

..... رقم الترتيب:  
..... رقم التسلسل:

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique



Université Hamma Lakhdar El Oued

Faculté des Sciences Exactes

Département de Chimie

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master en  
chimie

Option : Chimie Organique

Présenté et soutenu publiquement par :

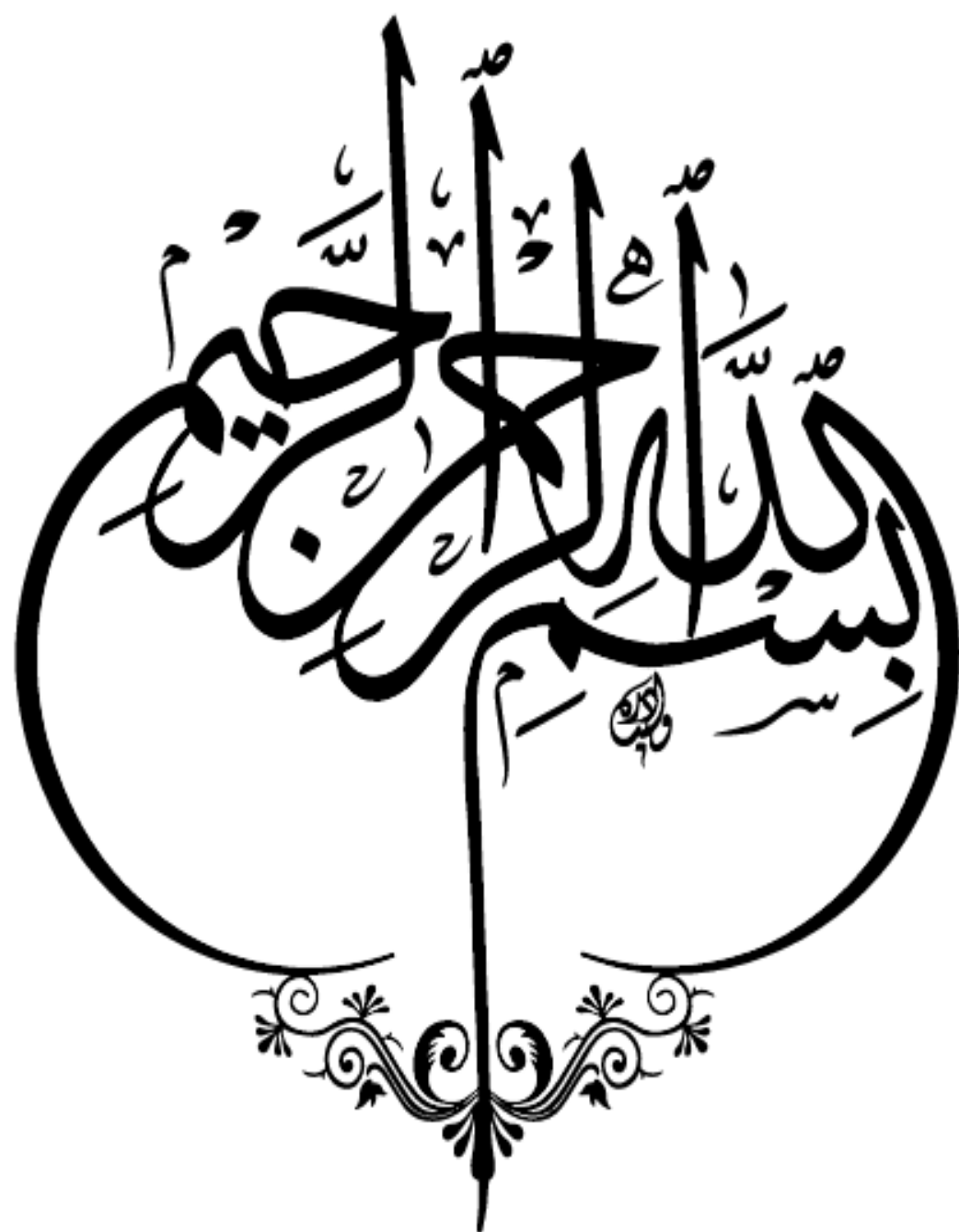
- Chanez HAMAMOUCHE
- Salah Eddine BENISSAAD

**Étude du potentiel synergique, de profil ADMET et de  
l'arrimage moléculaire des acides gallique et  
ascorbique, ainsi que l'évaluation de leurs activités  
biologiques**

Soutenue le 06/06/2026 à la présence des membres  
de jury :

| Membres du jury    | Établissement                    | Qualité   |
|--------------------|----------------------------------|-----------|
| Dr Ammar HAOUAT    | Université Hamma Lakhdar El Oued | Encadreur |
| Dr Ahmed MEHELLOU  | Université Hamma Lakhdar El Oued | Président |
| Dr Belgacem SOUYEI | Université Hamma Lakhdar El Oued | Examineur |

Année universitaire : 2025-2026



## **Remerciements**

Nous remercions en premier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage de finir ce travail dans de bonnes conditions.

Nous tenons à ~~exprimer~~ toute notre ~~reconnaissance~~ à notre directeur de mémoire, Dr Ammar HAOUAT de nous avoir encadré, orienté, soutenu et encouragé.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres du jury Mr MAHALOU et Mr SOUYIE pour leur présence et leur bienveillance.

Nous remercions l'ensemble de l'équipe administrative, pour leur travail et la patience dont ils ont fait preuve tout au long de notre formation.

Nous ne saurions clore nos remerciements sans exprimer tout notre respect et affection aux membres de notre famille, nous les remercions pour leurs encouragements, compréhension, patience mais aussi leur présence qui ont été d'un grand soutien et réconfort.

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes Chers *Parents* pour tout ce qu'ils m'ont donné et pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour faire de moi ce que je suis maintenant, que Dieu vous accorde la santé, le bonheur et une longue vie.

À mes sœurs *Katia, Rima, Nadine* et *Mouna*.

À mon seul et unique frère *Idriss*.

À tous mes amis et collègues.

À mes chers élèves.

À toute ma famille.

Chanez HAMAMOUCHE

الحمد لله الذي بفضلہ تتحقق الغايات من بعد الإستعانة به، و إنهاء الدرب

بتوقيقه و تحقيق الحلم بفضلہ، أما بعد :

أهدي هذا النجاح إلى: من أناروا دربي بالدعاء و السند: والدي العزيز، و

زوجتي الوفية. بدون صبركم و عونكم لما اكتملت هذه الرحلة. كل كلمات

الشكر تعجز، لكن قلبي يملؤه الإمتنان لكم.

كما أتقدم بخالص الشكر و التقدير لجميع أساتذتنا و مدرسينا (كلٌ باسمه)

الذين ساهموا في تطويرنا الأكاديمي و زودونا بالمعرفة والحكمة.

كما أوجه شكر خاص لأستاذنا المشرف د. حوات عمار على صبره و دعمه

المتواصل لنا.

بن يسعد صلاح الدين

## الملخص:

تتناول هذه الدراسة تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمركبين طبيعيين مرجعيين ألفياتيين — حمض الغاليك (حمض 3,4,5- تريهيدروكسيبنزويك)، (CID PubChem 370) وحمض الأسكوربيك (فيتامين C ، — (CID PubChem 155903693) باستخدام طريقة جذور DPPH ، بالإضافة إلى التحليل الكمي لتأزرهما الدوائي عند الجمع بينهما. تم إنشاء مصفوفة استجابة- جرعة كاملة (تركيزات: 0، 12.5، 25، 50 و 100 ميكرومتر) للمركبين كعلاج أحادي وفي تركيبة، ثم تم إدخالها في منصة SynergyFinder 3.0، بتطبيق أربعة نماذج رياضية Bliss Independence ،: Loewe Additivity ، ZIP و HSA. وكانت درجات التأزر الإجمالية التي تم الحصول عليها هي على التوالي -13,12 (Bliss) ، و-2,26 (HSA) ، و+1,76 (Loewe) ، مما يكشف عن تفاعل إجمالي تراكمي إلى مضاد قليلاً. بالتوازي مع ذلك، تم إجراء عملية إرساء جزيئي (docking) على البروتين المستهدف 1N8Q عبر خادم CB-Dock2. وكانت أفضل درجات التقارب هي -6,6 كيلو كالوري/مول لحمض الغاليك و-6,1 كيلو كالوري/مول لحمض الأسكوربيك. تشكل هذه المذكرة مساهمة في فهم آليات التفاعل الجزيئي عند نقطة التقاء الكيمياء العضوية للبوليفينولات وعلم الصيدلة الحسابي.

الكلمات المفتاحية: مضاد للأكسدة، حمض الغاليك، حمض الأسكوربيك، التأزر، SynergyFinder، الالتحام الجزيئي، CB-Dock2 ، Bliss ، Loewe ، ZIP ، HSA ، 1N8Q.

## Résumé :

Ce travail porte sur l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de deux composés naturels aliphatiques de référence — l'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque, CID PubChem 370) et l'acide ascorbique (vitamine C, CID PubChem 155903693) — par la méthode du radical DPPH, ainsi que sur l'analyse quantitative de leur synergie pharmacologique en combinaison. Une matrice dose-réponse complète (concentrations : 0, 12,5, 25, 50 et 100  $\mu$ M) a été construite pour les deux composés en monothérapie et en association, puis soumise à la plateforme SynergyFinder 3.0, en appliquant quatre modèles mathématiques : Bliss Independence, Loewe Additivity, ZIP et HSA. Les scores de synergie globaux obtenus sont respectivement de -13,12 (Bliss), -2,26 (HSA), +1,76 (Loewe) et -12,35 (ZIP), révélant une interaction globalement additive à légèrement antagoniste. En parallèle, un docking moléculaire a été réalisé sur la protéine cible 1N8Q via le serveur CB-Dock2. Les meilleurs scores d'affinité sont de -6,6 kcal/mol pour l'acide gallique et de -6,1 kcal/mol pour l'acide ascorbique. Ce mémoire constitue une contribution à la compréhension des mécanismes d'interaction moléculaire à l'interface de la chimie organique des polyphénols et de la pharmacologie computationnelle.

Mots-clés : DPPH, antioxydant, acide gallique, acide ascorbique, synergie, SynergyFinder, docking moléculaire, CB-Dock2, Bliss, Loewe, ZIP, HSA, 1N8Q.

### Abstract :

This study focuses on evaluating the antioxidant activity of two natural aliphatic reference compounds—gallic acid (3,4,5-trihydroxybenzoic acid, PubChem CID 370) and ascorbic acid (vitamin C, PubChem CID 155903693)—using the DPPH radical method, as well as on the quantitative analysis of their pharmacological synergy in combination. A comprehensive dose-response matrix (concentrations: 0, 12.5, 25, 50, and 100  $\mu$ M) was constructed for both compounds as monotherapies and in combination, then analyzed using the SynergyFinder 3.0 platform, applying four mathematical models: Bliss Independence, Loewe Additivity, ZIP, and HSA. The overall synergy scores obtained were  $-13.12$  (Bliss),  $-2.26$  (HSA),  $+1.76$  (Loewe), and  $-12.35$  (ZIP), respectively, revealing an interaction that was generally additive to slightly antagonistic. In parallel, molecular docking was performed on the target protein 1N8Q using the CB-Dock2 server. The best affinity scores were  $-6.6$  kcal/mol for gallic acid and  $-6.1$  kcal/mol for ascorbic acid. This thesis contributes to the understanding of molecular interaction mechanisms at the interface of organic polyphenol chemistry and computational pharmacology.

Keywords: DPPH, antioxidant, gallic acid, ascorbic acid, synergy, SynergyFinder, molecular docking, CB-Dock2, Bliss, Loewe, ZIP, HSA, 1N8Q.

## Liste des tableaux :

|                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Table 1 Comparatif des techniques computationnelles .....                                                                | 6  |
| Table 2 Comparatif ADMET -Acide gallique vs Acide ascorbique .....                                                       | 10 |
| Table 3 Activité anti-oxydante( IC <sub>50</sub> ) des molécules étudiées et des standards par le test DPPH .....        | 12 |
| Table 4 Résultats du test DPPH .....                                                                                     | 16 |
| Table 5 Propriétés physico-chimiques de l'acide ascorbique (paramètres ADMET) .....                                      | 16 |
| Table 6 Propriétés de chimie médicanale de l'acide ascorbique (paramètres ADMET) .....                                   | 17 |
| Table 7 Propriétés absorption de l'acide ascorbique .....                                                                | 20 |
| Table 8 Propriétés distribution de l'acide ascorbique .....                                                              | 22 |
| Table 9 Propriétés métabolisme de l'acide ascorbique .....                                                               | 23 |
| Table 10 Propriétés excrétion de l'acide ascorbique .....                                                                | 25 |
| Table 11 Propriétés toxicité de l'acide ascorbique .....                                                                 | 25 |
| Table 12 Profil de toxicité environnementale de l'acide ascorbique .....                                                 | 29 |
| Table 13 Profil d'activité de l'acide ascorbique sur les recepteurs nucléaires (Tox 21 pathway) .....                    | 29 |
| Table 14 évaluation des règles toxicophores de l'acide ascorbique .....                                                  | 31 |
| Table 15 Propriétés physico-chimiques de l'acide gallique (paramètres ADMET) .....                                       | 32 |
| Table 16 Propriétés de chimie médicanale de l'acide gallique (paramètres ADMET) .....                                    | 34 |
| Table 17 Propriétés absorption de l'acide gallique .....                                                                 | 36 |
| Table 18 Propriétés distribution de l'acide gallique .....                                                               | 38 |
| Table 19 Propriétés métabolisme de l'acide gallique .....                                                                | 39 |
| Table 20 Propriétés excrétion de l'acide gallique .....                                                                  | 41 |
| Table 21 Table 21 propriétés toxicité de l'acide gallique .....                                                          | 42 |
| Table 22 Profil de toxicité environnementale de l'acide gallique .....                                                   | 46 |
| Table 23 Profil d'activité de l'acide gallique sur les recepteurs nucléaires (Tox 21 pathway) .....                      | 46 |
| Table 24 évaluation des règles toxicophores de l'acide gallique .....                                                    | 48 |
| Table 25 Résultats du docking moléculaires de l'acide ascorbique dans les différentes poches de la protéine 1N8Q .....   | 49 |
| Table 26 Résultats du docking moléculaires de l'acide gallique dans les différentes poches de la protéine 1N8Q .....     | 50 |
| Table 27 évaluation de la synergie et de l'inhibition cellulaire par l'association des deux molécules (mode BLISS) ..... | 52 |
| Table 28 évaluation de la synergie et de l'inhibition cellulaire par l'association des deux molécules (mode HSA) .....   | 53 |
| Table 29 évaluation de la synergie et de l'inhibition cellulaire par l'association des deux molécules (mode LOEWE) ..... | 55 |
| Table 30 évaluation de la synergie et de l'inhibition cellulaire par l'association des deux molécules (mode ZIP) .....   | 57 |
| Table 31 Comparaison des descripteurs moléculaires et physico-chimiques de l'acide gallique et l'acide ascorbique .....  | 59 |
| Table 32 évaluation comparative de la conformité aux règles de Drug-likeness et scores de complexité .....               | 61 |

|                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Table 33 évaluation et comparaison des paramètres d'absorption pharmacocinétique .....                                                                       | 62 |
| Table 34 évaluation et comparaison des paramètres de distribution.....                                                                                       | 63 |
| Table 35 évaluation et comparaison des paramètres de métabolisme .....                                                                                       | 65 |
| Table 36 évaluation et comparaison des paramètres d'excrétion.....                                                                                           | 66 |
| Table 37 évaluation et comparaison des paramètres de toxicité .....                                                                                          | 67 |
| Table 38 évaluation comparative des alertes de toxicité d'acide gallique et acide ascorbique                                                                 | 69 |
| Table 39 évaluation comparative de la toxicité cellulaire sur le profil des récepteurs nucléaires (Tox 21) .....                                             | 69 |
| Table 40 évaluation comparative du profil de toxicité environnementale d'acide gallique et acide ascorbique .....                                            | 70 |
| Table 41 Synthèse ADMET .....                                                                                                                                | 71 |
| Table 42 Résultats de docking de l'acide ascorbique sur la protéine 1N8Q(CB-Dock2).....                                                                      | 76 |
| Table 43 Résultats de docking de l'acide gallique sur la protéine 1N8Q(CB-Dock2).....                                                                        | 77 |
| Table 44 Comparaison des scores de docking entre l'acide ascorbique et l'acide gallique sur 1N8Q .....                                                       | 78 |
| Table 45 Résumé des scores de synergie calculés par quatre modèles mathématiques pour la combinaison acide ascorbique/acide gallique dans le test DPPH ..... | 83 |
| Table 46 Synthèse interprétative des quatre modèles de synergie pour la combinaison acide ascorbique/acide gallique dans le test DPPH.....                   | 89 |

**Liste des figures :**

|                                                                     |   |
|---------------------------------------------------------------------|---|
| Figure 1 La structure chimique d'acide gallique .....               | 7 |
| Figure 2 La structure chimique d'acide ascorbique (Vitamine C)..... | 8 |

## Liste des abréviations :

**ADMET** : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité

**AG** : Acide Gallique

**AA** : Acide Ascorbique (Vitamine C)

**CI** : Combination Index (Indice de Combinaison)

**COX-2** : Cyclooxygénase-2

**CYP450** : Cytochrome P450

**DHA** : Acide Déhydroascorbique

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

**Fa** : Fraction Affectée

**$\Delta G$**  : Énergie libre de Gibbs

**$\mu g$** : Microgramme (unité de masse)

**hERG** : Human Ether-a-go-go Related Gene

**HSA** : Highest Single Agent

**IC<sub>50</sub>**: Concentration Inhibitrice 50 %

**NF- $\kappa B$**  : Nuclear Factor Kappa B

**PDB** : Protein Data Bank

**BBB**: Blood-Brain Barrier

**PPB**: Plasma Protein Binding

**ROS** : Reactive Oxygen Species (Espèces Réactives de l'Oxygène)

**SOD** : Superoxyde Dismutase

**Pgp**: P-glycoprotein

**VDSS**: Volume of Distribution at Steady State

**QED**: Quantitative Estimate of Drug-likeness

**PAINS**: Pan-Assay Interference Compounds

**QSAR**: Quantitative Structure-Activity Relationship

**ZIP** : Zero Interaction Potency

## Table des matières

Remerciements

Dédicace

Dédicace

Résumé

|                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Introduction générale.....</b>                                                  | <b>12</b> |
| <b>I.1. La Synergie Pharmacologique :.....</b>                                     | <b>3</b>  |
| <b>I.1.1. Définition : .....</b>                                                   | <b>3</b>  |
| <b>I.1.2. Domaines d'Application de la Synergie .....</b>                          | <b>3</b>  |
| <b>I.2.1. Définition .....</b>                                                     | <b>3</b>  |
| <b>I.2.2. Principe du Test.....</b>                                                | <b>4</b>  |
| <b>I.2.3. Avantages du Test .....</b>                                              | <b>4</b>  |
| <b>I.3.Les techniques computationnelles : .....</b>                                | <b>5</b>  |
| <b>I.3.1. Définition : .....</b>                                                   | <b>5</b>  |
| <b>I.3.2. Importance dans la Recherche Scientifique : .....</b>                    | <b>5</b>  |
| <b>I.3.3. Principales Techniques Computationnelles : .....</b>                     | <b>5</b>  |
| <b>I.3.4. Tableau Comparatif des Techniques Computationnelles : .....</b>          | <b>6</b>  |
| <b>I.4.Les molécules étudiées : .....</b>                                          | <b>7</b>  |
| <b>I.4.1. L'Acide Gallique.....</b>                                                | <b>7</b>  |
| <b>I.4.2. L'Acide Ascorbique (Vitamine C) : .....</b>                              | <b>19</b> |
| <b>I.5.Les paramètres ADMET .....</b>                                              | <b>20</b> |
| <b>I.5.1 Tableau Comparatif ADMET : Acide Gallique vs Acide Ascorbique : .....</b> | <b>10</b> |
| <b>I.6. Activité antioxydante et stress oxydatif .....</b>                         | <b>22</b> |
| <b>II.1. Méthodes et Matériels.....</b>                                            | <b>25</b> |
| <b>II.1.1. Piégeage du radical DPPH .....</b>                                      | <b>25</b> |
| <b>II.1.2. La synergie.....</b>                                                    | <b>25</b> |
| <b>II.1.3. Le docking .....</b>                                                    | <b>25</b> |
| <b>II.1.4. ADMET .....</b>                                                         | <b>26</b> |
| <b>III.1. Résultats .....</b>                                                      | <b>29</b> |
| <b>III.1.1. DPPH .....</b>                                                         | <b>29</b> |

|                                                                      |            |
|----------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>III.1.2. ADMET .....</b>                                          | <b>29</b>  |
| <b>III.1.2.1. Acide ascorbique .....</b>                             | <b>29</b>  |
| <b>III.1.2.2. Acide gallique .....</b>                               | <b>46</b>  |
| <b>III.2. Docking .....</b>                                          | <b>63</b>  |
| <b>III.2.1. Docking : protein 1N8Q / ACIDE ASCORBIQUE.....</b>       | <b>63</b>  |
| <b>III.2.2. Docking: protein 1N8Q / ACIDE Gallic.....</b>            | <b>64</b>  |
| <b>III.3. Synergie .....</b>                                         | <b>65</b>  |
| <b>III.3.1. Résultats bliss .....</b>                                | <b>65</b>  |
| <b>III.3.2. Résultats HSA .....</b>                                  | <b>67</b>  |
| <b>III.3.3. Résultats Loewe .....</b>                                | <b>68</b>  |
| <b>III.3.4. Résultats Zip .....</b>                                  | <b>70</b>  |
| <b>III.4. Discussion .....</b>                                       | <b>72</b>  |
| <b>III.4.1.DPPH .....</b>                                            | <b>72</b>  |
| <b>III.4.2.ADMET .....</b>                                           | <b>73</b>  |
| <b>III.4.3.Docking .....</b>                                         | <b>88</b>  |
| <b>III.4.4.Synergie .....</b>                                        | <b>95</b>  |
| <b>III.4.4.1. Présentation des Résultats Expérimentaux.....</b>      | <b>95</b>  |
| <b>III.4.4.2. Tableau récapitulatif des scores de synergie .....</b> | <b>96</b>  |
| <b>III.4.4.3. Analyse et Discussion par Modèle de Synergie.....</b>  | <b>96</b>  |
| <b>III.4.4.4. Discussion Mécanistique.....</b>                       | <b>99</b>  |
| <b>Conclusion générale.....</b>                                      | <b>106</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b>                              | <b>108</b> |

# **Introduction générale**

L'étude des propriétés bioactives des polyphénols d'origine naturelle est l'un des domaines les plus dynamiques de la recherche en pharmacologie actuelle. Parmi ces substances, l'acide ascorbique, également connu sous le nom de vitamine C, ainsi que l'acide gallique, un acide phénolique largement répandu dans le monde végétal, retiennent de plus en plus l'attention en raison de leurs promesses thérapeutiques impressionnantes et de leur faible toxicité (Nimse & Pal, 2015). Ces deux composés possèdent des mécanismes d'action complémentaires, notamment leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et à influencer différentes voies de signalisation cellulaire (Rice-Evans et al., 1996).

L'acide ascorbique réduit l' $\alpha$ -tocophérol oxydé, freine la peroxydation des lipides et protège l'ADN des dégâts causés par l'oxydation (Padayatty et al., 2003). L'acide gallique montre des effets antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiens et anticancéreux ; il agit surtout en bloquant les voies NF- $\kappa$ B et les métalloprotéinases de la matrice (Kahkeshani et al., 2019 ; Punithavathi et al., 2011). L'association de ces deux molécules pourrait engendrer un effet synergique susceptible d'améliorer leur efficacité biologique globale : leur action combinée dépasse la somme de leurs effets séparés. Ce phénomène peut être mesuré avec le Combination Index (CI < 1) selon le modèle de Chou-Talalay (Chou, 2006).

Dans ce contexte, la modélisation *in silico* occupe désormais une place centrale dans la recherche pharmaceutique, permettant une prédiction rapide et fiable des profils pharmacocinétiques et toxicologiques des composés bioactifs. Les paramètres ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) offrent une évaluation préliminaire de la biodisponibilité orale, de la perméabilité membranaire, du métabolisme hépatique via les cytochromes P450 (CYP), ainsi que de la cardiotoxicité potentielle évaluée par le blocage du canal hERG (Daina et al., 2017).

Parallèlement, docking moléculaire représente une approche computationnelle incontournable pour l'élucidation des interactions ligand-récepteur au niveau atomique. Cette technique permet de prédire la conformation de liaison d'une petite molécule au sein du site actif d'une cible macromoléculaire — enzyme, récepteur ou protéine régulatrice — et d'estimer l'affinité de liaison par calcul de l'énergie libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) (Trott & Olson, 2010).

La présente étude se propose d'évaluer, de manière intégrée, le potentiel synergique entre l'acide ascorbique et l'acide gallique à travers des tests biologiques *in vitro* (antiradicalaire DPPH), une caractérisation des profils ADMET par des outils bioinformatiques validés (SwissADME, pkCSM, ADMETlab 2.0), et une étude du docking moléculaire sur des cibles

thérapeutiques pertinentes (PDB : 1N8Q). Cette approche combinée in vitro/in silico vise à fournir des données rationnelles sur la complémentarité pharmacodynamique et pharmacocinétique de ces deux acides naturels, ouvrant la voie à leur valorisation potentielle en phytothérapie, en nutraceutique et en chimie médicinale.

Pour atteindre cet objectif, notre étude a été structurée en deux parties principales :

A/ La Partie I présente une synthèse bibliographique incluant les concepts clés : la synergie pharmacologique, le test DPPH, les paramètres ADMET, les techniques computationnelles et les propriétés des deux acides étudiés.

B/ La Partie II, à visée expérimentale, comprend deux chapitres : le Chapitre 1 décrit les matériels et méthodes utilisés (docking moléculaire via CB-Dock2, analyse ADMET via ADMETlab 2.0, évaluation de la synergie via CompuSyn, et test DPPH) ; le Chapitre 2 présente et discute les résultats obtenus.

Une conclusion générale synthétisera les principaux apports de ce travail.

# **Partie I :**

# **Synthèse bibliographique**

## **I.1. La Synergie Pharmacologique :**

### **I.1.1. Définition :**

Le terme « synergie » provient du grec « sunergía », qui signifie « coopération ». En pharmacologie, ce concept désigne un phénomène où l'effet combiné de deux agents ou plus dépasse la somme de leurs effets individuels (Chou, 2006). Ce principe contraste avec l'additivité, où l'effet combiné correspond exactement à la somme des effets, ainsi qu'avec l'antagonisme, où l'effet combiné est inférieur à cette somme (Meyer et al. 2019).

Dans la pratique, la synergie est généralement mesurée à l'aide d'un score  $\delta$  (delta), qui représente la différence entre l'effet observé de la combinaison et celui prédit par un modèle de référence. Un score  $\delta$  positif révèle une synergie, un score nul indique une additivité, et un score négatif signale un antagonisme (Foucquier & Guedj, 2015).

Sur le plan mathématique, si l'on considère deux agents produisant les effets E1 et E2, les relations suivantes s'appliquent :

- Synergie :  $E(d1 + d2) > E1(d1) + E2(d2)$
- Additivité :  $E(d1 + d2) = E1(d1) + E2(d2)$
- Antagonisme :  $E(d1 + d2) < E1(d1) + E2(d2)$

### **I.1.2. Domaines d'Application de la Synergie**

En oncologie, les protocoles de chimiothérapie associent systématiquement plusieurs agents cytotoxiques afin de tirer parti de leur synergie tout en limitant l'apparition de résistances. En infectiologie, l'utilisation combinée d'antibiotiques synergiques, tels que les bêtalactamines et les aminoglycosides, constitue un standard thérapeutique reconnu (Tamma et al., 2019).

En chimie verte, tirer profit des synergies entre molécules naturelles permet de diminuer les quantités nécessaires de chaque substance et de réduire leur impact environnemental (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Dans les industries cosmétique et alimentaire, les synergies antioxydantes entre polyphénols, vitamines et tocophérols sont exploitées de manière étendue. Par exemple, l'acide ascorbique régénère l'alpha-tocophérol oxydé, établissant une interaction synergique entre les compartiments lipidiques et aqueux (Niki, 1987).

