

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

UNIVERSITE de TLEMCCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de biologie

*Laboratoire Antibiotique-Antifongique : Physico-Chimie Synthèse et Activité
Biologique*

*Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives « LASNABIO » au
niveau de l'université de Tlemcen*

MEMOIRE

Présenté par :

BENMADANI Soumia

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Biologie

Option : Biochimie Appliqué

Thème

**Contribution à l'étude par modélisation moléculaire de
Pistacia atlantica-anacardiées comme futur traitement
de la maladie d'Alzheimer**

Soutenu le 18/06/2020, devant le jury composé de :

Président	Mlle BENARIBA Nabila	M.C.A	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme ABDELLI Imane	M.C.A	ESSA Tlemcen
Examineur	Mme MEDJDOUB Houria	M.C.B	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2019-2020

Remerciements

Tout d'abord, Il est primordial de remercier « ALLAH » le Tout-Puissant pour m'avoir donné la force, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail, qui a été réalisé au sein du laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives « LASNABIO » au niveau de l'université de Tlemcen.

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à Mme **HASSANI-ABDELLI Imane** Maitre de Conférence « A » à l'Ecole Supérieure en Sciences Appliquées « ESSA », pour m'avoir permis de travailler sur un sujet passionnant, sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mlle **BENARIBA Nabila**, Maitre de Conférence « A » à la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen pour m'avoir honoré en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Je remercie également Mme **MEDJDOUB Houria** Maitre de Conférence « B » à la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen de me fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.*

*J'exprime ma reconnaissance et mes remerciements à Monsieur le professeur **GHALEM Saïd**, pour m'avoir accueilli dans « LASNABIO ».*

*Je remercie également Mr **BEKKAL BRIKCI Sohayb** Doctorant à l'université de Tlemcen « Laboratoire d'Ecologie & Gestion des Ecosystèmes Naturels Tlemcen Algérie » pour son aide durant mon travail de Master.*

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, Mes aimables sœurs Nora et Douâa, et mes frères Mohammed, Abd Essamad et Abd El Moumèneleur soutien moral,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire

A Tous mes collègues de promotion de biochimie appliquée, et surtout Amel et Amina pour leurs aides et disponibilités.

A Mes amis qui m'ont permis d'oublier les moments de stress et de découragement.

Tous ceux qui me sont chers.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Table des matières

Remerciements, Dédicaces

Listes des tableaux, Figures, Abréviations

Introduction générale

CHAPITRE I : MALADIE D'ALZHEIMER

I-1-Définition de la démence.....	5
I-2-Définition de la maladie d'Alzheimer.....	5
I-3-Historique.....	6
I-4-Les dix signes qui annoncent la maladie d'Alzheimer.....	7
I-5-Progression de la maladie d'Alzheimer.....	8
I-6-Les différentes formes de la maladie d'Alzheimer.....	8
I-6-1-Forme sporadique.....	8
I-7-Les facteurs pouvant influencer la maladie d'Alzheimer.....	9
I-7-1-Facteurs de risque.....	9
-Âge et sexe.....	9
-facteurs de risque vasculaires.....	9
-Facteurs génétiques.....	9
-Facteurs environnementaux.....	10
I-7-2-Facteurs protecteurs.....	12
-L'alimentation.....	12
-Activité physique.....	15
-Vie sociale.....	15
I-8-La protéine précurseur de l'amyloïde.....	16
I-8-1-Les deux voies catalytiques de l'APP.....	16
-La voie non amyloïdogénique.....	16
-La voie amyloïdogénique.....	16
I-9-Formation des plaques amyloïdes.....	17
I-10-Les dégénérescences neurofibrillaires.....	18
I-10-Les plaques séniles.....	18
I-10-La β -sécrétase.....	18

-L'inhibition de BACE1 : une cible thérapeutique.....	20
I-13-Le complexe γ -sécrétase.....	20
I-14-Traitements.....	21
I-15-Conclusion.....	21

Chapitre II : présentation de la plante *Pistacia atlantica*

II-1-Introduction.....	24
II-2-Présentation du genre <i>Pistacia</i>	24
II-3-Place dans la systématique.....	26
II-4-Caractères botaniques de <i>Pistacia atlantica</i>	27
II-5-Ecologie et aire de distribution de <i>Pistacia atlantica</i>	28
1-Au monde.....	28
2-En Algérie.....	29
II-6-Propriétés usages traditionnelles de <i>Pistacia atlantica</i>	30
II-7-Activité antioxydant et antimicrobiennes de <i>Pistacia atlantica</i>	30
II-8-Composition chimique de <i>Pistacia atlantica</i>	31
II-9-Conclusion.....	32

Chapitre III: matériels et méthodes

III-1-Introduction.....	35
III-2-Matériels.....	35
III-2-1-généralités sur les enzymes.....	35
a-Les acides aminés.....	35
b-Les sécrétases.....	39
-Présentation de la gamma-sécrétase.....	39
-Présentation de la bêta-sécrétase.....	40
III-2-2-Présentation des inhibiteurs.....	40
III-2-3-Présentation du matériel.....	42
a-Microordinateur.....	42
b-Banques de données.....	42
c-Logiciels utilisés.....	43
III-3-Méthodologies du travail.....	47
III-3-1-Introduction.....	47

III-3-2-Méthodes de la modélisation moléculaire.....	47
III-3-3-protocole à suivre.....	49

Chapitre IV: résultats et discussions

IV-1-Présentation de la protéine.....	52
IV-2-Préparation des ligands.....	55
IV-3-Structures chimiques des inhibiteurs.....	55
IV-4-Optimisation de l'énergie	59
IV-5-Etude <i>in silico</i>	62
IV-A- γ -sécrétase.....	63
1-Docking moléculaire (Interaction enzyme ligands).....	63
1-a-Comparaison entre les complexes formés (6IYD /ligands)	63
1-b-Interactions Enzyme-Ligand.....	66
2-Propriétés de Druglikeness	67
3-tests ADME	70
4-Prédiction PASS et prédiction du site de métabolisme P450 (SOM).....	72
5-Prédiction de cible	76
6-Cartographie des pharmacophores	77
7-Simulation de la dynamique moléculaire	79
-Docking moléculaire des médicaments	82
-Propriétés de Druglikeness des médicaments.....	83
-Test ADME/T des médicaments.....	83
IV-B- β -sécrétase.....	89
1-Docking moléculaire (Interaction enzyme ligands).....	89
1-a-Comparaison entre les complexes formés (4GID/ligands)	90
1-b-Interactions Enzyme-Ligand.....	93
2-Propriétés de Druglikeness	94
3-tests ADME	96
4-Prédiction PASS et prédiction du site de métabolisme P450 (SOM).....	103
5-Cartographie et modélisation des pharmacophores.....	103
6-Prédiction de cible	108
7-Simulation de la dynamique moléculaire.....	109
-Docking moléculaire des médicaments	111

-Propriétés de Druglikness des médicaments.....	112
-Test ADME/T des médicaments.....	112
Conclusion générale.....	117
Références bibliographiques.....	120

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Figure 1	La différence entre un cerveau sain et un cerveau d'une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer	6
Figure 2	Aloïs Alzheimer	7
Figure 3	Auguste Deter	7
Figure 4	Les cinq catégories des contaminants de l'environnements associés à la progression de la MA.	10
Figure 5	Cascade amyloïde	17
Figure 6	Formation du peptide amyloïde	17
Figure 7	Dégénérescences neurofibrillaires	18
Figure 8	plaques séniles	19
Figure 9	Distribution géographique du genre <i>Pistacia</i> .	25
Figure 10	<i>Pistacia terebinthus</i>	25
Figure 11	<i>Pistacia atlantica</i>	25
Figure 12	<i>Pistacia lentiscus</i>	26
Figure 13	<i>Pistacia vera</i>	26
Figure 14	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.	27
Figure 15	Fruits de <i>Pistacia atlantica</i>	28
Figure 16	Feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	28
Figure 17	Distribution géographique de <i>Pistacia atlantica</i> dans le monde	29
Figure 18	Distribution de <i>Pistacia atlantica</i> en Algérie	29
Figure 19	Représentation schématique des sous-unités de la γ -sécrétase	40
Figure 20	Protocole à suivre	50
Figure 21	Structure tridimensionnelle de la γ -sécrétase avec le code PDB 6IYC	52
Figure 22	Structure tridimensionnelle de la β -sécrétase avec le code PDB 4GID	52
Figure 23	Résidus du site actif du 6IYC	54
Figure 24	Résidus du site actif de 4GID	54
Figure 25	Complexes formés après le Docking de l'enzyme 6IYC	63
Figure 26	Score du Docking moléculaire	65
Figure 27	Interactions entre le 6IYC et les ligands	67
Figure 28	top-25 cibles prévu pour le β -sitostérol	77

Figure 29	Carte graphique pharmacophore du β -sitostérol, le stigmastérol et de l'acide oléique	79
Figure 30	Résultats de la simulation de la dynamique moléculaire du complexe β -sitostérol- γ -sécrétase	81
Figure 31	Complexes formés après le Docking de l'enzyme 4GID	30
Figure 32	Score du Docking moléculaire	92
Figure 33	Interactions entre le 6IYC et les ligands	94
Figure 34	Carte graphique des pharmacophores	106
Figure 35	Carte graphique pharmacophore de l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide	108
Figure 36	Top-25 cibles prévu pour l'acide oléique	109
Figure 37	Résultats de la simulation de la dynamique moléculaire du complexe β -sitostérol- γ -sécrétase	110

