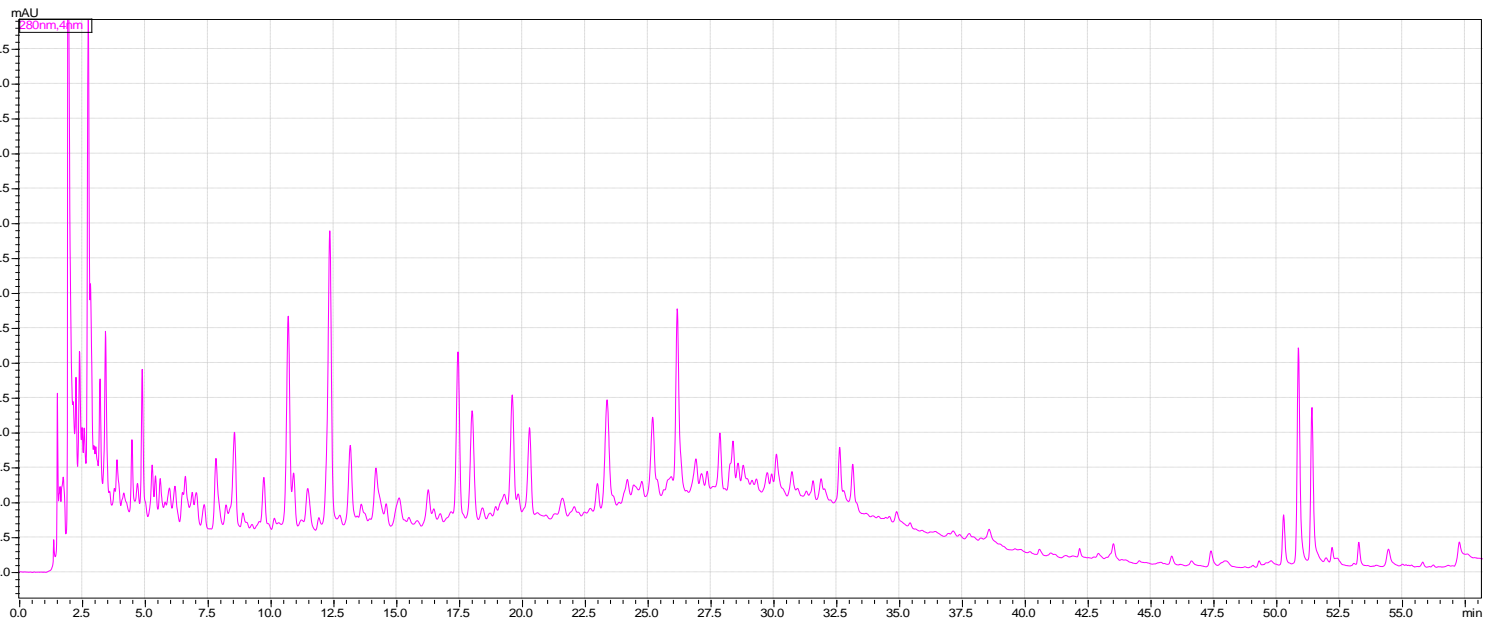
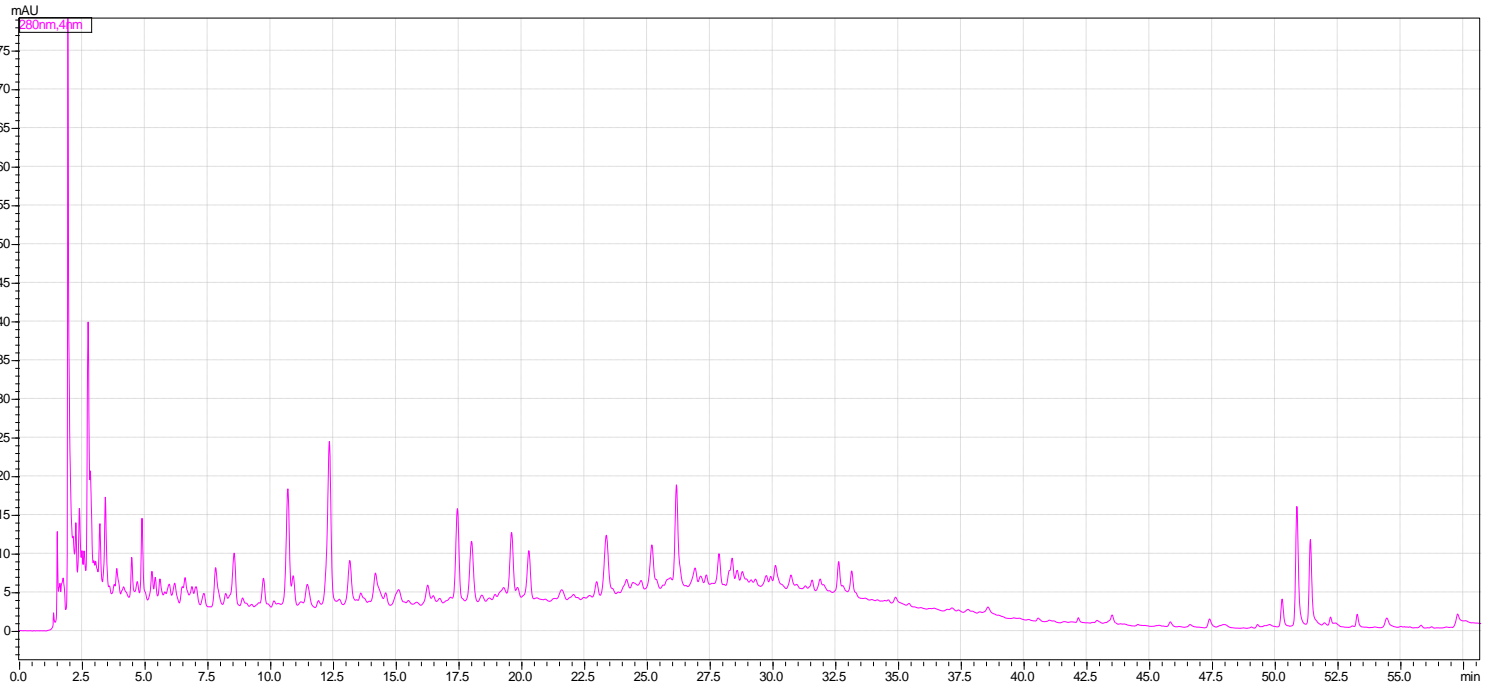
**Tableau 5.** Détection et quantification des composés phénoliques par HPLC dans l'extrait aqueux d'*A. articulata*.

Nom	Temps de rétention	$\mu\text{g}/\text{gram}$ de plante
Acide gallique	3.23	$0.4278 \pm 0.0204$
3-Hydroxytyrosol	5.30	$0.8109 \pm 0.0305$
Acide vanillique	10.92	$0.5475 \pm 0.0373$
Epicatechine	11.49	$1.941 \pm 0.0771$
Acide rosmarinique	26.56	$0.2022 \pm 0.0161$
Acide 4-Hydroxybenzoic	8.91	$0.4167 \pm 0.0188$
Acide chlorogénique	9.74	$0.8814 \pm 0.0441$
Acide caféique	11.23	$0.1533 \pm 0.0078$
Acide syringique	12.76	$0.2085 \pm 0.0115$
Acide $\rho$ -Coumarique	16.28	$0.2094 \pm 0.0123$
Resveratrol	18.03	$1.4187 \pm 0.0719$
Acide salicilique	24.20	$1.9893 \pm 0.0993$
Quercétine-3-glucoside	24.46	$1.8048 \pm 0.0921$
Myricétine	26.93	$2.0007 \pm 0.1202$
Quercétine	31.59	$0.8277 \pm 0.0392$

**Partie 3 : Résultats et discussion**

5,7-Dimethoxycumarine	32.81	0.9585± 0.0488
Génisteine	33.16	0.8436± 0.0441
Kaempferol	35.44	0.1713± 0.0088
Acide 1,1-Diméthylalyl caféique	41.04	0.0162± 0.0008
Chrysine	41.65	0.0051± 0.0003
Acide phénéthyle ester caféique	41.89	0.012± 0.0003

Datafile Name:snp9094.tmp  
Sample Name:Anabasis estratto acquoso  
Sample ID:Anabasis estratto acquoso



**Figure 10.** Chromatogramme HPLC/DAD représentatif de l'extrait aqueux.

## 9. Quantification des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans l'extrait aqueux

Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés présents dans l'extrait aqueux d'*A. articulata* sont indiquées dans le **Tableau 6**. Les valeurs enregistrées s'établissent à  $43,42 \pm 0,75$  mg EAG /g MS pour les phénols totaux,  $0,87 \pm 0,03$  mg EC/g MS pour les flavonoïdes et  $3,05 \pm 0,25$  mg EC/g MS pour les tanins condensés. Ces valeurs sont comparables à celles précédemment rapportées par **Ghembaza et al. (2015)**. Ces auteurs ont révélé que la quantité de phénolique total était de 25,48 mg EAG/g MS, tandis que flavonoïdes 3,08 mg CE/g MS et les tanins condensés 4,03 mg CE/g MS. Les différences entre ces valeurs peuvent être liées aux conditions d'extraction, la partie de la plante utilisée, la saison de récolte et le lieu géographique de croissance de cette plante. Dans une autre étude, **Benzineb et al. (2019)**, ont rapporté que les quantités de composés phénoliques et de flavonoïdes dans l'extrait méthanolique d'*A. articulata* étaient respectivement de 0,230 mg EAG /mg et 0,0095 mg EC/mg.

**Tableau 6.** Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés de l'extrait aqueux d'*A. articulata*.

	Phénols totaux (EAG /g MS)	Flavonoïdes (EC/g MS)	Tanins condensés (EC/g MS)
<b>Extrait aqueux</b>	$43.42 \pm 0.75$	$0.87 \ 0.03$	$3.05 \pm 0.25$

## 10. Activité antioxydante

Les résultats des propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux d'*A. articulata* par quatre différents tests sont résumés dans le **Tableau 7**. Notre extrait détient des potentialités à piéger le radical DPPH ( $EC_{50} = 2.78 \pm 0.19$  mg/mL), à réduire le fer ( $1.85 \pm 0.41$  mg/mL) et à inhiber le blanchiment de la  $\beta$ -carotène ( $1.67 \pm 0.10$  mg/mL). Ces effets restent faibles comparativement à l'acide ascorbique comme le montre le **Tableau 7**. Concernant la capacité antioxydante totale, la teneur enregistrée est de  $13.51 \pm 0.79$  mg EAA /g MS.