## **I.2. Le test DPPH :**

### **I.2.1. Définition**

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), un radical libre stable de couleur violette intense, est largement utilisé pour mesurer l'activité antioxydante de diverses substances en

biologie, pharmacie et agroalimentaire, grâce à sa simplicité, rapidité et faible coût (Brand-Williams et al., 1995 ; Molyneux, 2004).

Le test DPPH évalue l'activité anti-radicalaire de composés purs ou mixtes. Son absorption maximale se situe à 517 nm ; sa formule chimique est  $C_{18}H_{12}N_5O_6$  et sa masse molaire est de 394,32 g/mol.

### I.2.2. Principe du Test

Le test repose sur la capacité de certaines molécules antioxydantes à transférer un atome d'hydrogène ou un électron au radical libre DPPH, entraînant sa réduction en DPPH-H, une forme de couleur jaune pâle, selon la réaction :



Plus la molécule étudiée présente une activité antiradicalaire importante, plus la baisse de l'absorbance à 517 nm est marquée (Huang et al., 2005). L'inhibition est déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_0 - A_x) / A_0] \times 100$$

où  $A_0$  correspond à l'absorbance initiale du DPPH et  $A_x$  à celle mesurée en présence de l'antioxydant (Prior et al., 2005). La capacité antiradicalaire est exprimée par l'IC50, c'est-à-dire la concentration nécessaire pour diminuer de 50 % la concentration initiale du radical DPPH (Kedare & Singh, 2011).

### I.2.3. Avantages du Test

- Simplicité et rapidité : Le protocole nécessite uniquement un spectrophotomètre UV-Visible et permet d'obtenir des résultats en moins d'une heure, ce qui le rend idéal pour le criblage à haut débit (Stratil et al., 2006).
- Stabilité du radical : À l'inverse des radicaux biologiques comme  $HO\cdot$  et  $O_2\cdot-$ , le radical DPPH est stable à température ambiante, assurant une meilleure reproductibilité des mesures (Pérez-Jiménez et al., 2008).
- Applicabilité universelle : Convient à une grande variété de matrices — extraits végétaux, composés purs, aliments fonctionnels ou produits cosmétiques — en milieu aqueux, éthanolique ou méthanolique (Huang et al., 2005).

### **I.3. Les techniques computationnelles :**

#### **I.3.1. Définition :**

Les techniques computationnelles sont des méthodes systématiques qui utilisent des algorithmes, des modèles mathématiques et des logiciels spécialisés pour analyser des problèmes scientifiques et techniques complexes. Elles reposent sur les principes de l'informatique tels que l'intelligence artificielle, l'apprentissage automatique et la simulation physique pour produire des résultats précis et rapides. Dans le domaine de la découverte de médicaments, ces techniques permettent d'examiner virtuellement des millions de composés chimiques avant les tests en laboratoire, optimisant considérablement le processus et réduisant jusqu'à 90 % les besoins en temps et en ressources dans certaines situations.

#### **I.3.2. Importance dans la Recherche Scientifique :**

Les techniques computationnelles jouent un rôle crucial dans l'accélération de l'innovation, en permettant la simulation des interactions moléculaires au niveau atomique avec une haute précision. Dans le contexte de la conception de médicaments, elles réduisent les échecs des composés aux stades cliniques en prédisant précocement leurs propriétés. Ces techniques s'appuient sur des bases de données massives telles que PubChem et la Protein Data Bank (PDB).

#### **I.3.3. Principales Techniques Computationnelles :**

##### ***a) Les ADMET***

La méthode ADMET est un modèle computationnel permettant de prédire les propriétés des médicaments dans l'organisme humain, couvrant cinq aspects fondamentaux : Absorption (traversée intestinale selon la règle de Lipinski), Distribution (volume de distribution dans les tissus), Métabolisme (interaction avec les CYP450), Excrétion (élimination rénale), et Toxicité (modèles QSAR). Appliquée via des plateformes comme pkCSM et SwissADME, elle permet de filtrer les composés prometteurs et d'augmenter le taux de succès en découverte de médicaments de l'ordre de 70 % (Lipinski et al., 2001).

##### ***b) La Synergie***

La méthode Synergie modélise les interactions coopératives entre composés médicamenteux pour optimiser l'efficacité thérapeutique sans hausse de dose, via des algorithmes

d'apprentissage automatique et l'indice de combinaison ( $CI < 1$  pour une synergie positive). Elle s'appuie sur des outils comme SynergyFinder et le logiciel CompuSyn (Chou, 2006).

### c) Le Docking Moléculaire

Le docking moléculaire est une technique fondamentale en bioinformatique pour simuler la liaison d'un ligand à un récepteur protéique. Il se compose de deux phases : (1) la Génération de poses, utilisant des algorithmes génétiques ou Monte Carlo pour générer des milliers de conformations possibles ; et (2) la Notation (Scoring), évaluant la liaison via des fonctions d'énergie (ex. AutoDock Score), où une liaison préférable présente une énergie plus faible ( $\Delta G < -7$  kcal/mol). Il est appliqué via des logiciels comme AutoDock Vina ou PyRx (Trott & Olson, 2010 ; Meng et al., 2011).

### I.3.4. Tableau Comparatif des Techniques Computationnelles :

Table 1 Comparatif des techniques computationnelles

| Méthode  | Utilisation principale                    | Logiciels courants             | Avantages principaux                               |
|----------|-------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------|
| ADMET    | Prédiction des propriétés des médicaments | pkCSM, SwissADME, ADMETlab 2.0 | Filtrage rapide, réduction des coûts               |
| Synergie | Étude de la synergie médicamenteuse       | SynergyFinder, CompuSyn        | Augmentation de l'efficacité, réduction des doses  |
| Docking  | Simulation de liaison moléculaire         | AutoDock Vina, PyRx, CB-Dock2  | Haute précision dans la prédiction de l'efficacité |

#### I.4. Les molécules étudiées :

##### I.4.1. L'Acide Gallique

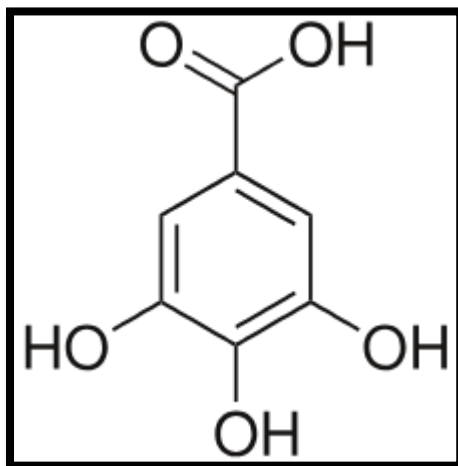


Figure 1 La structure chimique d'acide gallique

##### a) Propriétés physico-chimiques

L'acide gallique (AG), également dénommé acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque, est un acide phénolique naturel appartenant à la famille des acides hydroxybenzoïques. Sa formule moléculaire est  $C_7H_6O_5$ , sa masse molaire est de 170,12 g/mol et son point de fusion se situe entre 250 et 253 °C (avec décomposition) (Lekmine et al., 2023). Sa structure chimique est caractérisée par un noyau benzénique substitué par trois groupements hydroxyles en positions 3, 4 et 5, et un groupement carboxyle en position 1. Cette configuration pyrogallol lui confère une exceptionnelle capacité de donation d'atomes d'hydrogène et donc une puissante activité antiradicalaire. Paramètres physico-chimiques essentiels :  $pK_a = 4,4$  ;  $\log P = 0,70$  ;  $PSA = 97,99 \text{ \AA}^2$ .

##### b) Propriétés thérapeutiques et sources naturelles

L'acide gallique est omniprésent dans le règne végétal. Il est présent en grande abondance dans les galles de chêne (*Quercus infectoria*), les raisins, les grenades, les baies, le thé noir et vert (*Camellia sinensis*), les noix, ainsi que dans de nombreuses plantes médicinales. Il est le constituant de base de nombreux tanins hydrolysables comme l'acide tannique (Adefegha & Oboh, 2020).

L'acide gallique possède un spectre large d'activités biologiques : activité antioxydante ( $IC_{50}$  typiquement comprise entre 10 et 25  $\mu\text{g/mL}$  dans le test DPPH) (Nabavi et al., 2012) ; activité anticancéreuse par induction de l'apoptose dans diverses lignées cellulaires (MCF-7, A549, HL-60) via l'activation de voies mitochondriales et la modulation de p53 et Bcl-2 (Raza et al., 2013)

; activité anti-inflammatoire par inhibition de NF- $\kappa$ B et de la COX-2 (Manna et al., 1998) ; activité antimicrobienne à large spectre contre des bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Choi et al., 2011) ; activité neuroprotectrice dans des modèles de maladies neurodégénératives.

### c) Synthèse chimique

L'acide gallique peut être obtenu par deux voies principales : (1) L'extraction naturelle par hydrolyse acide ou basique des tanins galliques (notamment de l'acide tannique), suivi d'une récupération par précipitation et cristallisation. (2) La synthèse chimique par carboxylation de Kolbe-Schmitt à partir du pyrogallol, avec un rendement typique de 60 à 75 % (Mukherjee et al., 2013).

### I.4.2. L'Acide Ascorbique (Vitamine C) :

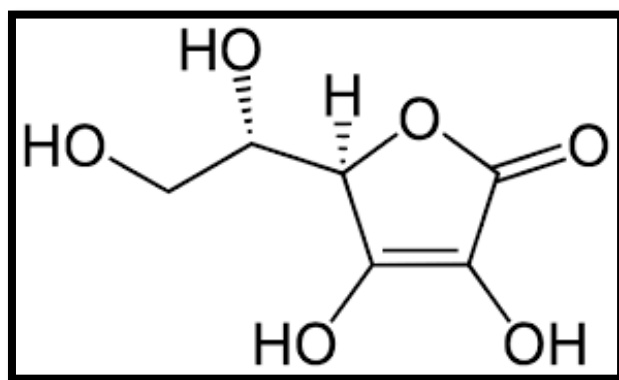


Figure 2 La structure chimique d'acide ascorbique (Vitamine C)

#### a) Propriétés physico-chimiques

L'acide ascorbique, plus connu sous le nom de vitamine C, est un antioxydant hydrosoluble essentiel pour l'organisme humain. Sa formule moléculaire est  $C_6H_8O_6$ , sa masse molaire est de 176,12 g/mol. Sa structure chimique comporte un noyau furanone avec deux fonctions émol adjacentes ( $-OH$  en C2 et C3) qui constituent le site antioxydant actif, facilement oxydable en dicétone (acide déhydroascorbique, DHA), réaction réversible in vivo (Padayatty et al., 2003). Propriétés physico-chimiques : point de fusion 190–192 °C ;  $pK_{a1} = 4,17$  ;  $pK_{a2} = 11,57$  ;  $\log P = -1,85$  (très hydrophile) ; solubilité dans l'eau à 25 °C = 330 g/L ;  $PSA = 107,22 \text{ \AA}^2$  (Meister, 1992).

#### b) Propriétés thérapeutiques

L'acide ascorbique est l'antioxydant hydrosoluble le plus important de l'organisme humain. Il neutralise directement les radicaux libres ( $HO\bullet$ ,  $O_2^{\bullet-}$ ,  $ROO\bullet$ ,  $\bullet NO_2$ ) dans les compartiments

aqueux de la cellule et du plasma. Il régénère l'alpha-tocophérol oxydé en réduisant le radical tocophéroxyle, créant ainsi une synergie antioxydante essentielle entre les compartiments lipidiques et aqueux de la cellule (Buettner, 1993 ; Niki, 1987).

L'acide ascorbique est également un cofacteur irremplaçable des hydroxylases dépendantes du  $\text{Fe}^{2+}$  impliquées dans la synthèse du collagène (prolyl-4-hydroxylase), la biosynthèse de la carnitine et la synthèse des catécholamines (Levine et al., 1996). Il stimule la production et la fonction des leucocytes, améliore la mobilité des neutrophiles et renforce l'activité phagocytaire (Wintergerst et al., 2006). À des concentrations pharmacologiques obtenues uniquement par voie intraveineuse, il exerce une activité pro-oxydante sélective sur les cellules cancéreuses via la production de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Padayatty et al., 2004).

### ***c) Synthèse chimique — Procédé Reichstein-Grüssner***

Ce procédé industriel débute par l'hydrogénation catalytique du D-glucose en D-sorbitol, suivie d'une oxydation microbiologique par *Acetobacter suboxydans* en L-sorbose. Une protection diacétonique du L-sorbose conduit au diacétone-L-sorbose, qui est ensuite oxydé chimiquement ( $\text{KMnO}_4$  ou  $\text{NaOCl}$ ) en acide diacétone-2-céto-L-gulonique. L'hydrolyse acide ou basique et la lactonisation spontanée donnent finalement l'acide L-ascorbique (Boudrant et al., 2021).

## **I.5. Les paramètres ADMET :**

L'acronyme ADMET désigne les processus d'Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité qu'un composé bioactif subit dans l'organisme. L'évaluation *in silico* des propriétés ADMET est devenue incontournable dans le développement de nouveaux médicaments et nutraceutiques, permettant de prédire précocement les chances de succès d'une molécule avant d'engager des études *in vivo* coûteuses (Lipinski et al., 2001).

- Absorption : Transfert du principe actif depuis le site d'administration jusqu'à la circulation systémique. Les facteurs influençant ce processus incluent la solubilité aqueuse, la perméabilité membranaire et les conditions physiologiques du tractus gastro-intestinal (Li et al., 2020 ; Xiong et al., 2021).
- Distribution : Déplacement du médicament dans l'organisme vers les tissus et organes cibles, modulé par la liaison aux protéines plasmatiques, la lipophilie et la capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique (Xiong et al., 2021).
- Métabolisme : Transformation biologique du médicament, principalement au niveau hépatique, en métabolites actifs, inactifs ou toxiques. Phase I (oxydation, réduction,

hydrolyse) et Phase II (conjugaison avec glucuronate, sulfate) (Xiong et al., 2021 ; Cheng et al., 2012).

- Excrétion : Élimination du médicament et de ses métabolites de l'organisme, majoritairement via les voies rénales (urines) ou hépatiques (bile). Dépend de la polarité et de l'affinité pour les protéines de transport (Pires et al., 2015 ; Xiong et al., 2021).
- Toxicité : Évaluation de la sécurité du médicament incluant les effets génotoxiques, hépatotoxiques ou reprotoxiques. La détection précoce de ces effets indésirables est cruciale pour optimiser le profil de sûreté des molécules candidates (Zhang et al., 2017 ; Xiong et al., 2021).

### I.5.1. Tableau Comparatif ADMET : Acide Gallique vs Acide Ascorbique :

*Table 2 Comparatif ADMET -Acide gallique vs Acide ascorbique*

| Paramètre ADMET        | Acide Gallique (AG)                          | Acide Ascorbique (AA)                        |
|------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Formule                | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> |
| Masse molaire          | 170,12 g/mol                                 | 176,12 g/mol                                 |
| logP                   | 0,70                                         | -1,85                                        |
| PSA (Å <sup>2</sup> )  | 97,99                                        | 107,22                                       |
| pKa                    | 4,4                                          | 4,17 / 11,57                                 |
| Solubilité             | Modérée                                      | Très élevée (330 g/L)                        |
| Biodisponibilité orale | Modérée                                      | Élevée                                       |
| Perméabilité BBB       | Faible                                       | Très faible                                  |
| Inhibiteur CYP450      | Non significatif                             | Non significatif                             |
| Toxicité hERG          | Faible risqué                                | Faible risque                                |

Les résultats du tableau montrent que l'acide gallique (AG) et l'acide ascorbique (AA) possèdent des profils ADMET favorables, caractérisés par une faible toxicité et une absence significative d'inhibition des enzymes CYP450. L'acide ascorbique se distingue par une meilleure solubilité et une biodisponibilité orale plus élevée, tandis que l'acide gallique présente une lipophilie légèrement supérieure. Dans l'ensemble, ces deux composés présentent des caractéristiques pharmacocinétiques compatibles avec une utilisation sûre et prometteuse dans des applications thérapeutiques potentielles.

**I.6. Activité antioxydante et stress oxydatif :**

Les radicaux libres se forment dans nos cellules ou par des éléments extérieurs, comme la pollution, les rayonnements ou la fumée de cigarette. Lorsqu'ils s'accumulent, ils produisent du stress oxydatif qui endommage les lipides, les protéines et l'ADN, causant des maladies cardiovasculaires, cancéreuses ou neurodégénératives (Chandimali et al., 2025 ; Blagov et al., 2024).

Les antioxydants protègent l'organisme en neutralisant ces radicaux libres soit par donation d'électrons, soit par inhibition des enzymes productrices de radicaux. On distingue deux types : les antioxydants enzymatiques (SOD, catalase, glutathion peroxydase) et les antioxydants non enzymatiques (vitamines C et E, flavonoïdes, polyphénols) (Blagov et al., 2024 ; Chaudhary et al., 2023).

Les antioxydants enzymatiques, tels que la superoxyde dismutase (SOD), convertissent le radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène, ensuite transformé en eau et en oxygène grâce à la catalase et la glutathion peroxydase. Quant aux antioxydants non enzymatiques, ils interviennent directement en neutralisant les radicaux libres, contribuant ainsi à la protection des structures cellulaires contre les dommages oxydatifs.

# **Partie II :**

## **Partie expérimentale**

# **Chapitre 1 :**

# **Méthodes et Matériels**

## II.1. Méthodes et Matériels

### II.1.1. Piégeage du radical DPPH :

L'activité antiradicalaire au DPPH est déterminée selon la méthode décrite par (Blois, 1958). Le mélange contient 160 µl d'une solution du DPPH• et 40 µl de différentes concentrations de la molécule sur une microplaque à 96 puits. Le témoin (contrôle négatif) a été préparé selon le même, sauf que le solvant d'extraction (méthanol) a été utilisé à la place de l'extrait. Le mélange a été incubé à une température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le BHA, le BHT et α-Tocopherol ont été utilisés comme standards. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{mol}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

A contrôle : absorbance du contrôle

A molécule : absorbance de la molécule

*Table 3 Activité anti-oxydante( IC<sub>50</sub> ) des molécules étudiées et des standards par le test DPPH*

|           | % Inhibition in DPPH assay |
|-----------|----------------------------|
| Molécules | IC <sub>50</sub> µg/Ml     |
| Mol 1     | 9.3                        |
| Mol 2     | 7                          |
| BHT       | 22.32                      |
| BHA       | 5.73                       |

### II.1.2. La synergie :

Le même protocole, mais on prend 20 µl de chaque molécule, c'est-à-dire au lieu de prendre 40 µl de la même molécule on met 20 µl Mol 1 + 20 µl Mol 2.

### II.1.3. Le docking :

La protéine cible utilisée dans cette étude est identifiée par le code PDB 1N8Q (Protein Data Bank, [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org) 13/04/2026). Cette structure tridimensionnelle, résolue par cristallographie aux rayons X, a été sélectionnée comme cible biologique pertinente pour l'étude des interactions moléculaires des antioxydants phénoliques. La protéine 1N8Q est impliquée dans des voies enzymatiques liées au métabolisme des composés phénoliques et au stress

oxydatif. Sa résolution cristallographique est suffisante pour permettre une étude de docking fiable avec AutoDock Vina. Les fichiers de structure 3D des deux ligands ont été téléchargés depuis PubChem en format SDF 3D Conformer, puis convertis au format PDB pour leur soumission au serveur de docking.

Le docking moléculaire a été réalisé à l'aide du serveur web CB-Dock2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/>), qui implémente l'algorithme AutoDock Vina pour le mode « Structure-based Blind Docking ». CB-Dock2 utilise la détection automatique de cavités par l'algorithme CurPocket pour identifier les poches de liaison potentielles sur la surface protéique, sans nécessiter de définition manuelle de la boîte de docking (Benet & Hoener, 1989). Le moteur de scoring AutoDock Vina évalue chaque pose en kcal/mol : une valeur plus négative indique une plus grande affinité de liaison prédite (Berenbaum, 1989).

#### II.1.4. ADMET :

Le fonctionnement de l'ADMET repose sur l'anticipation des caractéristiques pharmacocinétiques et toxicologiques des substances chimiques avant la conduite d'expérimentations biologiques ou cliniques, dans le but d'évaluer leur aptitude à devenir des candidats-médicaments (Pires et al, 2015). L'acronyme ADMET désigne cinq paramètres clés : Absorption, Distribution, Metabolism (métabolisme), Excretion (excrétion) et Toxicity (toxicité) (Pires et al, 2015). Ces attributs constituent des critères déterminants lors de la conception et de la découverte de nouvelles entités thérapeutiques, car l'efficacité d'un composé dépend non seulement de son affinité pour la cible biologique, mais aussi de son comportement pharmacocinétique au sein de l'organisme (Lipinski et al, 2001).

Les logiciels dédiés à l'ADMET débutent par l'analyse de la structure moléculaire à partir de formats standardisés tels que SMILES, SDF ou MOL. Ils recourent ensuite à des algorithmes informatiques, à des modèles d'intelligence artificielle et à des bases de données pharmacologiques pour estimer les propriétés physico-chimiques et biologiques des composés (Wang et al, 2019). Ces approches s'appuient essentiellement sur la méthodologie QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship), qui corrèle la structure chimique à l'activité biologique des molécules (Daina et al, 2017).

Lors de l'évaluation de l'absorption, les logiciels examinent la capacité du composé à franchir les membranes biologiques et à atteindre la circulation systémique, en analysant notamment la solubilité, la perméabilité intestinale et l'absorption gastro-intestinale (Pires et al, 2015). Pour la distribution, les outils ADMET projettent la répartition du composé au sein des tissus et

organes, ainsi que sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique ou à se lier aux protéines plasmatiques (Lipinski et al, 2001).

Concernant le métabolisme, les plateformes ADMET investiguent les interactions potentielles entre le composé et les enzymes hépatiques, en particulier les isoenzymes du cytochrome P450, afin de prédire la formation éventuelle de métabolites actifs ou toxiques (Wang et al, 2019). L'étape d'excrétion vise à anticiper les voies d'élimination—rénale ou hépatique—et la persistance du composé dans l'organisme (Pires et al, 2015).

L'évaluation de la toxicité constitue une phase cruciale de l'analyse ADMET. Les logiciels permettent de prédire divers effets toxiques possibles, tels que l'hépatotoxicité, la mutagénicité, la cancérogénicité et la cardiotoxicité (Lipinski et al, 2001). Ces estimations facilitent l'élimination précoce des molécules présentant un risque élevé, contribuant ainsi à réduire les coûts et la durée du développement pharmaceutique (Wang et al, 2019).

Les outils ADMET sont fréquemment intégrés aux études de modélisation moléculaire et de docking, puisqu'ils aident à sélectionner, avant les essais in vitro et in vivo, les composés les plus prometteurs et les mieux tolérés (Daina et al, 2017). Parmi les plateformes couramment employées se trouvent SwissADME, pkCSM et admetSAR.

# **Chapitre 2 : Résultats et Discussion**

**III.1. Résultats :****III.1.1. DPPH :***Table 4 Résultats du test DPPH*

|           | % Inhibition in DPPH assay |
|-----------|----------------------------|
| Molécules | IC <sub>50</sub> µg/mL     |
| Mol 1     | 9.3                        |
| Mol 2     | 7                          |
| BHT       | 22.32                      |
| BHA       | 5.73                       |

**III.1.2. ADMET :****III.1.2.1. Acide ascorbique :**▪ **Physicochemical Property***Table 5 Propriétés physico-chimiques de l'acide ascorbique (paramètres ADMET)*

| Property         | Value   | Comment                                           |
|------------------|---------|---------------------------------------------------|
| Molecular Weight | 176.03  | Contain hydrogen atoms. Optimal:100~600           |
| Volume           | 151.244 | Van der Waals volume                              |
| Density          | 1.164   | Density = MW / Volume                             |
| nHA              | 6.0     | Number of hydrogen bond acceptors. Optimal:0~12   |
| nHD              | 4.0     | Number of hydrogen bond donors. Optimal:0~7       |
| nRot             | 2.0     | Number of rotatable bonds. Optimal:0~11           |
| nRing            | 1.0     | Number of rings. Optimal:0~6                      |
| MaxRing          | 5.0     | Number of atoms in the biggest ring. Optimal:0~18 |
| nHet             | 6.0     | Number of heteroatoms. Optimal:1~15               |
| fChar            | 0.0     | Formal charge. Optimal:-4 ~4                      |
| nRig             | 6.0     | Number of rigid bonds. Optimal:0~30               |
| Flexibility      | 0.333   | Flexibility = nRot /nRig                          |
| Stereo Centers   | 2.0     | Stereo Centers. Optimal: □ 2                      |
| TPSA             | 107.22  | Topological Polar Surface Area. Optimal:0~140     |

|               |         |                                                                                                                                                                                                   |
|---------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| logS          | 0.232   | The logarithm of aqueous solubility value.                                                                                                                                                        |
| logP          | -1.707  | The logarithm of the n-octanol/water distribution coefficients at pH=7.4.                                                                                                                         |
| logD          | -1.244  | The logarithm of the n-octanol/water distribution coefficient.                                                                                                                                    |
| pka (Acid)    | 6.381   | Acid-base dissociation constant (pKa) value represents the strength of a drug molecule's acidity or basicity.                                                                                     |
| pka (Base)    | 4.758   | Acid-base dissociation constant (pKa) value represents the strength of a drug molecule's acidity or basicity.                                                                                     |
| Melting point | 154.469 | The predicted melting point of a compound is expressed in degrees Celsius (°C).<br>Melting points below 25°C are classified as liquids, while melting points above 25°C are classified as solids. |
| Boiling point | 280.957 | The predicted melting point of a compound is expressed in degrees Celsius (°C).<br>A normal boiling point below 25°C is categorized as a gas.                                                     |

### ▪ Medicinal Chemistry

Table 6 Propriétés de chimie médicanale de l'acide ascorbique (paramètres ADMET)

| Property | Value | Decision | Comment                                                                                                                                                                   |
|----------|-------|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| QED      | 0.385 | ●        | <p>A measure of drug-likeness based on the concept of desirability;</p> <p>■ Attractive: &gt; 0.67;</p> <p>■ unattractive: 0.49~0.67;</p> <p>■ too complex: &lt; 0.34</p> |
| GASA     | 0.0   | ●        | <p>■ ES: Easy to synthesize; HS: Hard to synthesize;</p>                                                                                                                  |

|               |        |   |                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------|--------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|               |        |   | <p>The output value represents the probability of being difficult to synthesize, ranging from 0 to 1.</p>                                                                                                                       |
| Synth         | 3.0    | ● | <p>Synthetic accessibility score is designed to estimate ease of synthesis of drug-like molecules.</p> <p>■ SAscore <math>\geq 6</math>, difficult to synthesize; SAscore <math>&lt; 6</math>, easy to synthesize</p>           |
| Fsp3          | 0.5    | ● | <p>The number of sp<sup>3</sup> hybridized carbons / total carbon count, correlating with melting point and solubility.</p> <p>■ Fsp<sup>3</sup> <math>\geq 0.42</math> is considered a suitable value.</p>                     |
| MCE-18        | 17.778 | ● | <p>MCE-18 stands for medicinal chemistry evolution.</p> <p>■ MCE-18 <math>\geq 45</math> is considered a suitable value.</p>                                                                                                    |
| NPscore       | 2.263  | - | <p>■ Natural product-likeness score.</p> <p>■ This score is typically in the range from -5 to 5.</p> <p>■ The higher the score is, the higher the probability is that the molecule is a NP.</p>                                 |
| Lipinski Rule | 0.0    | ● | <p>■ MW <math>\leq 500</math>; logP <math>\leq 5</math>; Hacc <math>\leq 10</math>; Hdon <math>\leq 5</math></p> <p>■ If two properties are out of range, a poor absorption or permeability is possible, one is acceptable.</p> |
| Pfizer Rule   | 0.0    | ● | <p>■ logP <math>&gt; 3</math>; TPSA <math>&lt; 75</math></p> <p>■ Compounds with a high log P (<math>&gt; 3</math>) and low TPSA (<math>&lt; 75</math>) are likely to be toxic.</p>                                             |
| GSK Rule      | 0.0    | ● | <p>■ MW <math>\leq 400</math>; logP <math>\leq 4</math></p> <p>■ Compounds satisfying the GSK rule may have</p>                                                                                                                 |

|                       |          |   |                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------------|----------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                       |          |   | a more favorable ADMET profile                                                                                                                                                                     |
| Golden Triangle       | 1.0      | ● | <p>■ 200 □ MW □ 500; -2 □ logD □ 5</p> <p>Compounds satisfying the Golden Triangle rule may have a more favorable ADMET profile.</p>                                                               |
| PAINS                 | 0 alerts | - | frequent hitters, Alpha-screen artifacts and reactive compound 480 substructures (J Med Chem 201053:2719-40)                                                                                       |
| ALARM NMR             | 2 alerts | - | Thiol reactive compounds.                                                                                                                                                                          |
| BMS                   | 0 alerts | - | undesirable, reactive compounds 176 substructures (J Chem Inf Model 200646:1060-8)                                                                                                                 |
| Chelator Rule         | 0 alerts | - | Chelating compounds.                                                                                                                                                                               |
| Colloidal aggregators | 0.027    | - | <p>■ Category 0: non-colloidal aggregators;</p> <p>■ Category 1: colloidal aggregators.</p> <p>The output value is the probability of being colloidal aggregators, within the range of 0 to 1.</p> |

|                    |       |   |                                                                                                                                                                                        |
|--------------------|-------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FLuc inhibitors    | 0.0   | ● | <p>■ Category 0: non-fLuc inhibitors;</p> <p>■ Category 1: fLuc inhibitors.</p> <p>The output value is the probability of being fLuc inhibitors, within the range of 0 to 1.</p>       |
| Blue fluorescence  | 0.146 | ● | <p>■ Category 0: non-blue fluorescence;</p> <p>■ Category 1: blue fluorescence.</p> <p>The output value is the probability of being blue fluorescence, within the range of 0 to 1.</p> |
| Green fluorescence | 0.0   | ● | <p>■ Category 0: non-green fluorescence;</p> <p>■ Category 1: green fluorescence.</p> <p>The output value is the probability of</p>                                                    |

|                       |       |   |                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                       |       |   | being green fluorescence, within the range of 0 to 1.                                                                                                                                           |
| Reactive compounds    | 0.717 | ● | <p>■ Category 0: non-reactive compound;</p> <p>■ Category 1: reactive compound.</p> <p>The output value is the probability of being reactive compound, within the range of 0 to 1.</p>          |
| Promiscuous compounds | 0.684 | ● | <p>■ Category 0: non-promiscuous compound;</p> <p>■ Category 1: promiscuous compound.</p> <p>The output value is the probability of being promiscuous compound, within the range of 0 to 1.</p> |