Liste des Tableaux

Tableaux	Titres	Pages
Tableau 1	Classification des démences	5
Tableau 2	Les facteurs environnementaux liés au risque de la MA	11
Tableau 3	Les aliments protecteurs contre la MA.	13
Tableau 4	Les aliments à éviter c'est-à-dire ceux riches en acides gras trans et saturés.	15
Tableau 5	Classification botanique de <i>Pistacia atlantica</i>	26
Tableau 6	Composition chimique des différentes parties de la plante <i>Pistacia atlantica</i>	31
Tableau 7	Les acides aminés	36
Tableau 8	Composition de la partie feuille et fruit de <i>Pistacia Atlantica</i>	41
Tableau 9	Quelques propriétés de la gamma-sécrétase	53
Tableau 10	Quelques propriétés de la β -sécrétase	53
Tableau 11	Structures chimiques des composés des huiles essentielles des fruits de <i>Pistacia atlantica</i>	56
Tableau 12	Structures chimiques des composés des huiles essentielles des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	58
Tableau 13	Ligand optimisé ainsi que leurs énergies d'optimisation.	60
Tableau 14	Résultats après le Docking moléculaire (γ -sécrétase)	64
Tableau 15	Résultats des propriétés de Druglikeness (γ -sécrétase)	69
Tableau 16	Résultats des tests ADME/T (γ -sécrétase)	71
Tableau 17	Résultats de la prédiction PASS (γ -sécrétase)	73
Tableau 18	Résultats de la prédiction PASS : les effets nocifs et toxiques (γ -sécrétase)	74
Tableau 19	Liste des sites P450 d'étude de prédiction du métabolisme (γ -sécrétase)	73
Tableau 20	Résultats du Docking moléculaire des inhibiteurs de la γ -sécrétase	82
Tableau 21	Résultats des propriétés de Druglikeness des inhibiteurs de la γ -sécrétase	84
Tableau 22	Résultats des tests ADME/T des inhibiteurs de la γ -sécrétase	86
Tableau 23	Résultats après Docking moléculaire (β -sécrétase)	90
Tableau 24	Résultats des propriétés de Druglikeness (β -sécrétase)	95
Tableau 25	Résultats des tests ADME/T (β -sécrétase)	97

Tableau 26	Résultats de la prédiction PASS (β -sécrétase)	99
Tableau 27	Résultats de la prédiction PASS : les effets nocifs et toxiques (β -sécrétase)	100
Tableau 28	Liste des sites P450 d'étude de prédiction du métabolisme (β -sécrétase)	101
Tableau 29	Résultats de l'expérience de cartographie pharmacophore	105
Tableau 30	Résultats du Docking moléculaire des inhibiteurs de la β -sécrétase	111
Tableau 31	Résultats des propriétés de Druglikness des inhibiteurs de la β -sécrétase	112
Tableau 32	Résultats des tests ADME/T des inhibiteurs de la β -sécrétase	113

Abréviations

Abréviations	Significations
%	Pourcent
2D	Deux dimensions
3D	Trois dimensions
Å	Angström
ADI	Alzheimer's Disease International
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion
AH	Accepteur d'Hydrogène
AICD	APP Intra Cellular Domain
Ala	Alanine
Aph-1	Gamma-secretase subunit Aph-1
APP	Amyloid Precursor Protein
Arg	Arginine
ASP	Asparagine
AVC	Accident Vasculaire Cérébrale
Aβ	Amyloïde β
BACE	β -site APP Cleaving Enzyme
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CYP450	Cytochrome P450
DASH	Dietary Approches To Stop Hypertension
Desf	Desfantaine
DILI	Lésion hépatique induite par un médicament
DL50	Dose Latérale Médiane
DM	Dynamique moléculaire
h	Heure
H-HT	Toxicité Hépatique
HIA	Absorption Intestinal Humaine
ILE	Isoleucine
iMODS	Internal Coordinates normal mode Analysis server

Kcal	Kilocalorie
LASNABIO	Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives
Log	Logarithme
MA	Maladie d'Alzheimer
Met	Méthionine
MM	Mécaniques moléculaires
MOE	Molecular Operating Environment
NMA	Analyse en Mode Normal
NCT	Nicestrine
PASS	Prediction of Activity Spectra for Substances
PDB	Protein Data Bank
Pen-2	Presenilin enhancer 2
Pgp	P-glycoprotéine
PM	Poids Moléculaire
Pro	Proline
PS	Présilinine
RCSB	Research Collaboratory for Structural Bioinformatics
RMN	Résonance magnétique nucléaire
Ser	Sérine
SGH	Système Harmonisé Mondial de classification de l'étiquetage des produits chimiques
T1/2	Temps de demi-vie
Thr	Thréonine
TM	Transmembranaire
TPSA	Total Prostate-specific antigen
Tyr	Tyrosine
βAPP	β Amyloid

Introduction générale

Les plantes médicinales sont des sources inestimables de composés bioactifs. Raison pour laquelle elles ont été à la base du traitement de diverses maladies en médecine traditionnelle africaine ainsi que d'autres formes de traitement provenant de diverses cultures du monde. Environ 80% de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle ou à base de plantes pour le traitement des maladies, principalement en Afrique et dans d'autres pays en développement (**OKOYE et al., 2014**).

Le genre *Pistacia* (Anacardiaceae) est largement distribué dans la région méditerranéenne (**BAILEY, 1949**).

En Algérie le pistachier (*Pistacia ssp*) est représenté par le pistachier térébinthe (*Pistacia terebinthus L.*), le pistachier vrai (*Pistacia vera L.*), le pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus L.*) (*Pistacia atlantica Desf.*) (**MONJAUZE, 1980, AIT SAID et al., 2011**).

La wilaya de Tlemcen est constituée par un grand nombre d'écosystème naturels. Les plus diversifiés, sont de types forestiers dans les étages bioclimatiques subhumides et semi arides (**BERRICHI et al., 2017**). Le Pistachier de l'Atlas est parmi les principales espèces arborescentes de cette région.

Pistacia atlantica est une plante médicinale par excellence ; cela est prouvé par les résultats obtenus sur son utilisation thérapeutique en médecine traditionnelle et pharmaceutique (**HAMDAN, 2004**). Les différentes parties de la plante sont utilisées dans le traitement des maladies bucco-dentaires, de l'eczéma, de la paralysie, de la diarrhée, des infections de la gorge, des calculs rénaux et de l'asthme. Elle est considérée comme un astringent, anti-inflammatoire, antipyrétique, antibactérien et antiviral (**BENHAMMOU et al., 2007, BENHAMMOU et al., 2008**). Cette plante est également utilisée dans la préparation de certains produits cosmétiques comme le savon célèbre (**DAOUDI et al., 2013**). De plus, de par sa contenance en produit phénolique elle peut être utile pour prévenir la progression des maladies liées à la surproduction de radicaux libres (**TOUL et al., 2016**).

Le stress oxydatif joue un rôle important dans la pathogenèse d'un certain nombre de maladies. En particulier dans la maladie d'Alzheimer (MA) (**CHEIGNON et al., 2018**).

La maladie d'Alzheimer est la cause la plus fréquente de déclin cognitif de la population humaine vieillissante. Cette maladie est progressive, et conduit à une perte irréversible de

neurones dans le cortex cérébral et l'hippocampe (**MICHAEL et al., 2007 ; ABDELLI et al., 2007 ; ABDELLI et al., 2008**).

Selon le rapport 2015 de l'ADI (Alzheimer's Disease International), La maladie d'Alzheimer représente la première cause de démence : **60 à 70%** des cas. Le nombre de nouveau cas en 2015 étaient de 9,9 millions, soit 1 nouveau cas toutes les 3 secondes. La répartition des nouveaux cas en 2015 était de 49% en Asie, 25% en Europe, 18% en Amérique et 8% en Afrique. Le nombre de cas de démence va doubler tous les 20 ans presque, atteignant 74,7 millions en 2030 et 131,5 millions en 2050 (**Alzheimer's Disease International**)

À l'échelle nationale près de 200.000 cas de maladie d'Alzheimer ont été recensés entre 2017 et 2018. Au niveau de la wilaya de Tlemcen 737 cas ont été diagnostiqué et pris en charge par la Caisse Nationale des Assurances Sociale. (**www.cnas.dz**).

Actuellement, les approches pharmacologiques visent à réduire la formation de peptides β -amyloïdes en inhibant les enzymes β -sécrétase et γ -sécrétase (**FOLCH et al., 2018 ; ABDELLI et al., 2007 ; ABDELLI et al., 2008 ; ABDELLI et al., 2018**).

Le but de cette étude est de retarder la progression de cette maladie en diminuant la formation du β -amyloïde, Et qui consiste à étudier l'inhibition de la β -sécrétase et la γ -sécrétase, deux enzymes impliquées dans la maladie d'Alzheimer, avec une série de molécules extraites à partir des fruits et des feuilles de *Pistacia atlantica*.

Pour ce faire nous avons utilisé Les méthodes de calculs théorique qui sont regroupées sous le nom de modélisation moléculaire et plus précisément le Docking moléculaire, ces méthodes ont rapidement investi dans le domaine de la recherche biologique, et cela est grâce au développement et l'amélioration des outils informatique et aussi à l'élucidation des structures tridimensionnelle des protéines impliquées dans de nombreuses pathologies.

Chapitre I : Maladie D'Alzheimer

I-1-Définition de la démence

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le terme de démence est défini comme « un syndrome, généralement chronique ou évolutif, dans lequel on observe une altération de la fonction cognitive, plus importante que celle que l'on pourrait attendre du vieillissement normal. Elle affecte la mémoire, le raisonnement, l'orientation, la compréhension, le calcul, la capacité d'apprentissage, le langage et le jugement ; la conscience, elle, n'est pas touchée » (DECROIX A,2016).

La maladie d'Alzheimer est parmi les démences dégénératives les plus rependue. (tableau1)

Tableau1 : Classification des démences (d'après BACKCHINE et HABERT, 2007)

Démences dégénératives	Démences non dégénératives
Maladie d'Alzheimer	Démence vasculaire (e.g., démence par infarctus)
Démence à corps de Lewy	Démence traumatique ou apparentée (e.g., traumatisme crânien)
Démences Frontotemporale	Démence infectieuse (e.g., maladie de Creutzfeldt-Jakob)
Maladie de Parkinson	Démence toxique et métabolique (e.g., alcoolisme chronique)
Maladie de Huntington	
Aphasie primaire progressive	

I-2-Définition de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une affection dégénérative du système nerveux central entraînant une perte progressive des fonctions cognitives, notamment de la mémoire, et des troubles comportementaux (LAPRES, 2010 ; ABDELLI et al., 2008).