Ces données sont cohérentes avec celles rapportées dans d'autres travaux reportés sur *A. articulata* (**Hamdoon et al., 2013; Belyagoubi-benhammou et al., 2019 ; Benzineb et al., 2019**).

Cette activité est due probablement à la teneur élevée en phénols totaux et aussi à la qualité des composés dans cet extrait, ce qui est confirmé par l'analyse HPLC/DAD. Il a été rapporté que

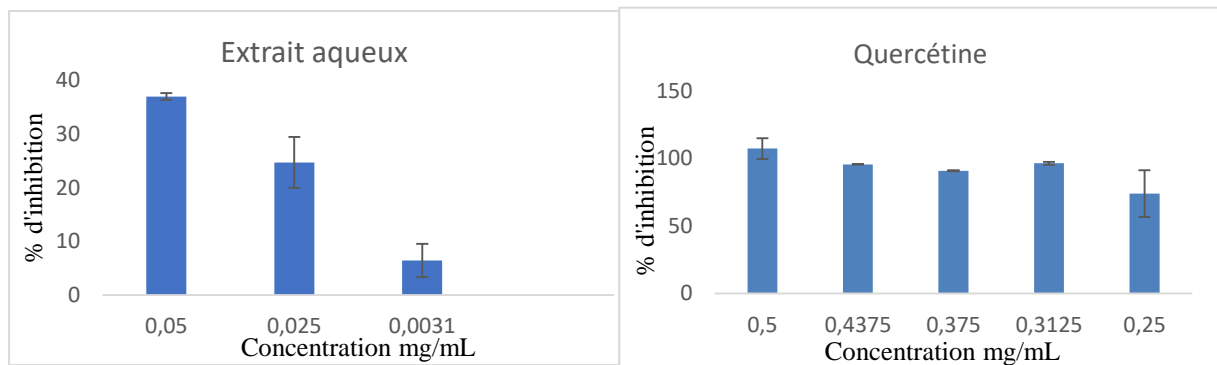
les aglycones de flavonol, comme la myricétine et la quercétine, et les acides phénoliques trouvés dans l'extrait aqueux sont des piègeurs de radicaux libres élevés, des chélateurs de métaux et des antioxydants puissants (Nardini et Stella Foddai, 2020), principalement en raison des groupes hydroxyle et des doubles liaisons de leurs structures chimiques.

**Tableau 7.** Tests d'étude du pouvoir antioxydant (DPPH, réduction de fer,  $\beta$ -carotène et CAT) de l'extrait aqueux d'*A. articulata*.

	EC <sub>50</sub> (mg/mL)			CAT (mg EAA /g MS)
	DPPH	Pouvoir réducteur	$\beta$ -carotène	
<b>Extrait aqueux</b>	2.78 $\pm$ 0.19	1.85 $\pm$ 0.41	1.67 $\pm$ 0.10	13.51 $\pm$ 0.79
<b>Acide ascorbique</b>	0.09 $\pm$ 0.002	0.06 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.002	

### 11. Activité antityrosinase

Le résultat de l'étude de l'activité antityrosinase de l'extrait aqueux d'*A. articulata* est illustré dans le **Figure 11**. Cet extrait a une bonne activité antityrosinase avec une valeur EC<sub>50</sub> de 0.11  $\pm$  0.08 mg/mL par rapport à la quercétine (EC<sub>50</sub> = 0.12  $\pm$  0.05 mg/mL). Corradi et al. (2018) ont découvert que l'acide gallique est le composé clé lié à l'activité de la tyrosinase. Divers réactifs anti-mélanogènes naturels contiennent des structures phénoliques (Kim, 2007). Par ailleurs, de nombreux inhibiteurs de tyrosinase sont des dérivés de flavonoïdes (Briganti et al., 2003 ; Seo et al., 2003). Ainsi, la présence de phénols et de flavonoïdes chez *A. articulata* peut expliquer son activité.



**Figure 11.** Effet antityrosinase de l'extrait aqueux d'*A. articulata* en comparant avec la quercétine.

## 12. Activité anti-acétylcholinestérase

L'extrait aqueux d'*A. articulata* a été testé sur CCM pour son activité inhibitrice contre l'AChE. La galanthamine a été utilisée comme contrôle positif. L'extrait de plante et le contrôle étaient actifs, montrant des taches blanches sur le fond violet (**Figure 12**). Plusieurs flavonoïdes ont été détectés dans l'extrait et en grande quantité. Sachant que, les flavonoïdes à activité inhibitrice de l'AChE sont des composés naturels prometteurs pour le développement de médicaments potentiels contre la maladie d'Alzheimer (**Ji et Zhang, 2006**). Il est aussi noté que les flavonoïdes possèdent une forte activité inhibitrice de l'AChE, une forte activité antioxydante et une faible toxicité (**Uriarte-Pueyo et Calvo, 2011**). Toutes ces preuves encouragent l'utilisation d'*A. articulata* comme source d'inhibiteurs de l'AChE à des fins thérapeutiques.



**Figure 12.** Photographie de la bioautographie de l'inhibition de l'acétylcholinestérase de l'extrait aqueux

## 13. Analyse bio-informatique

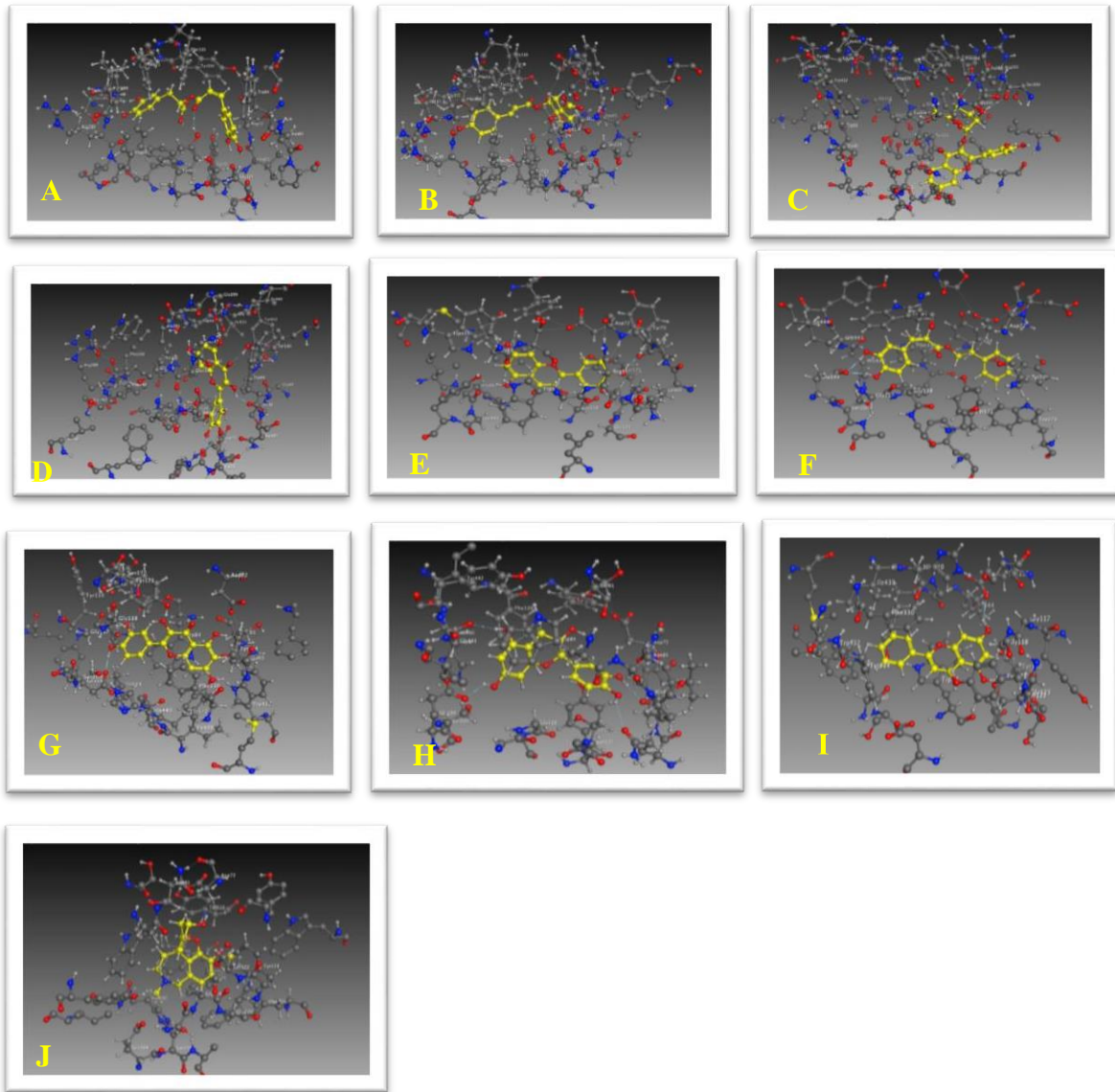
### a. Simulation de la modélisation moléculaire

Selon les résultats obtenus dans le **Tableau 8**, les ligands acide rosmarinique, acide chlorogénique, quercétine-3-O-glucoside, myricétine, quercétine, kaempférol, épicatechine et ester phénéthylique de l'acide caféique ont montré des poids importants, entre 464,38 g/mol et 284,31 g/mol. Ces composés sont plus flexibles et ont un grand nombre d'interactions de

liaisons hydrogène donneur et accepteur. Les scores de la modélisation (kcal/mol) reçus après les simulations impliquant tous les ligands (L1-L21) avec l'acétylcholinestérase (1ZGC) ont été répertoriés dans le **Tableau 9**. Le score d'énergie libre de liaison pour la plupart des composés était compris entre -6,5730648 kcal/mol et -7,34900761 kcal/mol. L'acide rosmarinique (L5) a fourni le meilleur score de modélisation (-7,34900761 kcal/mol) ; le complexe formé par L5-1ZGC avait le score énergétique le plus bas par rapport aux autres complexes, y compris le ligand de référence (-5,77641153 kcal/mol) et le médicament galanthamine (-6,31187296 kcal/mol), qui est classé comme un bon inhibiteur de l'acétylcholinestérase et utilisé comme traitement pour les maladies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer (**Figure 13A**). Le mode de liaison observé pour l'acide rosmarinique (L5) avec les résidus du site actif de l'acétylcholinestérase montre trois interactions H-donneur. Ce dernier appartenait à l'intervalle des interactions fortes avec les acides aminés polaires chargés négativement : SER286, TYR70 et TYR12 (**Figure 13A**). La galanthamine a formé une interaction liée à l'hydrogène avec le résidu PHE330 (**Figure 13J**). Aussi l'acide chlorogénique L7 (-7,32191753 kcal/mol, 3 interactions de liaisons hydrogène), L13-Quercétine-3-O-glucoside (-7,32139492 kcal/mol, interactions de 4 liaisons hydrogène), L14 -Myricétine (-7,21966839 kcal/mol, 5 interactions de liaisons hydrogène), L18- Kaempférol (-6,96034765 kcal/mol, 4 interactions de liaisons hydrogène), L21-Ester phénéthylique de l'acide caféique (-6,9382143 kcal/mol, 2 interactions de liaisons hydrogène), L15-Quercétine (-6,92623806 kcal/mol , une interaction liée à l'hydrogène), L4-épicatéchine (-6,85264111 kcal/mol, 3 interactions liées à l'hydrogène) et L20-chrysine (-6,5730648 kcal/mol, 3 interactions liées à l'hydrogène) ont donné de très bons scores d'énergie libre de liaison, par rapport aux résultats de la modélisation du médicament galanthamine. Il a été prédit qu'ils forment des complexes très stables avec une meilleure complémentarité avec l'enzyme acétylcholinestérase. Selon ces données de modélisation, certaines molécules extraites d'*A. articulata* pourraient être classées comme de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'enzyme acétylcholinestérase et appliquées comme traitement futur pour les maladies neurodégénératives.