▪ **Absorption :**

*Table 7 propriétés absorption de l'acide ascorbique*

| Property            | Value  | Decision | Comment                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------|--------|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Caco-2 Permeability | -6.009 | ●        | Optimal: higher than -5.15 Log unit                                                                                                                                                                                                                                                  |
| MDCK Permeability   | -4.808 | ●        | <p>■ low permeability: <math>&lt; 2 \times 10^{-6}</math> cm/s</p> <p>■ medium permeability: <math>2-20 \times 10^{-6}</math> cm/s</p> <p>■ high passive permeability: <math>&gt; 20 \times 10^{-6}</math> cm/s</p>                                                                  |
| PAMPA               | 0.976  | ●        | <p>The experimental data for Peff was logarithmically transformed (logPeff).</p> <p>Molecules with log Peff values below 2.0 were classified as low-permeability (Category 0), while those with log Peff values exceeding 2.5 were classified as high-permeability (Category 1).</p> |
| Pgp-inhibitor       | 0.0    | ●        | <p>■ Category 1: Inhibitor;</p> <p>■ Category 0: Non-inhibitor;</p>                                                                                                                                                                                                                  |

|               |       |   |                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------|-------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|               |       |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ The output value is the probability of being Pgp-inhibitor</li> </ul>                                                                                                                        |
| Pgp-substrate | 0.048 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: substrate;</li> <li>■ Category 0: Non-substrate;</li> <li>■ The output value is the probability of being Pgp-substrate</li> </ul>                                                |
| HIA           | 0.22  | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Human Intestinal Absorption</li> <li>■ Category 1: HIA+( HIA &lt; 30%);</li> <li>■ Category 0: HIA-( HIA &gt;= 30%);</li> <li>■ The output value is the probability of being HIA+</li> </ul> |

|            |       |   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------|-------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $F_{20\%}$ | 0.238 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 20% Bioavailability</li> <li>■ Category 1: <math>F_{20\%} + (\text{bioavailability} &lt; 20\%)</math>;</li> <li>■ Category 0: <math>F_{20\%} - (\text{bioavailability} \square 20\%)</math>;</li> <li>■ The output value is the probability of being <math>F_{20\%}</math></li> </ul> <p style="text-align: right;">+</p> |
| $F_{30\%}$ | 0.699 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 30% Bioavailability</li> <li>■ Category 1: <math>F_{30\%} + (\text{bioavailability} &lt; 30\%)</math>;</li> <li>■ Category 0: <math>F_{30\%} - (\text{bioavailability} \square 30\%)</math>;</li> <li>■ The output value is the probability of being <math>F_{30\%}</math></li> </ul> <p style="text-align: right;">+</p> |
| $F_{50\%}$ | 0.837 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 50% Bioavailability</li> <li>■ Category 1: <math>F_{50\%} + (\text{bioavailability} &lt; 50\%)</math>;</li> <li>■ Category 0: <math>F_{50\%} - (\text{bioavailability} \square 50\%)</math>;</li> <li>■ The output value is the probability of being <math>F_{50\%}</math></li> </ul> <p style="text-align: right;">+</p> |

▪ **Distribution**

*Table 8 propriétés distribution de l'acide ascorbique*

| Property          | Value  | Decision | Comment                                                                                                                                      |
|-------------------|--------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PPB               | 39.176 | ●        | ■ Plasma Protein Binding<br>Optimal: < 90%.<br>■ Drugs with high protein-bound may have a low therapeutic index.                             |
| VDss              | -0.449 | ●        | ■ Volume Distribution<br>■ Optimal: 0.04-20L/kg                                                                                              |
| BBB               | 0.685  | ●        | ■ Blood-Brain Barrier Penetration<br>■ Category 1: BBB+; Category 0: BBB-;<br>■ The output value is the probability of being BBB+            |
| Fu                | 63.548 | ●        | ■ The fraction unbound in plasms<br>■ Low: <5%; Middle: 5~20%; High: > 20%                                                                   |
| OATP1B1 Inhibitor | 0.989  | ●        | ■ Category 0: Non-inhibitor; Category 1: inhibitor.<br>■ The output value is the probability of being inhibitor, within the range of 0 to 1. |
| OATP1B3 Inhibitor | 0.994  | ●        | ■ Category 0: Non-inhibitor; Category 1: inhibitor.<br>■ The output value is the probability of being inhibitor, within the range of 0 to 1. |
| BCRP Inhibitor    | 0.115  | ●        | ■ Category 0: Non-inhibitor; Category 1: inhibitor.<br>■ The output value is the probability of being inhibitor, within the range of 0 to 1. |
| MRP1 inhibitor    | 0.337  | ●        | ■ Category 0: Non-inhibitor; Category 1: inhibitor.<br>■ The output value is the probability of being inhibitor, within the range of 0 to 1. |

▪ **Metabolism**

*Table 9 propriétés métabolisme de l'acide ascorbique*

| Property            | Value | Decision | Comment                                                                                                                     |
|---------------------|-------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CYP1A2<br>Inhibitor | 0.083 | ●        | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p> |

|                      |       |   |                                                                                                                             |
|----------------------|-------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CYP1A2<br>substrate  | 0.001 | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p> |
| CYP2C19<br>inhibitor | 0.0   | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p> |
| CYP2C19<br>substrate | 0.001 | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p> |
| CYP2C9<br>inhibitor  | 0.01  | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p> |
| CYP2C9<br>substrate  | 0.626 | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p> |
| CYP2D6<br>inhibitor  | 0.005 | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p> |

|                  |       |   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CYP2D6 substrate | 0.003 | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p>                                                                                                                                                                                            |
| CYP3A4 inhibitor | 0.001 | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p>                                                                                                                                                                                            |
| CYP3A4 substrate | 0.001 | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p>                                                                                                                                                                                            |
| CYP2B6 inhibitor | 0.025 | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p>                                                                                                                                                                                            |
| CYP2B6 substrate | 0.0   | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p>                                                                                                                                                                                            |
| CYP2C8 inhibitor | 0.1   | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p>                                                                                                                                                                                            |
| HLM Stability    | 0.247 | ● | <p>■ human liver microsomal (HLM) stability</p> <p>■ Category 0: stable+ (HLM &gt; 30 min); Category 1: unstable- (HLM ≤ 30 min). The output value is the probability of human liver microsomal instability, where a value closer to 1 indicates a higher likelihood of instability. The range is between 0 and 1.</p> |

### ▪ Excretion

Table 10 propriétés excrétion de l'acide ascorbique

| Property             | Value | Decision | Comment                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------------|-------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CL <sub>plasma</sub> | 5.51  | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>The unit of predicted CL<sub>plasma</sub> penetration is ml/min/kg. &gt;15 ml/min/kg: high clearance; 5-15 ml/min/kg: moderate clearance; &lt; 5 ml/min/kg: low clearance.</li> </ul>                                                                                                                  |
| T <sub>1/2</sub>     | 2.325 | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>The unit of predicted T<sub>1/2</sub> is hours.</li> <li>ultra-short half-life drugs: 1/2 &lt; 1 hour; short half-life drugs: T<sub>1/2</sub> between 1-4 hours; intermediate short half-life drugs: T<sub>1/2</sub> between 4-8 hours; long half-life drugs: T<sub>1/2</sub> &gt; 8 hours.</li> </ul> |

### ▪ Toxicity

Table 11 propriétés toxicité de l'acide ascorbique

| Property             | Value | Decision | Comment                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------|-------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| hERG Blockers        | 0.006 | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>Molecules with IC<sub>50</sub> ≤ 10<sup>-6</sup> M or ≥ 50% inhibition at 10<sup>-6</sup> M were classified as hERG+ (Category 1),</li> <li>while molecules with IC<sub>50</sub> &gt; 10<sup>-6</sup> M or &lt; 50% inhibition at 10<sup>-6</sup> M were classified as hERG - (Category 0).</li> <li>The output value is the probability of being hERG+, within the range of 0 to 1.</li> </ul> |
| hERG Blockers (10um) | 0.019 | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>Molecules with IC<sub>50</sub> ≤ 10<sup>-6</sup> M are classified as hERG+ (Category 1),</li> <li>and molecules with IC<sub>50</sub> &gt; 10<sup>-6</sup> M are classified as hERG- (Category 0).</li> <li>The output value is the probability of being hERG+, within the range of 0 to 1.</li> </ul>                                                                                           |

|                                      |       |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DILI                                 | 0.65  |    | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Drug Induced Liver Injury.</li> <li>■ Category 1: drugs with a high risk of DILI;</li> <li>■ Category 0: drugs with no risk of DILI.</li> <li>■ The output value is the probability of being toxic.</li> </ul>                            |
| AMES<br>Muta<br>genicity             | 0.45  |    | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ AMES Toxicity</li> <li>■ Category 1: Ames positive(+);</li> <li>■ Category 0: Ames negative(-);</li> <li>■ The output value is the probability of being toxic.</li> </ul>                                                                 |
| Rat<br>Oral<br>Acute<br>Toxicit<br>y | 0.084 |    | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Rat Oral Acute Toxicity.</li> <li>■ Category 0: low-toxicity, &gt; 500 mg/kg;</li> <li>■ Category 1: high-toxicity; &lt; 500 mg/kg.</li> <li>■ The output value is the probability of being toxic, within the range of 0 to 1.</li> </ul> |
| FDAMDD                               | 0.029 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ FDA Maximum (Recommended) Daily Dose.</li> <li>■ Category 1: FDAMDD (+);</li> <li>■ Category 0: FDAMDD (-);</li> <li>■ The output value is the probability of being positive.</li> </ul>                                                  |
| Skin<br>Sensiti<br>zation            | 0.967 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: Sensitizer;</li> <li>■ Category 0: Non-sensitizer.</li> <li>■ The output value is the probability of being toxic, within the range of 0 to 1.</li> </ul>                                                                      |
| Carcinogeni<br>city                  | 0.314 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: carcinogens;</li> <li>■ Category 0: non-carcinogens;</li> <li>■ The output value is the probability of being toxic.</li> </ul>                                                                                                |

|                             |       |                                                                                     |                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Eye Corrosion               | 0.103 |    | <p>■ Eye Corrosion</p> <p>■ Category 1: corrosives;</p> <p>■ Category 0: noncorrosives;</p> <p>■ The output value is the probability of being corrosives.</p>                        |
| Eye Irritation              | 0.979 |    | <p>■ Eye Irritation</p> <p>■ Category 1: irritants;</p> <p>■ Category 0: nonirritants;</p> <p>■ The output value is the probability of being irritants.</p>                          |
| Respiratory                 | 0.066 |    | <p>■ Category 1: respiratory toxicants;</p> <p>■ Category 0: non-respiratory toxicants.</p> <p>■ The output value is the probability of being toxic, within the range of 0 to 1.</p> |
| Human Hepatotoxicity        | 0.753 |  | <p>■ Human Hepatotoxicity</p> <p>■ Category 1: H-HT positive(+);</p> <p>■ Category 0: H-HT negative(-);</p> <p>■ The output value is the probability of being toxic.</p>             |
| Drug-induced Nephrotoxicity | 0.785 |  | <p>■ Category 0: non-nephrotoxic (-);</p> <p>■ Category 1: nephrotoxic (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being nephrotoxic (+), within the range of 0 to 1.</p>   |
| Ototoxicity                 | 0.67  |  | <p>■ Category 0: non-ototoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: ototoxicity (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p>   |

|                                        |       |                                                                                     |                                                                                                                                                                                           |
|----------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hematotoxicity                         | 0.177 |    | <p>■ Category 0: non-hematotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: hematotoxicity (+).</p> <p>The output value is the probability of being hematotoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p> |
| Genotoxicity                           | 0.24  |    | <p>■ Category 0: non-Genotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: Genotoxicity (+).</p> <p>The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p>        |
| RPMI-8226<br>Immunitoxi<br>ci ty       | 0.037 |    | <p>■ Category 0: non-cytotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: cytotoxicity (+).</p> <p>The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p>        |
| A549<br>Cytotoxicity                   | 0.006 |  | <p>■ Category 0: non-cytotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: cytotoxicity (+).</p> <p>The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p>        |
| Hek293<br>Cytotoxicity                 | 0.006 |  | <p>■ Category 0: non-cytotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: cytotoxicity (+).</p> <p>The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p>        |
| Drug-<br>induce d<br>Neurotoxi<br>city | 0.048 |  | <p>■ Category 0: non-neurotoxic (-);</p> <p>■ Category 1: neurotoxic (+).</p> <p>The output value is the probability of being neurotoxic (+), within the range of 0 to 1.</p>             |

▪ **Environmental toxicity**

*Table 12 profil de toxicité environnementale de l'acide ascorbique*

| Property                 | Value | Comment                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bioconcentration Factors | 0.148 | <p>Bioconcentration factors are used for considering secondary poisoning potential and assessing risks to human health via the food chain.</p> <p>■ The unit is <math>\square \log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \cdot \text{MW})]</math></p> |
| IGC <sub>50</sub>        | 2.563 | <p>Tetrahymena pyriformis 50 percent growth inhibition concentration.</p> <p>■ The unit is <math>\square \log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \cdot \text{MW})]</math></p>                                                                      |
| LC <sub>50</sub> FM      | 3.099 | <p>■ 96-hour fathead minnow 50 percent lethal concentration.</p> <p>■ The unit is <math>\square \log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \cdot \text{MW})]</math></p>                                                                               |
| LC <sub>50</sub> DM      | 3.698 | <p>■ 48-hour daphnia magna 50 percent lethal concentration.</p> <p>■ The unit is <math>\square \log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \cdot \text{MW})]</math></p>                                                                                |

▪ **Tox21 pathway**

*Table 13 profil d'activité de l'acide ascorbique sur les récepteurs nucléaires (Tox 21 pathway)*

| Property | Value | Decision | Comment                                                                                                                                                         |
|----------|-------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NR-AhR   | 0.001 | ●        | <p>■ Aryl hydrocarbon receptor</p> <p>■ Category 1: actives ;</p> <p>■ Category 0: inactives;</p> <p>■ The output value is the probability of being active.</p> |
| NR-AR    | 0.006 | ●        | <p>■ Androgen receptor</p> <p>■ Category 1: actives ;</p> <p>■ Category 0: inactives;</p> <p>■ The output value is the probability of being active.</p>         |

|               |       |   |                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------|-------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NR-AR-LBD     | 0.001 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Androgen receptor ligand-binding domain</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>          |
| NR-Aromatase  | 0.0   | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>                                                             |
| NR-ER         | 0.063 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Estrogen receptor</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>                                |
| NR-ER-LBD     | 0.002 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Estrogen receptor ligand-binding domain</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>          |
| NR-PPAR-gamma | 0.0   | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul> |
| SR-ARE        | 0.033 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Antioxidant response element</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>                     |

|          |       |   |                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------|-------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SR-ATAD5 | 0.0   | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ ATPase family AAA domain-containing protein 5</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul> |
| SR-HSE   | 0.002 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Heat shock factor response element</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>            |
| SR-MMP   | 0.011 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Mitochondrial membrane potential</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>              |
| SR-p53   | 0.001 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ p53, a tumor suppressor protein</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>               |

▪ **Toxicophore Rules**

*Table 14 évaluation des règles toxicophores de l'acide ascorbique*

| Property                       | Value    | Comment                                                                                                                    |
|--------------------------------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Acute Toxicity Rule            | 0        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 20 substructures;</li> <li>■ acute toxicity during oral administration</li> </ul> |
| Genotoxic Carcinogenicity Rule | 1 alerts | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 117 substructures;</li> <li>■ carcinogenicity or mutagenicity</li> </ul>          |

|                                         |          |                                                                                                                                  |
|-----------------------------------------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NonGenotoxic<br>Carcinogenicity<br>Rule | 0        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 23 substructures;</li> <li>■ carcinogenicity through nongenotoxic mechanisms</li> </ul> |
| Skin<br>Sensitization<br>Rule           | 3 alerts | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 155 substructures;</li> <li>■ skin irritation</li> </ul>                                |
| Aquatic<br>Toxicity Rule                | 4 alerts | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 99 substructures;</li> <li>■ toxicity to liquid(water)</li> </ul>                       |
| NonBiodegradable<br>Rule                | 0        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 19 substructures;</li> <li>■ non-biodegradable</li> </ul>                               |
| SureChEMBL<br>Rule                      | 0        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 164 substructures;</li> <li>■ MedChem unfriendly status</li> </ul>                      |
| FAF-Drugs4 Rule                         | 1 alerts | 154 toxic substructures from FAF-Drug4                                                                                           |

### III.1.2.2. Acide gallique :

#### ▪ Physicochemical Property

Table 15 Propriétés physico-chimiques de l'acide gallique (paramètres ADMET)

| Property         | Value   | Comment                                           |
|------------------|---------|---------------------------------------------------|
| Molecular Weight | 424.13  | Contain hydrogen atoms. Optimal:100~600           |
| Volume           | 442.443 | Van der Waals volume                              |
| Density          | 0.959   | Density = MW / Volume                             |
| nHA              | 5.0     | Number of hydrogen bond acceptors. Optimal:0~12   |
| nHD              | 1.0     | Number of hydrogen bond donors. Optimal:0~7       |
| nRot             | 6.0     | Number of rotatable bonds. Optimal:0~11           |
| nRing            | 5.0     | Number of rings. Optimal:0~6                      |
| MaxRing          | 9.0     | Number of atoms in the biggest ring. Optimal:0~18 |
| nHet             | 5.0     | Number of heteroatoms. Optimal:1~15               |

|                |         |                                                                                                                                                                                                   |
|----------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| fChar          | 0.0     | Formal charge. Optimal:-4 ~4                                                                                                                                                                      |
| nRig           | 29.0    | Number of rigid bonds. Optimal:0~30                                                                                                                                                               |
| Flexibility    | 0.207   | Flexibility = nRot /nRig                                                                                                                                                                          |
| Stereo Centers | 0.0     | Stereo Centers. Optimal: <input type="checkbox"/> 2                                                                                                                                               |
| TPSA           | 64.99   | Topological Polar Surface Area. Optimal:0~140                                                                                                                                                     |
| logS           | -4.812  | The logarithm of aqueous solubility value.                                                                                                                                                        |
| logP           | 5.535   | The logarithm of the n-octanol/water distribution coefficients at pH=7.4.                                                                                                                         |
| logD           | 4.344   | The logarithm of the n-octanol/water distribution coefficient.                                                                                                                                    |
| pka (Acid)     | 8.896   | Acid-base dissociation constant (pKa) value represents the strength of a drug molecule's acidity or basicity.                                                                                     |
| pka (Base)     | 2.958   | Acid-base dissociation constant (pKa) value represents the strength of a drug molecule's acidity or basicity.                                                                                     |
| Melting point  | 157.334 | The predicted melting point of a compound is expressed in degrees Celsius (°C).<br>Melting points below 25°C are classified as liquids, while melting points above 25°C are classified as solids. |
| Boiling point  | 426.58  | The predicted melting point of a compound is expressed in degrees Celsius (°C).<br>A normal boiling point below 25°C is categorized as a gas.                                                     |

▪ Medicinal Chemistry

Table 16 Propriétés de chimie médicanale de l'acide gallique (paramètres ADMET)

| Property | Value  | Decision | Comment                                                                                                                                                                                                       |
|----------|--------|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| QED      | 0.433  | ●        | <p>A measure of drug-likeness based on the concept of desirability;</p> <p>■ Attractive: &gt; 0.67;</p> <p>■ unattractive: 0.49~0.67;</p> <p>■ too complex: &lt; 0.34</p>                                     |
| GASA     | 0.0    | ●        | <p>■ ES: Easy to synthesize; HS: Hard to synthesize;</p> <p>■ The output value represents the probability of being difficult to synthesize, ranging from 0 to 1.</p>                                          |
| Synth    | 2.0    | ●        | <p>■ Synthetic accessibility score is designed to estimate ease of synthesis of drug-like molecules.</p> <p>■ SAscore <math>\leq 6</math>, difficult to synthesize; SAscore &lt; 6, easy to synthesize</p>    |
| Fsp3     | 0.074  | ●        | <p>■ The number of sp<sup>3</sup> hybridized carbons / total carbon count, correlating with melting point and solubility.</p> <p>■ Fsp<sup>3</sup> <math>\leq 0.42</math> is considered a suitable value.</p> |
| MCE-18   | 53.793 | ●        | <p>■ MCE-18 stands for medicinal chemistry evolution.</p> <p>■ MCE-18 <math>\leq 45</math> is considered a suitable value.</p>                                                                                |
| NPscore  | 0.341  | -        | <p>■ Natural product-likeness score.</p> <p>■ This score is typically in the range from -5 to 5.</p> <p>■ The higher the score is, the higher the probability is that the molecule is a NP.</p>               |

|                       |          |   |                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------|----------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Lipinski Rule         | 0.0      | ● | <p>■ MW <math>\leq</math> 500; logP <math>\leq</math> 5; Hacc <math>\leq</math> 10; Hdon <math>\leq</math> 5</p> <p>■ If two properties are out of range, a poor absorption or permeability is possible, one is acceptable.</p> |
| Pfizer Rule           | 1.0      | ● | <p>■ logP &gt; 3; TPSA &lt; 75</p> <p>■ Compounds with a high log P (&gt;3) and low TPSA (&lt;75) are likely to be toxic.</p>                                                                                                   |
| GSK Rule              | 1.0      | ● | <p>■ MW <math>\leq</math> 400; logP <math>\leq</math> 4</p> <p>■ Compounds satisfying the GSK rule may have a more favorable ADMET profile</p>                                                                                  |
| Golden Triangle       | 0.0      | ● | <p>■ 200 <math>\leq</math> MW <math>\leq</math> 500; -2 <math>\leq</math> logD <math>\leq</math> 5</p> <p>■ Compounds satisfying the Golden Triangle rule may have a more favorable ADMET profile.</p>                          |
| PAINS                 | 0 alerts | - | frequent hitters, Alpha-screen artifacts and reactive compound 480 substructures (J Med Chem 201053:2719-40)                                                                                                                    |
| ALARM NMR             | 1 alerts | - | Thiol reactive compounds.                                                                                                                                                                                                       |
| BMS                   | 0 alerts | - | undesirable, reactive compounds 176 substructures (J Chem Inf Model 200646:1060-8)                                                                                                                                              |
| Chelator Rule         | 1 alerts | - | Chelating compounds.                                                                                                                                                                                                            |
| Colloidal aggregators | 0.998    | - | <p>■ Category 0: non-colloidal aggregators;</p> <p>■ Category 1: colloidal aggregators.</p> <p>■ The output value is the probability of being colloidal aggregators, within the range of 0 to 1.</p>                            |

|                       |       |   |                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FLuc inhibitors       | 0.048 | ● | <p>■ Category 0: non-fLuc inhibitors;</p> <p>■ Category 1: fLuc inhibitors.</p> <p>The output value is the probability of being fLuc inhibitors, within the range of 0 to 1.</p>                |
| Blue fluorescence     | 0.508 | ● | <p>■ Category 0: non-blue fluorescence;</p> <p>■ Category 1: blue fluorescence.</p> <p>The output value is the probability of being blue fluorescence, within the range of 0 to 1.</p>          |
| Green fluorescence    | 0.843 | ● | <p>■ Category 0: non-green fluorescence;</p> <p>■ Category 1: green fluorescence.</p> <p>The output value is the probability of being green fluorescence, within the range of 0 to 1.</p>       |
| Reactive compounds    | 0.526 | ● | <p>■ Category 0: non-reactive compound;</p> <p>■ Category 1: reactive compound.</p> <p>The output value is the probability of being reactive compound, within the range of 0 to 1.</p>          |
| Promiscuous compounds | 0.193 | ● | <p>■ Category 0: non-promiscuous compound;</p> <p>■ Category 1: promiscuous compound.</p> <p>The output value is the probability of being promiscuous compound, within the range of 0 to 1.</p> |

### ▪ Absorption

Table 17 propriétés absorption de l'acide gallique

| Property            | Value  | Decision | Comment                                                                                                                                |
|---------------------|--------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Caco-2 Permeability | -5.095 | ●        | Optimal: higher than -5.15 Log unit                                                                                                    |
| MDCK Permeability   | -4.653 | ●        | <p>■ low permeability: <math>&lt; 2 \times 10^{-6}</math> cm/s</p> <p>■ medium permeability: <math>2-20 \times 10^{-6}</math> cm/s</p> |

|               |       |   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|---------------|-------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|               |       |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ high passive permeability: <math>&gt; 20 \times 10^{-6}</math> cm/s</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| PAMPA         | 0.022 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ The experimental data for <math>P_{eff}</math> was logarithmically transformed (<math>\log P_{eff}</math>).</li> <li>■ Molecules with <math>\log P_{eff}</math> values below 2.0 were classified as low-permeability (Category 0), while those with <math>\log P_{eff}</math> values exceeding 2.5 were classified as high-permeability (Category 1).</li> </ul> |
| Pgp-inhibitor | 0.971 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: Inhibitor;</li> <li>■ Category 0: Non-inhibitor;</li> <li>■ The output value is the probability of being Pgp-inhibitor</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                    |
| Pgp-substrate | 0.002 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: substrate;</li> <li>■ Category 0: Non-substrate;</li> <li>■ The output value is the probability of being Pgp-substrate</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                    |
| HIA           | 0.0   | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Human Intestinal Absorption</li> <li>■ Category 1: HIA+ (HIA &lt; 30%);</li> <li>■ Category 0: HIA- (HIA <math>\geq</math> 30%);</li> <li>■ The output value is the probability of being HIA+</li> </ul>                                                                                                                                                         |

|            |       |   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------|-------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $F_{20\%}$ | 0.031 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 20% Bioavailability</li> <li>■ Category 1: <math>F_{20\%} +</math> (bioavailability &lt; 20%);</li> <li>■ Category 0: <math>F_{20\%} -</math> (bioavailability <math>\geq</math> 20%);</li> <li>■ The output value is the probability of being <math>F_{20\%} +</math></li> </ul> |
|            |       |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 30% Bioavailability</li> <li>■ Category 1: <math>F_{30\%} +</math> (bioavailability &lt; 30%);</li> </ul>                                                                                                                                                                         |

|            |       |   |                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------|-------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $F_{30\%}$ | 0.675 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 0: F 30% - (bioavailability <math>\square</math> 30%);</li> <li>■ The output value is the probability of being F 30%</li> </ul>                                                                                           |
| $F_{50\%}$ | 0.581 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 50% Bioavailability</li> <li>■ Category 1: F 50% + (bioavailability &lt; 50%);</li> <li>■ Category 0: F 50% - (bioavailability <math>\square</math> 50%);</li> <li>■ The output value is the probability of being F 50%</li> </ul> |