Le diagnostic de la maladie s'effectue par la visualisation de plaques amyloïdes et de dégénérescences neurofibrillaires lors de l'autopsie du cerveau. Les progrès de la recherche ont permis une meilleure compréhension sur la nature de ces lésions. On sait que les plaques amyloïdes sont liées à l'agrégation de dépôts extracellulaires de peptides amyloïdes dans leurs formes pathologiques (Aβ42 et Aβ40) (ROUAUD et DEMOND, 2018) les enchevêtrements sont composés de protéines Tau hyperphosphorylée (BLENNOW et al., 2006). Qui a pour rôle de stabiliser les microtubules du cytosquelette neuronal. Ces deux types lésions ont pour conséquences la destruction neuronale et entraînent la perte progressive des fonctions cognitives (LAPRES, 2010).



Figure 1 : Différence entre un cerveau sain et un cerveau d'une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer (BIGOT-CORBEL, 2017)

I-3-Historique

La MA a été identifiée pour la première fois par le psychiatre et le neuropathologiste Aloïs Alzheimer (**Figure 2**) en 1906 qui reçoit une patiente âgée de 51 ans Auguste Deter (**Figure 3**) à l'hôpital de Francfort présentant des troubles de mémoire, accompagné de troubles de compréhension, de désorientation et des hallucinations. Après le décès de sa patiente, Alzheimer pratiqua une autopsie sur son cerveau et décrivit pour la première fois les deux lésions neuropathologiques principales de la maladie les dépôts amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires.



Figure 2 : Alois Alzheimer (1864-1915)
Psychiatre allemand le premier qui a
Caractérisé la neuropathologie de la MA
En 1906 **Image tirée d'internet**

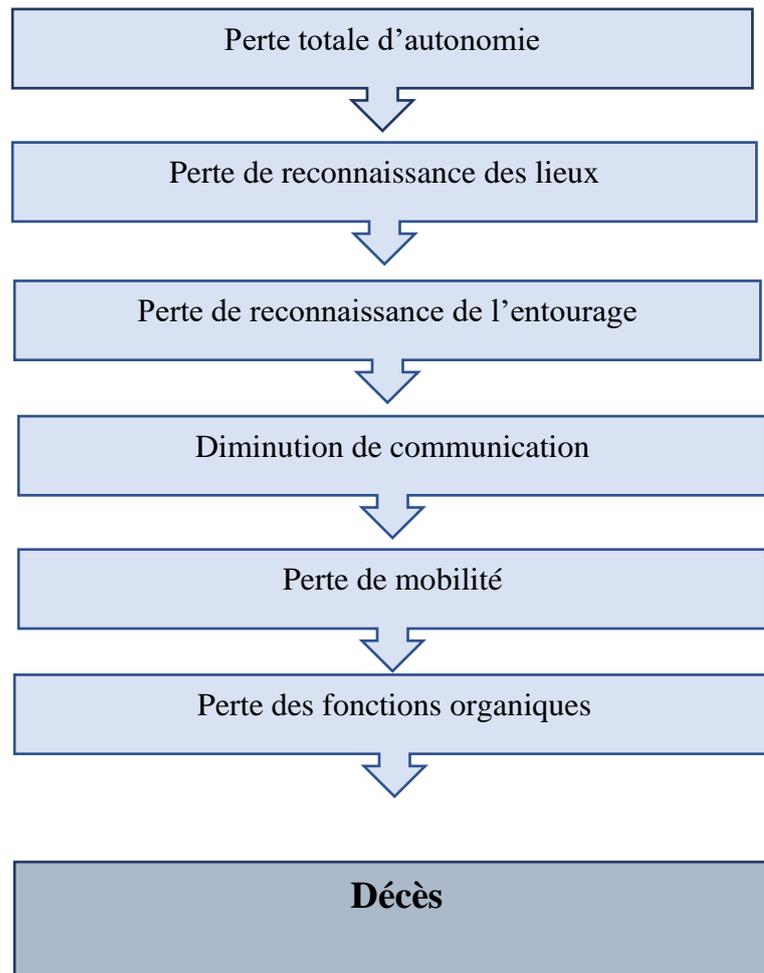


Figure 3 : Auguste Deter (1850-1906).
Patiente du Dr Alois Alzheimer. **Image
tirée d'internet**

I-4-Les dix signes qui annoncent la maladie d'Alzheimer

- Pertes de mémoire
- Difficulté d'établir des tâches quotidiennes
- Problèmes de langage
- Désorientation dans le temps et dans l'espace
- Difficulté de raisonner
- Perte d'objets
- Altération du jugement
- Changement du comportement
- Changement de personnalité
- Perte de motivation

I-5-Progression de la maladie d'Alzheimer



I-6-Les différentes formes de la maladie d'Alzheimer

I-6-1-Forme sporadique

Cette forme de maladie représente la grande majorité, 99% des cas. Elle est associée à un développement tardif. Dans cette forme de maladie l'âge a été identifié comme étant le principal facteur de risque avec une incidence qui double par tranche d'âge de 5 ans au-delà de 65 ans (EL KADMIR Iet *al.*, 2013)

I-6-2-Forme familiale

Cette forme de maladie représente moins de 1% des cas, et elle est caractérisée par un début précoce où elle survient avant les 60 ans, elle se transmet de façon autosomique dominante. (EL KADMIRI et *al.*, 2013). Dans les formes familiales de la MA 3 gènes ont

été identifié, le gène de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) situé sur le chromosome 21, ce gène code pour une protéine transmembranaire qui comporte 770aa, le gène de la protéine préséniline 1 situé sur le chromosome 14 les mutations sur ce gène affectent principalement deux régions du gène APP. Le premier site concerne les codons 714/717. Et le deuxième site concerne les codons 670/671. Près de 140 mutations ont été décrites sur ce gène et le gène de la préséniline 2 situé sur le chromosome 1, une dizaine de mutation faux-sens de ce gène ont été décrite (DELACOURTE *et al.*, 2007).

I-7-Les facteurs pouvant influencer la maladie d'Alzheimer

I-7-1-Facteurs de risque

-Âge et sexe

L'âge est considéré comme étant le premier facteur de risque impliqué dans l'apparition de la MA. Au cours du vieillissement une perte neuronale de la réserve en neurone et une diminution de la neuroplasticité (DECROIX, 2016). Puis nous avons le sexe où plus de 60% de personnes éteintes de MA sont des femmes (RIEDEL *et al.*, 2016) en raison que les femmes vivent plus que les hommes (HEIDARI-BENI *et al.*, 2018).

-Facteurs de risque vasculaires

Les facteurs de risque vasculaires affectent les fonctions cognitives en altérant le débit sanguin et le métabolisme cérébral.

- Le Cholestérol favorise la survenue de lésions vasculaires cérébrales.
- Le diabète a été caractérisé comme un facteur de risque puisque la survenue de la MA est multipliée par 1,5 à 2 chez les sujets diabétiques.
- Plusieurs études longitudinales indiquent une association significative entre l'hypertension artérielle et l'altération cognitive (HANON et DURON, 2011).
- Hyperlipidémie, la présence d'une hypercholestérolémie à l'âge moi de la vie est en association avec le risque de développé la maladie (KOPP et KROLAK-SALMON, 2012). De plus le traitement antihypertenseur a montré un effet bénéfique dans la prévention du déclin cognitif ou des démences (HANON et DURON, 2011).

-Facteurs génétiques

L'un des gènes de susceptibilité importants est celui de l'Apolipoprotéine E situé sur le chromosome 19, il code pour une protéine de 299 acides aminés impliquée dans le transport des lipides et il se présente sous 3 allèles, $\epsilon 2$ $\epsilon 3$ $\epsilon 4$ allèle $\epsilon 4$ représente un facteur de risque.

L'allèle ApoE4 peut expliquer jusqu'à 17% des cas de la MA dans la population générale. Le risque de développer la MA est augmenté de 2 à 3 fois pour les porteurs d'un allèle ε4 et de 12 à 15 fois pour les porteurs de 2 allèles. L'APO4 n'est qu'un facteur associé à la maladie qui augmente le risque de la développer, la maladie peut ne pas être développée chez des porteurs de l'allèle même à un âge précoce comme elle peut être développée chez des non porteurs, sa présence n'est ni suffisante ni indispensable pour la MA (EL KADMIRI *et al.*, 2013 ; TOL., 1999 ; DELACOURTE *et al.*, 2007).

-Facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux peuvent représenter un risque pour développer la MA comme l'exposition aux métaux toxiques, les pesticides et insecticides (Figure 4 et Tableau 2), les polluants chimiques et industriels, les antimicrobiens et les polluants atmosphériques, en effet une exposition à long terme à ces contaminants de l'environnement ainsi que leur bioaccumulation ouvrent la voie au développement de la MA en induisant une neuroinflammation (YEGAMBARAM *et al.*, 2015).

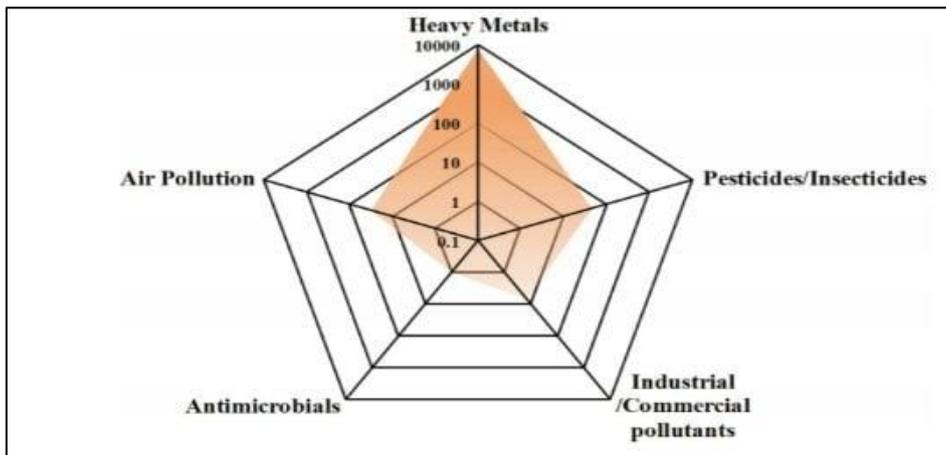


Figure 4 : Graphique Radar représentant les études publiées (8102articles) sur les cinq catégories des contaminants de l'environnements associés à la progression de la MA (YEGAMBARAM *et al.*, 2015).