Tableau 8. Propriétés des molécules.

Ligands	Poids (g/mol)	TPSA(Å <sup>2</sup> )	Log P	Log S
Acide rosmarinique	360.32	144.52 (5:don,7 :acc)	1.76	-2.65
Acide chlorogénique	354.31	164.75 (6:don,8 :acc)	-0.65	-1.49
Quercétine-3- <i>O</i> -glucoside	464.38	206.60 (8:don,11 :acc)	-0.73	-2.55
Myricétine	318.24	147.68 (6: don,7 :acc)	1.72	-2.41
Kaempferol	286.24	107.22 (4:don,5:acc)	2.31	-3.14
Acide caféique phénéthyle ester	284.31	66.76 (2:don,3:acc)	2.90	-3.38
Quercétine	302.24	127.45 (5:don,6:acc)	2.01	-2.77
Epicatéchine	290.27	110.38 (5:don,6:acc)	1.64	-1.74
Chryisine	254.24	66.76 (2:don,3:acc)	2.71	-3.82
Galanthamine	287.36	41.93 (1:don,4:acc)	2.12	-2.29
Acide gallique	170.12	97.99 (4:don,5:acc)	0.50	-0.27
3-Hydroxytyrosol	154.16	60.69 (3:don,3:acc)	0.63	-0.49
Acide vanillique	168.15	66.76 (2:don,4:acc)	1.10	-1.04
Acide 4-Hydroxybenzoïque	138.12	57.53 (2:don,3:acc)	1.09	-0.99
Acide caféique	180.16	77.76 (3:don,4:acc)	1.20	-1.14
Acide syringique	198.17	75.99 (2:don,5:acc)	1.11	-1.09
Acide $\rho$ -Coumarique	164.16	57.53 (2:don,3:acc)	1.49	-1.50
Resveratrol	228.25	60.69 (3:don,3:acc)	2.97	-3.17
Acide salicylique	138.12	57.53 (2:don,3:acc)	1.09	-0.99
5,7-Dimethoxycumarine	206.20	44.76 (0:don,3:acc)	1.64	-2.87
Genisteine	234.39	6.48 (0:don,2:acc)	2.35	-1.55
Acétylglucosamine	221.21	119.25 (5:don,6:acc)	-3.08	0.87
Acide caféique 1,1- diméthylallyl	248.28	66.76 (2:don,3:acc)	2.62	-2.71



**Figure 13.** Les meilleurs complexes formés entre les ligands et leurs récepteurs. **A:** complexe acide rosmarinique-acétylcholinestérase; **B:** complexe acide chlorogénique-acétylcholinestérase; **C:** complexe Quercétine-3-*O*-glucoside-acétylcholinestérase; **D:** complexe Myricétine-acétylcholinestérase; **E:** Complexe Kaempferol-acétylcholinestérase; **F:** interaction entre acide caféique phénythyl ester et acétylcholinestérase; **G:** interaction entre Quercétine et acétylcholinestérase; **H:** interaction entre Epicatechine et acétylcholinestérase; **I:** interaction entre Chryisine et acétylcholinestérase; **J:** interaction entre galanthamine et acétylcholinestérase.



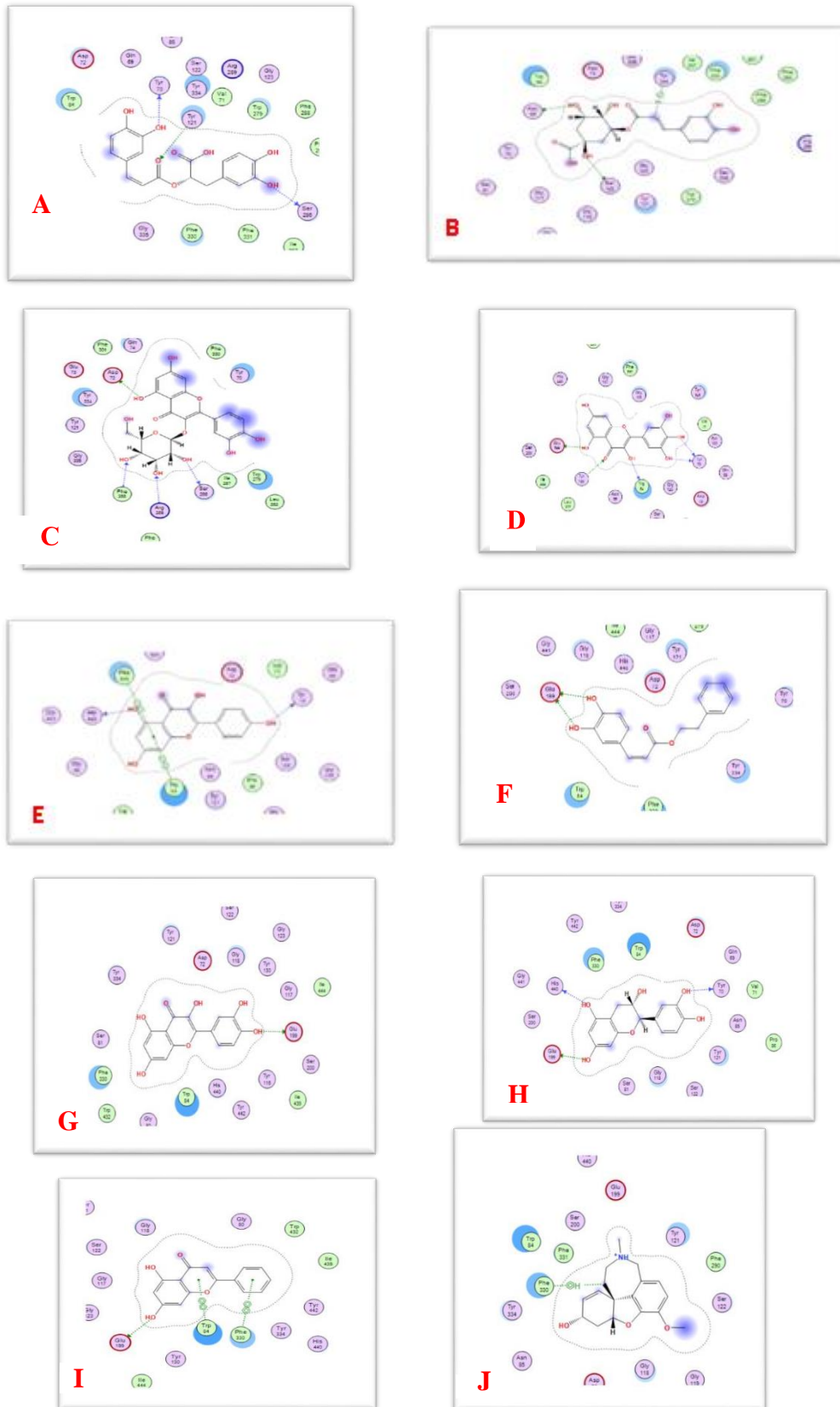


Figure 14. Représentation 2D des meilleurs complexes entre ligands et leurs récepteurs.

**Tableau 9.** Score d'ammarge et distances des liaisons entre les ligands (L1-L21) et l'acétylcholinestérase.

Ligands	SP Docking Score (énergie de liaison) (Kcal/mol)	Résidus en interaction de la cible	Types of bonds	Distance (Å)	Energie (kcal/mol)
<b>Lref :</b>	-	/	/	/	/
<b>Acetylglucosamine</b>	5.77641153				
<b>Galanthamine</b>	- 6.31187296	6-ring PHE 330	H- pi	4.43	-0.6
<b>L1 : Acide gallique</b>	- 4.82641649	O3 HIS 440 5-ring TRP 84 6-ring PHE 330	H-donor pi-pi pi-pi	2.98 3.64 6.69	-1.9 -0.0 -0.0
<b>L2 : 3-Hydroxytyrosol</b>	- 4.90630341	6-ring TRP 84 5-ring TRP 84	pi-pi pi-pi	3.91 3.68	-0.0 -0.0
<b>L3 : Acide vanillique</b>	- 5.32505083	O2 GLU 199 O3 TRP 84	H-donor H-donor	2.78 2.77	-6.2 -3.3
<b>L4 : Epicatéchine</b>	- 6.85264111	O3 HIS 440 O4 GLU 199 O5 TYR 70	H-donor H-donor H-donor	2.95 2.96 2.83	-1.6 -2.5 -2.4
<b>L5 : Acide rosmarinique</b>	- 7.34900761	O3 SER 286 O7 TYR 70 O6 TYR 121	H-donor H-donor H-acceptor	2.95 2.91 2.71	-2.4 -1.3 -1.6
<b>L6 : 4- Acide Hydroxybenzoïque</b>	- 4.43775463	5-ring TRP 84 6-ring PHE 330	pi-pi	3.59 3.70	-0.0 -0.0
<b>L7 : Acide</b>	-	O2 SER 122	H-donor	2.94	-1.3