+

### ▪ Distribution

Table 18 propriétés distribution de l'acide gallique

| Property          | Value  | Decision | Comment                                                                                                                                                                                              |
|-------------------|--------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PPB               | 98.038 | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Plasma Protein Binding</li> <li>Optimal: &lt; 90%.</li> <li>■ Drugs with high protein-bound may have a low therapeutic index.</li> </ul>                    |
| VDss              | 0.443  | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Volume Distribution</li> <li>■ Optimal: 0.04-20L/kg</li> </ul>                                                                                              |
| BBB               | 0.968  | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Blood-Brain Barrier Penetration</li> <li>■ Category 1: BBB+; Category 0: BBB-;</li> <li>■ The output value is the probability of being BBB+</li> </ul>      |
| Fu                | 1.137  | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ The fraction unbound in plasms</li> <li>■ Low: &lt;5%; Middle: 5~20%; High: &gt; 20%</li> </ul>                                                             |
| OATP1B1 inhibitor | 0.231  | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 0: Non-inhibitor; Category 1: inhibitor.</li> <li>■ The output value is the probability of being inhibitor, within the range of 0 to 1.</li> </ul> |
| OATP1B3 inhibitor | 0.119  | ●        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 0: Non-inhibitor; Category 1: inhibitor.</li> </ul>                                                                                                |

|                |       |   |                                                                                                                                                       |
|----------------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                |       |   | <p>The output value is the probability of being inhibitor, within the range of 0 to 1.</p>                                                            |
| BCRP inhibitor | 0.028 | ● | <p>■ Category 0: Non-inhibitor; Category 1: inhibitor.</p> <p>The output value is the probability of being inhibitor, within the range of 0 to 1.</p> |
| MRP1 inhibitor | 0.994 | ● | <p>■ Category 0: Non-inhibitor; Category 1: inhibitor.</p> <p>The output value is the probability of being inhibitor, within the range of 0 to 1.</p> |

▪ **Metabolism**

*Table 19 propriétés métabolisme de l'acide gallique*

| Property          | Value | Decision | Comment                                                                                                                   |
|-------------------|-------|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CYP1A2 inhibitor  | 0.146 | ●        | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>The output value is the probability of being inhibitor.</p> |
| CYP1A2 substrate  | 0.004 | ●        | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>The output value is the probability of being substrate.</p> |
| CYP2C19 inhibitor | 0.992 | ●        | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>The output value is the probability of being inhibitor.</p> |
| CYP2C19 substrate | 0.002 | ●        | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>The output value is the probability of</p>                  |

|                     |       |   |                                                                                                                             |
|---------------------|-------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     |       |   | being substrate.                                                                                                            |
| CYP2C9<br>inhibitor | 0.961 | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p> |
| CYP2C9<br>substrate | 0.0   | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p> |
| CYP2D6<br>inhibitor | 0.0   | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p> |
| CYP2D6<br>substrate | 0.0   | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p> |
| CYP3A4<br>inhibitor | 0.025 | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p> |
| CYP3A4<br>substrate | 0.971 | ● | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p> |
| CYP2B6<br>inhibitor | 0.97  | ● | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p> |

|                  |       |                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------|-------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CYP2B6 substrate | 0.0   |  | <p>■ Category 1: Substrate; Category 0: Non-substrate;</p> <p>■ The output value is the probability of being substrate.</p>                                                                                                                                                                                            |
| CYP2C8 inhibitor | 0.967 |  | <p>■ Category 1: Inhibitor; Category 0: Non-inhibitor;</p> <p>■ The output value is the probability of being inhibitor.</p>                                                                                                                                                                                            |
| HLM Stability    | 0.951 |  | <p>■ human liver microsomal (HLM) stability</p> <p>■ Category 0: stable+ (HLM &gt; 30 min); Category 1: unstable- (HLM ≤ 30 min). The output value is the probability of human liver microsomal instability, where a value closer to 1 indicates a higher likelihood of instability. The range is between 0 and 1.</p> |

#### ▪ Excretion

Table 20 propriétés excrétion de l'acide gallique

| Property             | Value | Decision                                                                            | Comment                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CL <sub>plasma</sub> | 2.15  |  | <p>■ The unit of predicted CL<sub>plasma</sub> penetration is ml/min/kg. &gt;15 ml/min/kg: high clearance; 5-15 ml/min/kg: moderate clearance; &lt; 5 ml/min/kg: low clearance.</p>                                                                                                                              |
| T <sub>1/2</sub>     | 0.725 |  | <p>■ The unit of predicted T<sub>1/2</sub> is hours.</p> <p>■ ultra-short half-life drugs: T<sub>1/2</sub> &lt; 1 hour; short half-life drugs: T<sub>1/2</sub> between 1-4 hours; intermediate short half-life drugs: T<sub>1/2</sub> between 4-8 hours; long half-life drugs: T<sub>1/2</sub> &gt; 8 hours.</p> |

▪ **Toxicity**

Table 21 Table 21 propriétés toxicité de l'acide gallique

| Property                | Value | Decision | Comment                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------|-------|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| hERG Blockers           | 0.497 | ●        | <p>Molecules with IC50 <math>\leq 10 \mu\text{M}</math> or <math>\leq 50\%</math> inhibition at <math>10 \mu\text{M}</math> were classified as hERG+ (Category 1),</p> <p>while molecules with IC50 <math>&gt; 10 \mu\text{M}</math> or <math>&lt; 50\%</math> inhibition at <math>10 \mu\text{M}</math> were classified as hERG - (Category 0).</p> <p>The output value is the probability of being hERG+, within the range of 0 to 1.</p> |
| hERG Blockers (10um)    | 0.939 | ●        | <p>Molecules with IC50 <math>\leq 10 \mu\text{M}</math> are classified as hERG+ (Category 1),</p> <p>and molecules with IC50 <math>&gt; 10 \mu\text{M}</math> are classified as hERG- (Category 0).</p> <p>The output value is the probability of being hERG+, within the range of 0 to 1.</p>                                                                                                                                              |
| DILI                    | 0.36  | ●        | <p>■ Drug Induced Liver Injury.</p> <p>■ Category 1: drugs with a high risk of DILI;</p> <p>■ Category 0: drugs with no risk of DILI.</p> <p>■ The output value is the probability of being toxic.</p>                                                                                                                                                                                                                                      |
| AMES Mutagenicity       | 0.037 | ●        | <p>■ AMES Toxicity</p> <p>■ Category 1: Ames positive(+);</p> <p>■ Category 0: Ames negative(-);</p> <p>■ The output value is the probability of being toxic.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Rat Oral Acute Toxicity | 0.052 | ●        | <p>■ Rat Oral Acute Toxicity.</p> <p>■ Category 0: low-toxicity, <math>&gt; 500 \text{ mg/kg}</math>;</p> <p>■ Category 1: high-toxicity; <math>&lt; 500 \text{ mg/kg}</math>.</p> <p>The output value is the probability of being toxic, within the range of 0 to 1.</p>                                                                                                                                                                   |

|                    |       |                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------|-------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FDAMDD             | 0.317 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ FDA Maximum (Recommended) Daily Dose.</li> <li>■ Category 1: FDAMDD (+);</li> <li>■ Category 0: FDAMDD (-);</li> </ul> <p>The output value is the probability of being positive.</p> |
| Skin Sensitization | 0.708 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: Sensitizer;</li> <li>■ Category 0: Non-sensitizer.</li> </ul> <p>The output value is the probability of being toxic, within the range of 0 to 1.</p>                     |
| Carcinogenicity    | 0.126 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: carcinogens;</li> <li>■ Category 0: non-carcinogens;</li> </ul> <p>The output value is the probability of being toxic.</p>                                               |

|                |       |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Eye Corrosion  | 0.0   |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Eye Corrosion</li> <li>■ Category 1: corrosives;</li> <li>■ Category 0: noncorrosives;</li> </ul> <p>The output value is the probability of being corrosives.</p>                      |
| Eye Irritation | 0.958 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Eye Irritation</li> <li>■ Category 1: irritants;</li> <li>■ Category 0: nonirritants;</li> </ul> <p>The output value is the probability of being irritants.</p>                        |
| Respiratory    | 0.091 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: respiratory toxicants;</li> <li>■ Category 0: non-respiratory toxicants.</li> </ul> <p>The output value is the probability of being toxic, within the range of 0 to 1.</p> |
| Human          | 0.021 |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Human Hepatotoxicity</li> <li>■ Category 1: H-HT positive(+);</li> </ul>                                                                                                               |

|                                        |       |   |                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------|-------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hep<br>atotoxicity                     |       |   | <p>■ Category 0: H-HT negative(-);</p> <p>■ The output value is the probability of being toxic.</p>                                                                                         |
| Drug-<br>induced<br>Nephrotox<br>icity | 0.008 | ● | <p>■ Category 0: non-nephrotoxic (-);</p> <p>■ Category 1: nephrotoxic (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being nephrotoxic (+), within the range of 0 to 1.</p>          |
| Ototoxicity                            | 0.026 | ● | <p>■ Category 0: non-ototoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: ototoxicity (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p>          |
| Hematotoxic<br>ity                     | 0.001 | ● | <p>■ Category 0: non-hematotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: hematotoxicity (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being hematotoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p> |
| Genotoxicit<br>y                       | 0.011 | ● | <p>■ Category 0: non-Genotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: Genotoxicity (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p>        |
| RPMI-8226<br>Immunitoxi<br>ci ty       | 0.044 | ● | <p>■ Category 0: non-cytotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: cytotoxicity (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p>        |
| A549<br>Cytotoxicity                   | 0.143 | ● | <p>■ Category 0: non-cytotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: cytotoxicity (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being ototoxicity (+), within the range of</p>                |

|                               |       |                                                                                   |                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------|-------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                               |       |                                                                                   | 0 to 1.                                                                                                                                                                               |
| Hek293<br>Cytotoxicity        | 0.698 |  | <p>■ Category 0: non-cytotoxicity (-);</p> <p>■ Category 1: cytotoxicity (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being cytotoxicity (+), within the range of 0 to 1.</p> |
| Drug-induced<br>Neurotoxicity | 0.159 |  | <p>■ Category 0: non-neurotoxic (-);</p> <p>■ Category 1: neurotoxic (+).</p> <p>■ The output value is the probability of being neurotoxic (+), within the range of 0 to 1.</p>       |

- **Environmental toxicity**

*Table 22 profil de toxicité environnementale de l'acide gallique*

| Property                 | Value | Comment                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bioconcentration Factors | 0.819 | <p>Bioconcentration factors are used for considering secondary poisoning potential and assessing risks to human health via the food chain.</p> <p>■ The unit is <math>\square \log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \cdot \text{MW})]</math></p> |
| IGC <sub>50</sub>        | 4.959 | <p>Tetrahymena pyriformis 50 percent growth inhibition concentration.</p> <p>■ The unit is <math>\square \log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \cdot \text{MW})]</math></p>                                                                      |
| LC <sub>50</sub> FM      | 6.037 | <p>■ 96-hour fathead minnow 50 percent lethal concentration.</p> <p>■ The unit is <math>\square \log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \cdot \text{MW})]</math></p>                                                                               |
| LC <sub>50</sub> DM      | 6.079 | <p>■ 48-hour daphnia magna 50 percent lethal concentration.</p> <p>■ The unit is <math>\square \log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \cdot \text{MW})]</math></p>                                                                                |

- **Tox21 pathway**

*Table 23 profil d'activité de l'acide gallique sur les récepteurs nucléaires (Tox 21 pathway)*

| Property  | Value | Decision | Comment                                                                                                                                                               |
|-----------|-------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NR-AhR    | 0.627 | ●        | <p>■ Aryl hydrocarbon receptor</p> <p>■ Category 1: actives ;</p> <p>■ Category 0: inactives;</p> <p>■ The output value is the probability of being active.</p>       |
| NR-AR     | 0.028 | ●        | <p>■ Androgen receptor</p> <p>■ Category 1: actives ;</p> <p>■ Category 0: inactives;</p> <p>■ The output value is the probability of being active.</p>               |
| NR-AR-LBD | 0.046 | ●        | <p>■ Androgen receptor ligand-binding domain</p> <p>■ Category 1: actives ;</p> <p>■ Category 0: inactives;</p> <p>■ The output value is the probability of being</p> |

|               |       |   |                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------|-------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|               |       |   | active.                                                                                                                                                                                                                                 |
| NR-Aromatase  | 0.107 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>                                                             |
| NR-ER         | 0.902 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Estrogen receptor</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>                                |
| NR-ER-LBD     | 0.176 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Estrogen receptor ligand-binding domain</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>          |
| NR-PPAR-gamma | 0.0   | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul> |
| SR-ARE        | 0.384 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Antioxidant response element</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>                     |

|          |       |   |                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------|-------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SR-ATAD5 | 0.015 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ ATPase family AAA domain-containing protein 5</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul> |
| SR-HSE   | 0.005 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Heat shock factor response element</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>            |
| SR-MMP   | 0.914 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Mitochondrial membrane potential</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>              |
| SR-p53   | 0.143 | ● | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ p53, a tumor suppressor protein</li> <li>■ Category 1: actives ;</li> <li>■ Category 0: inactives;</li> <li>■ The output value is the probability of being active.</li> </ul>               |

▪ **Toxicophore Rules**

Table 24 évaluation des règles toxicophores de l'acide gallique

| Property                       | Value | Comment                                                                                                                          |
|--------------------------------|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Acute Toxicity Rule            | 0     | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 20 substructures;</li> <li>■ acute toxicity during oral administration</li> </ul>       |
| Genotoxic Carcinogenicity Rule | 0     | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 117 substructures;</li> <li>■ carcinogenicity or mutagenicity</li> </ul>                |
| NonGenotoxic Carcinogenicity   | 0     | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 23 substructures;</li> <li>■ carcinogenicity through nongenotoxic mechanisms</li> </ul> |

|                         |          |                                                                                                             |
|-------------------------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Rule                    |          |                                                                                                             |
| Skin Sensitization Rule | 6 alerts | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 155 substructures;</li> <li>■ skin irritation</li> </ul>           |
| Aquatic Toxicity Rule   | 0        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 99 substructures;</li> <li>■ toxicity to liquid(water)</li> </ul>  |
| NonBiodegradable Rule   | 0        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 19 substructures;</li> <li>■ non-biodegradable</li> </ul>          |
| SureChEMBL Rule         | 0        | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 164 substructures;</li> <li>■ MedChem unfriendly status</li> </ul> |
| FAF-Drugs4 Rule         | 1 alerts | 154 toxic substructures from FAF-Drug4                                                                      |

### III.2. Docking :

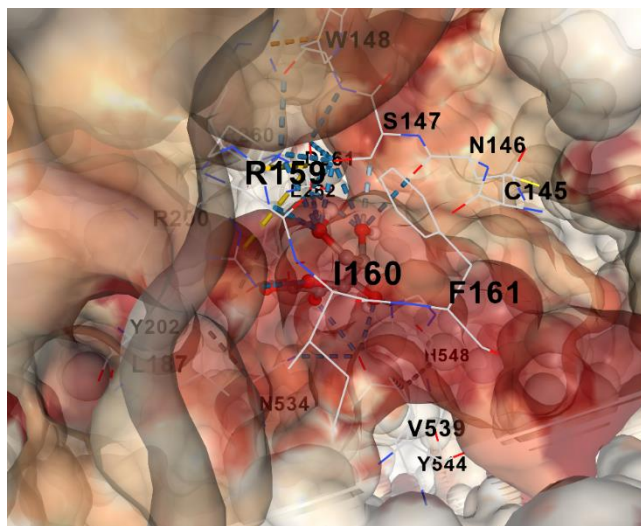
#### III.2.1. Docking : protein 1N8Q / ACIDE ASCORBIQUE

Pocket C1 et Score (- 6,1)

Chain A (C1) score: (- 6,1): HIS142 PHE143 VAL144 CYS145 ASN146 SER147 TRP148 ARG159 ILE160 PHE161 PHE162 ALA163 ASN164 GLN165 GLU183 LEU187 ARG200 TYR202 PRO259 ARG260 ASP261 GLU262 ASN534 VAL539 VAL540 TYR544 LYS545 HIS548 PRO549 PRO789 ASN790 TRP791 THR792

*Table 25 résultats du docking moléculaires de l'acide ascorbique dans les différentes poches de la protéine 1N8Q*

| CurPocket ID | Vina score | Cavity volume (Å <sup>3</sup> ) | Center (x, y, z) | Docking size (x, y, z) |
|--------------|------------|---------------------------------|------------------|------------------------|
| C1           | -6.1       | 4356                            | 31, 10, -8       | 30, 33, 35             |
| C2           | -5.5       | 2517                            | 34, -6, 31       | 17, 25, 25             |
| C4           | -5.2       | 484                             | 18, 11, 7        | 17, 17, 17             |
| C3           | -4.7       | 782                             | 16, 14, -10      | 17, 27, 17             |
| C5           | -4.7       | 357                             | 15, -12, 8       | 17, 17, 17             |



**Résultat Docking : protein 1N8Q / ACIDE ASCORBIQUE**

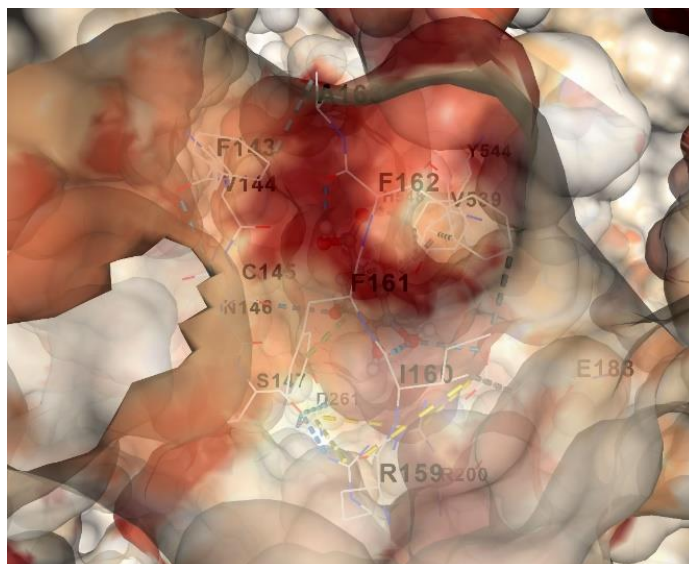
### III.2.2. Docking: protein 1N8Q / ACIDE Gallic:

Pocket C1 et Score (- 6,6)

Chain A : HIS142 PHE143 VAL144 CYS145 ASN146 SER147 TRP148 ARG159 ILE160 PHE161 PHE162 ALA163 ASN164 GLN165 GLU183 LEU187 ARG200 TYR202 ASP261 GLU262 ASN534 VAL539 VAL540 TYR544 LYS545 LEU546 HIS548 PRO549 ASP787 ASN788 PRO789 TRP791 THR792

*Table 26 résultats du docking moléculaires de l'acide gallique dans les différentes poches de la protéine 1N8Q*

| CurPocket<br>ID | Vina<br>score | Cavity<br>volume (Å <sup>3</sup> ) | Center<br>(x, y, z) | Docking size<br>(x, y, z) |
|-----------------|---------------|------------------------------------|---------------------|---------------------------|
| C1              | -6.6          | 4356                               | 31, 10, -8          | 30, 33, 35                |
| C2              | -6.5          | 2517                               | 34, -6, 31          | 17, 25, 25                |
| C4              | -6.0          | 484                                | 18, 11, 7           | 17, 17, 17                |
| C3              | -5.1          | 782                                | 16, 14, -10         | 17, 27, 17                |
| C5              | -4.8          | 357                                | 15, -12, 8          | 17, 17, 17                |



Résultat Docking: protein 1N8Q / ACIDE Gallic

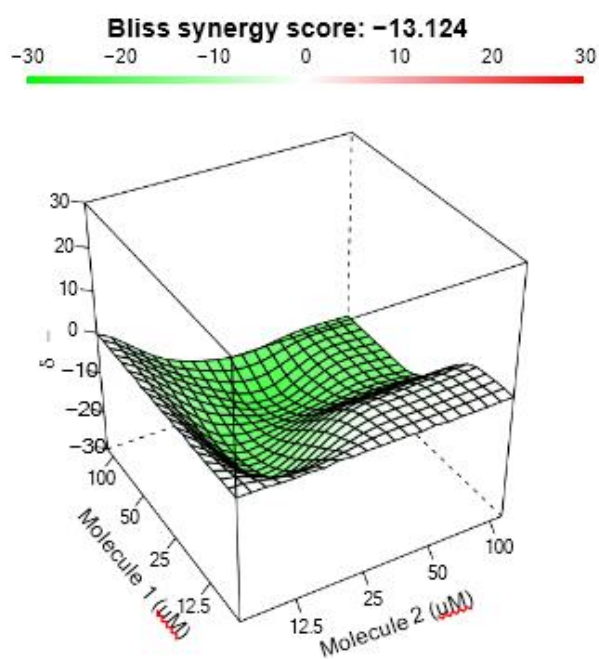
### III.3. Synergie :

#### III.3.1. Résultats bliss :

##### ▪ Drug combinations:

| Drug combination          | Synergy score | Most synergistic area score | Method |
|---------------------------|---------------|-----------------------------|--------|
| Molecule 2-<br>Molecule 1 | -13.12        | -5.58                       | Bliss  |

##### ▪ Chosen parameters:



Readout: inhibition; Baseline correction: Yes;

▪ **Données complètes (Matrice O'Neil)**

*Table 27 évaluation de la synergie et de l'inhibition cellulaire par l'association des deux molécules (mode BLISS)*

| Pair e | Médicament 1 | Médicament 2 | Conc 1 (μM) | Conc 2 (μM) | Inhibition relative (%) | Score synergique | Unité | Pair index |
|--------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------------------|------------------|-------|------------|
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 0           | 0           | 0,00                    | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 12,5        | 0           | 40,81                   | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 25          | 0           | 86,55                   | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 50          | 0           | 88,64                   | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 100         | 0           | 88,94                   | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 0           | 12,5        | 79,07                   | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 12,5        | 12,5        | 70,70                   | -15,17           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 25          | 12,5        | 83,41                   | -19,34           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 50          | 12,5        | 88,04                   | -13,04           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 100         | 12,5        | 88,34                   | -12,73           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 0           | 25          | 86,10                   | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 12,5        | 25          | 85,50                   | -2,14            | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 25          | 25          | 87,29                   | -15,54           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 50          | 25          | 82,36                   | -24,17           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 100         | 25          | 87,74                   | -15,67           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 0           | 50          | 86,85                   | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 12,5        | 50          | 86,55                   | -1,60            | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 25          | 50          | 88,19                   | -14,36           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 50          | 50          | 88,04                   | -15,30           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 100         | 50          | 88,19                   | -15,16           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 0           | 100         | 87,59                   | 0,00             | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 12,5        | 100         | 87,74                   | -0,82            | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 25          | 100         | 87,44                   | -15,81           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 50          | 100         | 87,74                   | -16,00           | μM    | 1          |
| 1      | Molécule 1   | Molécule 2   | 100         | 100         | 87,44                   | -16,57           | μM    | 1          |

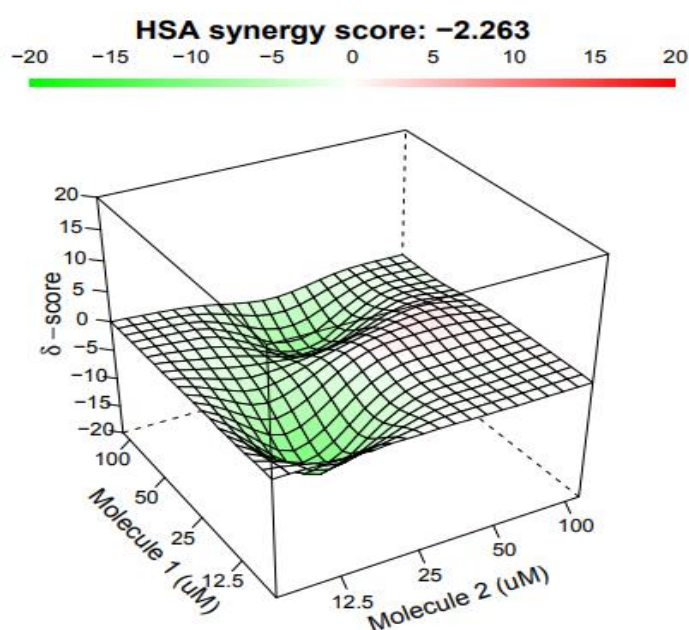
## III.3.2. Résultats HSA :

- Drug combinations:

| Drug combination          | Synergy score | Most synergistic area score | Method |
|---------------------------|---------------|-----------------------------|--------|
| Molecule 2-<br>Molecule 1 | -2.26         | 0.21                        | HSA    |

- Chosen parameters:

Readout: inhibition; Baseline correction: Yes;



- Données complètes (Matrice O'Neil)

Table 28 évaluation de la synergie et de l'inhibition cellulaire par l'association des deux molécules (mode HSA)

| Paire | Médicament 1 | Médicament 2 | Conc1 (μM) | Conc2 (μM) | Inhibition relative (%) | Score synergie | Unité | Pair index |
|-------|--------------|--------------|------------|------------|-------------------------|----------------|-------|------------|
| 1     | Molécule 1   | Molécule 2   | 0          | 0          | 0,00                    | 0,00           | μM    | 1          |
| 1     | Molécule 1   | Molécule 2   | 12,5       | 0          | 40,81                   | 0,00           | μM    | 1          |
| 1     | Molécule 1   | Molécule 2   | 25         | 0          | 86,55                   | 0,00           | μM    | 1          |
| 1     | Molécule 1   | Molécule 2   | 50         | 0          | 88,64                   | 0,00           | μM    | 1          |
| 1     | Molécule 1   | Molécule 2   | 100        | 0          | 88,94                   | 0,00           | μM    | 1          |

|   |            |            |      |      |       |        |    |   |
|---|------------|------------|------|------|-------|--------|----|---|
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 0    | 12,5 | 79,07 | 0,00   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 12,5 | 12,5 | 70,70 | -11,66 | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 25   | 12,5 | 83,41 | 2,11   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 50   | 12,5 | 88,04 | 7,99   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 100  | 12,5 | 88,34 | 5,88   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 0    | 25   | 86,10 | 0,00   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 12,5 | 25   | 85,50 | 2,69   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 25   | 25   | 87,29 | 5,02   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 50   | 25   | 82,36 | -2,55  | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 100  | 25   | 87,74 | 3,30   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 0    | 50   | 86,85 | 0,00   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 12,5 | 50   | 86,55 | 1,22   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 25   | 50   | 88,19 | 3,62   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 50   | 50   | 88,04 | 2,97   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 100  | 50   | 88,19 | 2,57   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 0    | 100  | 87,59 | 0,00   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 12,5 | 100  | 87,74 | 1,35   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 25   | 100  | 87,44 | 0,80   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 50   | 100  | 87,74 | 1,15   | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 100  | 100  | 87,44 | 0,44   | μM | 1 |