Tableau 2 : Résume les facteurs environnementaux qui sont liés au risque de la MA ainsi que leurs sources et leurs effets

Le facteur		La source	Effet	Références
Métaux toxiques	Mercure	Les poissons, les vaccins et l'amalgame dentaire.	Inhibition et détérioration de la neurotubuline. Création d'enchevêtrement neurofibrillaire et d'amyloïde.	MUTTER et al., 2004
	Aluminium	Les hautes teneurs en eau potable.	Ont été associés à de nombreuses maladies neurodégénératives dont la MA, provoquant des toxicités pour plusieurs organes du corps humain.	HUAT et al., 2019
	Cuivre	Alimentation	Ont été associés dans des systèmes modèles expérimentaux avec la perturbation de l'homéostasie de la protéine β -amyloïde	BAUM et al., 2010. SINGH et al., 2013
	Arsenic	Pesticides, insecticides, herbicides, et l'exposition à l'eau, à l'air contaminés.		
Cadmium	Inhalation ou le fumé de tabac de cigarettes, ingestion des aliments contaminés, les activités industrielles.	Réduction du contenu cérébrale de l'acétylcholine.	IARC (1993) Cadmium. International Agency for Research on Cancer, Lyon (TCHOUNWO et al., 2012)	

<p>Insecticides et pesticides</p>	<p>L'augmentation de leurs utilisations dans l'agriculture industrialisée a entraîné la bioaccumulation de substances toxiques qui affectent la santé humaine</p>	<p>Les exposition aigue, chronique et à long terme aux pesticides a été associée à des troubles neurologiques dont la MA.</p>	<p>YEGAMBARAM et al., 2015 ZAGANAS et al., 2013</p>
<p>Antimicrobiens</p>	<p>Savons et dentifrices</p>	<p>Ils causent des perturbations neurodéveloppementale et des changements du comportement</p>	<p>YEGAMBARAM et al., 2015</p>
<p>Polluants atmosphériques</p>	<p>Les gaz, les composés organiques et les métaux.</p>	<p>Provoque la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) le stress oxydatif, la neuroinflammation chronique, les dommages cérébrovasculaires et l'accumulation du peptide Aβ.</p>	<p>YEGAMBARAM et al., 2015 MOULTON et al., 2012</p>

I-7-2-Facteurs protecteurs :

-L'alimentation :

La supplémentation alimentaire en antioxydants, vitamines B, polyphénols et acides gras polyinsaturés est bénéfiques pour la MA, et la consommation de poissons, de fruits, de légumes, de café et d'alcool léger à modéré réduits de risque de la MA. En plus de cela une

alimentation saine type méditerranéenne ou japonaise est associée à un risque plus faible de MA (NAN HU, et *al.*, 2013).

Les tableaux suivants résument un nouveau régime alimentaire, appelé MIND qui réduit le risque de la maladie d'Alzheimer. Le premier tableau représente les aliments protecteurs et le deuxième représente les aliments qui sont liés au risque accru.

Le régime MIND est un hybride du régime méditerranéen et du régime DASH (Dietary Approches To Stop Hypertension) qui ont tous les deux été liés à une réduction des risques d'hypertension, de crise cardiaque et d'accident vasculaire cérébral (AVC) ainsi qu'une protection contre l'Alzheimer (Tableau 3 et Tableau 4) (Source : www.psychomedia.qc.ca/)

Tableau 3 : Les aliments protecteurs contre la MA.

Aliments	Propriétés	Recommandations
<p>Poisson et/ou fruits de mer</p> 	<p>Sont riches en oméga-3 et oméga-6 qui ont un effet anti-inflammatoire et des propriétés vasculaires qui aident le cerveau à se protéger des démences.</p>	<p>Poissons gras : 1 fois par semaine (sardine, hareng, saumon, truite, anchois...) poissons maigres : 1 à 2 fois par semaine (cabillaud, colin, lotte, dorade, merlan, morue, rouget, sole...)</p>
<p>Légumes</p> 	<p>Sont riches en vitamines et antioxydants qui protègent le cerveau du vieillissement.</p>	<p>Plus particulièrement les légumes verts : salades, blettes, choux, brocoli, épinards... 6 portions par semaines est l'idéal.</p>

<p>Fruits</p> 	<p>Ils représentent une source de vitamines et minéraux qui préviennent la maladie d'Alzheimer.</p>	<p>2 fruits par jour minimum : la grenade, la fraise et le raisin rouge sont plus protecteurs que d'autres. Les baies : 2 fois par semaines.</p>
<p>Noix et graines</p> 	<p>Peuvent prévenir la maladie d'Alzheimer grâce aux effets anti-inflammatoires des molécules qu'ils contiennent : oméga-3, antioxydants sous forme de flavonoïdes, d'acides ellagique, de mélatonine, de vit E, de sélénium et d'acide α-linoléique.</p>	<p>Noix, noisettes, pistaches, amandes, graines de lin et de chia...etc. une quantité de 30g doit être consommée 5 fois par semaine.</p>
<p>L'huile d'olive</p>	<p>L'oléocanthal : est une des molécules de l'huile d'olive et qui a un effet neuroprotecteur en facilitant l'expulsion des plaques bêta-</p>	<p>Il est recommandé pour la cuisson des aliments et pour l'assaisonnement des salades.</p>

	<p>amyloïdes.</p>	
---	-------------------	--

Tableau 4 : Les aliments à éviter c'est-à-dire ceux riches en acides gras trans et saturés

Aliments	Recommandation
Viandes rouges	Se limiter à 2 portions par semaine
Fromage	1 à 2 fois par semaine maximum (une portion d'environ 30g)
Beurre et la margarine	Ne pas dépasser 10g par jour (les remplacer par l'huile d'olive de préférence)
Viennoiseries et les bonbons	Ne pas dépasser 5 portions par semaine
Produits industriels et fast-foods	Une portion par semaine maximum

-Activité physique

La pratique régulière d'une activité sportive peut avoir un rôle dans la diminution du risque.

-Vie sociale

Il existe différents facteurs qui peuvent diminuer le risque de développer la maladie, comme un niveau d'étude élevé, un entourage important, un bon niveau d'éducation, une activité professionnelle stimulante, et des activités de loisir. Ces facteurs semblent retarder l'apparition des premiers symptômes et les sévérités, ils ne diminuent pas la perte en neurones mais permettent une bonne plasticité cérébrale, entraînant ainsi une adaptabilité permanente du cerveau (DECROIX, 2016).

I-8-La protéine précurseur de l'amyloïde

Le peptide β -amyloïde contient 39 à 43 acides aminés, c'est le produit du catabolisme d'une protéine de haut poids moléculaire nommée *amyloïd precursor protein* (APP), l'APP est une protéine transmembranaire de type I comprenant 700 acides aminés, exprimée ubiquitairement dans toutes les espèces animales et dans tous les types cellulaires (DELACOURTE et al., 2007 ; TIWARI et al., 2019). Le gène codant pour l'APP est situé sur le chromosome 21.

Avec trois isoformes majeurs résultants de l'épissage alternatif qui sont APP695, APP751 et APP 770 qui contiennent respectivement 695, 751 et 770 résidus d'acides aminés. Nous avons APP770 et APP751 qui sont exprimés dans la plupart des tissus, alors que l'APP 695 s'exprime principalement dans les neurones. La fonction de l'APP est encore indéterminée, mais un rôle dans la croissance et la synaptogénèse des neurites, le trafic des protéines neuronales le long de l'axone, la transduction du signal, l'adhésion cellulaire, métabolisme du calcium ont été suggéré (ZHANG, 2011 ; O'BRIEN,2011).

I-8-1-Les deux voies catalytiques de l'APP

Le clivage de l'APP est dépendant de 3 sécrétases et est réalisé selon 2 voies catalytiques dont un est responsable de la génération du peptide amyloïde.

-La voie non amyloïdogénique

C'est la voie la plus commune, dans cette voie l'APP subit l'action de clivage de la α -sécrétase qui le coupe en son site α à l'intérieur du domaine $A\beta$ dans sa partie extracellulaire, libérant ainsi le fragment N-terminal soluble sAPP α , puis nous avons l'action de la γ -sécrétase qui vient cliver la contrepartie C-terminale membranaire C83, pour libérer le peptide p3 et un fragment cytosolique AICD (APP Intra Cellular Domain) (figure 5) (ZHANG, 2011).

-La voie amyloïdogénique

Cette voie constitue la première étape de la génération du peptide $A\beta$ car nous avons l'intervention de l'action de clivage de la β -sécrétase qui coupe l'APP en son site β pour générer le fragment N-terminal soluble sAPP β , puis la contrepartie C-terminal C99 est clivée par la γ -sécrétase libérant ainsi le peptide amyloïde $A\beta$ dont la longueur varie entre 40 et 42 acides aminés et un fragment cytosolique AICD (figure 5) (ZHANG, 2011).