<b>chlorogénique</b>	7.32191753	O4 ASN 85	H-donor	3.16	-0.8
		C18 TYE 334	H- pi	3.96	-0.6
<b>L8 : Acide caféique</b>	-4.9803133	O3 TYR 121	H-acceptor	2.76	-2.1
		O4 GLY 118	H-acceptor	3.42	-1.4
		5-ring TRP 84	pi-pi	3.75	-0.0
		6-ring PHE 330	pi-pi	3.70	-0.0
<b>L9 : Acide syringique</b>	-	O4 GLU 199	H-donor	2.89	-7.6
	5.77960539	5-ring TRP 84	pi-pi	3.69	-0.0
<b>L10: Acide <math>\rho</math>-coumarique</b>	-	O2 TYR 121	H-acceptor	2.76	-1.9
	4.70537758	O3 GLY 118	H-acceptor	3.43	-1.4
		5-ring TRP 84	pi-pi	3.77	-0.0
		6-ring PHE 330	pi-pi	3.70	-0.0
<b>L11 : Resveratrol</b>	-	O1 HIS 440	H-donor	2.76	-1.8
	6.20684814	O3 GLU 199	H-donor	2.80	-5.5
		6-ring TRP 84	pi-pi	3.68	-0.0
		6-ring PHE 330	pi-pi	3.69	-0.0
<b>L12 : Acide salicylique</b>	-	5-ring TRP 84	pi-pi	3.58	-0.0
	4.34094429	6-ring PHE 330	pi-pi	3.72	-0.0
<b>L13 : Quercétine-3-O-glucoside</b>	-	O5 SER286	H-donor	3.00	-2.1
	7.32139492	O9 ASP 72	H-donor	2.87	-2.9
		O3 ARG 289	H-acceptor	3.31	-0.8
		O4 PHE 288	H-acceptor	3.03	-2.4
<b>L14 : Myricétine</b>	-	O2 TRP 84	H-donor	2.59	-2.6
	7.21966839	O3 GLU 199	H-donor	2.61	-5.9
		O7 TYR 70	H-donor	2.87	-2.5
		O8 TYR 70	H-donor	2.72	-3.4
		O4 TYR 130	H-acceptor	2.76	-1.3
<b>L15 : Quercétine</b>	-	O7 GLU 199	H-donor	2.71	-7.8
	6.92623806				
<b>L16 : 5,7-Dimethoxycumarine</b>	-	6-ring TRP 84	pi-pi	3.69	-0.0
	6.18896294	5-ring TRP 84	pi-pi	3.61	-0.0
		5-ring TRP 84	pi-pi	3.60	-0.0
		6-ring PHE 330	pi-pi	3.80	-0.0

<b>L17 : Genisteine</b>	-5.45363188	/	/	/	/
<b>L18 : Kaempferol</b>	-6.96034765	O3 HIS 440	H-donor	2.90	-1.7
		O6 TYR 70	H-donor	2.72	-2.8
		6-ring TRP 84	pi-pi	3.76	-0.0
		6-ring PHE 330	pi-pi	3.78	-0.0
<b>L19 : Acide caféique 1,1-diméthylallyl</b>	-5.92067194	O2 SER 286	H-donor	3.35	-0.9
		O3 ARG 289	H-acceptor	3.35	-0.6
		5-ring TRP84	H- pi	4.29	-0.6
<b>L20 : Chryisine</b>	-6.5730648	O4 GLU 199	H-donor	2.87	-3.6
		6-ring TRP 84	pi-pi	3.88	-0.0
		6-ring PHE 330	pi-pi	3.78	-0.0
<b>L21 : Acide caféique phénéthyle ester</b>	-6.9382143	O2 GLU 199	H-donor	2.95	-3.6
		O3 GLU 199	H-donor	2.86	-5.4

#### b. Évaluation *in silico* des propriétés de l'ADME et de la "drug-likeness"

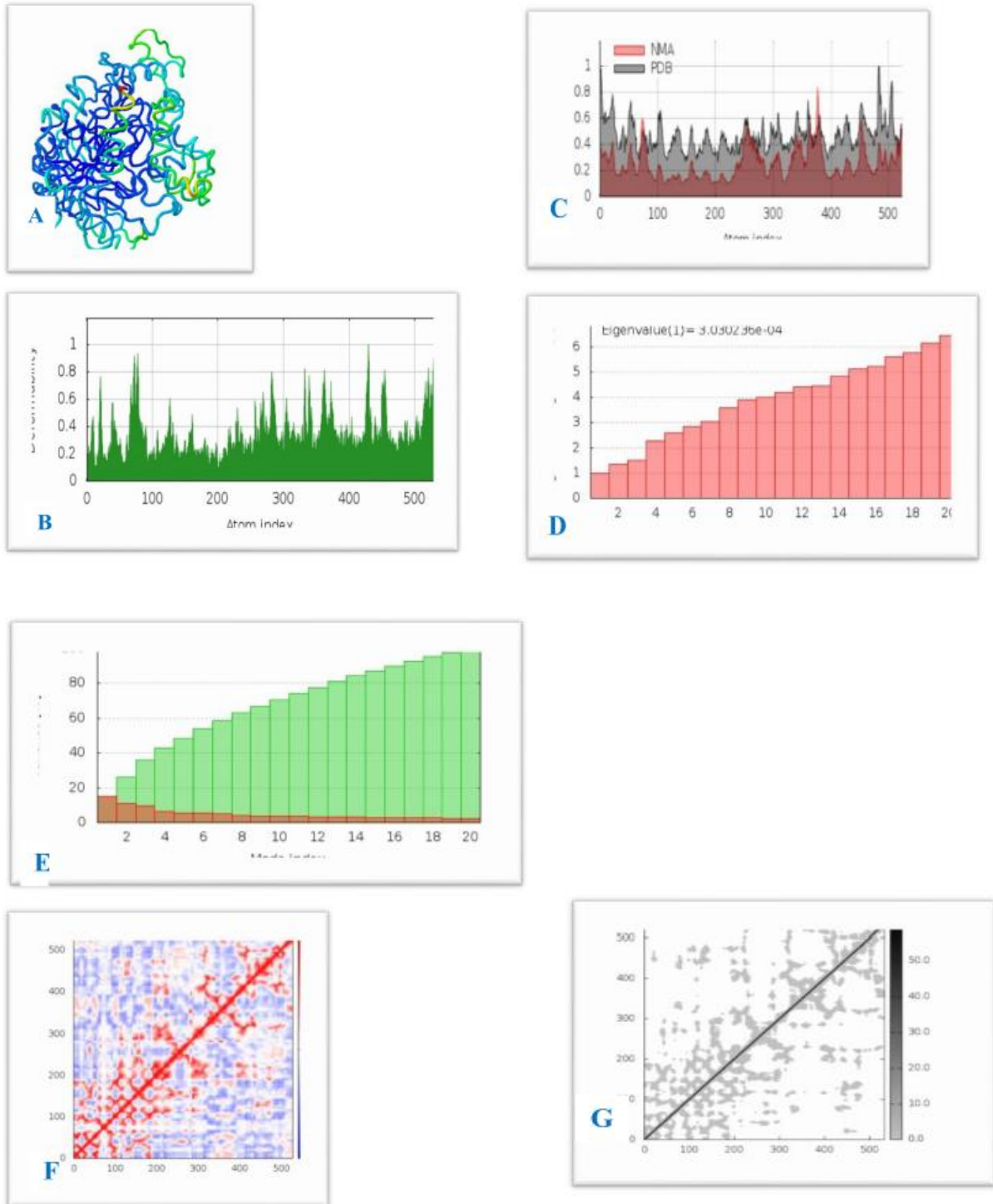
Une étude informatique des neuf composés les mieux notés a été réalisée pour évaluer leurs propriétés ADME (**Tableau 10**). Les résultats obtenus ont révélé que le kaempférol (L18), l'ester phénéthylique de l'acide caféique (L21), la quercétine (L15), l'épicatéchine (L4) et la chryisine (L20) possédaient des valeurs d'absorption élevées, par rapport à l'acide rosmarinique (L5), l'acide cichlorogénique (L7), Quercétine-3-O-glucoside (L13) et Myricétine (L14). De plus, les molécules extraites d'*A. articulata* respectaient les règles de Lipinski, Veber et Egan (**Tableau 10**), suggérant que ces composés ne devraient pas causer de problèmes de biodisponibilité et donc utiles pour développer de nouveaux médicaments pour le traitement de la neurodégénérescence.

Tableau 10. Les propriétés ADME des molécules testées

Entry	ABS	TPSA(Å <sup>2</sup> )	n-ROTB	MW	MLogP	n-ON accepte	<sup>H-b</sup> OHNH donors	Lipinski's violations	Veber violations	Eganviolations
<b>Rule</b>	-	-	-	<50 0	≤5	<10	< 5	≤ 1	≤ 1	≤ 1
L5: Acide rosmarinique	Low	144.52		360 .32	0.9 0	8	5	Yes	NO	NO
L7: Acide chlorogénique	Low	164.75	5	354 .31	- 1.0 5	9	6	Yes	NO	NO
L13: Quercétine- 3-O-glucoside	Low	206.60	4	464 .38	- 2.5 9	12	8	NO	NO	NO
L14: Myricétine	Low	147.68	1	318 .24	- 1.0 8	8	6	Yes	NO	NO
L18:Kaempferol	High	107.22	1	286 .24	- 0. 03	6	4	Yes	Yes	Yes
L21: Acide caféique phénéthyle ester	High	66.76	6	284 .31	2.6 2	4	2	Yes	Yes	Yes
L15: Quercétine	High	127.45	1	302 .24	- 0.5 6	7	5	Yes	Yes	Yes
L4: Epicatéchin	High	110.38	1	290 .27	0.2 4	6	5	Yes	Yes	Yes
L20: Chrysine	High	66.76	1	254 .24	1.0 8	4	2	Yes	Yes	Yes
Galanthamine	High	41.93	1	287 .36	1.7 4	4	1	Yes	Yes	Yes

**c. Simulation de la dynamique moléculaire**

Les résultats de la simulation de dynamique moléculaire ont été présentés sur la **Figure 15**. La **Figure 15A** illustre l'analyse en mode normal (NMA) du complexe acide romarinique-acétylcholinestérase. Le graphique de déformabilité du complexe illustre les régions avec déformabilité (**Figure 15B**). Le graphique Bfactor du complexe donne une visualisation et une compréhension faciles de la comparaison entre le NMA et le champ PDB du complexe (**Figure 15C**). La valeur propre du complexe est illustrée sur la **Figure 15D**. Le complexe modelé a généré une valeur propre de  $3.030236e-04$ . Le graphique de variance indique la variance individuelle par des barres de couleur rouge et la variance cumulée par les vertes (**Figure 15E**). La **Figure 15F** illustre la carte de covariance des complexes où le mouvement corrélé entre une paire de résidus est indiqué par la couleur rouge, le mouvement non corrélé est signalé en blanc et le mouvement anticorrélé en bleu. La carte élastique du complexe montre la connexion entre les atomes ; ici, les régions grises plus foncées indiquent des zones plus rigides (**Figure 15G**). D'après l'étude de la dynamique moléculaire du complexe ancré acide romarinique-acétylcholinestérase, il est clair que l'interaction étudiée avait une très bonne déformabilité (**Figure 15B**), ainsi qu'une faible valeur propre de  $3.030236e-04$ . Cette faible valeur propre indiquerait une déformabilité plus facile du complexe (**Figure 15D**) et une rigidité de mouvement du complexe protéique. Cependant, la carte rapportée à la **Figure 15E** a montré un degré élevé de variances cumulatives par rapport aux variances individuelles. La carte de covariance et de réseau élastique a également produit des résultats satisfaisants (**Figures 15F et 15G**).