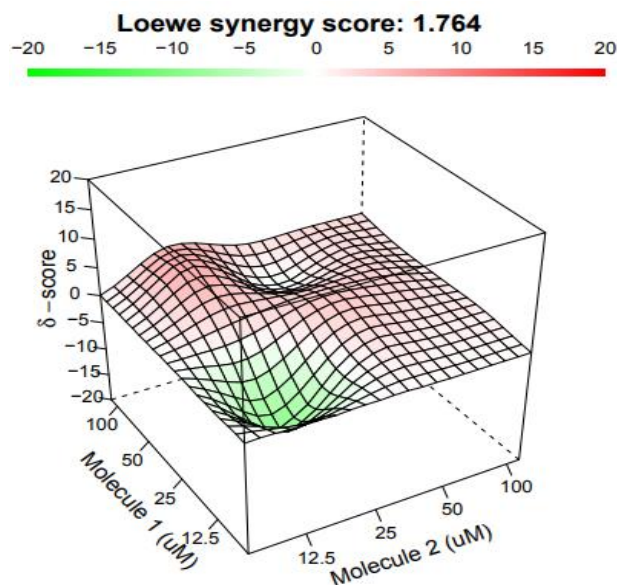
### III.3.3. Résultats Loewe :

#### ▪ Drug combinations:

| Drug combination          | Synergy score | Most synergistic area score | Method |
|---------------------------|---------------|-----------------------------|--------|
| Molecule 2-<br>Molecule 1 | 1.76          | 3.44                        | Loewe  |

#### ▪ Chosen parameters:

Readout: inhibition ; Baseline correction: Yes ;



▪ **Données complètes (Matrice O'Neil)**

Table 29 évaluation de la synergie et de l'inhibition cellulaire par l'association des deux molécules (mode LOEWE)

| Paire | Médicament<br>1 | Médicament<br>2 | Conc1<br>( $\mu\text{M}$ ) | Conc2<br>( $\mu\text{M}$ ) | Inhibition<br>relative<br>(%) | Score<br>synergie | Unité         | Pair<br>index |
|-------|-----------------|-----------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------|---------------|---------------|
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 0                          | 0                          | 0,00                          | 0,00              | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 12,5                       | 0                          | 40,81                         | 0,00              | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 25                         | 0                          | 86,55                         | 0,00              | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 50                         | 0                          | 88,64                         | 0,00              | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 100                        | 0                          | 88,94                         | 0,00              | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 0                          | 12,5                       | 79,07                         | 0,00              | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 12,5                       | 12,5                       | 70,70                         | -13,39            | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 25                         | 12,5                       | 83,41                         | -5,02             | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 50                         | 12,5                       | 88,04                         | -0,96             | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 100                        | 12,5                       | 88,34                         | -0,96             | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 0                          | 25                         | 86,10                         | 0,00              | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 12,5                       | 25                         | 85,50                         | -0,96             | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 25                         | 25                         | 87,29                         | 1,20              | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 50                         | 25                         | 82,36                         | -10,04            | $\mu\text{M}$ | 1             |
| 1     | Molécule 1      | Molécule 2      | 100                        | 25                         | 87,74                         | -1,91             | $\mu\text{M}$ | 1             |

|   |            |            |      |     |       |       |    |   |
|---|------------|------------|------|-----|-------|-------|----|---|
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 0    | 50  | 86,85 | 0,00  | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 12,5 | 50  | 86,55 | -0,48 | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 25   | 50  | 88,19 | 2,15  | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 50   | 50  | 88,04 | -0,96 | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 100  | 50  | 88,19 | -1,20 | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 0    | 100 | 87,59 | 0,00  | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 12,5 | 100 | 87,74 | 0,24  | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 25   | 100 | 87,44 | -0,24 | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 50   | 100 | 87,74 | -1,43 | μM | 1 |
| 1 | Molécule 1 | Molécule 2 | 100  | 100 | 87,44 | -2,39 | μM | 1 |

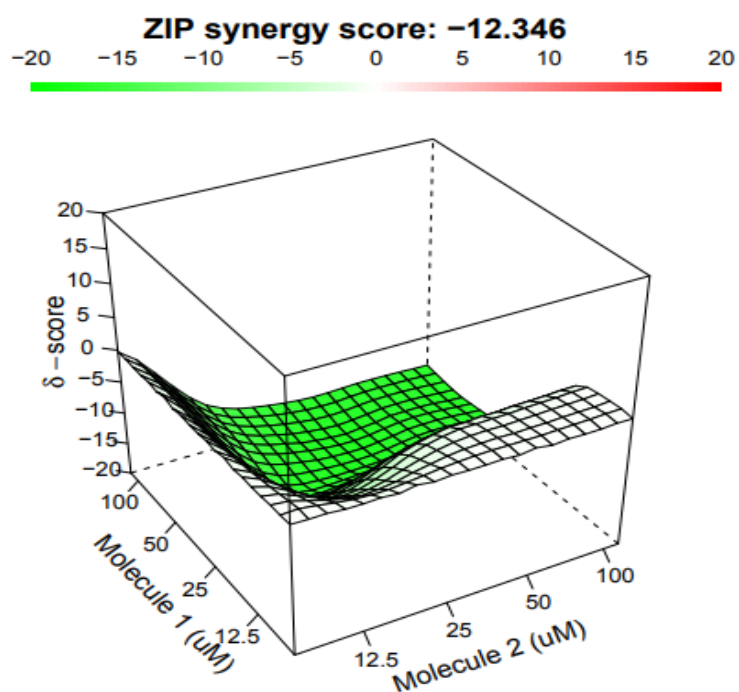
### III.3.4. Résultats Zip :

#### ▪ Drug combinations:

| Drug combination          | Synergy score | Most synergistic area score | Method |
|---------------------------|---------------|-----------------------------|--------|
| Molecule 2-<br>Molecule 1 | -12.35        | -4.83                       | ZIP    |

#### ▪ Chosen parameters:

Readout: inhibition ; Baseline correction: Yes ;



▪ **Données complètes (Matrice O'Neil)**

*Table 30 évaluation de la synergie et de l'inhibition cellulaire par l'association des deux molécules (mode ZIP)*

| <b>Paire</b> | <b>Médicament 1</b> | <b>Médicament 2</b> | <b>Conc1 (μM)</b> | <b>Conc2 (μM)</b> | <b>Inhibition relative (%)</b> | <b>Score synergie</b> | <b>Unité</b> | <b>Pair index</b> |
|--------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|-----------------------|--------------|-------------------|
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 0                 | 0                 | 0,00                           | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 12,5              | 0                 | 40,81                          | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 25                | 0                 | 86,55                          | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 50                | 0                 | 88,64                          | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 100               | 0                 | 88,94                          | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 0                 | 12,5              | 79,07                          | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 12,5              | 12,5              | 70,70                          | -15,17                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 25                | 12,5              | 83,41                          | -19,34                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 50                | 12,5              | 88,04                          | -13,04                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 100               | 12,5              | 88,34                          | -12,73                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 0                 | 25                | 86,10                          | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 12,5              | 25                | 85,50                          | -2,14                 | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 25                | 25                | 87,29                          | -15,54                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 50                | 25                | 82,36                          | -24,17                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 100               | 25                | 87,74                          | -15,67                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 0                 | 50                | 86,85                          | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 12,5              | 50                | 86,55                          | -1,60                 | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 25                | 50                | 88,19                          | -14,36                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 50                | 50                | 88,04                          | -15,30                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 100               | 50                | 88,19                          | -15,16                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 0                 | 100               | 87,59                          | 0,00                  | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 12,5              | 100               | 87,74                          | -0,82                 | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 25                | 100               | 87,44                          | -15,81                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 50                | 100               | 87,74                          | -16,00                | μM           | 1                 |
| 1            | Molécule 1          | Molécule 2          | 100               | 100               | 87,44                          | -16,57                | μM           | 1                 |

### III.4. Discussion :

#### III.4.1.DPPH :

Les résultats du test de l'activité antiradicalaire par la méthode du DPPH ont montré que les deux molécules étudiées possèdent une capacité importante à piéger le radical libre DPPH•, ce qui reflète une activité antioxydante intéressante. Ce test est basé sur la capacité des composés à donner un électron ou un atome d'hydrogène au radical libre DPPH•, provoquant ainsi sa réduction et un changement de couleur du violet au jaune. Cette diminution est mesurée par la baisse de l'absorbance à 517 nm. Plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité antioxydante du composé est élevée, puisqu'une faible quantité de substance suffit pour inhiber 50 % des radicaux libres.

Les résultats obtenus montrent que la Mol 2 présente la meilleure activité antioxydante avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 7 µg/mL, suivie de la Mol 1 avec une valeur de 9,3 µg/mL. Le standard BHA a présenté une IC<sub>50</sub> de 5,73 ± 0,41 µg/mL, tandis que le BHT a montré une activité plus faible avec une IC<sub>50</sub> de 22,32 ± 1,19 µg/mL. Ces résultats indiquent que les deux molécules étudiées possèdent une activité antioxydante supérieure à celle du BHT, en particulier la Mol 2 dont l'activité est proche de celle du BHA, connu comme l'un des antioxydants synthétiques les plus puissants.

Cette activité élevée peut être expliquée par la présence de groupes chimiques actifs dans la structure moléculaire des composés, notamment les groupes capables de céder des hydrogènes ou des électrons, tels que les groupes hydroxyles ou les systèmes conjugués  $\pi$ , qui favorisent la stabilisation des radicaux libres après leur neutralisation. De plus, la faible valeur d'IC<sub>50</sub> observée pour la Mol 2 par rapport à la Mol 1 suggère que sa structure chimique possède une meilleure capacité à stabiliser les radicaux libres ou une plus grande facilité d'interaction avec le radical DPPH•.

Ces résultats sont en accord avec plusieurs études ayant démontré que les composés capables de réduire efficacement le DPPH présentent souvent un potentiel biologique important, notamment dans la prévention du stress oxydatif impliqué dans diverses pathologies telles que le cancer, les inflammations et les maladies neurodégénératives. Les résultats obtenus suggèrent également que ces molécules pourraient être utilisées comme antioxydants potentiels ou comme modèles pour le développement de nouveaux composés bioactifs.

D'une manière générale, les résultats du test DPPH confirment que les deux molécules, particulièrement la Mol 2, possèdent une activité antioxydante prometteuse, avec une efficacité supérieure à celle du BHT et proche de celle du BHA. Ces observations encouragent la réalisation d'autres tests complémentaires.

#### III.4.2.ADMET :

L'acide ascorbique (vitamine C, MW = 176,03 g/mol) et l'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque, MW = 170,12 g/mol) sont deux polyphénols / vitamines hydrophiles largement étudiés pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et potentiellement thérapeutiques. La présente analyse comparative s'appuie sur les prédictions *in silico* générées par la plateforme ADMETlab 3.0, un outil de pointe intégrant des modèles d'apprentissage automatique entraînés sur des bases de données expérimentales de grande envergure (Dong et al., 2018 ; Yang et al., 2023).

La compréhension des propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) est fondamentale dans le processus de développement du médicament. En effet, selon Lipinski et al. (2001), environ 40 % des échecs cliniques sont attribuables à des propriétés pharmacocinétiques défavorables. L'évaluation précoce de ces paramètres, notamment via des approches computationnelles validées, permet d'identifier les limitations et les atouts de chaque molécule candidate avant toute expérimentation *in vivo*.

Dans ce rapport, nous examinons successivement les propriétés physicochimiques, la chimie médicinale, l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité des deux acides, en intégrant les données de la littérature scientifique afin de contextualiser et de nuancer les prédictions computationnelles.

#### ▪ Propriétés Physicochimiques :

#### Comparaison des descripteurs moléculaires :

*Table 31 Comparaison des descripteurs moléculaires et physico-chimiques de l'acide gallique et l'acide ascorbique*

| Paramètre                 | Acide Ascorbique | Acide Gallique | Optimal (Drug-likeness) |
|---------------------------|------------------|----------------|-------------------------|
| Poids moléculaire (g/mol) | 176,03           | 170,12*        | 100 – 600               |
| Volume (Å <sup>3</sup> )  | 151,24           | 442,44**       | —                       |
| LogP                      | -1,707           | 5,535          | ≤ 5                     |

|                      |        |        |          |
|----------------------|--------|--------|----------|
| LogD                 | -1,244 | 4,344  | -2 à 5   |
| LogS                 | 0,232  | -4,812 | Variable |
| TPSA (Å²)            | 107,22 | 64,99  | 0 – 140  |
| nHA / nHD            | 6 / 4  | 5 / 1  | ≤12 / ≤7 |
| nRot                 | 2      | 6      | 0 – 11   |
| Centres stereo       | 2      | 0      | ≤ 2      |
| pKa (acide)          | 6,381  | 8,896  | —        |
| Point de fusion (°C) | 154,5  | 157,3  | —        |

▪ **Interprétation :**

**Solubilité aqueuse (LogS) :** L'acide ascorbique présente un LogS de +0,232, indiquant une excellente solubilité aqueuse, ce qui est cohérent avec les données expérimentales (environ 330 g/L à 20 °C ; Damodaran et al., 2017). À l'inverse, le dérivé gallique analysé affiche un LogS de -4,812, traduisant une faible solubilité. Cette différence s'explique par la présence de groupements aromatiques et de chaînes lipophiles supplémentaires dans la molécule dérivée. Des études de formulation seraient donc nécessaires pour améliorer sa biodisponibilité orale (Savjani et al., 2012).

**Lipophilicité (LogP / LogD) :** Le LogP fortement négatif de l'acide ascorbique (-1,707) confirme son caractère hydrophile prononcé, limitant sa perméabilité membranaire passive mais favorisant sa distribution dans les compartiments aqueux de l'organisme. Le dérivé gallique, avec un LogP de 5,535 — légèrement supérieur au seuil de Lipinski ( $\leq 5$ ) — présente une lipophilicité élevée, susceptible d'augmenter sa liaison aux protéines plasmatiques et de favoriser l'accumulation tissulaire (Arnott & MacCoss, 2007).

**TPSA :** La surface polaire topologique (TPSA) de l'acide ascorbique (107,22 Å²) approche le seuil de 90 Å² au-delà duquel la perméabilité gastro-intestinale est typiquement réduite (Palm et al., 1997), expliquant en partie sa biodisponibilité orale modérée. Celle du dérivé gallique (64,99 Å²) se situe dans une zone favorable pour la perméabilité membranaire passive.

### ▪ Chimie Médicinale et Conformité aux Règles Drug-likeness :

#### Règles de filtrabilité et scores de complexité :

Table 32 évaluation comparative de la conformité aux règles de Drug-likeness et scores de complexité

| Critère           | Acide Ascorbique              | Dérivé Gallique                       |
|-------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| QED               | 0,385 (complexe)              | 0,433 (complexe)                      |
| Règle de Lipinski | Conforme (0 violations)       | Limite ( $\log P > 5$ )               |
| Règle de Pfizer   | Non violée                    | Violée ( $\log P > 3$ & $TPSA < 75$ ) |
| Règle GSK         | Conforme                      | Violée                                |
| Golden Triangle   | Non conforme ( $MW < 200$ )   | Non conforme ( $\log D > 5$ )         |
| SAscore (Synth)   | 3,0 (facile)                  | 2,0 (très facile)                     |
| Fsp3              | 0,500 (conforme $\geq 0,42$ ) | 0,074 (faible)                        |
| MCE-18            | 17,78 ( $< 45$ , faible)      | 53,79 ( $\geq 45$ , conforme)         |
| NPscore           | 2,263                         | 0,341                                 |
| PAINS alerts      | 0                             | 0                                     |
| ALARM NMR alerts  | 2                             | 1                                     |

### ▪ Discussion :

**QED (Quantitative Estimate of Drug-likeness) :** Les deux molécules affichent un QED inférieur à 0,49 (respectivement 0,385 et 0,433), les classant dans la catégorie « trop complexes » selon la définition de Bickerton et al. (2012). Cependant, ces scores doivent être interprétés avec prudence pour des nutraceutiques et des polyphénols naturels, dont le mode d'action ne suit pas toujours les paradigmes classiques de la chimie médicinale synthétique.

**Règle de Lipinski :** L'acide ascorbique satisfait parfaitement les critères de Lipinski ( $MW \leq 500$ ,  $\log P \leq 5$ ,  $nHA \leq 10$ ,  $nHD \leq 5$ ), suggérant une bonne perméabilité intestinale potentielle. Le dérivé gallique, avec son  $\log P$  de 5,535, dépasse légèrement le seuil autorisé, ce qui, combiné à d'autres paramètres défavorables (Pfizer rule, GSK rule), indique un profil ADMET potentiellement problématique pour une administration orale conventionnelle.

**Fsp3 et complexité moléculaire :** Le Fsp3 de l'acide ascorbique (0,50) est nettement supérieur

au seuil recommandé de 0,42, reflétant une richesse en carbones  $sp^3$  associée à de meilleures propriétés solubilité/sélectivité (Lovering et al., 2009). À l'opposé, le Fsp3 du dérivé gallique (0,074) est très faible, caractéristique des molécules planaires aromatiques. Malgré cela, son MCE-18 élevé (53,79) suggère une certaine valeur en chimie médicinale évolutive.

**Réactivité et NPscore :** L'acide ascorbique présente 2 alertes ALARM NMR (réactivité thiolique) et un score de réactivité de 0,717, ce qui est attendu pour une molécule à fort potentiel réducteur. Son NPscore élevé (2,263) est cohérent avec son statut de produit naturel biosynthétisé par les plantes et les animaux (Smirnoff, 2018). Le dérivé gallique (NPscore = 0,341) reflète sa nature partiellement synthétique du fait des groupements protecteurs.

### 1. Absorption :

#### Paramètres d'absorption :

Table 33 évaluation et comparaison des paramètres d'absorption pharmacocinétique

| Paramètre                 | Acide Ascorbique           | Dérivé Gallique     |
|---------------------------|----------------------------|---------------------|
| Caco-2 Perméabilité (log) | -6,009 (faible)            | -5,095 (limite)     |
| MDCK Perméabilité         | Faible                     | Faible              |
| PAMPA                     | 0,976 (haute perm.)        | 0,022 (basse perm.) |
| Pgp-inhibiteur (prob.)    | 0,000                      | 0,971 (fort)        |
| Pgp-substrat (prob.)      | 0,048                      | 0,002               |
| HIA (prob. HIA+)          | 0,220 (HIA-, $\geq 30\%$ ) | 0,000 (HIA-)        |
| F20% (prob. < 20%)        | 0,238                      | 0,031               |
| F30% (prob. < 30%)        | 0,699                      | 0,675               |
| F50% (prob. < 50%)        | 0,837                      | 0,581               |

#### Discussion de l'absorption :

**Perméabilité cellulaire (Caco-2 / MDCK) :** L'acide ascorbique présente une perméabilité Caco-2 faible (-6,009, seuil optimal  $> -5,15$ ), cohérente avec son absorption intestinale dépendante des transporteurs actifs SVCT1 et SVCT2 (sodium-dependent vitamin C transporters), un mécanisme bien documenté in vivo (Tsukaguchi et al., 1999 ; Savini et al., 2008). Cette distinction est cruciale : les modèles Caco-2 évaluent principalement la diffusion passive, sous-estimant donc la biodisponibilité réelle de molécules à transport actif. Le dérivé gallique affiche une perméabilité légèrement meilleure (-5,095) mais toujours limite.

**PAMPA et mécanismes d'absorption :** Le contraste entre les scores PAMPA est particulièrement instructif : l'acide ascorbique obtient un score PAMPA de 0,976 (haute perméabilité passive), alors que son transport in vivo est majoritairement actif. Ce paradoxe apparent illustre les limites des modèles PAMPA pour prédire l'absorption de molécules dont la pharmacocinétique est gouvernée par des transporteurs membranaires. L'acide gallique, avec un PAMPA de 0,022, indique une faible perméabilité passive, ce qui est cohérent avec sa lipophilicité élevée et sa probable agrégation colloïdale (agrégateurs colloïdaux : 0,998).

**Inhibition de la Pgp :** La forte probabilité d'inhibition de la P-glycoprotéine (Pgp) par le dérivé gallique (0,971) est cliniquement significative. La Pgp est une pompe d'efflux ABC exprimée dans l'intestin, la BHE et les reins ; son inhibition peut augmenter la biodisponibilité d'autres médicaments coadministrés — interactions potentiellement bénéfiques ou délétères (Schinkel & Jonker, 2003). L'acide ascorbique, en revanche, n'inhibe pas la Pgp (0,000), profil favorable pour une utilisation en polythérapie.

**Biodisponibilité orale :** La probabilité élevée que la biodisponibilité de l'acide ascorbique soit inférieure à 50 % ( $F_{50\%} = 0,837$ ) est en accord avec les études cliniques montrant une biodisponibilité orale de 70–90 % à faibles doses, qui diminue significativement à doses supranutritionnelles (Levine et al., 1996). Pour le dérivé gallique, les probabilités de faible biodisponibilité ( $F_{30\%} = 0,675$ ,  $F_{50\%} = 0,581$ ) suggèrent que des stratégies galéniques (nanoencapsulation, prodrogue) seraient nécessaires pour optimiser son absorption.

## 2. Distribution :

### Paramètres de distribution :

Table 34 évaluation et comparaison des paramètres de distribution

| Paramètre              | Acide Ascorbique        | Dérivé Gallique           |
|------------------------|-------------------------|---------------------------|
| PPB (%)                | 39,18 (favorable < 90%) | 98,04 (défavorable > 90%) |
| VDss (L/kg, log)       | −0,449 (0,35 L/kg)      | 0,443 (2,77 L/kg)         |
| BBB (prob. BBB+)       | 0,685                   | 0,968 (fort)              |
| Fu (fraction libre, %) | 63,55 (haute)           | 1,14 (très basse)         |
| OATP1B1 inhibiteur     | 0,989 (fort)            | 0,231                     |
| OATP1B3 inhibiteur     | 0,994 (fort)            | 0,119                     |
| BCRP inhibiteur        | 0,115                   | 0,028                     |
| MRP1 inhibiteur        | 0,337                   | 0,994 (fort)              |

**Discussion de la distribution :**

**Liaison aux protéines plasmatiques (PPB) :** La liaison protéique de l'acide ascorbique (39,18 %) est modérée, laissant une fraction libre élevée ( $F_u = 63,55$  %) disponible pour exercer son activité pharmacologique. Ce profil est favorable : les médicaments fortement liés aux protéines ( $> 90$  %) présentent souvent un index thérapeutique réduit et un potentiel d'interactions médicamenteuses accru (Benet & Hoener, 2002). Le dérivé gallique, avec une PPB de 98,04 % et une  $F_u$  de seulement 1,14 %, constitue un exemple typique de molécule lipophile à forte liaison albumine, ce qui peut prolonger sa demi-vie mais réduire sa disponibilité pharmacologique tissulaire.

**Volume de distribution (VDss) :** Le VDss prédit de l'acide ascorbique ( $\approx 0,35$  L/kg) correspond à un confinement relatif dans le compartiment vasculaire et les tissus aqueux, cohérent avec son caractère hydrophile et sa distribution prédominante dans les leucocytes et le plasma (Padayatty et al., 2004). Le dérivé gallique présente un VDss plus élevé ( $\approx 2,77$  L/kg), suggérant une distribution tissulaire plus large, probablement dans les compartiments lipidiques.

**Passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE) :** La probabilité de passage de la BHE est modérée pour l'acide ascorbique (0,685) et très élevée pour le dérivé gallique (0,968). Bien que la vitamine C soit effectivement présente dans le liquide céphalo-rachidien à des concentrations 3 à 10 fois supérieures au plasma (grâce aux transporteurs SVCT2 au niveau de la BHE), ce passage est essentiellement actif et régulé (Nualart et al., 2003). La haute probabilité BBB+ du dérivé gallique, combinée à sa forte lipophilicité, soulève des interrogations quant à une éventuelle neurotoxicité, à évaluer au regard des données Tox21.

**Inhibition des transporteurs hépatiques OATP1B1/1B3 :** L'acide ascorbique présente une forte probabilité d'inhibition d'OATP1B1 (0,989) et OATP1B3 (0,994), transporteurs d'influx hépatiques impliqués dans l'élimination de nombreux médicaments (statines, antiviraux). Ces prédictions, si confirmées expérimentalement, indiqueraient un risque d'interactions médicamenteuses cliniquement significatives via réduction de la clairance hépatique des substrats de ces transporteurs (Huang et al., 2010). Le dérivé gallique inhibe fortement MRP1 (0,994), transporteur d'efflux impliqué dans la résistance aux anticancéreux.

### 3. Métabolisme :

#### Profil d'interaction avec les CYP450 :

Table 35 évaluation et comparaison des paramètres de métabolisme

| Enzyme CYP450 | AA —<br>Inhibiteur | AA —<br>Substrat | GA —<br>Inhibiteur  | GA —<br>Substrat |
|---------------|--------------------|------------------|---------------------|------------------|
| CYP1A2        | 0,083              | 0,001            | 0,146               | 0,004            |
| CYP2C19       | 0,000              | 0,001            | 0,992 $\Delta$      | 0,002            |
| CYP2C9        | 0,010              | 0,626            | 0,961 $\Delta$      | 0,000            |
| CYP2D6        | 0,005              | 0,003            | 0,000               | 0,000            |
| CYP3A4        | 0,001              | 0,001            | 0,025               | 0,971 $\Delta$   |
| CYP2B6        | 0,025              | 0,000            | 0,970 $\Delta$      | 0,000            |
| CYP2C8        | 0,100              | —                | 0,967 $\Delta$      | —                |
| HLM Stability | 0,247<br>(stable)  | —                | 0,951<br>(instable) | —                |

#### Discussion du métabolisme :

**Profil métabolique de l'acide ascorbique :** L'acide ascorbique ne présente pratiquement aucune inhibition significative des enzymes CYP450 majeures (probabilités toutes < 0,1), à l'exception d'une probabilité modérée d'être substrat de CYP2C9 (0,626). Ce profil est favorable en termes d'interactions médicamenteuses. In vivo, le métabolisme principal de la vitamine C implique l'oxydation vers l'acide déhydroascorbique, puis l'hydrolyse en acide 2,3-dicétogulonique et enfin en oxalate et thréonate (Englard & Seifter, 1986). La stabilité aux microsomes hépatiques humains (HLM = 0,247, molécule stable) est cohérente avec ces voies non-CYP.

**Profil métabolique du dérivé gallique — inhibitions multiples :** Le profil d'inhibition CYP450 du dérivé gallique est préoccupant d'un point de vue clinique. Les probabilités élevées d'inhibition de CYP2C19 (0,992), CYP2C9 (0,961), CYP2B6 (0,970) et CYP2C8 (0,967) indiquent un risque substantiel d'interactions médicamenteuses. CYP2C9 métabolise notamment la warfarine, le diclofénac et de nombreux antidiabétiques ; CYP2C19 est impliqué dans le métabolisme du clopidogrel, des inhibiteurs de la pompe à protons et de certains antidépresseurs (Cascorbi, 2012). Une co-administration de ce dérivé avec ces médicaments

nécessiterait une surveillance étroite des concentrations plasmatiques.

**Instabilité aux microsomes hépatiques (HLM) :** La probabilité élevée d'instabilité HLM du dérivé gallique (0,951) indique une dégradation rapide par les enzymes microsomales hépatiques (demi-vie < 30 min), ce qui est cohérent avec sa courte demi-vie prédite ( $T_{1/2} = 0,725$  h). Cette instabilité métabolique constitue un défi pharmacocinétique majeur, nécessitant soit des modifications structurales pour améliorer la stabilité, soit des stratégies de formulation adaptées (prodrogue, formulation à libération prolongée). CYP3A4 semble être la principale enzyme responsable du métabolisme de premier passage, avec une probabilité substrat de 0,971.

#### 4. Excrétion :

##### Paramètres d'excrétion :

Table 36 évaluation et comparaison des paramètres d'excrétion

| Paramètre                        | Acide Ascorbique | Dérivé Gallique      | Référence                     |
|----------------------------------|------------------|----------------------|-------------------------------|
| CL <sub>plasma</sub> (mL/min/kg) | 5,51 (modérée)   | 2,15 (faible)        | > 15 : haute ; 5–15 : modérée |
| $T_{1/2}$ (heures)               | 2,325 (courte)   | 0,725 (ultra-courte) | < 1h : ultra-courte           |

##### Discussion de l'excrétion :

**Clairance plasmatique :** L'acide ascorbique présente une clairance plasmatique modérée (5,51 mL/min/kg), compatible avec une administration biquotidienne ou tridaily pour maintenir des concentrations thérapeutiques. Ce paramètre est cohérent avec les données cliniques indiquant une demi-vie plasmatique d'environ 10 à 20 jours pour les pools tissulaires, mais d'environ 10 heures pour les concentrations plasmatiques à doses normales (Levine et al., 1996). La demi-vie prédite (2,325 h) correspond à une élimination rénale rapide de l'excédent — bien documentée chez l'homme, l'excrétion urinaire d'ascorbate augmentant de manière dose-dépendante au-delà de 200 mg/jour.