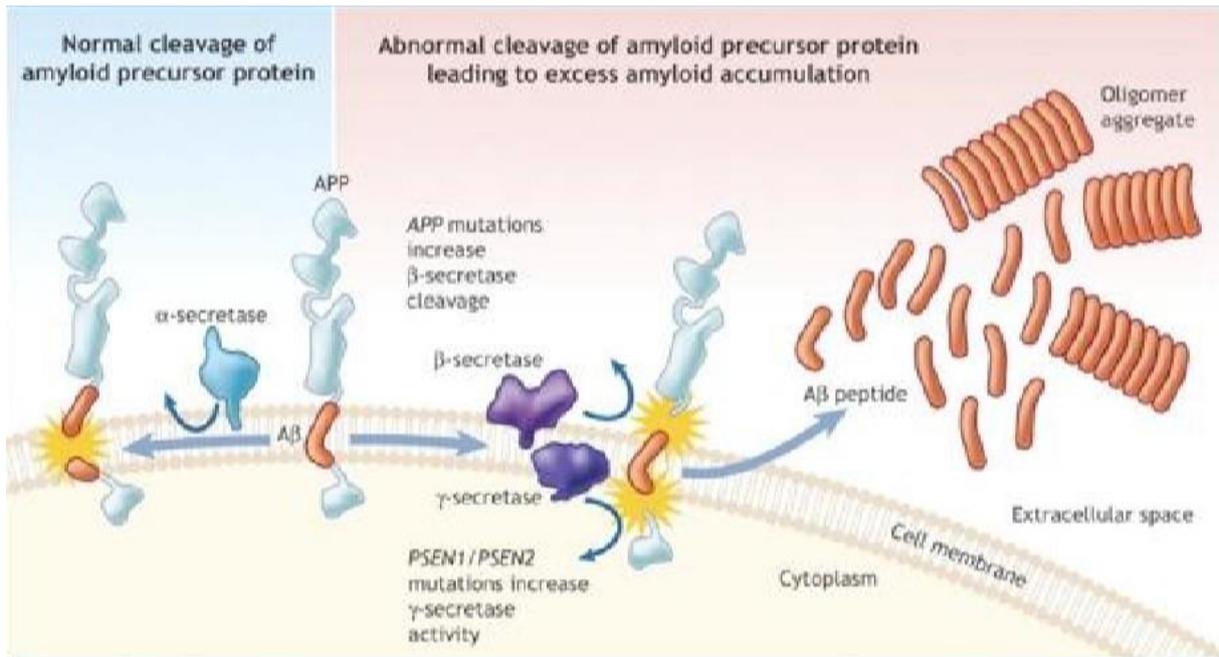


Figure 5 : Cascade amyloïde (BIGOT-CORBEL, 2017)

I-9-Formation des plaques amyloïdes

Le peptide amyloïde est l'un des constituants de la protéine transmembranaire APP. Dans la MA ce peptide libéré par l'action successive de deux enzymes, la beta et la gamma sécrétase s'agrège en oligomères qui forment petit à petit les plaques amyloïdes. (figure 6)

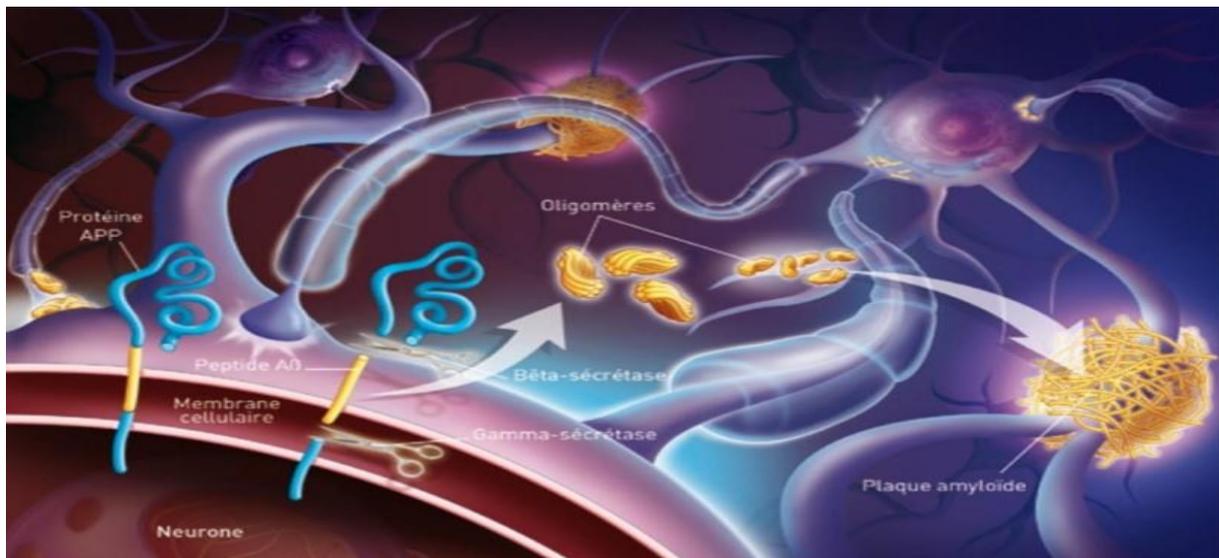


Figure 6 : Formation du peptide amyloïde (BIGOT-CORBEL, 2017)

I-10-Les dégénérescences neurofibrillaires

La phosphorylation permet à la protéine tau de maintenir les microtubules du cytosquelette des neurones. Chez les patients atteints de la MA, la protéine tau subit une hyperphosphorylation suite à la libération des kinases en raison de l'abondance d'A β dans l'environnement. Cette hyperphosphorylation conduit à l'oligomérisation de la protéine tau ce qui l'empêche de stabiliser des microtubules du cytosquelette neuronal. Les sous unités tubulaires se dissocient, le tubule devient donc instable. L'accumulation intraneuronale de fibrilles formées de protéine tau hyperphosphorylée forme les dégénérescences neurofibrillaires. La visualisation des DNF est possible par les techniques d'imprégnation (**figure 7**) (DELACOURTE *et al.*, 2007 ; TIWARI *et al.*, 2019).

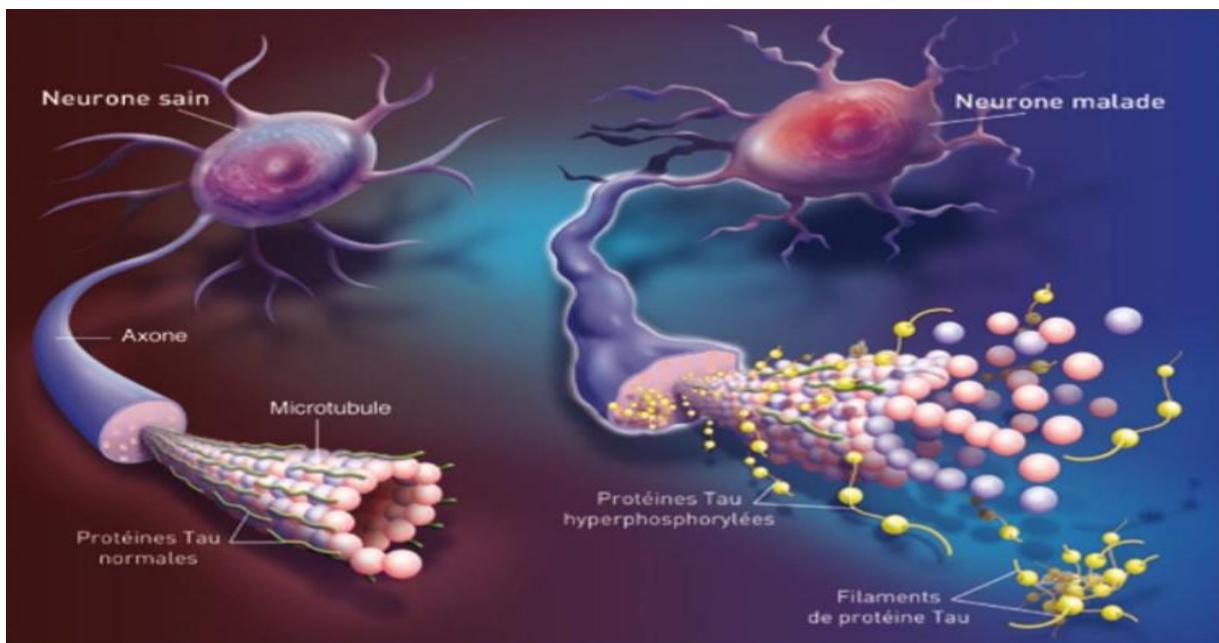


Figure 7 : Dégénérescences neurofibrillaires (BIGOT-CORBEL, 2017)

I-11-Les plaques séniles

Dans le cerveau des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer nous observons des plaques qui présentent en leur centre des dépôts β -amyloïdes et en leur périphérie des lésions neurofibrillaires, ces plaques portent le nom de plaques séniles (DECROIX, 2016). Les plaques séniles sont donc des lésions composites (**figure 8**) (DUYCKAERTS *et al.*, 1999).

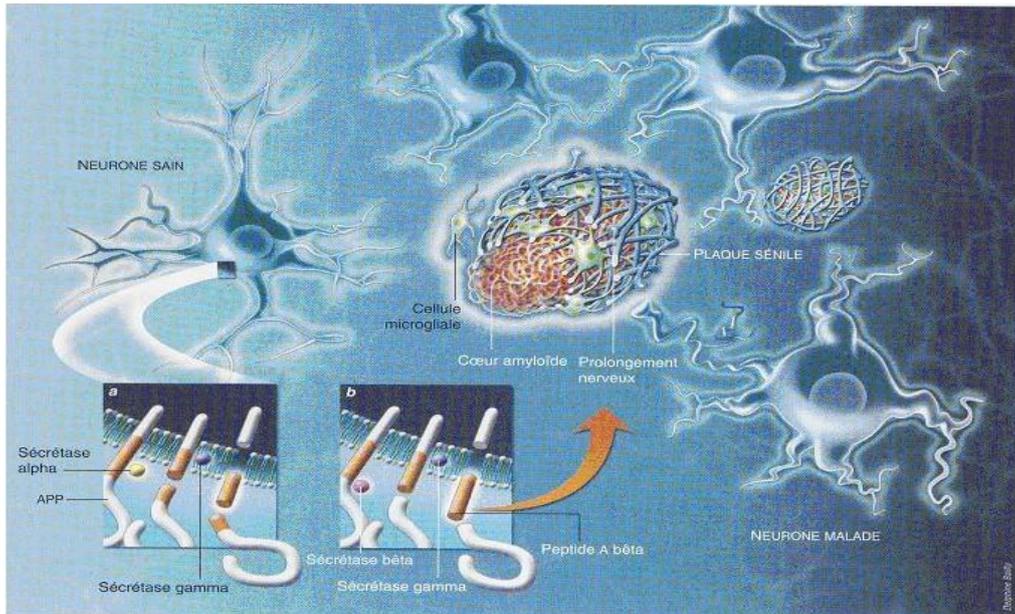


Figure 8 : Plaques séniles (BIGOT-CORBEL, 2017)

I-12-La β -sécrétase

Puisque c'est elle qui initie le clivage de la protéine précurseur d'amyloïde la β -sécrétase a été impliquée comme un acteur central dans la pathogénèse de la Ma. En 1999 cinq groupes de recherche différents ont identifié la protéine BACE1 par différentes méthodes d'isolement affirmant tous qu'elle possédait toutes les caractéristiques comme β -sécrétase, elle est nommée aussi mamapsin et Asp2 (VASSAR *et al.*, 2009). BACE1 est une protéine transmembranaire de type I avec un signal clivable à 21 résidus, un grand ectodomaine d'environ 434 acides aminés, un seul domaine transmembranaire d'environ 22 acides aminés et une courte queue cytoplasmique de 24acides aminés.