**Figure 15.** Simulation de la dynamique moléculaire. Complexe acide rosmarinique et acétylcholinesterase.

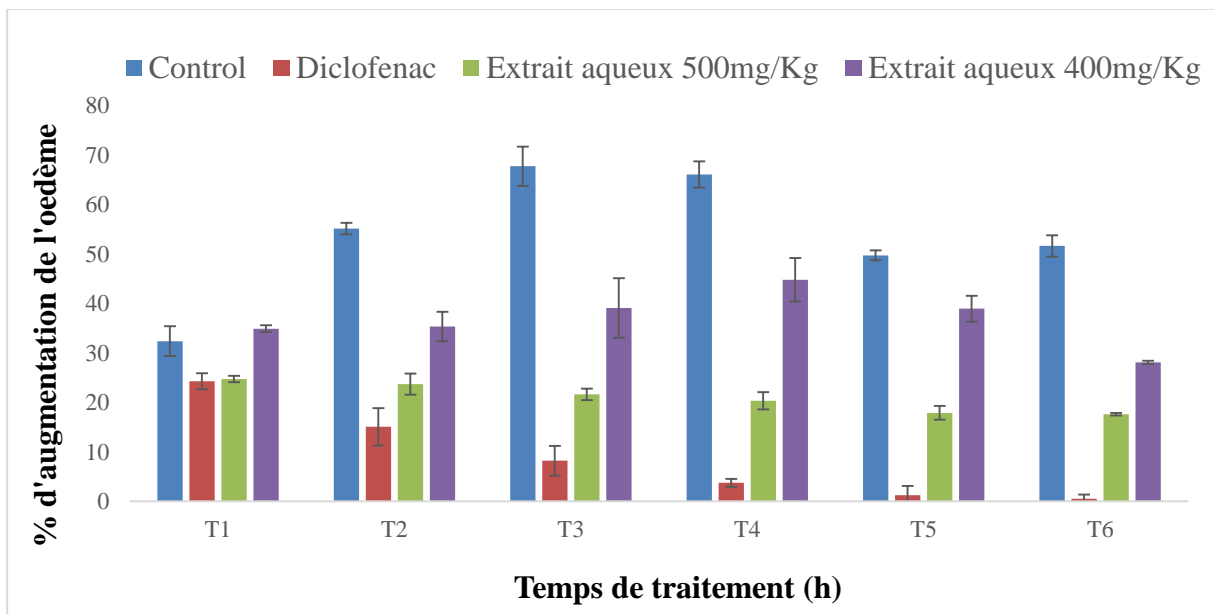
**A:** NMA mobilité; **B:** déformabilité; **C:** B-facteur; **D:** valeur propre; **E:** variance (couleur rouge indique la variance individuelle et la couleur verte indique la variance cumulative); **F:** carte de co-variance (corrélé (rouge), non corrélé (blanc) or anti-corrélé (bleu) mouvements); **G:** réseau élastique (la couleur gris foncée indique la régions la plus rigide) du complexe.

## 7. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

La méthode de l'œdème de la patte induit par la carragénine est largement utilisée pour détecter les agents anti-inflammatoires actifs (Das et al., 2010). L'injection de carragénine induit une inflammation locale causée par une lésion tissulaire, ce qui entraîne l'action de plusieurs médiateurs chimiques, comme les prostaglandines, l'histamine, les bradykinines, le leucotriène et la sérotonine (Sourabie et al., 2012).

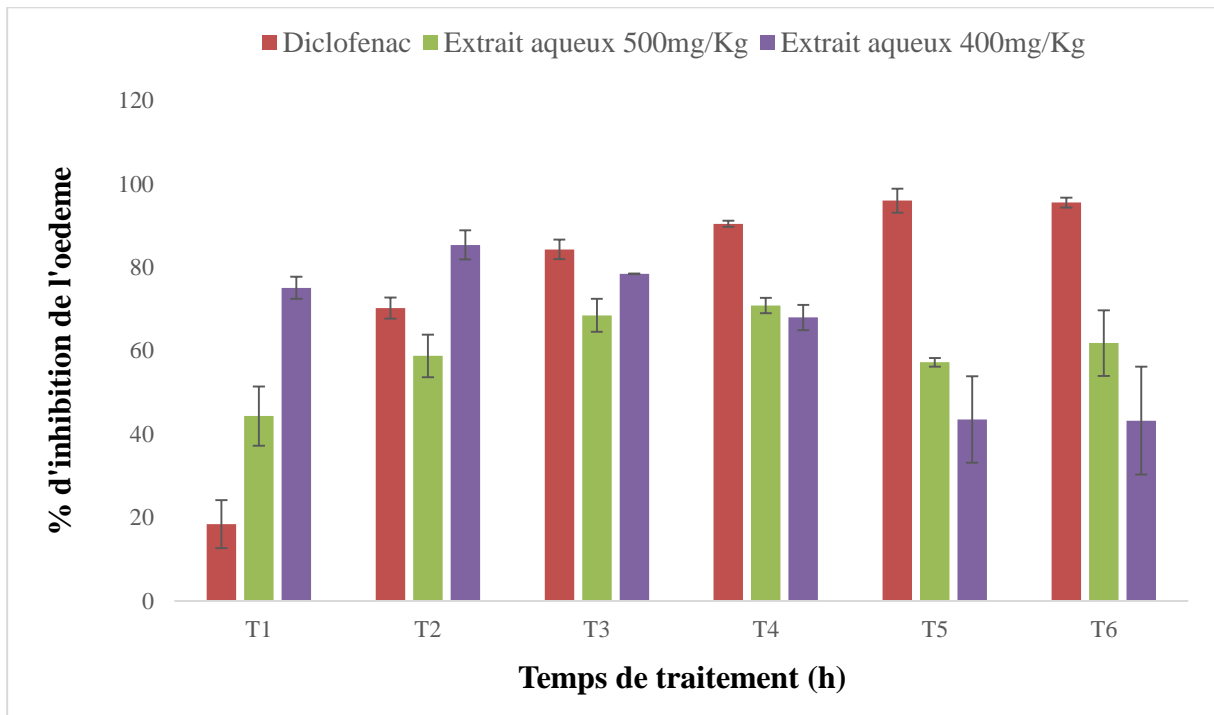
Les résultats de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux sont présentés dans la Figure 16. Après 6 h de prétraitement avec l'extrait aqueux, le volume de la patte est apparu réduit pour les deux groupes de rats, par rapport au contrôle, mais inférieur à celui des rats traités par le diclofénac. L'effet inhibiteur de l'extrait semble dépendre des facteurs du temps et du dosage (Figure 17).

L'activité antiinflammatoire pourrait être associée aux acides phénoliques contenus dans l'extrait aqueux, qui ont la capacité d'inhiber la production d'oxyde nitrique (NO), de TNF- $\alpha$  et d'IL-6 (Choi et al., 2017). Il a été également indiqué que l'acide caféique était capable de réduire la production de NO via une diminution de la biosynthèse d'iNOS en réduisant les teneur en NF- $\kappa$ B (Veza et al., 2016). De plus, Liu et al. (2014) ont noté que la catéchine contenue dans les noyaux de dattes avait la capacité de bloquer l'activation de NF- $\kappa$ B inhibant ainsi les cytokines inflammatoires, telles que TNF- $\alpha$ , IL-6.



**Figure 16.** Pourcentage d'augmentation de l'œdème après traitement avec témoin, extrait aqueux d'*A. articulata* à 500 et 400 mg/Kg, et diclofénac (n = 4 animaux par groupe) ; \*p < 0.05, par rapport au témoin.





**Figure 17.** Effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d'extract d'*A. articulata* à 500 et 400 mg/Kg pour différents temps, par rapport au traitement au diclofénac (n = 4 animaux par groupe) ; \*p < 0, 05 par rapport au contrôle.

## **Conclusion générale**

L'objectif de la présente étude est de valoriser une plante du Sahara algérien, utilisée par la population locale comme remède contre plusieurs pathologies, seule ou en combinaison avec d'autres espèces. Il s'agit de la plante *Anabasis articulata* qui présente des vertus thérapeutiques susceptibles d'être élaborées pour de nouvelles formulations pharmaceutiques. L'évaluation *in vitro*, *in vivo*, *ex vitro* des activités biologiques, notamment antioxydante, antityrosinase, anti-inflammatoire, antiproliférative, neuroprotectrice des deux extraits de la partie aérienne, a constitué l'intérêt principal de notre étude. Afin de déterminer ces effets thérapeutiques, il a été nécessaire d'établir en premier lieu la composition phytochimique de ces deux extraits.

Les résultats de l'analyse phytochimique réalisée, ont fait ressortir l'existence de divers métabolites secondaires dans les deux extraits. Le premier, des saponines a révélé la présence de quatre phytostérols  $\beta$ -sitostérol, stigmastérol, 26-hydroxycholestérol et cholestanol, selon notre enquête faite par GC-MS. Pour le second, aqueux, l'analyse par HPLC-DAD a détecté, identifié et quantifié avec succès vingt et un composés phénoliques essentiellement hydrophiles, englobant quatorze acides phénoliques (acide gallique ; 3-hydroxytyrosol ; acide vanillique ; acide rosmarinique ; 4 acide hydroxybenzoïque ; acide chlorogénique ; acide caféique ; acide syringique ; acide  $\rho$ -coumarique ; resvératrol ; acide salicilique ; 5,7 diméthoxycumarine ; 1,1 diméthylallyl acide caféique ; phénétil ester acide caféique) et sept flavonoïdes (épicatéchine ; quercétine-3-O-glucoside ; myricétine ; quercétine ; génistéine ; kaempférol ; chrysin). Par ailleurs, les teneurs en polyphénol totaux, flavonoïdes et tannins condensés étaient assez importantes dans l'extrait aqueux.