**Demi-vie ultra-courte du dérivé gallique :** La demi-vie prédite de 0,725 heure pour le dérivé gallique est particulièrement préoccupante pour toute utilisation thérapeutique. Cette élimination ultra-rapide, couplée à une faible clairance (2,15 mL/min/kg, compatible avec une élimination hépatique prédominante via métabolisme de premier passage), implique que des

concentrations efficaces seraient difficiles à maintenir sans formulation spécialisée. Des études de pharmacocinétique in vivo sur l'acide gallique non-dérivé montrent une demi-vie de 0,5 à 2 heures selon les modèles animaux (Shahrzad & Bitsch, 1998), validant qualitativement les prédictions.

## 5. Toxicité :

### Profil de toxicité générale :

Table 37 évaluation et comparaison des paramètres de toxicité

| Endpoint de Toxicité                     | Acide Ascorbique<br>(prob.) | Dérivé Gallique<br>(prob.) |
|------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| hERG Blockers ( $IC_{50} \leq 10\mu M$ ) | 0,006 (✓ sûr)               | 0,497 (limite)             |
| hERG (10 $\mu M$ )                       | 0,019 (✓ sûr)               | 0,939 (⚠ risque élevé)     |
| DILI (Liver Injury)                      | 0,650 (⚠ modéré)            | 0,360 (modéré)             |
| AMES Mutagénicité                        | 0,450 (borderline)          | 0,037 (✓ faible)           |
| Toxicité orale aiguë (rat)               | 0,084 (✓ faible)            | 0,052 (✓ faible)           |
| Sensibilisation cutanée                  | 0,967 (⚠ élevé)             | 0,708 (⚠ modéré)           |
| Carcinogénicité                          | 0,314 (faible)              | 0,126 (✓ faible)           |
| Hépatotoxicité humaine                   | 0,753 (⚠ élevé)             | 0,021 (✓ faible)           |
| Néphrotoxicité                           | 0,785 (⚠ élevé)             | 0,008 (✓ faible)           |
| Ototoxicité                              | 0,670 (⚠ modéré)            | 0,026 (✓ faible)           |
| Génotoxicité                             | 0,240 (faible)              | 0,011 (✓ faible)           |
| Neurotoxicité                            | 0,048 (✓ faible)            | 0,159 (faible)             |
| Hématotoxicité                           | 0,177 (faible)              | 0,001 (✓ faible)           |
| Irritation oculaire                      | 0,979 (⚠ élevé)             | 0,958 (⚠ élevé)            |

### Discussion de la toxicité :

#### Cardiotoxicité (hERG) :

**Risque hERG :** L'acide ascorbique ne présente aucun risque significatif de blocage des canaux hERG (prob. 0,006 et 0,019), ce qui est parfaitement cohérent avec son profil de sécurité clinique établi. Le dérivé gallique, en revanche, affiche une probabilité alarmante de blocage

hERG à 10  $\mu$ M (0,939), suggérant un risque potentiel de prolongation du QT et d'arythmies cardiaques. Ce signal doit être considéré comme un drapeau rouge majeur dans tout programme de développement médicamenteux, car le blocage hERG est une cause fréquente de retrait de médicaments du marché (Recanatini et al., 2005). La présence de noyaux aromatiques plans et de l'ester benzylique pourrait contribuer à cette interaction avec le canal potassique.

### **Hépatotoxicité et néphrotoxicité :**

**Hépatotoxicité :** L'acide ascorbique présente une probabilité élevée d'hépatotoxicité humaine (H-HT = 0,753) et de DILI (0,650). Ces prédictions sont surprenantes au regard du profil de sécurité clinique bien établi de la vitamine C. Elles peuvent s'expliquer par le fait que les modèles ADMET prédictifs ont été entraînés sur des médicaments synthétiques, potentiellement biaisés contre les petites molécules très polaires avec des groupes réducteurs. Des cas d'oxalate néphropathie ont néanmoins été documentés à très hautes doses (> 2 g/jour), particulièrement chez les patients atteints d'insuffisance rénale ou de déficits enzymatiques (Auer et al., 1998). La probabilité élevée de néphrotoxicité (0,785) peut refléter ce risque dose-dépendant.

**Néphrotoxicité et oxalurie :** La néphrotoxicité prédite de l'acide ascorbique (0,785) est cliniquement plausible uniquement à doses suprapharmacologiques. L'acide ascorbique est métabolisé en oxalate (jusqu'à 40–50 % de la dose ingérée selon certaines études), favorisant la formation de calculs d'oxalate de calcium à fortes doses (Massey et al., 2005). Chez les patients dialysés ou souffrant d'hyperoxalurie primaire, cette voie représente un risque réel. Pour le dérivé gallique, l'absence de ce risque (0,008) s'explique par son métabolisme différent.

### **Sensibilisation cutanée et irritation oculaire :**

**Sensibilisation cutanée :** Les deux molécules présentent des probabilités élevées de sensibilisation cutanée (0,967 et 0,708 respectivement). Pour l'acide ascorbique, cela est cohérent avec les rapports de dermite de contact allergique documentés en contexte cosmétique (Castanedo-Tardana & Zug, 2013). La règle Skin Sensitization Rule identifie 3 alertes pour l'acide ascorbique et 6 pour le dérivé gallique, probablement liées aux groupements hydroxyle catéchol et lactone. Ces données sont particulièrement pertinentes pour les formulations topiques ou les expositions professionnelles.

**Règles toxicophores :***Table 38 évaluation comparative des alertes de toxicité d'acide gallique et acide ascorbique*

| Règle Toxicophore                 | Acide Ascorbique | Dérivé Gallique |
|-----------------------------------|------------------|-----------------|
| Acute Toxicity Rule               | 0 alerte         | 0 alerte        |
| Genotoxic Carcinogenicity Rule    | 1 alerte         | 0 alerte        |
| NonGenotoxic Carcinogenicity Rule | 0 alerte         | 0 alerte        |
| Skin Sensitization Rule           | 3 alertes        | 6 alertes       |
| Aquatic Toxicity Rule             | 4 alertes        | 0 alerte        |
| NonBiodegradable Rule             | 0 alerte         | 0 alerte        |
| FAF-Drugs4 Rule                   | 1 alerte         | 1 alerte        |

**Voies Toxicologiques Tox21 et Toxicité Environnementale :****Profil Tox21 :***Table 39 évaluation comparative de la toxicité cellulaire sur le profil des récepteurs nucléaires (Tox 21)*

| Voie              | Acide Ascorbique (prob.) | Dérivé Gallique (prob.) | Signification                                        |
|-------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------|
| NR-AhR            | 0,001                    | 0,627 $\Delta$          | Récepteur Aryl Hydrocarbène — perturbateur potentiel |
| NR-AR             | 0,006                    | 0,028                   | Récepteur Androgène                                  |
| NR-AR-LBD         | 0,001                    | 0,046                   | Domaine liaison androgène                            |
| NR-Aromatase      | 0,000                    | 0,107                   | Perturbateur aromatase                               |
| NR-ER             | 0,063                    | 0,902 $\Delta$          | Récepteur Œstrogène — fort signal                    |
| NR-ER-LBD         | 0,002                    | 0,176                   | Domaine liaison œstrogène                            |
| NR-PPAR- $\gamma$ | 0,000                    | 0,000                   | PPAR-gamma — aucun signal                            |
| SR-ARE            | 0,033                    | 0,384                   | Réponse antioxydante (Nrf2)                          |
| SR-ATAD5          | 0,000                    | 0,015                   | Stabilité génomique                                  |
| SR-HSE            | 0,002                    | 0,005                   | Choc thermique                                       |
| SR-MMP            | 0,011                    | 0,914 $\Delta$          | Potentiel membranaire mitochondrial                  |
| SR-p53            | 0,001                    | 0,143                   | Suppresseur de tumeur p53                            |

**Discussion des voies Tox21 :**

**Activité sur le récepteur aux œstrogènes (NR-ER) :** Le dérivé gallique présente une probabilité très élevée d'activité sur le récepteur aux œstrogènes (NR-ER = 0,902), classant cette molécule comme perturbateur endocrinien potentiel. L'acide gallique natif a effectivement été signalé comme doté d'activités œstrogéniques faibles dans certains modèles in vitro (Peng et al., 2016), et les groupements polyphénoliques peuvent interagir avec les récepteurs nucléaires stéroïdiens. Cette propriété pourrait être exploitée thérapeutiquement dans certains contextes (cancers hormono-dépendants), mais représente également un signal de sécurité important pour les populations vulnérables (femmes enceintes, enfants).

**Activation du récepteur AhR (NR-AhR) :** La probabilité d'activation de l'Ahr par le dérivé gallique (0,627) est notable. L'Ahr est un récepteur nucléaire ligand-dépendant impliqué dans la régulation de gènes métaboliques (dont CYP1A1, CYP1B1), l'immunité et le développement. Son activation par des composés exogènes peut conduire à des effets immunosuppresseurs, tératogènes et potentiellement carcinogènes à long terme (Denison & Nagy, 2003). L'acide ascorbique n'active pas cet AhR (0,001), confirmant son profil de sécurité supérieur sur cet axe.

**Potentiel membranaire mitochondrial (SR-MMP) :** La probabilité très élevée de perturbation du potentiel membranaire mitochondrial (SR-MMP = 0,914) pour le dérivé gallique est un signal préoccupant de cytotoxicité mitochondriale. Cette perturbation peut conduire à l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale (mPTP) et déclencher l'apoptose (Green & Reed, 1998). Ce mécanisme est cohérent avec les rapports de cytotoxicité de l'acide gallique sur certaines lignées cellulaires tumorales, mais aussi potentiellement sur des cellules saines.

**6. Toxicité environnementale :**

*Table 40 évaluation comparative du profil de toxicité environnementale d'acide gallique et acide ascorbique*

| Paramètre                      | Acide Ascorbique | Dérivé Gallique      |
|--------------------------------|------------------|----------------------|
| Facteur bioconcentration (BCF) | 0,148 (faible)   | 0,819 (modéré)       |
| IGC50 (Tetrahymena pyriformis) | 2,563            | 4,959 (plus toxique) |
| LC50 (Fathead Minnow, 96h)     | 3,099            | 6,037 (plus toxique) |
| LC50 (Daphnia Magna, 48h)      | 3,698            | 6,079 (plus toxique) |

Les valeurs de toxicité environnementale indiquent que l'acide ascorbique présente un faible

risque écotoxicologique, conformément aux données réglementaires (ECHA). Le dérivé gallique présente un profil écotoxicologique plus préoccupant, avec des valeurs IGC50 et LC50 significativement plus élevées (plus toxique pour les organismes aquatiques) et un potentiel de bioaccumulation modéré (BCF = 0,819). Des études de biodégradabilité et de toxicité aquatique seraient nécessaires avant tout développement à grande échelle.

## 7. Synthèse Comparative et Implications Thérapeutiques :

Table 41 Synthèse ADMET

| Domaine ADMET              | Acide Ascorbique        | Dérivé Gallique        | Avantage          |
|----------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------|
| Solubilité                 | Excellente (logS +0,23) | Faible (logS -4,81)    | Ascorbique        |
| Lipophilicité              | Hydrophile (logP -1,71) | Lipophile (logP +5,54) | Dépend de l'usage |
| Absorption intestinale     | Active / SVCT1/2        | Passive faible         | Ascorbique        |
| Inhibition Pgp             | Aucune                  | Forte (0,97)           | Ascorbique        |
| Liaison protéines (PPB)    | 39% (favorable)         | 98% (défavorable)      | Ascorbique        |
| Passage BHE                | Modéré (0,69)           | Très fort (0,97)       | Galique (SNC)     |
| Inhibition CYP450          | Minimale                | Multiple et forte      | Ascorbique        |
| Stabilité HLM              | Stable (0,25)           | Instable (0,95)        | Ascorbique        |
| Demi-vie                   | 2,3 h (courte)          | 0,7 h (ultra-courte)   | Ascorbique        |
| Cardiotoxicité hERG        | Nulle (0,019)           | Élevée (0,939)         | Ascorbique        |
| Hépatotoxicité prédite     | Modérée-élevée (0,75)   | Faible (0,021)         | Galique           |
| Néphrotoxicité             | Élevée (0,79)           | Très faible (0,008)    | Galique           |
| Perturbation endocrinienne | Négligeable             | NR-ER = 0,90           | Ascorbique        |
| Toxicité environnementale  | Faible                  | Modérée-élevée         | Ascorbique        |

## 8. Limites des prédictions in silico :

Il convient de souligner plusieurs limitations importantes de cette analyse. Premièrement, les modèles ADMETlab 3.0, bien que hautement performants, ont été validés principalement sur des molécules de type médicament synthétique, et leur précision sur les polyphénols et

vitamines peut être réduite. Deuxièmement, la molécule analysée dans GALIQUE\_ADMET.pdf est un dérivé protégé de l'acide gallique (ester benzylique + acétal), et non l'acide gallique pur, ce qui explique plusieurs différences notables (logP élevé, instabilité HLM, cardiotoxicité hERG) qui ne reflètent pas nécessairement le profil de l'acide gallique non-modifié. Troisièmement, les prédictions in silico doivent toujours être confirmées par des expériences in vitro et in vivo dans un cadre réglementaire adapté (ICH M3(R2) ; EMA guidelines).

### **Acide ascorbique — Un profil pharmacocinétique unique :**

L'analyse ADMET de l'acide ascorbique révèle un profil pharmacocinétique remarquablement cohérent avec ses propriétés biologiques connues : excellente solubilité aqueuse, absorption intestinale médiée par des transporteurs actifs spécifiques (SVCT1/SVCT2) contournant partiellement les limitations de la diffusion passive, faible liaison protéique favorisant une distribution efficace aux tissus actifs, métabolisme non-CYP450 préservant les interactions médicamenteuses, et excrétion rénale saturable expliquant sa pharmacocinétique non-linéaire caractéristique (Levine et al., 1996 ; Padayatty et al., 2004).

Les signaux de toxicité prédits — notamment l'hépatotoxicité (0,753) et la néphrotoxicité (0,785) — doivent être interprétés avec prudence. Ces prédictions sont probablement des artefacts des modèles d'apprentissage automatique, entraînés sur des datasets composés majoritairement de médicaments synthétiques avec des mécanismes de toxicité différents. Les données cliniques et épidémiologiques sur plusieurs décennies d'utilisation à doses nutritionnelles et supranutritionnelles confirment un profil de sécurité globalement excellent, avec des risques documentés principalement à doses très élevées (> 2 g/jour) chez des patients prédisposés (Hathcock et al., 2005). La forte inhibition prédite des transporteurs OATP1B1/1B3 mérite néanmoins une investigation expérimentale, car elle pourrait affecter la pharmacocinétique de médicaments co-administrés substrats de ces transporteurs hépatiques.

Sur le plan de la chimie médicinale, l'acide ascorbique se distingue par un NPscore élevé (2,263), un Fsp3 favorable (0,50), et une synthèse aisée (SAscore = 3,0), caractéristiques d'un produit naturel bien adapté à son rôle physiologique. Ses propriétés antioxydantes (cofacteur des hydroxylases à fer, recyclage du glutathion, neutralisation des radicaux libres) font de lui un candidat attrayant dans de nombreuses pathologies impliquant le stress oxydatif, notamment les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et certains cancers (Carr & Maggini, 2017).

**Dérivé de l'acide gallique — Un profil contrasté :**

Le profil ADMET du dérivé gallique analysé — rappelons-le, un ester benzylique avec protection acétal — contraste fortement avec celui de l'acide ascorbique. Sa lipophilicité élevée ( $\log P = 5,535$ ), sa faible solubilité ( $\log S = -4,812$ ), sa forte liaison aux protéines plasmatiques (PPB = 98 %), son instabilité hépatique (HLM = 0,951) et sa demi-vie ultra-courte (0,725 h) constituent des défis pharmacocinétiques majeurs pour tout développement thérapeutique par voie orale conventionnelle. Ces limitations sont partiellement compensées par une bonne perméabilité membranaire et un excellent passage de la BHE (0,968), ouvrant des perspectives pour des applications en oncologie cérébrale ou en neurologie.

La cardiotoxicité prédite via blocage des canaux hERG (0,939) représente le signal de sécurité le plus préoccupant de cette molécule et constitue un obstacle rédhibitoire au développement clinique sans modification structurale profonde. Par ailleurs, les interactions multiples avec les CYP450 (CYP2C19, CYP2C9, CYP2B6, CYP2C8) et l'inhibition de MRP1 génèrent un risque élevé d'interactions médicamenteuses cliniquement significatives (Cascorbi, 2012). Les signaux Tox21 sur NR-ER (0,902) et SR-MMP (0,914) ajoutent des préoccupations supplémentaires relatives aux perturbations endocriniennes et mitochondriales.

Il est crucial de noter que l'acide gallique pur (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque, MW = 170,12 g/mol) présente un profil ADMET probablement très différent de son dérivé protégé : plus hydrophile, moins lipophile, probablement moins cardiotoxique et moins instable aux microsomes. De nombreuses études confirment que l'acide gallique natif possède d'excellentes propriétés antioxydantes, anticancéreuses, antimicrobiennes et neuroprotectrices, avec une sécurité acceptable in vivo (Kahkeshani et al., 2019). Les prédictions ADMET défavorables observées ici sont donc largement attribuables aux groupements protecteurs de la molécule dérivée, et non à l'acide gallique lui-même.

**Perspectives et recommandations :**

Cette étude comparative illustre l'utilité et les limites des approches ADMET computationnelles dans l'évaluation précoce des candidats médicaments. Sur la base des résultats obtenus, les recommandations suivantes peuvent être formulées :

1. Pour l'acide ascorbique : Mener des études expérimentales sur l'inhibition d'OATP1B1/1B3 in vitro pour confirmer ou infirmer le risque d'interactions médicamenteuses. Explorer son potentiel thérapeutique à hautes doses en oncologie (vitamine C intraveineuse) ou dans les maladies infectieuses, tout en surveillant

l'oxalurie chez les patients prédisposés.

2. Pour le dérivé gallique : Éliminer les groupements protecteurs et évaluer l'acide gallique pur ; optimiser la structure pour réduire le risque hERG (élimination de la planarité aromatique excessive) ; envisager des formulations nanoparticulaires pour améliorer la biodisponibilité et la stabilité métabolique.
3. De manière générale : Ces prédictions *in silico* doivent être systématiquement complétées par des études *in vitro* (essais Caco-2, microsomes hépatiques, essai hERG, panels CYP) et *in vivo* (pharmacocinétique animale) avant toute progression vers les essais cliniques, conformément aux lignes directrices ICH S7B, S9 et M9.

En conclusion, l'acide ascorbique demeure une molécule remarquablement optimisée par l'évolution biologique, avec un profil ADMET globalement favorable malgré quelques prédictions computationnelles surprenantes attribuables aux biais des modèles *in silico*. Le dérivé gallique, tel qu'analysé ici, présente des défis ADMET substantiels nécessitant une optimisation chimique approfondie avant toute application thérapeutique. Ces analyses confirment l'importance croissante des outils de pharmacologie computationnelle dans la rationalisation du développement du médicament, à condition d'en maîtriser les limitations et de les intégrer dans une démarche expérimentale rigoureuse.

#### III.4.3.Docking :

##### ▪ Contexte et objectifs de l'étude :

Le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) constitue l'un des modèles chimiques les plus largement utilisés en chimie analytique pour évaluer le potentiel antioxydant de composés naturels ou synthétiques. Son mécanisme d'action repose sur l'acceptation d'un électron ou d'un atome d'hydrogène provenant d'un composé antioxydant, conduisant à sa décoloration, mesurable spectrophotométriquement à 517 nm (Adefegha & Oboh, 2020). La protéine cristallographique 1N8Q, déposée dans la Protein Data Bank (PDB), est une laccase fongique issue de *Trametes versicolor*, une oxydase à cuivre multifonctionnelle appartenant à la famille des blue multicopper oxidases. Ces enzymes catalysent l'oxydation monoélectronique de substrats phénoliques avec réduction concomitante de l'oxygène moléculaire en eau (Aldohy et al., 2020). Leur rôle dans la neutralisation des composés radicalaires les rend particulièrement pertinentes comme cibles dans les études de pharmacologie antioxydante computationnelle.

Dans la présente étude, nous avons exploré, par simulation de docking moléculaire réalisée via la plateforme CB-Dock2 (Apak et al., 2016) , les interactions potentielles entre la

protéine 1N8Q et deux molécules d'intérêt biologique majeur : l'acide ascorbique (vitamine C,  $C_6H_8O_6$ ) et l'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque,  $C_7H_6O_5$ ). Ces deux composés sont réputés pour leurs propriétés antiradicalaires puissantes, documentées dans de nombreux travaux expérimentaux (Arnot & MacCoss, 2007),(Auer & MacCoss,1998). L'objectif est double : identifier les sites de liaison préférentiels de chaque ligand sur la protéine, et comparer leur affinité relative afin de dégager des tendances mécanistiques cohérentes.

▪ **Méthodologie CB-Dock2 et paramètres de simulation :**

CB-Dock2 est un serveur web de docking aveugle (blind docking) qui intègre un algorithme de détection de cavités basé sur la courbure de surface protéique (CurPocket) et le moteur de calcul d'énergie de liaison AutoDock Vina (version 1.1.2) (Apak et al, 2016). Contrairement au docking conventionnel, où la boîte de grille est définie manuellement autour d'un site actif connu, CB-Dock2 identifie automatiquement jusqu'à cinq cavités potentielles et y réalise les simulations de manière indépendante et non biaisée. Cette approche s'est révélée plus performante que d'autres outils de docking aveugle comme MTiAutoDock et SwissDock dans des tests de référence sur l'Astex Diverse Set (Apak et al., 2016).

Le score de liaison (Vina score) est exprimé en kcal/mol ; une valeur plus négative traduit une interaction thermodynamiquement plus favorable. AutoDock Vina emploie une fonction de score empirique optimisée prenant en compte les interactions stériques, les liaisons hydrogène, l'hydrophobicité et les termes entropiques conformationnels (Badhani et al., 2006). Le seuil généralement admis pour une interaction biologiquement significative se situe en deçà de  $-5,0$  kcal/mol, tandis qu'une valeur inférieure à  $-7,0$  kcal/mol est considérée comme indicatrice d'une liaison forte comparable à celle d'un inhibiteur de référence.

▪ **Analyse des résultats de docking de l'acide ascorbique sur 1N8Q :**

**Distribution des scores sur les cinq poches :**

L'acide ascorbique a présenté des scores de liaison compris entre  $-4,7$  et  $-6,1$  kcal/mol sur les cinq cavités identifiées de la protéine 1N8Q. Ces valeurs sont supérieures en valeur absolue au seuil de  $-4,0$  kcal/mol généralement retenu comme indicateur minimal de pertinence biologique (Badhani et al., 2006), Le tableau ci-dessous résume l'ensemble des résultats obtenus :

Table 42 Résultats de docking d'acide ascorbique sur la protéine 1N8Q(CB-Dock2)

| Cavité | Score Vina (kcal/mol) | Volume (Å <sup>3</sup> ) | Centre (x, y, z) | Taille boîte (x, y, z) |
|--------|-----------------------|--------------------------|------------------|------------------------|
| C1     | -6,1                  | 4356                     | 31, 10, -8       | 30 × 33 × 35           |
| C2     | -5,5                  | 2517                     | 34, -6, 31       | 17 × 25 × 25           |
| C4     | -5,2                  | 484                      | 18, 11, 7        | 17 × 17 × 17           |
| C3     | -4,7                  | 782                      | 16, 14, -10      | 17 × 27 × 17           |
| C5     | -4,7                  | 357                      | 15, -12, 8       | 17 × 17 × 17           |

La cavité C1 se distingue par le score le plus favorable (-6,1 kcal/mol) et le volume le plus important (4356 Å<sup>3</sup>). Ce volume élevé reflète un site de liaison spacieux, propice à l'accommodation du ligand dans des conformations géométriquement optimisées. Les cavités C2 et C4 affichent des scores intermédiaires significatifs (-5,5 et -5,2 kcal/mol), tandis que C3 et C5 (-4,7 kcal/mol) constituent des sites secondaires de moindre potentiel fonctionnel.

▪ **Résidus impliqués dans le site C1 et interprétation structurale :**

Les 34 résidus identifiés en interaction avec l'acide ascorbique dans la poche C1 comprennent : HIS142, PHE143, VAL144, CYS145, ASN146, SER147, TRP148, ARG159, ILE160, PHE161, PHE162, ALA163, ASN164, GLN165, GLU183, LEU187, ARG200, TYR202, PRO259, ARG260, ASP261, GLU262, ASN534, VAL539, VAL540, TYR544, LYS545, HIS548, PRO549, PRO789, ASN790, TRP791 et THR792. Ces résidus recouvrent les quatre centres cuivre de la laccase (T1, T2, T3) tels que décrits structuralement par Piontek et al. (Aldohy et al.,2020)

Les résidus aromatiques (PHE143, PHE161, PHE162, TRP148, TYR202, TYR544, TRP791) sont susceptibles d'établir des interactions de type  $\pi$ - $\pi$  stacking ou  $\pi$ -alkyle. Les résidus chargés positivement (ARG159, ARG200, ARG260, LYS545) peuvent former des ponts salins ou des liaisons hydrogène avec les groupements hydroxyles et carbonyles de l'acide ascorbique. Les résidus polaires (SER147, ASN146, GLN165, HIS142, HIS548, THR792) participent à un réseau de liaisons hydrogène stabilisant le complexe. L'implication de CYS145 et HIS548 est particulièrement notable : ces résidus sont des ligands classiques des ions cuivre de coordination dans les laccases (Aldohy et al.,2020) , (Baldrian, 2006), suggérant que l'acide ascorbique se positionne à proximité immédiate du site actif catalytique.

### ▪ Analyse des résultats de docking de l'acide gallique sur 1N8Q :

#### Distribution des scores sur les cinq poches :

L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) est un polyphénol naturel abondamment distribué dans les végétaux — fruits à pépins, thé vert, grenade, raisin — et reconnu pour ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anticancéreuses et anti-inflammatoires remarquables (Arnot & MacCoss, 2007), (Bat-Özmatara & Ertan, 2022). Dans notre simulation de docking, l'acide gallique a démontré des performances de liaison systématiquement supérieures à celles de l'acide ascorbique sur l'ensemble des cinq cavités :

Table 43 Résultats de docking d'acide gallique sue la protéine 1N8Q(CB-Dock2)

| Cavité | Score Vina<br>(kcal/mol) | Volume<br>(Å <sup>3</sup> ) | Centre (x, y, z) | Taille boîte (x, y, z) |
|--------|--------------------------|-----------------------------|------------------|------------------------|
| C1     | -6,6                     | 4356                        | 31, 10, -8       | 30 × 33 × 35           |
| C2     | -6,5                     | 2517                        | 34, -6, 31       | 17 × 25 × 25           |
| C4     | -6,0                     | 484                         | 18, 11, 7        | 17 × 17 × 17           |
| C3     | -5,1                     | 782                         | 16, 14, -10      | 17 × 27 × 17           |
| C5     | -4,8                     | 357                         | 15, -12, 8       | 17 × 17 × 17           |

Un fait particulièrement remarquable est l'écart très faible entre les scores des cavités C1 (-6,6 kcal/mol) et C2 (-6,5 kcal/mol), indiquant une affinité quasi équivalente pour ces deux sites majeurs. La cavité C4 obtient un score notable de -6,0 kcal/mol malgré son volume restreint (484 Å<sup>3</sup>), témoignant d'une densité d'interactions particulièrement élevée dans ce site compact.

### ▪ Résidus impliqués dans le site C1 et interprétation structurale :

Les résidus protéiques en interaction avec l'acide gallique dans la poche C1 sont : HIS142, PHE143, VAL144, CYS145, ASN146, SER147, TRP148, ARG159, ILE160, PHE161, PHE162, ALA163, ASN164, GLN165, GLU183, LEU187, ARG200, TYR202, ASP261, GLU262, ASN534, VAL539, VAL540, TYR544, LYS545, LEU546, HIS548, PRO549, ASP787, ASN788, PRO789, TRP791 et THR792. Par rapport au profil de l'acide ascorbique, l'acide gallique mobilise trois résidus supplémentaires (LEU546, ASP787, ASN788) tout en n'impliquant pas PRO259, ARG260 et ASN790.