Elle se déplace plusieurs fois entre la surface cellulaire et le système endosomal au cours de sa vie où elle a montré une mauvaise activité à la surface des cellules à un ph neutre (ph=7), et une meilleure activité au niveau des endosomes à un ph acide (ph=4,5-6) son activité dépend donc de sa localisation réalisant ainsi un mécanisme moléculaire d'activation/inactivation (STROPPER *et al.*,2010).

-L'inhibition de BACE1 : une cible thérapeutique

Pour permettre son franchissement de la lumière hémato encéphalique et perméation profonde des neurones pour atteindre la lumière des endosomes, l'inhibiteur doit avoir une taille inférieure à 500 Da. La découverte de la conformation active de la BACE1 ouvre la porte pour la découverte de nouveaux inhibiteurs qui bloquent l'état de transition de la forme active de l'enzyme et ralentissent son activité, les connaissances structurales sur BACE1 seront un outil pour concevoir des inhibiteurs et donc de nouveaux médicaments (SHIMIZU *et al.*, 2008 ; ABDELLI *et al.*, 2007 ; ABDELLI *et al.*, 2008)

Les études se sont surtout intéressées à confirmer si la BACE1 est la seule bêta-sécrétase présente dans le cerveau ou s'il existait d'autres qui sont responsables de la production d'amyloïde et si son inhibition pourrait représenter des effets indésirables. Des souris Knock-out qui ont subi la suppression du gène codant pour la BACE1 les rapports initiaux ont indiqué que les souris BACE1 *-/-* générées étaient viables et fertiles. D'après ces résultats on peut suggérer que l'inhibition de BACE1 pourrait représenter une cible thérapeutique sans effets secondaires et que c'est la principale bêta-sécrétase présente dans le cerveau (STROPPER *et al.*, 2010).

I-13-Le complexe γ -sécrétase :

La γ -sécrétase est une aspartyl protéase possédant plusieurs sous-unités, elle a la particularité de cliver ses substrats dans leur domaine transmembranaire. L'APP figure parmi ses substrats, ce qui conduit à la production du peptide amyloïde ($A\beta$) déposé sous forme de plaque cérébrales dans la MA.

Le complexe est composé de 4 protéines membranaires multipasses différentes, la PS comme composant catalytique contenant deux aspartates transmembranaires dans le site actif. Lors de l'assemblage les autres sous-unités (nicastrine, Aph-1 et Pen-2) la préséniline subit une autotolérolyse en un fragment N-terminal (NTF) et un fragment C-terminal pour former la γ -sécrétase active (WOLFE., 2019). La perte de la fonction de la γ -sécrétase est due à une mutation sur le gène PS1 et PS2 entraînant une diminution de la protéolyse donc un mauvais traitement de l'APP et une génération anormale d' $A\beta$.

De par son rôle dans la génération du peptide amyloïde, la γ -sécrétase a été considérée comme une cible thérapeutique pour le développement de nouveaux médicaments contre la MA. Cela n'a pas eu beaucoup de succès en raison de sa structure complexe et sa capacité à cliver d'autres substrats protéiques transmembranaires en plus de l'APP. Pour pouvoir l'utiliser dans la thérapie de la MA, la γ -sécrétase nécessite une meilleure compréhension de la relation structure-

substrat pour pouvoir développer des modulateurs qui limitent son clivage vis-à-vis des autres substrats (ZHANG et al., 2014).

I-14-Traitements

En raison que la maladie est diagnostiquée à un stade où les lésions cérébrales irréversibles sont déjà présentes, c'est-à-dire de façon tardive, et aussi parce que la physiopathologie n'est pas encore complètement déterminée, il n'existe sur le marché aucun médicament pour traiter la maladie de façon curative, aucun des médicaments utilisés n'agit sur les mécanismes physiopathologiques de la maladie c'est-à-dire le blocage de la production du peptide β amyloïde et l'hyperphosphorylation de la protéine Tau. En effet l'objectif des médicaments utilisés est d'améliorer, de retarder ou de stabiliser la progression du déclin cognitif, ainsi que de diminuer au maximum les conséquences sur la vie quotidienne. D'autres traitements seront utilisés pour réduire les manifestations psychologiques et comportementales associées.

Les scientifiques se sont donc tournés vers la recherche de nouveaux traitements qui agissent directement sur les mécanismes physiopathologiques notamment les inhibiteurs de la β et la γ -sécrétase et les activateurs de l' α -sécrétase.

I-15-Conclusion

Les plantes médicinales ont montré un effet bénéfique dans le traitement de diverses maladies, la raison pour laquelle nous avons choisi *Pistacia atlantica*, une plante médicinale de la famille des Anacardiaceae comme futur traitement de la MA. Où nous allons essayer d'inhiber la β -sécrétase et la γ -sécrétase, deux enzymes clés lors de la production d'A β au premier stade de la maladie, par les composants de ces huiles essentielles en utilisant les méthodes de modélisation moléculaire.

Chapitre II :
Présentation de la
plante Pistacia
atlantica

II-1-Introduction

Les plantes ont été utilisées par l'homme, depuis les temps les plus anciens dans plusieurs domaines : cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutique, agro-alimentaire, industriel...etc.

Aujourd'hui, avec la prise de conscience des effets qui peuvent être engendrés par la consommation des médicaments les chercheurs ont eu recours à l'utilisation de substances d'origine naturels extraite à partir de plantes médicinales.

Pistacia atlantica Desf (Anacardiaceae) est une plante médicinale qui pousse autour du bassin méditerranéen, et elle est largement diffusé en Algérie. Cette plante qui présente plusieurs activités biologiques, est largement utilisé par la population pour le traitement de diverses maladies. De par ses propriétés et sa richesse en huiles essentielles, cette plante fait l'objet de notre travail, dans lequel on va s'intéresser aux molécules contenues dans ses fruits et ses feuilles en utilisant les méthodes de modélisation moléculaire.

II-2-Présentation du genre *Pistacia*

Zohary (1952) a reconnu 11 espèces du genre *Pistacia* (Anacardiaceae). Répartie dans l'hémisphère nord, avec sept espèces réparties du bassin méditerranéen à l'Asie central (*P. atlantica*, *P. integerrima*, *P. khinjuk*, *P. lentiscus*, *P. palaestina*, *P. terebinthus*, et *P. vera*), deux espèces en Asie orientale (*P. chinensis* et *P. weinmannifolia*), et deux espèces du Sud-ouest des Etats-Unis à l'Amérique central (*P. mexicana* et *P. texana*) (YI et al., 2008). Les pistachiers sont des arbustes dioïques (fleurs mâles et femelles poussant sur des arbustes différents). Avec des fleurs de couleur plus ou moins marron, sont groupées en racèmes. Et dont fruits sont des drupes (MITCHEH, 1986).

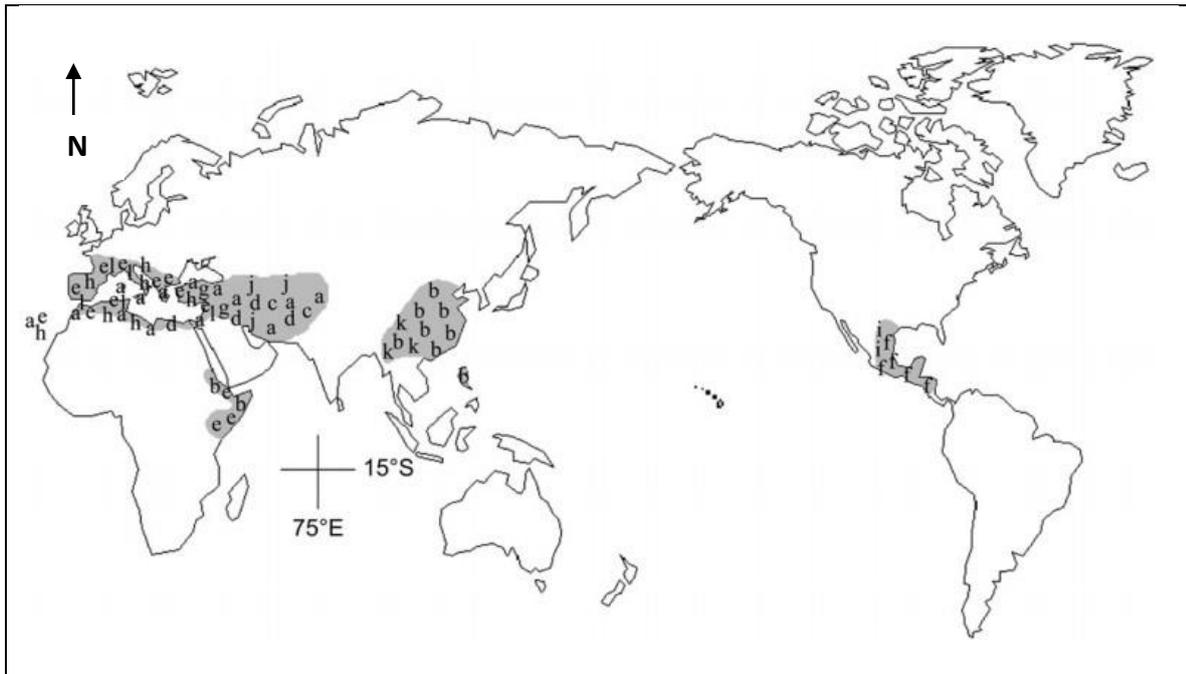


Figure 9 : Distribution géographique du genre *Pistacia*.

a = *P. atlantica*, b = *P. chinensis*, c = *P. integerrima*, d = *P. khinjuk*, e = *P. lentiscus*, f = *P. mexicana*, g = *P. palaestina*, h = *P. terebinthus*, i = *P. texana*, j = *P. vera*, k = *P. weinmannifolia* (Yi T et al., 2008).