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* a été établie par l'utilisation de quatre méthodes : le test du piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphényl-1 picrylhydrazyl), le test de la réduction de fer, la capacité antioxydante totale (CAT) et le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène. Ces tests ont montré que les deux extraits d'*A. articulata*, possèdent une forte capacité antioxydante. Cette propriété est probablement acquise grâce aux composés phénoliques présents dans la partie aérienne, de plus cette théorie a été fortement soutenue par la démonstration de la corrélation entre ces substances actives et le pouvoir antioxydant.

L'activité antiproliférative d'*A. articulata* contre le cancer du sein a été évaluée pour la première fois *ex vivo* par comptage des cellules vivantes en présence de coloration au bleu Trypan et par dosage au MTT, dans le but d'évaluer l'effet de l'extrait sur la croissance des cellules tumorales, MCF-7 et MDA-MB-231. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait des saponines n'a pas exercé d'effet antiprolifératif pertinent sur MCF-7, en revanche, il a induit

une réduction modérément significative des cellules MDA-MB-231 par rapport au contrôle, à la dose la plus élevée, surtout après 48h de traitement. Ces résultats très préliminaires suggèrent que les saponines présents dans *A. articulata* pourraient être utilisés comme composés antiprolifératifs potentiels pour les thérapies contre le cancer du sein.

Le potentiel neuroprotectif d'*A. articulata* a été évalué *in vitro* par deux méthodes, un test de bioautographie par CCM et un dosage spectrophotométrique. Les résultats ont révélé que les deux extraits avaient une bonne capacité à inhiber l'AChE, ceci a été confirmé par docking moléculaire, ils ont démontré un bon score d'énergie libre de liaison par rapport au médicament galanthamine (témoin).

Notre étude a montré aussi que les deux extraits possèdent une importante capacité à inhiber la tyrosinase. La présence de phénols et de flavonoïdes chez *A. articulata* peut expliquer l'activité antityrosinase observée au sein de cette espèce végétale et suggérer son exploitation à cette fin.

Pour ce qui est de l'activité anti-inflammatoire, les résultats de l'évaluation *in vivo* ont révélé que les deux extraits possèdent des effets protecteurs contre le processus inflammatoire, du fait de la réduction considérable de l'œdème de la patte généré par l'agent phlogistique (carragénine) par les mesures des %AUG et %INH. L'effet anti-inflammatoire potentiel de cette espèce végétale peut être, au moins en partie, dû à l'activité de piégeage des radicaux de son contenu polyphénolique.

De ce qui précède, les résultats obtenus à partir de cette étude permettent de penser que *A. articulata* pourrait constituer une source potentielle de composés bioactifs utilisés dans diverses applications dans le domaine des industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

A cet effet, des travaux supplémentaires sont nécessaires pour y parvenir, notamment la confirmation des propriétés bioactives détectées par des tests robustes *ex vivo* et *in vivo*, et l'isolement des composés actifs de saponines, ainsi que l'élucidation de ses modes d'action. Aussi, les données et résultats recueillis précédemment, peuvent également interpréter les grands effets sur la santé que la tradition populaire algérienne associe à *A. articulata*.

## **Références bibliographiques**

- Abdallah, H.M, Abdel-Naim, A.B, Ashour, O.M, Shehata, I.A, Abdel-Sattar, E.A. 2014. Anti-inflammatory activity of selected plants from Saudi Arabia. *Z Naturforsch C*, 69: 1–9.
- Akaike, T, Maeda, H. 2000. Nitric oxide and virus infection. *Immunology*. 101: 300–308.
- Ali, H, Dixit, S, Ali, D, Alqahtani, S.M, Alkahtani, S, Alarifi, S. 2015. Isolation and evaluation of anticancer efficacy of stigmasterol in a mouse model of DMBA-induced skin carcinoma. *Drug Des. Devel. Ther*, 9: 2793–800.
- Alva, G, Cummings, J. 2008. Relative tolerability of Alzheimer’s disease treatments. *Psychiatry*, 5: 27–36.
- Awad, A, Downie, A.C, Fink, C.S. 2000. Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDA-MB-231 human breast cancer cells in culture. *Int. J. Mol. Med*, 5: 541–545.
- Awad, A, Chinnam, M, Fink, C, Bradford, P. 2007.  $\beta$ -sitosterol activates fas signaling in human breast cancer cells. *Phytomedicine*, 14: 747–54.
- Awad, A.B, Burr, A.T, Fink, C.S. 2005. Effect of resveratrol and beta-sitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 72: 219–226,
- Awan, F, Obaid, A, Ikram, A, Janjua, H. 2017. Mutation-structure function relationship based integrated strategy reveals the potential impact of deleterious missense mutations in autophagy related proteins on hepatocellular carcinoma (HCC): A comprehensive informatics approach. *Int. J. Mol. Sci*, 18:139.
- Ayaz, M, Sadiq, A, Wadood, A, Junaid, M, Ullah, F, Zaman, Khan, N. 2019. Cytotoxicity and molecular docking studies on phytosterols isolated from *Polygonum hydropiper L.* *Steroids*, 141: 30–35.
- Azza, M, Mohga, A, Maha, R, El-Sayed, M, Abdel-Razik, F, El-Sharabasy, F, Aly, H, Mohamed, R.M. 2014. Alleviation of Dimethylnitrosamine-induced liver injury and fibrosis by supplementation of *Anabasis articulata* extract in rats. *Ind J Clin Biochem*, 29: 418– 429.
- Bazan, F. 2014. Cancérogenèse et notion d’épidémiologie. *Oncologue Médical CHU Besançon IRFC*. P 32.
- Bazylko, A, Piwowarski, J.P, Filipek, A, Bonarewicz, J, Tomczyk, M. 2013. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Potentilla recta* and its main ellagitannin, agrimoniin. *J. Ethnopharmacol*, 149: 222–227.
- Begley, S. 1994. Beyond Vitamins. *Newsweek*, 123:45–9
- Belyagoubi-Benhammou, N, Belyagoubi, L, Gismondi, A, Di Marco, G, Canini, A, Atik-

- Bekkara, F. 2019. GC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of *Anabasis articulata*. *Med Chem Res*, 28: 754–767.
- Benhammou, N, Ghambaza, N, Benabdelkader, S, Atik-Bekkara, F, Panovska, F.K. 2013. Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*. *International Food Research Journal*, 20: 2057.
- Benveniste, P. 1986. Sterol biosynthesis. *Ann Rev Plant Physiol*, 37: 25–308
- Benzineb, E, Kambouche, N, Hamiani, A, Bellahouel, S, Zitouni, H, Toumi, H. 2019. Phenolics compounds and biological activity of leaves of *Anabasis Articulata*, an Algerian medicinal Plant. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci*, 8: 1–5.
- Bouic, P, Clark, A, Lamprecht, J, Freestone, M, Pool, E, Liebenberg, R, Kotze, D, Van Jaarsveld, P. 1999. The effects of B-sitosterol (BSS) and B-sitosterol glucoside (BSSG) mixture on selected immune parameters of marathon runners: Inhibition of post marathon immune suppression and inflammation. *Int. J. Sports Med*, 20: 258–62.
- Braak, H, Alafuzoff, I, Arzberger, T, Kretschmar, H, Del Tredici, K. 2006. Staging of Alzheimer disease–associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol*, 112: 389–404.
- Briganti, S, Camera, E, Picardo, M. 2003. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Res* 16: 101–110.
- Cairns, R.A, Harris, I.S, Mak, T.W. 2011. Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews. Cancer*. 11: 85–95.
- Castellani, R.J, Rolston, R.K, Smith, M.A. 2010. Alzheimer disease. *Dis. Mon*, 56: 484–546.
- Chai, J.W, Kuppusamy, U.R, Kanthimathi, M.S. 2008. Beta-sitosterol induces apoptosis in MCF- 7 cells. *Malays. J. Biochem. Mol. Biol*, 16: 28–30.
- Chang, T.S. 2009. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *Inter. J. Mol. Sci*. 10: 2440–75.
- Chavez, K.J, Garimella, S.V, Lipkowitz, S. 2003. Triple Negative Breast Cancer Cell Lines: One Tool in COQUERET, Olivier. New roles for p21 and p27 cell-cycle inhibitors: a function for each cell compartment? *Trends in cell biology*, 13: 65-70.
- Chen, L, Deng, H, Cui, H, Fang, J, Zuo, Z. 2017. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 9: 7204-7218.
- Chidi, U.S, Nnenna, A.O, Kelechi, A.K, Chijindu, M.F, Nebolisa, O.C. 2020. In-vitro and *In vivo* Antioxidant Activity of Ethanol Leaf Extract of *Justicia carnea*. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 29:48-60.