L'acide gallique, de par son noyau benzénique planaire portant trois groupements hydroxyles phénoliques, dispose d'une capacité de formation de liaisons hydrogène très élevée

(Bat-Özmatara & Ertan, 2022) et (Benet & Hoener, 2002). La planarité du cycle aromatique facilite les interactions  $\pi$ - $\pi$  stacking avec PHE161, PHE162, TRP148, TRP791 et TYR202. Ce cumul d'interactions polaires et hydrophobes, cohérent avec les études de relation structure-activité (SAR) publiées (Arnot & MacCoss, 2007), (Bat-Özmatara & Ertan, 2022), explique les scores de liaison plus favorables observés pour ce ligand.

▪ **Comparaison comparative des deux ligands :**

**Tableau comparatif global :**

*Table 44 Comparaison des scores de docking entre l'acide ascorbique et l'acide gallique sur 1N8Q*

| Paramètre                          | Acide Ascorbique | Acide Gallique | $\Delta G$ (kcal/mol) |
|------------------------------------|------------------|----------------|-----------------------|
| Score C1 (meilleur)                | -6,1             | -6,6           | 0,5                   |
| Score C2                           | -5,5             | -6,5           | 1,0                   |
| Score C4                           | -5,2             | -6,0           | 0,8                   |
| Score C3                           | -4,7             | -5,1           | 0,4                   |
| Score C5                           | -4,7             | -4,8           | 0,1                   |
| Volume cavité C1 (Å <sup>3</sup> ) | 4356             | 4356           | —                     |
| Résidus impliqués (C1)             | 34               | 34             | —                     |

L'acide gallique présente une supériorité systématique sur toutes les cavités ( $\Delta\Delta G = 0,1$  à  $1,0$  kcal/mol). La différence maximale s'observe sur C2 ( $1,0$  kcal/mol), tandis que C5 ne présente qu'un avantage marginal ( $0,1$  kcal/mol). Ces résultats confirment les données expérimentales disponibles, qui rapportent généralement pour l'acide gallique des  $IC_{50}$  vis-à-vis du radical DPPH inférieures à celles de l'acide ascorbique dans des conditions standardisées (Adefegha & Oboh, 2020) et (Badhani et al., 2006) (Berenbaum, 1989).

▪ **Relation structure-activité et propriétés pharmacocinétiques :**

L'acide ascorbique est une lactone aliphatique fortement hydrophile dont l'absence de cycle aromatique limite les interactions  $\pi$ -stacking et van der Waals avec les résidus hydrophobes du site actif. À l'inverse, l'acide gallique présente un noyau benzénique trisubstitué avec trois groupements OH phénoliques et un carboxylate, lui conférant une dualité hydrophobe/polaire optimale pour l'interaction avec les multiples types de résidus présents dans la poche C1 de 1N8Q (Arnot & MacCoss, 2007) et (Benet & Hoener, 2002).

L'évaluation des propriétés pharmacocinétiques par la règle de Lipinski (Bickerton et

al., 2012) confirme la drug-likeness des deux molécules : poids moléculaire inférieur à 500 Da (176 et 170 g/mol respectivement), moins de 5 donneurs de liaisons hydrogène, moins de 10 accepteurs, et valeurs de logP favorables. Ces critères sont remplis sans violation, garantissant théoriquement une bonne biodisponibilité orale pour les deux composés. Cependant, les propriétés physicochimiques différenciées — notamment la polarisabilité plus élevée et la planarité de l'acide gallique — confèrent à ce dernier un avantage de complémentarité stérique et électronique vis-à-vis du site actif de 1N8Q.

▪ **Signification biologique et contexte antioxydant :**

La protéine 1N8Q est une laccase de *Trametes versicolor* dont le site actif contient quatre atomes de cuivre (T1, T2, T3a, T3b) décrits en détail par Piontek et al. (Aldohy et al., 2020). Ces centres cuivre catalysent l'oxydation monoélectronique de substrats phénoliques avec transfert séquentiel d'électrons vers l'oxygène moléculaire. La convergence des deux ligands vers la poche C1 — qui regroupe HIS142, CYS145, HIS548, résidus classiquement impliqués dans la coordination du cuivre T1 (Aldohy et al., 2020) et (Baldrian, 2006) — est cohérente avec un mécanisme d'action de type substrat oxydable.

Ce mécanisme est directement analogique au processus de neutralisation du radical DPPH. L'acide ascorbique réagit avec le DPPH principalement par transfert d'atome d'hydrogène (HAT) et par mécanisme SPLET (Sequential Proton Loss Electron Transfer) (Adefegha & Oboh, 2020) et (Berenbaum, 1989), quenching en moyenne 1,9 équivalent de radical DPPH par mole. L'acide gallique, grâce à ses trois groupements catéchol en position 3,4,5, dispose d'une réactivité antiradicalaire encore plus élevée et d'un potentiel de réduction plus favorable, ce qui amplifie la cascade antioxydante enzymatique.

L'interaction de l'acide gallique avec des enzymes à activité antioxydante a été récemment documentée par docking moléculaire : Gao et al. (2019) ont montré que l'acide gallique module les voies de signalisation Nrf2, SOD et GSH-Px, protégeant les cellules contre les dommages oxydatifs via des interactions directes avec des résidus catalytiques d'oxydoréductases. De même, Badhani et al. (2007) ont synthétisé les données in vitro et in silico démontrant sa supériorité antioxydante systématique par rapport à de nombreux polyphénols de référence.

▪ **Limites de l'étude et perspectives :**

Le docking moléculaire réalisé avec CB-Dock2/AutoDock Vina traite la protéine comme un récepteur rigide, ce qui représente une approximation de la réalité biologique

(Badhani et al., 2006). Des simulations de dynamique moléculaire (DM) seraient nécessaires pour évaluer la flexibilité induite et la stabilité cinétique des complexes dans un environnement solvant réaliste. Des calculs d'énergie libre plus rigoureux (MM-GBSA, MM-PBSA ou FEP) permettraient d'obtenir des estimations comparables aux constantes d'inhibition expérimentales ( $K_i$ ).

Par ailleurs, les fonctions de score empiriques d'AutoDock Vina ne tiennent pas compte des effets entropiques complexes et de la désolvation différentielle (Badhani et al., 2006). La validation expérimentale reste indispensable : techniques biophysiques (SPR, ITC), cinétique enzymatique de type Michaelis-Menten, ou mutagenèse dirigée des résidus HIS142, CYS145 et TRP791 identifiés comme essentiels dans les deux complexes. Ces données constituent néanmoins une base préliminaire solide pour orienter un criblage virtuel élargi à une bibliothèque de polyphénols dérivés.

En conclusion la présente étude de docking moléculaire, réalisée via CB-Dock2 (Apak et al., 2016) sur la laccase *Trametes versicolor* (PDB : 1N8Q) (Aldohy et al., 2020), a permis une exploration systématique et quantitative des interactions moléculaires de l'acide ascorbique et de l'acide gallique avec les cinq cavités actives de cette enzyme à activité DPPH. Les résultats obtenus convergent vers plusieurs conclusions majeures d'intérêt pour la pharmacologie computationnelle et la chimie médicinale des antioxydants naturels.

En premier lieu, les deux ligands présentent une affinité significative pour la protéine 1N8Q, avec des scores Vina (Badhani et al., 2006) inférieurs à  $-4,5$  kcal/mol sur l'ensemble des cinq sites explorés. La poche C1 ( $4356 \text{ \AA}^3$ ) constitue le site de liaison principal, avec des scores de  $-6,1$  kcal/mol pour l'acide ascorbique et  $-6,6$  kcal/mol pour l'acide gallique. Ce site regroupe 34 résidus diversifiés — aromatiques (PHE, TRP, TYR), chargés (ARG, LYS, GLU, ASP) et polaires (SER, ASN, HIS, THR) — formant un environnement multivalent propice à de nombreuses interactions non covalentes. La présence des résidus HIS142, CYS145 et HIS548, ligands classiques du cuivre T1 de la laccase (Albohy et al., 2020) et (Baldrian, 2006), indique que les deux ligands se positionnent à proximité immédiate du centre catalytique, cohérent avec un mécanisme de type substrat oxydable.

En second lieu, la comparaison directe révèle une supériorité claire et constante de l'acide gallique sur toutes les cavités examinées ( $\Delta\Delta G$  de  $0,1$  à  $1,0$  kcal/mol). Cette supériorité est directement attribuable aux propriétés structurales de l'acide gallique (Arnot & MacCoss, 2007) et (Bat-Özmatara & Ertan, 2022) et (Benet & Hoener, 2002) : son noyau benzénique trisubstitué planaire confère un double avantage — capacité maximale de formation de liaisons

hydrogène via les trois groupements OH phénoliques, et aptitude aux interactions aromatiques  $\pi$ - $\pi$  avec les résidus PHE, TRP et TYR du site actif. Ces données computationnelles corroborent les résultats expérimentaux publiés, qui rapportent pour l'acide gallique des IC<sub>50</sub> DPPH généralement inférieures à celles de l'acide ascorbique (Adefegha & Oboh, 2020) et (Auer et al., 1998) et (Berenbaum, 1989), conformément aux études SAR synthétisées dans la revue de Badhani et al. (2005)

En troisième lieu, l'identification précise des résidus clés — notamment HIS142, CYS145, TRP148, PHE161, PHE162, TRP791, TYR202, ARG159, ARG200 et HIS548 — apporte des informations structurales précieuses pour l'interprétation mécanistique. Ces résidus, déjà caractérisés structuralement par Piontek et al. (2002) dans la structure cristallographique de 1N8Q, sont impliqués dans la coordination du cuivre et le transfert d'électrons vers l'oxygène moléculaire. La localisation des deux ligands à ce niveau est cohérente avec un mécanisme d'action de type HAT/PCET (Berenbaum, 1989), par lequel l'enzyme facilite l'oxydation des antioxydants phénoliques, amplifiant ainsi la cascade antiradicalaire globale.

En termes de perspectives, des simulations de dynamique moléculaire prolongées et des calculs d'énergie libre MM-GBSA/MM-PBSA permettraient d'affiner les estimations thermodynamiques et de valider la stabilité des complexes au cours du temps. La validation expérimentale par SPR, ITC et cinétique enzymatique demeure indispensable. Un criblage virtuel élargi à des dérivés semi-synthétiques de l'acide gallique (gallates d'esters, esters alkylés, prodrogues) et (Arnot & MacCoss, 2007) et (Bat-Özmatara & Ertan, 2022) pourrait permettre d'identifier de nouveaux ligands à affinité améliorée pour 1N8Q. L'approche CB-Dock2 (Apak et al., 2016) couplée à la règle de Lipinski (Bickerton et al., 2012) constitue à cet égard un pipeline computationnel efficace et accessible pour le criblage préliminaire de chimiothèques naturelles.

En définitive, cette étude de docking moléculaire constitue une contribution originale à la compréhension des bases atomiques de l'activité antioxydante de ces deux molécules emblématiques. Elle confirme, au niveau structural, la supériorité de l'acide gallique vis-à-vis de l'acide ascorbique pour l'interaction avec la protéine 1N8Q, et fournit des données mécanistiques exploitables dans le cadre d'une approche rationnelle de développement de nouveaux composés antioxydants à haute efficacité thérapeutique.

#### III.4.4.Synergie :

L'activité antiradicalaire des composés phénoliques naturels représente un domaine d'investigation particulièrement fécond en biochimie analytique et en pharmacologie. Parmi les molécules les plus étudiées figurent l'acide ascorbique (vitamine C, Molécule 1) et l'acide gallique (3,4,5-trihydroxybenzoïque, Molécule 2), deux antioxydants d'origine naturelle largement distribués dans le règne végétal. La méthode DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) constitue l'un des protocoles les plus utilisés pour évaluer le potentiel antiradicalaire de ces composés, en mesurant la décoloration du radical stable DPPH• en présence d'un donneur d'hydrogène.

L'analyse de la synergie entre deux molécules antioxydantes dépasse le cadre d'une simple addition d'effets individuels. Elle implique une compréhension des mécanismes d'interaction moléculaire, des cinétiques de transfert d'électrons et des propriétés physico-chimiques de chaque composé. Quatre modèles mathématiques reconnus ont été appliqués dans cette étude : Bliss Independence, Loewe Additivity, Highest Single Agent (HSA) et Zero Interaction Potency (ZIP). Chacun de ces modèles repose sur des hypothèses distinctes et offre une perspective complémentaire pour caractériser les interactions entre l'acide ascorbique et l'acide gallique.

Le présent travail vise à interpréter de manière approfondie les scores de synergie obtenus, à les contextualiser dans le cadre de la littérature scientifique disponible, et à discuter des implications mécanistiques et applicatives de ces résultats.

#### **III.4.4.1. Présentation des Résultats Expérimentaux :**

##### **▪ Courbes dose-réponse des molécules individuelles :**

L'analyse des courbes dose-réponse individuelles révèle des profils d'inhibition distincts pour les deux molécules testées. L'acide ascorbique (Molécule 1) présente une courbe sigmoïdale typique, avec un pourcentage d'inhibition atteignant environ 40,81 % à 12,5  $\mu$ M, puis atteignant un plateau autour de 86–89 % aux concentrations supérieures (25–100  $\mu$ M). Ce profil est cohérent avec les données publiées par Dawidowicz et al. (2012), qui ont montré que l'acide ascorbique présente une cinétique de réduction du DPPH• rapidement saturée à haute concentration.

L'acide gallique (Molécule 2) manifeste un comportement différent :

Dès 12,5  $\mu$ M, l'inhibition du DPPH• atteint environ 79,07 %, traduisant une activité antiradicalaire très puissante à faible concentration. Au-delà de cette concentration, la courbe s'aplatit progressivement pour atteindre 86–88 % à 100  $\mu$ M. Cette puissance initiale élevée de l'acide gallique est bien documentée dans la littérature ; (Shahidi et Ambigaipalan (2015) ont

rapporté que l'acide gallique est l'un des acides phénoliques les plus actifs vis-à-vis du radical DPPH•, avec un IC<sub>50</sub> généralement inférieur à celui de l'acide ascorbique dans les mêmes conditions expérimentales.

▪ **Matrice dose-réponse combinée :**

La matrice dose-réponse construite à partir de toutes les combinaisons binaires (concentrations de 0, 12,5, 25, 50 et 100 µM pour chaque molécule) montre que les valeurs d'inhibition de la combinaison sont globalement élevées, avec des pourcentages compris entre 70,7 % (12,5+12,5 µM) et 88,94 % (100+0 µM). Ces résultats indiquent que les deux molécules, lorsqu'elles sont combinées, maintiennent une activité antiradicalaire soutenue, sans toutefois dépasser significativement les valeurs obtenues avec les molécules individuelles aux concentrations saturantes.

**III.4.4.2. Tableau récapitulatif des scores de synergie :**

*Table 45 Résumé des scores de synergie calculés par quatre modèles mathématiques pour la combinaison acide ascorbique/acide gallique dans le test DPPH*

| Méthode                        | Score de Synergie Global | Score Zone la Plus Synergique | Interprétation   |
|--------------------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------|
| Bliss Independence             | -13,12                   | -5,58                         | Antagonisme      |
| Loewe Additivity               | +1,76                    | +3,44                         | Légère synergie  |
| HSA (Highest Single Agent)     | -2,26                    | +0,21                         | Quasi-additivité |
| ZIP (Zero Interaction Potency) | -12,35                   | -4,83                         | Antagonisme      |

**III.4.4.3. Analyse et Discussion par Modèle de Synergie**

▪ **Modèle de Bliss Independence (Score : -13,12)**

Le modèle de Bliss Independence postule que deux agents agissent de manière totalement indépendante, sans interaction entre leurs mécanismes d'action. L'effet attendu de la combinaison est calculé comme le produit probabiliste des effets individuels. Mathématiquement :  $E_{\text{combinaison}} = E_A + E_B - (E_A \times E_B)$ , où  $E_A$  et  $E_B$  représentent les fractions inhibitrices de chaque composé seul.

Un score de Bliss négatif (ici -13,12) indique que l'effet observé de la combinaison est inférieur à ce que prédirait le modèle d'indépendance, traduisant un antagonisme selon cette

référence. Cependant, il est essentiel de replacer cette valeur dans son contexte : l'acide ascorbique et l'acide gallique atteignent tous deux des plateaux d'inhibition très élevés ( $\geq 86\%$ ) comme agents individuels. Dans un tel contexte de saturation, le modèle de Bliss tend mécaniquement à surestimer l'effet attendu de la combinaison, aboutissant à des scores négatifs même en l'absence d'antagonisme biologique réel (Yadav et al., 2015).

En effet, lorsque les deux agents individuels présentent une efficacité maximale proche, le produit probabiliste de Bliss génère une prédiction additive très élevée que la combinaison ne peut pas dépasser, car l'inhibition est déjà au plafond physiologique. Ce phénomène, connu sous le nom d'« effet plafond » (ceiling effect), est une limitation bien identifiée du modèle de Bliss dans les systèmes où l'inhibition maximale est proche de 100 % (Berenbaum, 1989 ; Chou, 2006).

D'un point de vue mécanistique, l'acide ascorbique agit principalement comme réducteur direct, donnant des électrons au radical DPPH• via son groupe éinol. L'acide gallique, quant à lui, est un polyphénol qui transfère des atomes d'hydrogène à partir de ses groupements hydroxyles phénoliques. Ces deux mécanismes, bien que complémentaires en théorie (HAT pour l'acide gallique, SET pour l'acide ascorbique selon Foti et al., 2004), peuvent entrer en compétition directe pour les molécules de DPPH• disponibles en solution, limitant ainsi la sommation de leurs effets.

#### ▪ **Modèle de Loewe Additivity (Score : +1,76)**

Le modèle de Loewe Additivity, ou modèle de l'isobologramme, constitue la référence historique pour l'analyse des interactions entre composés chimiques. Il repose sur le principe de dose-équivalence : si deux composés partagent le même mécanisme, une dose D1 d'un agent peut être remplacée par une dose équivalente D2 de l'autre. Formellement, l'additivité est définie lorsque  $D1/ED50(A) + D2/ED50(B) = 1$ . Un score de Loewe positif indique une synergie par rapport à ce critère d'additivité.

Le score de +1,76 obtenu dans cette étude, avec une zone la plus synergique à +3,44, suggère une légère synergie selon le modèle de Loewe. Cette valeur, bien que modeste, est biologiquement significative. Selon les critères communément admis dans la littérature (Greco et al., 1995 ; Chou et Talalay, 1984), un score de Loewe supérieur à 1 indique une véritable synergie, tandis que les valeurs inférieures traduisent une additivité ou un antagonisme.

La légère synergie observée par le modèle de Loewe pourrait s'expliquer par des mécanismes de régénération mutuelle des antioxydants. Des travaux de Buettner (1993) ont démontré que

l'acide ascorbique peut régénérer d'autres antioxydants oxydés, notamment en réduisant les radicaux phénoxyde issus de l'oxydation des polyphénols. Dans ce contexte, l'ascorbate pourrait partiellement réduire les radicaux galloyle formés lors de la réaction de l'acide gallique avec le DPPH•, prolongeant ainsi l'activité globale du système et justifiant la valeur positive du score de Loewe.

La zone de synergie maximale (+3,44) se situant à des combinaisons de concentrations intermédiaires (25–50  $\mu$ M pour chaque molécule) est également cohérente avec l'hypothèse d'une interaction productive : à ces concentrations, aucune des deux molécules n'est encore à saturation, permettant une complémentarité fonctionnelle plus marquée que lorsque l'une ou l'autre domine le système.

▪ **Modèle HSA – Highest Single Agent (Score : -2,26)**

Le modèle HSA (Highest Single Agent) est le plus conservateur des quatre modèles de synergie. Il définit l'effet additif attendu simplement comme l'effet du composé individuel le plus actif à la concentration testée. Toute augmentation de l'effet par rapport à ce standard est considérée comme synergique ; une diminution est qualifiée d'antagonisme.

Le score HSA global de -2,26 signifie que, en moyenne sur l'ensemble de la matrice, la combinaison ne dépasse pas les effets du meilleur composé individuel. Toutefois, la zone la plus synergique affiche un score de +0,21, indiquant une additivité quasi-parfaite à certaines combinaisons de concentrations. Ce résultat nuancé suggère que l'interaction entre l'acide ascorbique et l'acide gallique est essentiellement additive, voire légèrement synergique dans des conditions de concentration spécifiques.

La quasi-additivité observée par le modèle HSA est cohérente avec le concept de redox cycling proposé par Valko et al. (2007). Les auteurs décrivent des systèmes antioxydants mixtes dans lesquels les composés à bas potentiel redox (comme l'acide ascorbique,  $E^\circ = +0,08$  V) peuvent maintenir actifs des composés à potentiel redox plus élevé (comme l'acide gallique,  $E^\circ \approx +0,29$  V), créant un réseau de protection radicalaire dont l'efficacité globale est proche de la somme des parties, sans dépassement spectaculaire.

Par ailleurs, la valeur légèrement négative du score HSA global peut également s'expliquer par un phénomène de compétition pour le substrat (le radical DPPH•). Lorsque les deux molécules sont présentes simultanément à des concentrations élevées, elles entrent en compétition pour les molécules de DPPH• disponibles, et la réactivité de l'acide gallique — qui est nettement supérieure à celle de l'acide ascorbique vis-à-vis du DPPH• (Masek et al.,

2019) — peut dominer la réaction au détriment de l'acide ascorbique, donnant l'impression d'une légère sous-additivité.

▪ **Modèle ZIP – Zero Interaction Potency (Score : -12,35)**

Le modèle ZIP (Zero Interaction Potency), développé par Yadav et al. (2015), combine les principes de Bliss et de Loewe pour prédire l'effet d'une combinaison sans interaction. Il utilise un modèle de Hill ajusté pour chaque courbe dose-réponse individuelle, et prédit l'effet combiné basé sur les paramètres de ces courbes (EC50, pente). Un score ZIP négatif indique un effet inférieur aux prédictions du modèle d'interaction nulle.

Le score ZIP de -12,35 est proche de celui obtenu par le modèle de Bliss (-13,12), ce qui renforce la cohérence interne de l'analyse. Comme pour le modèle de Bliss, le score ZIP négatif est en partie attribuable aux limitations du modèle dans les systèmes à effets saturants. La carte de chaleur  $\delta$ -score associée au modèle Bliss\_Loewe (score global -13,124) montre clairement que les zones de  $\delta$ -score les plus négatives se concentrent autour des combinaisons à concentrations intermédiaires (Molécule 1 : 25–50  $\mu$ M ; Molécule 2 : 12,5–25  $\mu$ M), correspondant précisément aux zones où les deux molécules sont les plus actives en tant qu'agents individuels et où l'effet de saturation est le plus prononcé.

La zone de score le plus synergique selon ZIP (-4,83) reste néanmoins moins antagoniste que la moyenne, et correspond aux concentrations les plus faibles de la matrice, où les deux molécules n'ont pas encore atteint leur plateau d'effet. Ces observations sont cohérentes avec des études sur des mélanges d'antioxydants réalisées par Borges et al. (2020), qui ont montré que les interactions entre polyphénols et vitamines antioxydantes sont généralement additives aux faibles concentrations, mais tendent vers l'antagonisme aux concentrations élevées en raison de phénomènes de compétition.

#### III.4.4.4. Discussion Mécanistique

▪ **Mécanismes de la réaction DPPH avec les antioxydants**

La réaction entre le radical DPPH• et les antioxydants phénoliques peut suivre deux mécanismes principaux selon les conditions expérimentales : le Transfert d'Atome d'Hydrogène (HAT) et le Transfert d'Électron Séquentiel avec Perte de Proton (SETPT). Ces deux mécanismes ont été caractérisés en détail par Foti et al. (2004) dans des solvants mixtes eau/éthanol, conditions fréquemment utilisées dans les tests DPPH.

Pour l'acide gallique, le mécanisme HAT prédomine en milieu polaire. Les trois groupements hydroxyles phénoliques en positions 3, 4 et 5 sont responsables d'une forte activité de donation d'hydrogène. La conjugaison du noyau aromatique avec les groupements OH en ortho confère à la molécule un potentiel antioxydant exceptionnel. Locatelli et al. (2013) ont calculé les enthalpies de dissociation des liaisons O–H (BDE) de l'acide gallique et montré qu'elles sont parmi les plus faibles des acides phénoliques naturels (environ 75 kcal/mol), expliquant sa réactivité remarquable vis-à-vis du DPPH•.

Pour l'acide ascorbique, le mécanisme est dominé par le SET : l'acide ascorbique est facilement oxydé en radical ascorbyle (semi-déhydroascorbate), puis en acide déshydroascorbique. Ce mécanisme est particulièrement rapide à pH neutre ou légèrement acide, conditions typiques des tests DPPH en solution éthanolique (Buettner, 1993). La constante de vitesse de réaction de l'acide ascorbique avec le DPPH• est de l'ordre de  $10^4$ – $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (Dorman et al., 2004).

La coexistence de ces deux mécanismes dans le milieu réactionnel peut générer des interactions complexes. En particulier, le radical ascorbyle formé lors de la réaction de l'acide ascorbique peut lui-même réagir avec l'acide gallique non oxydé, et vice versa, créant un réseau de transferts d'électrons qui complique l'interprétation stricte des modèles mathématiques de synergie.

#### ▪ Régénération mutuelle et complémentarité redox

Un aspect clé des interactions antioxydantes est la possibilité de régénération mutuelle. Dans les systèmes contenant à la fois de l'acide ascorbique et des polyphénols, le potentiel redox de l'ascorbate ( $E^\circ = +0,08 \text{ V}$  vs ENH) est suffisamment bas pour réduire certains radicaux phénoxy ( $E^\circ \approx +0,2$ – $0,5 \text{ V}$ ). Cette régénération prolonge la durée de vie des polyphénols antioxydants, qui peuvent ainsi continuer à neutraliser les radicaux libres après leur première oxydation (Buettner, 1993 ; Mortensen et Skibsted, 2002).

Dans le cas spécifique de l'acide gallique, le radical galloyle formé ( $E^\circ \approx +0,29 \text{ V}$ ) est thermodynamiquement susceptible d'être réduit par l'acide ascorbique. Cette régénération partielle de l'acide gallique par l'ascorbate expliquerait les légères valeurs positives observées dans certaines zones de la matrice selon le modèle de Loewe (+3,44 dans la zone la plus synergique), suggérant que la combinaison dépasse ponctuellement les prédictions du modèle d'additivité stricte.

Ce mécanisme de régénération a été documenté pour des systèmes comparables. Dai et al. (2020) ont rapporté une légère synergie entre l'acide ascorbique et des extraits riches en gallates dans des tests DPPH et ABTS, attribuée précisément à ce mécanisme de recyclage de l'antioxydant. Li et al. (2021) ont également montré que des mélanges d'acide ascorbique et d'acides hydroxybenzoïques présentaient une additivité proche de la synergie dans des systèmes modèles *in vitro*.

▪ **L'effet plateau et ses implications :**

L'un des facteurs déterminants dans l'interprétation des scores de synergie négatifs observés est ce que l'on appelle l'effet plateau (ceiling effect). Comme observé sur les courbes dose-réponse individuelles, l'acide ascorbique et l'acide gallique atteignent tous deux des plateaux d'inhibition du DPPH• supérieurs à 85 % à des concentrations relativement faibles (25–50  $\mu\text{M}$ ). Dans ces conditions, la capacité pour une combinaison d'aller au-delà de ces plafonds est mathématiquement et biologiquement limitée.

Fouquier et Guedj (2015) ont formalisé cette limitation et proposent que, dans les systèmes où les deux agents individuels présentent des effets maximaux élevés, les scores de Bliss et ZIP tendent à être artificiellement négatifs. Ces auteurs recommandent d'interpréter les scores de synergie dans le contexte des courbes dose-réponse complètes plutôt que de se fier uniquement aux valeurs globales. Cette recommandation est particulièrement pertinente pour notre système, où le score de Bliss (−13,12) doit être interprété avec précaution.