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces : *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera*, *Pistacia atlantica*. (BELHADJ, 1999).



Figure 12 : *Pistacia lentiscus*



Figure 13 : *Pistacia vera*



Figure 10 : *Pistacia terebinthus*



Figure 11 : *Pistacia atlantica*

II-3-Place dans la systématique

Tableau 5 : Classification botanique de *Pistacia atlantica*

Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous classe	Rosidées
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiacees
Genre	<i>Pistacia</i>
Genre Espèces	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.



Figure 14: *Pistacia atlantica* Desf. (Fakrouni, 2017)

II-4-Caractères botaniques de *Pistacia atlantica*

Pistacia atlantica communément appelée Betom (TOUL et al., 2015) C'est un arbre avec une hauteur qui peut atteindre 20 mètres (YAAQOBI et al., 2009) avec un tronc bien individualisé d'un diamètre de 1 mètre (YOUSFI et al., 2003). Ses feuilles composées sont constituées de sept à neuf folioles, les fleurs sont en grappes lâches, les fruits gros comme un pois, sont des drupes (OZENDA, 1983). Les fruits sont appelés El-Khodiri par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur vert foncé à maturité. Ce sont des drupes comestibles de grosseur d'un pois, légèrement ovales et aplaties, riches en huile dense énergétique (FENNANE et al., 2007), l'oléorésine est sécrétée par le tronc de couleur vert jaunâtre et d'une odeur douce (MOZAFFARIAN, 1998)

De par sa dioïcie et ses fleurs et ses fleurs nus, *P. atlantica* constitue une espèce particulière des Anacardiacees (GAUSSEN et al., 1982) mais quelques pieds, exceptionnellement monoïques, ont été rencontrés dans les montagnes de Yunt de la province de mania en Turquie (KEFKAS et al., 2001 in YAAQOBI et al., 2009). Cet arbre a une écologie difficile à cerner ; il est d'une grande plasticité, lui permettant d'exister depuis les marges du Sahara jusqu'aux moyennes montagnes subhumides (BENABID et FENNANE, 1994).



Figure 15 : Fruits de *Pistacia atlantica* Desf. (FAKROUNI, 2018)



Figure 16 : Feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. (MANSOUR, 2011)

II-5-Ecologie et aire de distribution de *Pistacia atlantica*

II-5-1-Au monde : L'aire de *Pistacia atlantica* s'étend depuis les îles canaries à l'ouest jusqu'au proche d'orient vers l'est. On le retrouve aussi en Grèce, en Turquie, en Iran et au Pakistan (BURTE, 1992). Cette espèce forestière dite à resquillage, s'accommode à tous les sols, excepté du sable (YAAQOBI et al., 2009). Elle se contente d'une faible pluviométrie de l'ordre de 150mm et par fois moins.

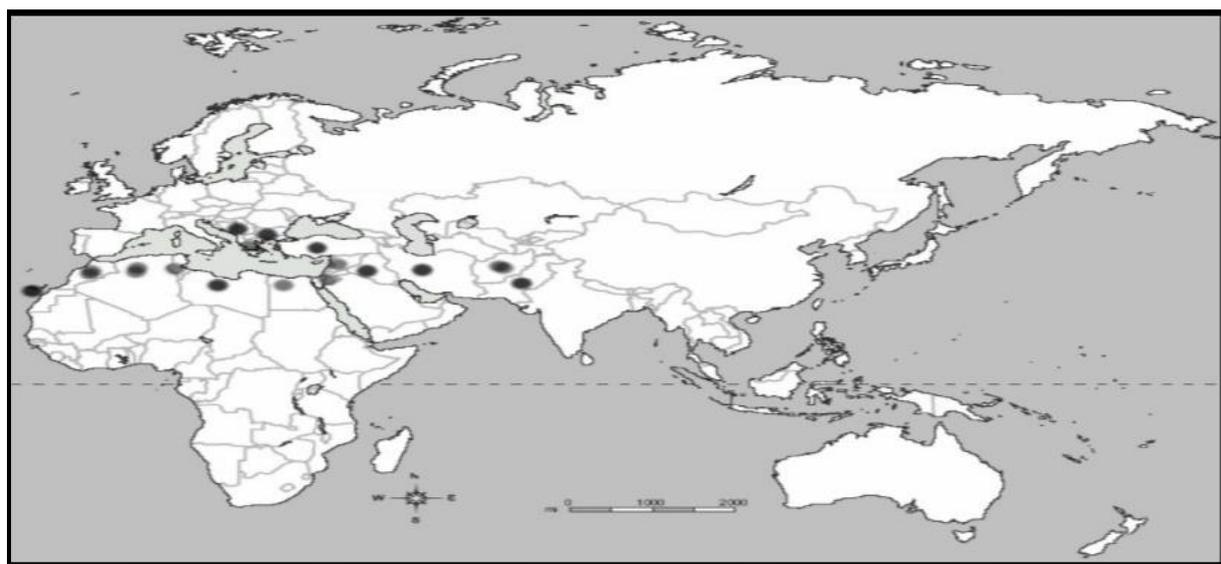


Figure 17 : Distribution géographique de *Pistacia atlantica* dans le monde (AL-SAGHIR, 2006)

II-5-2- En Algérie : Le nom *Pistacia atlantica* ou pistachier de l'atlas fait référence aux montagnes de l'atlas où l'espèce se développe (ABENDI *et al.*, 2016). Le pistachier de l'atlas est l'espèce végétale la plus caractéristique de l'atlas de l'Algérie comme son nom l'indique (YOUSFI *et al.*, 2003). Qui pousse de manière sauvage dans les régions arides et semi-arides du pays (BENHASSAINI *et al.*, 2007). D'après BOUDY (1952) on le trouve disséminé dans les forêts chaudes du tell méridional mais surtout dans la région steppodésertique des hauts plateaux et du Sahara septentrional où il ne subsiste que dans les Dayas (MANSOUR, 2011).

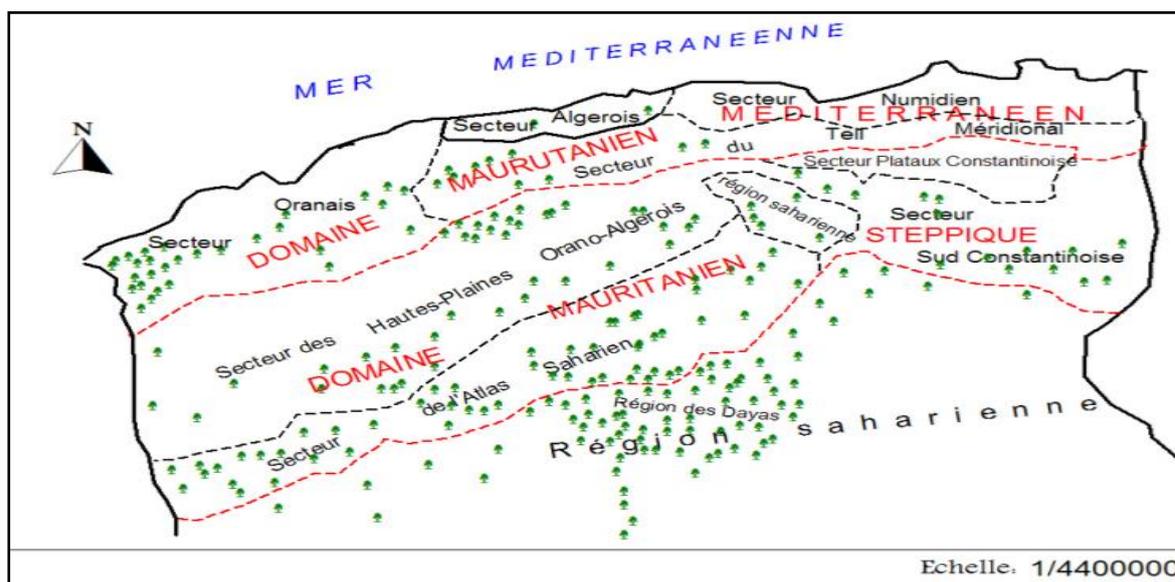


Figure 18 : Distribution de *Pistacia atlantica* en Algérie (MONJAUZE, 1968)

II-6-Propriétés usages traditionnelles de *Pistacia atlantica*

Les espèces du genre *Pistacia* ont toujours attiré l'attention des chercheurs grâce à leurs potentiels antioxydant et leurs activités antimicrobienne, antiradicalaire, antipyrétique, antimicrobienne, anti-inflammatoire et antidiabétique (HAMDAN *et AFIFI*, 2004 ; TOPCU *et al.*, 2007 ; BENHAMMOU *et al.*, 2007, BENHAMMOU *et al.*, 2008). Elles sont utilisées également dans le traitement d'eczéma et les infections de la gorge, la paralysie, diarrhée, asthme (KORDALI *et al.*, 2003)

En Grèce, les fruits de *P. atlantica* sont utilisés pour le tannage et comme fourrage pour le bétail et contiennent de l'huile qui sert à la fabrication du savon (YALTIRIK, 1988 in SIFI *et al.*, 2015). Cette plante a été utilisée traditionnellement pour le traitement de l'ulcère gastroduodéal et comme assainisseur buccal (DELAZA *et al.*, 2004). Elle est parmi les

plantes qui sont largement recommandées par les herboristes et utilisée pour leurs hypoglycémies en Jordanie (**HAMDAN et AFIFI 2004**).