- Choi, K, Son, Y, Hwang, J, Kim, B, Lee, J. 2017. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-septic potential of phenolic acids and flavonoid fractions isolated from *Lolium multiflorum*. *Pharm. Biol*, 55: 611-619.
- Clément, G, Slenzka, K. (Eds.). 2006. Fundamentals of space biology: research on cells, animals, and plants in space (Vol. 18). Springer Science & Business Media, New York.
- Corradi, I, De Souza, E, Sande, D, Takahashi, J.A. 2018. Correlation between phenolic compounds contents, antityrosinase and antioxidant activities of plant extracts. *Chem. Eng. Trans*, 64: 09–114.
- Daina, A, Michielin, O, Zoete, V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 7, 42717.
- Das, S, Haldar, P.K. Pramanik, G, Suresh, R.B. 2010. Evaluation of Anti-inflammatory Activity of *Clerodendron infortunatum* Linn. Extract in Rats. *Int. J. Pharmacol*, 4: 48– 50.
- Didierjean, C, Tête-Favier, F. 2016. Introduction to Protein Science. Architecture, Function and Genomics. Third Edition. By Arthur M. Lesk. Oxford University Press,. Pp. 466. Paperback. Price GBP 39.99. ISBN 9780198716846.
- Dos Reis Nunes, C, Arantes, M.B, Pereira, S.M.F, Leandro da Cruz, L, de Souza, Passos, M. 2020. Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*, 25: 3726.
- Doucet, J.P, Weber, J. 1996. Computer-aided molecular design: Theory and applications, Academic Press, London, 266.
- Dugas, H. 2000. Principes de base en modélisation moléculaire : aspects théoriques et pratiques, 5ème édition,
- Eddouks, M, Maghrani, M, Lemhadri, A, Ouahidi, M.L, Jouad, H. 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the southeast region of Morocco (Tafilalet). *J Ethnopharmacol*, 82: 97–103.
- Edeoga, H.O, Okwu, D.E, Mbaebie, B.O. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4: 685–688.
- Egan, W.J, Merz, K.M, Baldwin, J.J. 2000. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *J. Med Chem*, 43: 3867–3877.
- El Dine, R.S, Abdallah, H.M, Kandil, Z.A, Zaki, A, Khan, S, Khan, A. 2018. PPAR $\alpha$  and  $\gamma$  Activation Effects of New Nor-triterpenoidal Saponins from the Aerial Parts of *Anabasis articulata*. *Planta Med*, 85: 274–281.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D, Andres, V, Featherstone, R.M. 1961. A new and rapid



- colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*, 7: 88–95.
- Eman, A. 2011. Phytochemical screening on different plant parts of some succulent plants of Egypt. *N. Y. Sci. J.* 4:15–18.
- Forni, C, Facchiano, F, Bartoli, M, Pieretti, S, Facchiano, A, D’Arcangelo, D, Norelli, S, Valle, G, Nisini, R, Beninati, S, Tabolacci, C, Jadeja R.N. 2019. Beneficial role of phytochemicals on oxidative stress and age-related diseases, *BioMed. Res. Inter*, 8748253.
- Garcia-Llata, G, Rodriguez-Estrada, M.T. 2011. Current and new insights on phytosterol oxides in plant sterol-enriched food. *Chem. Phys. Lipids*, 164: 607–624.
- Gattorno, M, Martini, A. 2016. Inflammation and its mediators. In: Petty R., Ronald Laxer R., Lindsley C., Wedderburn L., ed. *Textbook of pediatric rheumatology*. 7th Edition. Philadelphia : Elsevier, 14–32.
- Ghembaza, N, Belyagoubi-Benhammou, N, Atik-Bekkara, F. 2015. Separation and identification of bioactive compounds in *Anabasis articulata* (Forsk) Moq. Roots. *Nat. Prod. Res*, 30: 857–859.
- Gordaliza, M. 2007. Natural products as leads to anticancer drugs. *Clin. Transl. Oncol*, 9: 767–776.
- Gorrini, C, Harris, I.S, Mak, T.W. 2013. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nature Reviews. Drug Discovery*. 12: 931–947.
- Gupta, S.C, Pandey, M.K, Tyagi, A.K, Deb, L, Prasad, S. 2016. Oxidative stress and cancer: advances and challenges. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016: 5010423.
- Greenwell, M, Rahman, P.K. 2015. Medicinal plants: Their use in anticancer treatment. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 6: 4103–4112.
- Ha, D.T, Kim, H, Thuong P.T, Ngoc, T.M, Lee, I, Hung, N.D, Bae, K. 2009. Antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity of oligostilbenes from the leaf and stem of *Vitis amurensis*. *J. Ethnopharmacol*, 125: 304–309.
- Hamdoon, A.M, Salmin, K.A, Awad, G.A. 2013. Antioxidant and Quantitative Estimation of Phenolic and Flavonoids of Three Halophytic Plants Growing in Libya. *Pharmacognosie*, 2: 89–94.
- Hammiche, V, Maiza, K. 2006. Traditional medicine in Central: 89–94. Sahara: *Pharmacopoeia of Tassili N’ajjer*. *J Ethnopharmacol*, 105: 3358–67.
- Hu, N, Yu, J, Tan, L, Wang, Y, Sun, L, Tan, L. 2013. Nutrition and the risk of Alzheimer’s disease. *Biomed Res* , 2013: 1–12.

- Huh, C.S, Seo, K.I, Park, J.Y, Lim, J.G. 2003. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of vitamin C ionophoresis in melasma. *Dermatology*, 206: 316–320.
- HyperChem v8. Molecular Modelling System, Hypercube Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, FL 32601, USA 2009.
- Ingkaninan, K, de Best, C.M, van der Heijden, R, Hofte, A.J.P, Karabatak, B, Irth, H, Tjaden, U.R, van der Greef, J, Verpoorte, R. 2000. High-performance liquid chromatography with on-line coupled UV, mass spectrometric and biochemical detection for identification of acetylcholinesterase inhibitors from natural products. *J Chromatogr A*, 872: 61–73.
- Ji, H.F, Zhang, H.Y. 2006. Theoretical evaluation of flavonoids as multipotent agents to combat Alzheimer's disease. *J. Mol. Struc-Theochem*, 767: 3–9.
- Jiratchayamaethasakul, C, Ding, Y, Hwang, O, Im, S.T, Jang, Y, Myung, S.W, Lee, S.H. 2020. In vitro screening of elastase, collagenase, hyaluronidase, and tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of 22 halophyte plant extracts for novel cosmeceuticals. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 23: 1–9.
- Ju, Y.H, Clausen, L.M, Allred, K.F, Almada, A.L, Helferich, W.G. 2004.  $\beta$ -Sitosterol,  $\beta$ -sitosterol glucoside, and a mixture of  $\beta$ -sitosterol and  $\beta$ -sitosterol glucoside modulate the growth of estrogen-responsive breast cancer cells *in vitro* and in ovariectomized athymic mice. *J. Nutr*, 134: 1145–1151.
- Julkunen-Titto, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern Willows methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem*, 33: 213–217.
- Kambouche, N, Merah, B, Derdour, A, Bellahouel, S. 2009. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Anabasis articulata* (Forssk) Moq (Chenopodiaceae), an Algerian medicinal plant. *Afr. J. Biotechnol*, 8: 5578–5583.
- Kametani, T, Furuyama, H. 1987. Synthèse de vitamine D3 et Composés apparentés. *Med Res Rev*, 7: 147–171.
- Kao, J, Salari, K, Bocanegra, M. 2009. Molecular profiling of breast cancer cell lines defines relevant tumor models and provides a resource for cancer gene discovery. *PloS One*, 4:e6146.
- Kaur, N, Chaudhary, J, Jain, A, Kishore, L. 2011. Stigmasterol: a comprehensive review. *IJPSR*, 2: 2259–2265.
- Kim, Y.J. 2007. Anti-melanogenic and antioxidant properties of gallic acid. *Biol. Pharm. Bull*, 30: 1052–1055.
- Kim, Y.S, Li, X.F, Kang, K.H, Ryu, B, Kim, S.K. 2014. Stigmasterol isolated from marine microalgae *Navicula incerta* induces apoptosis in human hepatoma HepG2 cells. *BMB*

Rep, 47: 433–8.

- Ksouri, R, Megdiche, W, Debez, A, Falleh, H, Grignon, C, Abdelly, C. 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiol. Biochem*, 45: 244–249.
- Lakhani, S.R, Dilly, S.A, Finlayson, C.J. 2009. *Basic pathology : an introduction to the mechanisms of disease*. Fourth edition. London : Hodder Arnold.
- Lauterbach, M, Veranso-Libalah, M.C, Sukhorukov, A.P, Kadereit, G. 2019. Biogeography of the xerophytic genus *Anabasis* L. (Chenopodiaceae). *Ecology and evolution*, 9: 3539–3552.
- Lee, H.S. 2002. Tyrosinase inhibitors of *Pulsatilla cernua* root-derived materials. *J. Agric Food Chem*, 50: 1400–1403.
- Lee, J.M, Chung, H, Chang, P.S, Lee, J.H. 2007. Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using DPPH. *Food Chemistry*, 103: 662–669.
- Ling, W.H, Jones, P.J.H. 1995. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sci*, 57 : 195–206.
- Lipinski, C.A, Lombardo, F, Dominy, B.W, Feeney, P.J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev*, 23: 3–25.
- Liu, C.H, Abrams, N.D, Carrick, D.M, Chander, P, Dwyer, J, Hamlet, M.R.J, Kindzelski, A.L, PrabhuDas, M, Tsai, S.Y.A, Vedamony, M.M, Wang C, Tandon, P. 2019. Imaging inflammation and its resolution in health and disease: current status, clinical needs, challenges, and opportunities. *FASEB J*, 33: 13085–13097.
- Liu, H, Zang, C, Fenner, M.H, Possinger, K, Elstner, E. 2003. PPAR $\gamma$  ligands and ATRA inhibit the invasion of human breast cancer cells in vitro. *Breast Cancer Res Treat*, 79: 63–74.
- Liu, S.H, Lu, T.H, Su, C.C, Lay, I.S, Lin, H.Y. 2014. Lotus Leaf (*Nelumbonucifera*) and its Active Constituents Prevent Inflammatory Responses in Macrophages via JNK/NF $\kappa$ B Signaling Pathway. *Am. J. Chin. Med*, 42:869–889.
- Liyanaarachchi, G.D, Samarasekera, J.K.R.R, Mahanama, K.R.R, Hemalal, K.D.P. 2018. Tyrosinase, elastase, hyaluronidase, inhibitory and antioxidant activity of Sri Lankan medicinal plants for novel cosmeceuticals. *Industrial crops and products*, 111: 597–605.
- Lopez-Blanco, J.R, Garzon, J.I, Chacon, P. 2011. iMod: Multipurpose normal mode analysis in internal coordinates. *Bioinformatics*, 27: 2843–2850.
- Lopez-Blanco, J.R, Aliaga, J.I, Quintana-Orti, E.S, Chacon, P. 2014. iMODS: Internal