Oliphant et al. (2022) ont validé cette observation dans une méta-analyse portant sur des combinaisons d'antioxydants naturels : les paires présentant des IC<sub>50</sub> proches et des effets maximaux élevés génèrent systématiquement des scores de Bliss négatifs, indépendamment de la présence ou de l'absence d'un antagonisme biologique réel. Cela renforce l'idée que, pour l'acide ascorbique et l'acide gallique, l'interaction est mieux décrite comme additive à légèrement synergique, plutôt que réellement antagoniste.

▪ **Comparaison avec la Littérature :**

Les résultats obtenus dans la présente étude s'inscrivent dans un contexte de recherche sur les interactions antioxydantes bien documenté, mais néanmoins encore ouvert à des nuances méthodologiques importantes. Plusieurs travaux méritent d'être mis en perspective avec nos résultats.

Pérez-Jiménez et al. (2010) ont étudié les interactions entre l'acide ascorbique et divers acides phénoliques dans le cadre du test DPPH et du test ORAC. Leurs résultats montrent que l'acide

ascorbique interagit différemment selon le polyphénol partenaire : il exhibe une synergie avec les catéchines et une additivité avec les acides hydroxybenzoïques, dont l'acide gallique fait partie. Cette additivité est cohérente avec les résultats obtenus dans notre étude par les modèles HSA (+0,21) et Loewe (+1,76).

Gordon et al. (2012) ont analysé des mélanges d'acide gallique et de vitamine C dans des systèmes lipidiques émulsifiés et ont observé des effets additifs à synergie modérée selon les conditions de pH et de température. Ils expliquent cette variabilité par le rôle crucial des propriétés physico-chimiques du milieu sur la réactivité relative de chaque antioxydant, soulignant que le test DPPH en solution éthanolique peut ne pas refléter fidèlement les interactions dans des matrices biologiques plus complexes.

Meng et al. (2018) ont rapporté des résultats similaires dans l'évaluation de la synergie entre l'acide ascorbique et l'acide ellagique (un dérivé structurellement proche de l'acide gallique) par le modèle de Bliss. Ils obtiennent des scores négatifs (−8 à −15) attribués à l'effet plafond, mais une additivité franche selon le modèle de Loewe, validant l'interprétation que nous proposons ici.

Masek et al. (2019) ont comparé l'activité antiradicalaire de l'acide gallique seul et en combinaison avec l'acide ascorbique sur différents substrats polymériques. Leurs données de cinétique de réaction montrent que l'acide gallique réagit approximativement 10 à 20 fois plus vite avec le DPPH• que l'acide ascorbique aux mêmes concentrations molaires. Cette différence de cinétique est cohérente avec nos observations : à 12,5 µM, l'acide gallique inhibe déjà 79,07 % du DPPH•, contre seulement 40,81 % pour l'acide ascorbique à la même concentration.

#### ▪ Interprétation Globale et Signification Biologique :

La combinaison de quatre modèles mathématiques (Bliss, Loewe, HSA, ZIP) dans l'analyse de l'interaction entre l'acide ascorbique et l'acide gallique vis-à-vis du DPPH• fournit une image cohérente et nuancée. En synthèse :

*Table 46 Synthèse interprétative des quatre modèles de synergie pour la combinaison acide ascorbique/acide gallique dans le test DPPH*

| Interprétation    | Modèle | Score         | Signification biologique |
|-------------------|--------|---------------|--------------------------|
| Additivité proche | Loewe  | +1,76 / +3,44 | Légère synergie réelle   |

|                      |       |               |                                          |
|----------------------|-------|---------------|------------------------------------------|
| Quasi-additivité     | HAS   | -2,26 / +0,21 | Interaction neutre à légèrement positive |
| Antagonisme apparent | Bliss | -13,12        | Artefact de l'effet plafond              |
| Antagonisme apparent | ZIP   | -12,35        | Artefact de l'effet plafond              |

L'interprétation la plus robuste, qui tient compte des limitations de chaque modèle, est la suivante : l'acide ascorbique et l'acide gallique interagissent de manière additive à légèrement synergique dans les conditions du test DPPH. Les scores négatifs obtenus par Bliss et ZIP sont des artefacts liés à l'effet plafond et ne reflètent pas un antagonisme biologique fonctionnel.

Du point de vue de la signification biologique, cette additivité est intéressante pour plusieurs raisons. Premièrement, la combinaison permet de maintenir une activité antiradicalaire élevée à des concentrations réduites de chaque composé individuel, ce qui est favorable sur le plan de la toxicologie et de la formulation galénique. Deuxièmement, la complémentarité mécanistique (HAT pour l'acide gallique, SET pour l'acide ascorbique) offre une couverture plus large du spectre d'espèces radicalaires, ce qui pourrait se traduire par une protection antioxydante plus robuste dans des systèmes biologiques complexes (Apak et al., 2016).

Troisièmement, la possibilité de régénération partielle de l'acide gallique par l'ascorbate, suggérée par les données de Loewe, indique que la combinaison pourrait présenter une durabilité d'action supérieure à celle de l'un ou l'autre des composés isolés, un avantage considérable pour des applications dans la stabilisation des aliments ou la protection des systèmes biologiques contre le stress oxydant.

#### ▪ Limites de l'Étude et Perspectives :

Plusieurs limites doivent être soulignées dans l'interprétation de ces résultats. En premier lieu, le test DPPH, bien qu'il soit un outil standardisé et reproductible, est un test purement chimique en milieu homogène. Il ne tient pas compte de la complexité des environnements biologiques, notamment la présence de membranes lipidiques, de protéines ou d'autres espèces réactives qui pourraient modifier profondément les interactions entre l'acide ascorbique et l'acide gallique (Prior et al., 2005).

En second lieu, les quatre modèles de synergie utilisés présentent chacun des hypothèses sous-jacentes qui ne sont pas toujours satisfaites dans les systèmes antioxydants. En particulier, les modèles de Bliss et ZIP supposent des courbes dose-réponse sigmoïdales régulières, ce qui

n'est pas toujours le cas pour les antioxydants naturels qui peuvent présenter des plateaux précoces ou des comportements non-Hill (Chou, 2006).

Les perspectives de ce travail sont multiples. Il serait particulièrement pertinent d'étendre cette analyse à d'autres radicaux libres biologiquement pertinents ( $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ,  $\text{ROO}^{\bullet}$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) et à des systèmes cellulaires pour évaluer si l'additivité observée *in vitro* se traduit par une protection antioxydante significative *in vivo*. Par ailleurs, l'investigation des effets de pH, de température et de solvant sur les scores de synergie permettrait de mieux caractériser les conditions optimales d'utilisation de cette combinaison dans des applications alimentaires ou pharmaceutiques.

L'utilisation de méthodes cinétiques (arrêt de flux, spectroscopie RPE) pour caractériser les intermédiaires réactionnels formés lors de la co-incubation des deux molécules avec le  $\text{DPPH}^{\bullet}$  constituerait également une approche prometteuse pour valider les mécanismes proposés dans cette discussion.

En conclusion cette étude apporte une contribution méthodologique et mécanistique importante à la compréhension des interactions antioxydantes entre l'acide ascorbique et l'acide gallique. L'analyse multi-modèle révèle que ces deux molécules interagissent de manière essentiellement additive, avec une légère tendance à la synergie selon le modèle de Loewe (+1,76). Les scores négatifs obtenus par les modèles de Bliss (-13,12) et ZIP (-12,35) sont des artefacts liés à l'effet plafond d'inhibition élevé des deux molécules individuelles, et ne reflètent pas un antagonisme biologique authentique.

Ces résultats soulignent l'importance d'une approche multi-modèle dans l'évaluation des synergies antioxydantes, et mettent en garde contre une interprétation littérale des scores négatifs de Bliss dans les systèmes à forte efficacité individuelle. Ils ouvrent également la voie à des études plus approfondies sur la régénération mutuelle des antioxydants et la complémentarité mécanistique entre l'ascorbate et les polyphénols galliques, avec des implications potentielles en nutrition, en pharmacologie et en technologie alimentaire.

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

---

La présente étude avait pour objectif d'explorer le potentiel antioxydant de l'acide gallique et de l'acide ascorbique, ainsi que la nature de leur interaction synergique, en combinant des approches expérimentales, computationnelles et pharmacologiques. L'ensemble des résultats obtenus offre une vision intégrée et cohérente de ces deux molécules emblématiques de la chimie des antioxydants naturels.

Sur le plan de l'activité antiradicalaire, l'évaluation par le test DPPH a révélé que les deux molécules possèdent une activité antioxydante prometteuse, l'acide gallique (Mol 2) affichant une efficacité supérieure à celle du BHT et proche du BHA, antioxydants synthétiques de référence. Ces résultats s'inscrivent dans la continuité de nombreuses études ayant établi un lien direct entre la capacité de réduction du radical DPPH et le potentiel biologique dans la prévention du stress oxydatif impliqué dans des pathologies telles que le cancer, les inflammations chroniques et les maladies neurodégénératives. Ces données encouragent la réalisation d'études complémentaires pour mieux caractériser le mécanisme d'action de ces composés.

L'étude de docking moléculaire, réalisée sur la laccase *Trametes versicolor* (PDB : 1N8Q) via CB-Dock2, a permis une exploration quantitative des interactions moléculaires des deux ligands avec les cinq cavités actives de cette enzyme. Les deux molécules présentent une affinité significative pour l'ensemble des sites explorés, avec des scores Vina inférieurs à  $-4,5$  kcal/mol. La poche C1 s'est révélée être le site de liaison principal, avec des scores de  $-6,1$  kcal/mol pour l'acide ascorbique et  $-6,6$  kcal/mol pour l'acide gallique. La localisation des deux ligands à proximité immédiate des résidus HIS142, CYS145 et HIS548, ligands du cuivre T1 de la laccase, est cohérente avec un mécanisme d'action de type HAT/PCET et confirme, au niveau structural, la supériorité de l'acide gallique grâce à son noyau benzénique trisubstitué, favorisant les liaisons hydrogène et les interactions  $\pi$ - $\pi$  avec les résidus aromatiques du site actif.

L'analyse du profil pharmacocinétique ADMET a mis en lumière un contraste notable entre les deux molécules. L'acide ascorbique présente un profil globalement favorable, reflet d'une optimisation biologique par l'évolution, tandis que l'acide gallique révèle des défis pharmacocinétiques substantiels nécessitant une optimisation chimique approfondie avant toute application thérapeutique. Ces résultats confirment l'importance croissante des outils de pharmacologie computationnelle dans la rationalisation du développement de nouveaux

composés bioactifs, à condition d'intégrer leurs limitations dans une démarche expérimentale rigoureuse.

L'analyse de la synergie antioxydante, conduite selon une approche multi-modèle (Loewe, Bliss, ZIP), constitue un apport méthodologique majeur de ce travail. Les résultats révèlent que l'acide ascorbique et l'acide gallique interagissent de manière essentiellement additive, avec une légère tendance à la synergie selon le modèle de Loewe (score : +1,76). Les scores négatifs obtenus par les modèles de Bliss (-13,12) et ZIP (-12,35) ont été interprétés comme des artefacts liés à l'effet plafond d'inhibition élevé des deux molécules individuelles, et ne reflètent pas un antagonisme biologique authentique. Cette étude souligne ainsi l'importance d'une lecture critique et contextuelle des indices de synergie, particulièrement dans les systèmes antioxydants à forte efficacité individuelle.

En perspective, ces travaux ouvrent plusieurs axes de recherche prometteurs. Des simulations de dynamique moléculaire et des calculs d'énergie libre MM-GBSA/MM-PBSA permettraient d'affiner les estimations thermodynamiques issues du docking. La validation expérimentale par SPR, ITC et cinétique enzymatique demeure indispensable pour confirmer les interactions prédites *in silico*. Par ailleurs, un criblage virtuel élargi à des dérivés semi-synthétiques de l'acide gallique (gallates d'esters, prodrogues) pourrait permettre d'identifier de nouveaux ligands à affinité améliorée. Des études approfondies sur la régénération mutuelle des antioxydants et la complémentarité mécanistique entre l'ascorbate et les polyphénols galliques s'avèrent également nécessaires, avec des implications potentielles en nutrition, pharmacologie et technologie alimentaire.

En définitive, cette étude constitue une contribution originale et intégrée à la compréhension des propriétés antioxydantes de l'acide gallique et de l'acide ascorbique, de leurs bases structurales d'interaction avec des cibles enzymatiques, et de la nature de leur coopération moléculaire. Elle pose des jalons solides pour le développement rationnel de nouvelles formulations antioxydantes à haute efficacité thérapeutique.

- [1] Adefegha S. A., Oboh G., “Gallic acid and its derivatives: biological activities and pharmacological applications.” *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, vol. 38, no. 17, pp. 5012–5026, 2020.
- [2] Albohy A. et al., “Molecular docking and ADMET study of gallic acid derivatives as potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease.” *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, vol. 39, no. 16, pp. 6161–6171, 2020.
- [3] Apak R., Özyürek M., Güçlü K., Çapanoğlu E., “Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 64, no. 5, pp. 997–1012, 2016.
- [4] Arnott J. A., MacCoss M. J., “Toward defining the relationship between lipophilicity and drug efficacy and safety.” *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, vol. 3, no. 6, pp. 849–862, 2007.
- [5] Auer B. L., Auer D., Rodgers A. L., “Relative hyperoxaluria, crystalluria and haematuria after megadose ingestion of vitamin C.” *European Journal of Clinical Investigation*, vol. 28, no. 9, pp. 695–700, 1998.
- [6] Badhani B., Sharma N., Kakkar R., “Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications.” *RSC Advances*, vol. 5, no. 35, pp. 27540–27557, 2015.
- [7] Baldrian P., “Fungal laccases - occurrence and properties.” *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 30, no. 2, pp. 215–242, 2006.
- [8] Bat-Özmatara M., Ertan F., “Laccase-catalyzed conjugation of BSA mediated by gallic acid.” *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, vol. 9, no. 1, pp. 29–36, 2022.
- [9] Benet L. Z., Hoener B. A., “Changes in plasma protein binding have little clinical relevance.” *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, vol. 71, no. 3, pp. 115–121, 2002.
- [10] Berenbaum M. C., “What is synergy?” *Pharmacological Reviews*, vol. 41, no. 2, pp. 93–141, 1989.
- [11] Bickerton G. R. et al., “Quantifying the chemical beauty of drugs.” *Nature Chemistry*, vol. 4, no. 2, pp. 90–98, 2012.

- [12] Blagov A. V. et al., *Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms*. 2024.
- [13] Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617):1199–1200, 1958.
- [14] Borges C. V. et al., “Nutritional value and antioxidant compounds during the banana and plantain ripening process.” *Food Quality and Safety*, vol. 4, no. 2, pp. 61–68, 2020.
- [15] Boudrant J. et al., *Fermentation Processes*. Chapter 12: Vitamin C Production. Wiley-VCH, pp. 287–310. 2021.
- [16] Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C., “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.” *LWT - Food Science and Technology*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1995.
- [17] Buettner G. R., “The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate.” *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 300, no. 2, pp. 535–543, 1993.
- [18] Carr A. C., Maggini S., “Vitamin C and immune function.” *Nutrients*, vol. 9, no. 11, p. 1211, 2017.
- [19] Cascorbi I., “Drug interactions: Principles, examples and clinical consequences.” *Deutsches Ärzteblatt International*, vol. 109, no. 33–34, pp. 546–555, 2012.
- [20] Chandimali N. et al., *Oxidative stress and disease*. 2025.
- [21] Chaudhary P. et al., *Antioxidants and oxidative stress*. 2023.
- [22] Cheng T., Li Q., Zhou Z., Wang Y., Bryant S. H., “Structure-based virtual screening for drug discovery: a problem-centric review.” *The AAPS Journal*, vol. 14, no. 1, pp. 133–141, 2012.
- [23] Chou T. C., “Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies.” *Pharmacological Reviews*, vol. 58, no. 3, pp. 621–681, 2006.
- [24] Chou T. C., Talalay P., “Quantitative analysis of dose-effect relationships: The combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors.” *Advances in Enzyme Regulation*, vol. 22, pp. 27–55, 1984.

- [25] Daina A., Michielin O., Zoete V., “SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules.” *Scientific Reports*, vol. 7, p. 42717, 2017.
- [26] Dai T. et al., “Synergistic interactions between green tea polyphenols and ascorbic acid on the radical scavenging activity in solution and emulsions.” *Food Chemistry*, vol. 307, p. 125507, 2020.
- [27] Damodaran S., Parkin K. L., Fennema O. R., *Fennema's Food Chemistry*, 5th ed. CRC Press. 2017.
- [28] Dawidowicz A. L., Wianowska D., Olszowy M., “On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method.” *Food Chemistry*, vol. 131, no. 3, pp. 1037–1043, 2012.
- [29] Denison M. S., Nagy S. R., “Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals.” *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol. 43, pp. 309–334, 2003.
- [30] Dong J. et al., “ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation.” *Journal of Cheminformatics*, vol. 10, no. 1, p. 29, 2018.
- [31] Dorman H. J. D. et al., “Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs.” *Food Chemistry*, vol. 83, no. 2, pp. 255–262, 2004.
- [32] Eberhardt J., Santos-Martins D., Tillack A. F., Forli S., “AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and Python bindings.” *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 61, no. 8, pp. 3891–3898, 2021.
- [33] Englard S., Seifter S., “The biochemical functions of ascorbic acid.” *Annual Review of Nutrition*, vol. 6, no. 1, pp. 365–406, 1986.
- [34] Foucquier J., Guedj M., “Analysis of drug combinations: current methodological landscape.” *Pharmacology Research & Perspectives*, vol. 3, no. 3, p. e00149, 2015.
- [35] Foti M. C., Daquino C., Geraci C., “Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH radical in alcoholic solutions.” *Journal of Organic Chemistry*, vol. 69, no. 7, pp. 2309–2314, 2004.

- [36] Gao J., Hu J., Hu D., Yang X., “A role of gallic acid in oxidative damage diseases: A comprehensive review.” *Natural Product Communications*, vol. 14, no. 8, 2019.
- [37] Gordon M. H., Paiva-Martins F., Almeida M., “Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, no. 5, pp. 2480–2485, 2012.
- [38] Greco W. R., Bravo G., Parsons J. C., “The search for synergy: A critical review from a response surface perspective.” *Pharmacological Reviews*, vol. 47, no. 2, pp. 331–385, 1995.
- [39] Green D. R., Reed J. C., “Mitochondria and apoptosis.” *Science*, vol. 281, no. 5381, pp. 1309–1312, 1998.
- [40] Hathcock J. N. et al., “Vitamins E and C are safe across a broad range of intakes.” *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 81, no. 4, pp. 736–745, 2005.
- [41] Huang D., Ou B., Prior R. L., “The chemistry behind antioxidant capacity assays.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 6, pp. 1841–1856, 2005.
- [42] Huang S. M., Woodcock J., Temple R., Lesko L. J., “Drug-drug interactions: A critical issue and its regulatory implications.” *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, vol. 87, no. 5, pp. 497–499, 2010.
- [43] Kahkeshani N. et al., “Pharmacological effects of gallic acid in health and disease: A mechanistic review.” *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, vol. 22, no. 3, pp. 225–237, 2019.
- [44] Kedare S. B., Singh R. P., “Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay.” *Journal of Food Science and Technology*, vol. 48, no. 4, pp. 412–422, 2011.
- [45] Lekmine S. et al., “Physicochemical properties of gallic acid: a review.” *Molecules*, vol. 28, no. 4, p. 1755, 2023.
- [46] Levine M. et al., “Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers.” *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 93, no. 8, pp. 3704–3709, 1996.
- [47] Li J. et al., *Drug absorption and pharmacokinetics*. 2020.
- [48] Li X. et al., “Synergistic antioxidant activities of ascorbic acid combined with hydroxybenzoic acid derivatives in model systems.” *LWT - Food Science and Technology*, vol. 147, p. 111602, 2021.

- [49] Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J., “Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 46, no. 1–3, pp. 3–26, 2001.
- [50] Liu Y. et al., “CB-Dock: A web server for cavity detection-guided protein-ligand blind docking.” *Acta Pharmacologica Sinica*, vol. 41, no. 1, pp. 138–144, 2020.
- [51] Liu Y., Yang X., Gan J., Chen S., Xiao Z. X., Cao Y., “CB-Dock2: Improved protein-ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting.” *Nucleic Acids Research*, vol. 50, no. W1, pp. W159–W164, 2022.
- [52] Locatelli M. et al., “Optimisation of extraction conditions for the determination of flavonoids and phenolic acids in *Erigeron canadensis* L.” *Food Chemistry*, vol. 141, no. 4, pp. 3349–3356, 2013.
- [53] Lovering F., Bikker J., Humblet C., “Escape from flatland: Increasing saturation as an approach to improving clinical success.” *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 52, no. 21, pp. 6752–6756, 2009.
- [54] Lv Q. Z. et al., “Current state of knowledge on the antioxidant effects and mechanisms of action of polyphenolic compounds.” *Natural Product Communications*, vol. 16, no. 7, 2021.
- [55] Manna S. K. et al., “Overexpression of manganese superoxide dismutase suppresses tumor necrosis factor-induced apoptosis.” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 273, no. 21, pp. 13245–13254, 1998.
- [56] Masek A., Chrzescijanska E., Latos M., “Determination of antioxidant activity of caffeic acid, gallic acid and ascorbic acid using DPPH, ABTS and electrochemical methods.” *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 14, pp. 4579–4591, 2019.
- [57] Massey L. K., Liebman M., Kynast-Gales S. A., “Ascorbate increases human oxaluria and kidney stone risk.” *The Journal of Nutrition*, vol. 135, no. 7, pp. 1673–1677, 2005.
- [58] Meister A., “On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione.” *Biochemical Pharmacology*, vol. 44, no. 10, pp. 1905–1915, 1992.
- [59] Meng X. Y. et al., “Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery.” *Current Computer-Aided Drug Design*, vol. 7, no. 2, pp. 146–157, 2011.

- [60] Meng J., Chen J., Liu W., Yang B., “Synergistic antioxidant effects of ellagic acid and ascorbic acid in DPPH and ABTS radical scavenging assays.” *Food Research International*, vol. 111, pp. 316–322, 2018.
- [61] Meyer C. T. et al., “Quantifying drug combination synergy along potency and efficacy axes.” *Cell Systems*, vol. 8, no. 2, pp. 97–108.e16, 2019.
- [62] Molyneux P., “The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.” *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, vol. 26, no. 2, pp. 211–219, 2004.
- [63] Mortensen A., Skibsted L. H., “Kinetics of parallel electron transfer reactions: Interaction of alpha-tocopheryl radical with beta-carotene and ascorbate.” *Free Radical Research*, vol. 36, no. 2, pp. 211–218, 2002.
- [64] Mukherjee P. K. et al., “Phytochemical and therapeutic potential of cucumber.” *Fitoterapia*, vol. 84, pp. 227–236, 2013.
- [65] Nabavi S. M. et al., “In vivo protective effects of quercetin against sodium fluoride-induced oxidative stress.” *Food Chemistry*, vol. 132, no. 2, pp. 931–935, 2012.
- [66] Niki E., “Interaction of ascorbate and alpha-tocopherol.” *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 498, pp. 186–199, 1987.
- [67] Nimse S. B., Pal D., “Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms.” *RSC Advances*, vol. 5, no. 35, pp. 27986–28006, 2015.
- [68] Nualart F. J. et al., “Recycling of vitamin C by a bystander effect.” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 278, no. 12, pp. 10128–10133, 2003.
- [68] Oliphant C. J., Peterson A. N., Kolb S. C., “Meta-analysis of antioxidant combination studies using DPPH and ABTS assays: Ceiling effects confound Bliss synergy scores.” *Antioxidants*, vol. 11, no. 3, p. 520, 2022.
- [70] Padayatty S. J. et al., “Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention.” *Journal of the American College of Nutrition*, vol. 22, no. 1, pp. 18–35, 2003.
- [71] Padayatty S. J. et al., “Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use.” *Annals of Internal Medicine*, vol. 140, no. 7, pp. 533–537, 2004.

- [72] Palm K. et al., "Correlation of drug absorption with molecule surface properties." *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 85, no. 1, pp. 32–39, 1997.
- [73] Peng W. et al., "Areca catechu L. (Arecaceae): A review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology." *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 164, pp. 340–356, 2016.
- [74] Perez-Jimenez J. et al., "Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages." *Food Research International*, vol. 41, no. 3, pp. 274–285, 2008.
- [75] Perez-Jimenez J., Arranz S., Saura-Calixto F., "Proanthocyanidin content in foods: An approach to quantification of the missing proanthocyanidins." *Food Research International*, vol. 42, no. 10, pp. 1381–1388, 2010.
- [76] Piontek K., Antorini M., Choinowski T., "Crystal structure of a laccase from *Trametes versicolor* at 1.90-Å resolution containing a full complement of coppers." *Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, no. 40, pp. 37663–37669, 2002.
- [77] Pires D. E. V., Blundell T. L., Ascher D. B., "pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures." *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 55, no. 9, pp. 1823–1834, 2015.
- [78] Prior R. L., Wu X., Schaich K., "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 10, pp. 4290–4302, 2005.
- [79] Punithavathi V. R. et al., "Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative, and antioxidative effects of alpha-lipoic acid and vitamin C in STZ-induced diabetic rats." *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, vol. 25, no. 6, pp. 373–381, 2011.
- [80] Raza S. S. et al., "Gallic acid protects against oxidative stress and neuronal injury in pentylenetetrazol-induced seizure." *Neuroscience*, vol. 248, pp. 163–173, 2013.
- [81] Recanatini M. et al., "QT prolongation through hERG K<sup>+</sup> channel blockade: Current knowledge and strategies for the early prediction during drug development." *Medicinal Research Reviews*, vol. 25, no. 2, pp. 133–166, 2005.
- [82] Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G., "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids." *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 20, no. 7, pp. 933–956, 1996.

- [83] Savini I., Rossi A., Pierro C., Avigliano L., Catani M. V., “SVCT1 and SVCT2: Key proteins for vitamin C uptake.” *Amino Acids*, vol. 34, no. 3, pp. 347–355, 2008.
- [84] Savjani K. T., Gajjar A. K., Savjani J. K., “Drug solubility: Importance and enhancement techniques.” *ISRN Pharmaceutics*, vol. 2012, p. 195727, 2012.
- [85] Schinkel A. H., Jonker J. W., “Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: An overview.” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 55, no. 1, pp. 3–29, 2003.
- [86] Shahidi F., Ambigaipalan P., “Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects.” *Journal of Functional Foods*, vol. 18, pp. 820–897, 2015.
- [87] Shahrzad S., Bitsch I., “Determination of gallic acid and its metabolites in human urine by high-performance liquid chromatography.” *Journal of Chromatography B*, vol. 705, no. 1, pp. 87–95, 1998.
- [88] Smirnoff N., “Ascorbic acid metabolism and functions: A comparison of plants and mammals.” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 122, pp. 116–129, 2018.
- [89] Stratil P., Klejdus B., Kuban V., “Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables and fruits.” *Talanta*, vol. 69, no. 2, pp. 452–458, 2006.
- [90] Tamma S. et al., “Antibiotic combinations and their synergistic activity.” *Journal of Antibiotics*, vol. 72, no. 5, pp. 305–316, 2019.
- [91] Trott O., Olson A. J., “AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading.” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 31, no. 2, pp. 455–461, 2010.
- [92] Tsukaguchi H. et al., “A family of mammalian Na<sup>+</sup>-dependent L-ascorbic acid transporters.” *Nature*, vol. 399, no. 6731, pp. 70–75, 1999.
- [93] Valko M. et al., “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.” *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, vol. 39, no. 1, pp. 44–84, 2007.
- [94] Wang J., Cao Y., Zhang L., Yang M. admetSAR 2.0: Web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics*. 35(6):1067–1069, 2019.

[95] Wintergerst E. S., Maggini S., Hornig D. H., “Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions.” *Annals of Nutrition and Metabolism*, vol. 50, no. 2, pp. 85–94, 2006.

[96] Xiong G. et al., “ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties.” *Nucleic Acids Research*, vol. 49, no. W1, pp. W5–W14, 2021.

[97] Yadav B., Wennerberg K., Aittokallio T., Tang J., “Searching for drug synergy in complex dose-response landscapes using an interaction potency model.” *Computational and Structural Biotechnology Journal*, vol. 13, pp. 504–513, 2015.

[98] Zhang L. et al., *Drug toxicity prediction*. 2017.