- coordinates normal mode analysis server. *Nucleic Acids Res*, 42: W271–276.
- Manach, C, Scalbert, A, Morand, C, Remesy, C, Jimenez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition.*, 79: 727–47.
- Megahed, D. 2014. Etude des forums de santé pour la détection d'événements secondaires. Master's thesis, INALCO. MORICEAU V. & TANNIER X. French resources for extraction and normalization of temporal expressions with heideltime. In Proc of LREC, p. 3239–43, Reykjavik, Iceland.
- Metwally, N.S, Mohamed, A.M, ELSharabasy, F.S. 2012. Chemical constituents of the Egyptian Plant *Anabasis articulata* (Forssk) Moq and its antidiabetic effects on rats with streptozotocin-induced diabetic hepatopathy. *J Appl Pharm Sci*, 2: 54–65.
- Middleton, E, Kandaswami, C, Theoharides, T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673–839.
- Mohamed, A.M, Abdalla, M.S, Rizk, M.Z, Mahdy, E.M, Farrag, A.R.H, El- Sharabasy, F.S, Aly, F.F, Mohamed, M.R. 2014. Alleviation of Dimethylnitrosamine-induced liver injury and fibrosis by supplementation of *Anabasis articulata* extract in rats. *Indian J Clin Biochem*, 29: 418–429.
- Molecular Operating Environment (MOE), 2013. 08. Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2014.
- Moure, A, Franco, D, Sineiro, J, Dominguez, H, Nunez, M.J, Lema, G.M. 2000. Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *J Agric Food Chem*, 48: 3890–3897.
- Mousseau, M, Garnier, C. 2002. Cancer du sein épidémiologie, bilan d'extension, modalités thérapeutiques (Médecin nucléaire-Imagerie Fonctionnelle et métabolique). Volume 26 n° 1. PP 7–19.
- Mroczek, A. 2015. Phytochemistry and bioactivity of triterpene saponins from Amaranthaceae family. *Phytochem Rev*, 14: 577–605.
- Mroczek, T. 2009. Highly efficient, selective and sensitive molecular screening of acetylcholinesterase inhibitors of natural origin by solid-phase extraction-liquid chromatography/electrospray ionisation-octopole-orthogonal acceleration time-of-flight-mass spectrometry and novel thinlayer chromatography-based bioautography. *J Chromatogr A*, 1216: 2519–2528.
- Nahas, A.F, Abdel-Malek, Z.A, Kohli, I, Braunberger, T.L, Lim, H.W, Hamzavi, I.H. 2019. The potential role of antioxidants in mitigating skin hyperpigmentation resulting from

- ultraviolet and visible light-induced oxidative stress. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*, 35: 420-428.
- Nathan, C, Ding, A. 2010. Nonresolving inflammation. *Cell*. 140: 871-82.
- Nardini, M, Stella Foddai, M. 2020. Phenolics profile and antioxidant activity of special Beers. *Molecules*. 25, 2466.
- Newman, D.J, Cragg, G.M. 2020. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83. 3: 770-803.
- Nijveldt, R.J, Van Nood, E, Van Hoorn, D.E, Boelens, P.G, Van Norren, K, Van Leeuwen, P.A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin*, 74: 418–25.
- ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ. 2020. Centre International de recherche sur le cancer. Communiqué de Presse, P1.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutri*, 44:307–315.
- Ozenda, P. 2004. Flore et végétation du Sahara. 3ème édition, CNRS Editions, Paris.
- O’leary, J.W, Glenn, E.P. 1994. Global distribution and potential for halophytes. In *Halophytes as a resource for livestock and for rehabilitation of degraded lands*. pp. 7-17. Springer, Dordrecht.
- Park, C, Moon, D.O, Rhu, C.H, Choi, B.T, Lee, W.H, Kim, G.Y, Choi, Y.H. 2007.  $\beta$ -Sitosterol induces antiproliferation and apoptosis in human leukemic U937 cells through activation of caspase-3 and induction of Bax/Bcl-2 ratio. *Biol. Pharm. Bull*, 30: 1317–1323
- Paterson, I, Anderson, E.A. 2005. The renaissance of natural products as drug candidates. *Science*, 310.5747: 451–453.
- Prabhakar, P.K, Srivastava, A, Rao, K.K, Balaji, P.V. 2016. Monomerization alters the dynamics of the lid region in *Campylobacter jejuni* CstII: An MD simulation study. *J. Biomol. Struct. Dyn*, 34: 778–791.
- Prieto, P, Pineda, M, Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337–341.
- Queen, B.L, Tollefsbol, T.O. 2010. Polyphenols and aging. *Curr Aging Sci*, 3: 34–42.
- Robb, C.T, Regan, K.H, Dorward, D.A, Rossi, A.G. 2016. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation. *Semin Immunopathol*. 38: 425-48.
- Saeidnia, S, Manayi, A. 2014. Ahmad R, Gohari-Abdollahi M. The story of  $\beta$ -sitosterol—a review. *Eur. J. Med. Plant*, 4:590–609

- Salemme, F.R. 1976. An hypothetical structure for an intermolecular electron transfer complex of cytochromes c and b5, *J. Mol. Biol.*, 102: 563–568.
- Sanchez-Moreno, C, Larrauri, J.A, Saura-Calixto, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agri*, 76: 270–276.
- Sari, S, Medjahed, W, Kajima, Mulengi, J, Ghalem, S. 2007. Approach of the Interaction Enzyme-Substrate by Molecular Modelling, *Asian Journal of Chemistry*, 19(3).
- Sathiyamoorthy, P, Lugasi-Evgi, H, Van-Damme, P, Abu-Rabia, A, Gopas, J, Golan-Goldhirsh, A. 1997. Larvicidal activity in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *Int J Pharmacogn*, 35: 265–273.
- Schluesener, J.K, Schluesener, H. 2014. Plant polyphenols in the treatment of age-associated diseases: revealing the pleiotropic effects of icariin by network analysis. *Mol Nutr Food Res*, 58: 60–9.
- Schwartz, K. 2011. Inflammations et maladies : clés de compréhension. Inserm, p 74.
- Segal, R, Goldzweig-Milo, I, Zaitschek, D.V. 1969. The sapogenin content of *Anabasis articulata*. *Phytochemistry*, 8: 521.
- Seo, S.Y, Sharma, V.K, Sharma, N. 2003. Mushroom tyrosinase: recent prospects. *J. Agric. Food. Chem.* 51: 2837–2853.
- Shi, C, Wu, F, Zhu, X, Xu, J. 2013. Incorporation of  $\beta$ -sitosterol into the membrane increases resistance to oxidative stress and lipid peroxidation via estrogen receptor mediated PI3K/GSK3 $\beta$  signaling. *Biochim. Biophys. Acta*, 1830: 2538–2544.
- Simon, L, Imane, A, Srinivasan, K.K, Pathak, L, Daoud, I. 2017. *In silico* drug-designing studies on flavanoids as anticolon cancer agents: Pharmacophore mapping, molecular docking, and Monte Carlo method-based QSAR Modeling. *Interdiscip. Sci. Comput. Life Sci*, 9 :445– 458.
- Singh, S, Sharma, B, Kanwar, S.S, Kumar, A. 2016. Lead phytochemicals for anticancer drug development. *Front. Plant Sci*, 7: 1667.
- Singleton, V.L, Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult*, 16: 144–158.
- Sofowa, A. 2010. *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique*. KARTHALA Editions, 2811103309, 9782811103309. Pp. 378.
- Sourabie, T.S, Ouedraogo, N, Sawadogo, WR, Nikiema, J.B, Guissou, I.P, Nacoulma, O.G. 2012. Biological evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of *Argemone mexicana* Linn. (Papaveraceae) aqueous leaf extract. *Int. J. Pharm. Sci*, 3: 451–458.
- Stewart, J.J. 2007. Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of

- NDDO approximations and application to 70 elements. *J. Mol. Model*, 13: 1173–1213.
- Sundararaman, P, Djerassi, C. 1977. Une synthèse commode de progestérone du stigmasterol. *J Org Chem*, 42: 3633–3634.
- Sung, H, Ferlay, J, Siegel, R.L, Laversanne, M, Soerjomataram, I, Jemal, A. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71.3: 209–249.
- Tabner, B.J, Turnbull, S, El-Agnaf, O, Allsop, D. 2001. Production of reactive oxygen species from aggregating proteins implicated in Alzheimer's disease, Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases. *Curr. Top. Med. Chem*, 1: 507–517.
- Tenover, F.C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am.J. Med. Sci*, 119: S3–S10.
- Trovato, A, Raneri, E, Kouladis, M, Tzakou, O, Taviano, M.F, Galati, E.M. 2001. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Hypericum empetrifolium* willd. (guttiferae). *Farmaco*, 56: 455–457.
- Tungmunnithum, D, Thongboonyou, A, Pholboon, A, Yangsabai, A. 2018. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview. *Medicines*, 5: 93.
- Turhan, B, Tayfu, N.P, Deniz, T, Otto, S, Hsan, Ç. 1997. Triterpene saponins from *Scabiosa rotata*. *Phytochemistry*, 48: 867–873.
- Uriarte-Pueyo, A, Calvo, M.I. 2011. Flavonoids as Acetylcholinesterase Inhibitors. *Curr. Med. Chem*, 18: 5289–5302.
- Valko, M, Leibfritz, D, Moncol, J, Cronin, M.T.D, Mazur, M, Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39: 44–84.
- Veber, D.F, Johnson, S.R, Cheng, H.Y, Smith, B.R, Ward, K.W, Kopple, K.D. 2002. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem*, 45: 2615–2623.
- Veza, T, Rodríguez-nogales, A, Algieri, F, Utrilla, M.P, Rodríguez-cabezas, M.E. 2016. Flavonoids in Inflammatory Bowel Disease : A Review. *Nutrients*, 8: 1–22.
- Vivancos, M, Moreno, J.J. 2005.  $\beta$ -Sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radic. Biol. Med*, 39: 91–7.
- Whittaker, V.P. 1990. The contribution of drugs and toxins to understanding of cholinergic function. *Trends Pharmacol. Sci*, 11: 8–13.
- Wilson, A, Salamatian, L. 2003. Les Radicaux Libres : Une question d'équilibre. Université de

Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines DESS IST.

- Wodak, S.J, Janin, J. 1978. Computer analysis of protein-protein interactions. *J. Mol. Biol*, 124: 323–342.
- Yoshida, Y, Niki, E. 2003. Antioxidant effects of phytosterol and its components. *J. Nutr. Sci. Vitaminol*, 49: 277–280.
- Zamora-Ros, R, Touillaud, M, Rothwell, J, Romieu, I, Scalbert, A. 2014. Measuring exposure to the polyphenol metabolome in observational epidemiologic studies: current tools and applications and their limits. *Am J Clin Nutr*, 100: 11–26.
- Zanella, L, Gismondi, A, Di Marco, G, Braglia, R, Scuderi, F, Redi E, Canini, A. 2019. Induction of antioxidant metabolites in *Moringa oleifer* callus by abiotic stresses. *Journal of natural product*, 82: 2379–2386.
- Zhishen, J, Mengcheng, T, Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64: 555– 559.
- Zhou, Y, Jiang, Z, Lu, H, Xu, Z, Tong, R. 2019. Recent Advances of Natural Polyphenols Activators for Keap1-Nrf2 Signaling Pathway. *Chem Biodivers*, 16: e1900400.
- Zibadi, S, Preedy, V.R, Watson, R.R. 2014. *Polyphenols in human health and disease*. London: Academic Press;