En Algérie, le fruit du pistachier de l'Atlas, riche ne matière grasse, n'est utilisé que par la population locale d'une façon très artisanale en médecine traditionnelle comme anti-diarrhéique et aussi en alimentation des troupeaux. Le suintement du tronc d'arbre donnant l'encre rouge est utilisé dans la tannerie des peaux (**YOUSFI et al 2003**).

Elle est importante en Algérie et au Maroc car il est à l'origine de la gomme de mastic, un exsudat qui renforce les gencives, désodorise la respiration et combat la toux, les frissons et les maladies de l'estomac (**BARRERO et al., 2005**).

II-7-Activité antioxydante et antimicrobienne de *Pistacia atlantica*

Une faible activité antioxydante du radical DPPH par rapport à l'acide ascorbique aux antioxydants a été montré dans l'huile essentielle des feuilles de *Pistacia atlantica* (Ain oussera, Laghouat, Hassi R'mel d'Algérie (**GOURINE et al., 2010**).

Un effet antimicrobien modéré a été montré par l'huile essentielle extraite de gomme de *Pistacia atlantica* récolté de la région de Mascara (Ouest algérien) et qui a inhibé la croissance d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus pyogenes*, à une concentration minimale inhibitrice assez élevé CMI=811mg/ml (**GHALEM et al., 2009**).

Tandis qu'une inhibition modérée de la croissance des souches Gram positif et Gram négatif a été montré par les huiles essentielles extraites de la résine de *Pistacia atlantica*, récoltée de trois régions de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. L'activité antimicrobienne vis-à-vis d'*Enterococcus faecalis* et de *Staphylococcus aureus* est la meilleure avec une concentration minimale inhibitrice CMI=10µg/ml (**BENABDERRAHMANE et al., 2009**).

II-8-Composition chimique de *Pistacia atlantica*.

L'analyse phytochimique des différentes parties de cette plante a permis de montrer sa richesse en huiles essentielles. Le tableau suivant représente la composition chimique des différentes parties de *Pistacia atlantica*.

Tableau 6 : Composition chimique des différentes parties de la plante *Pistacia atlantica*

La partie de la plante	Composants	Pourcentages (%)	Références
Fruit	Acide gras insaturés : Acide oléique Acide linoléique Acide palmitique	54.15% 28,84% 12,25%	BENHASSAINI et al., 2007
	Les stérols Campstérol Stigmastérol β -sitostérol (constituant majeur)	85%	BENHASSAINI et al., 2007
	Monoterpènes oxygénés L'acétate de bornyle (Constituant principal)	21.5%	BARRERO et al., 2005
Feuilles	Monoterpènes Sesquiterpènes oxygénés Terpinène -4-ol L'élémol (Les plus abondants)	21.7% 20%	BARRERO et al., 2005
Feuilles mâles	α -pinène / α -thujène Spathuléol Bicyclogermacrène	(20,32-31%) (12,5-16,71%) (1,64-9,89%)	GOURINE et al., 2009
Feuilles femelles	δ -3-carène.	(16,37-56,18%)	GOURINE et al., 2009

Résine	<p>Hydrocarbures monoterpéniques</p> <p>α-pinène</p> <p>β-pinène</p>		<p>BARRERO et al., 2005</p>

La composition des huiles extraites à partir des différentes parties de *Pistacia atlantica* peut avoir des différences qualitative et quantitative et qui peuvent être expliquées par plusieurs facteurs tel que le sexe de la plante, la période de la collecte, où la variation saisonnière a montré que la plupart des principaux composants atteignent leurs valeurs les plus élevées en septembre, la région et aussi le climat (**GOURINE et al., 2009**).

II-9-Conclusion

Ce chapitre concerne l'étude bibliographique de l'espèce *Pistacia atlantica*, dans lequel nous avons présenté le genre *Pistacia* et ses principales espèces présentes en Algérie. Nous avons présenté aussi ses caractères botaniques, sa distribution, ses propriétés et ses usages traditionnelles, ainsi que la composition chimique de ses différentes parties.

Dans notre travail nous nous sommes limités à l'étude de deux parties de cette plante : fruits et feuilles, où nous nous sommes intéressés à la composition de leurs huiles essentielles.

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III-1-Introduction

Dans la maladie d'Alzheimer, nous avons deux types de lésions ; l'accumulation extracellulaire de peptide A β et l'accumulation intracellulaire de protéine Tau. Le peptide amyloïde ou A β est naturellement produit dans le cerveau (SAUBER *et al.*, 1992). Il est issu, à la suite de deux coupures enzymatiques (par les β - et γ - sécrétases), d'une protéine transmembranaire, la β AAPP (pour β -Amyloid Precursor Protein,) (KANG *et al.*, 1987). Dans la maladie d'Alzheimer, le peptide s'accumule principalement en dehors des cellules et échappe aux divers systèmes biologiques d'élimination, enzymatiques ou cellulaires.

Pistacia atlantica est une plante aromatique médicale de la famille des anacardiacees. Le genre *Pistacia* est connu par ces propriétés médicinales depuis l'antiquité.

Dans ce cadre nous avons présenté les méthodes utilisées et le matériel exploité pour proposer des molécules qui désactive les enzymes responsables de la génération du peptide amyloïde.

III-2-Matériels

III-2-1-Généralités sur les enzymes

Les enzymes sont des macromolécules sélectives qui se caractérisent par un énorme pouvoir catalytique, pouvant accélérer de façon spécifique les réactions chimiques de la cellule à des taux de plus de 10^{16} fois ceux des niveaux non catalysés sans être elles-mêmes modifiées par la réaction. Elles sont les protéines responsables des transformations biochimiques au sein des cellules des organismes vivants et au centre de l'organisation du métabolisme et de la régulation des processus physiologiques.

Un site actif, ou site catalytique ; distingue la région d'une enzyme pouvant se lier spécifiquement à un substrat et au sein de laquelle les réactions chimiques catalysées s'opèrent. Les inhibiteurs enzymatiques ont pour effet la diminution de l'activité d'une enzyme ou la vitesse d'une voie métabolique

a-Les acides aminés

Les acides aminés sont des molécules entrant dans la composition des protéines, grâce à leur assemblage par des liaisons que l'on appelle peptidiques.

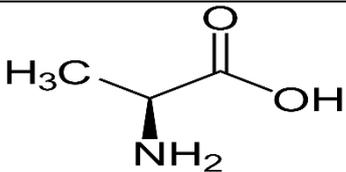
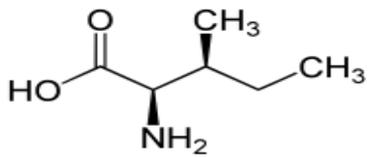
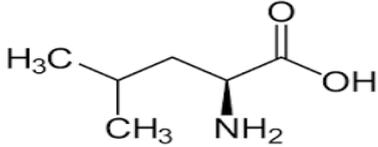
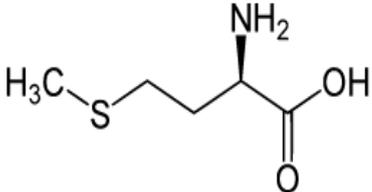
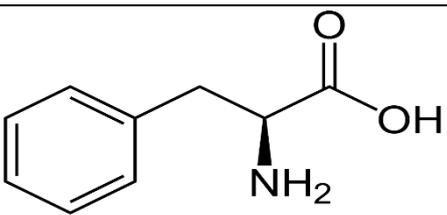
Chaque acide aminé est constitué d'une fonction amine (NH₂), d'une fonction acide (COOH) et d'une chaîne latérale (R) variable.

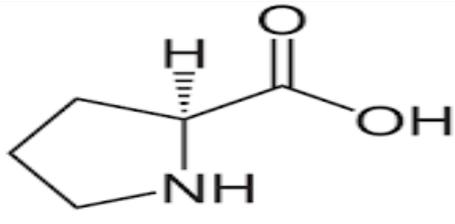
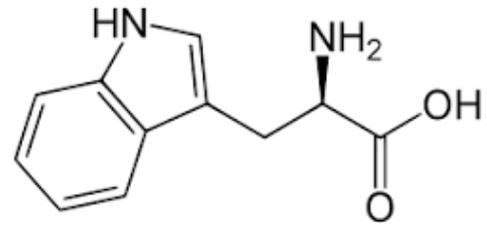
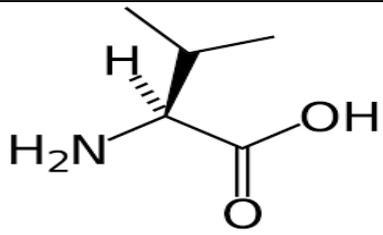
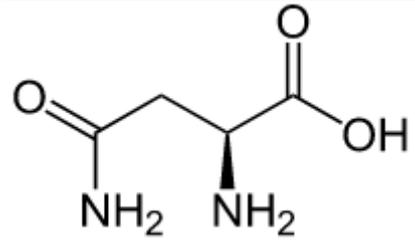
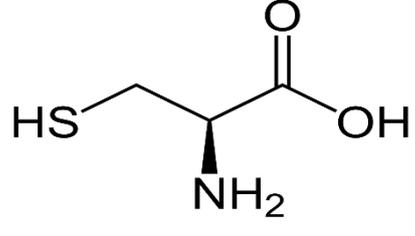
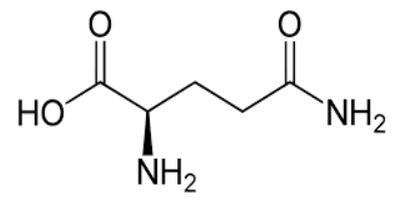
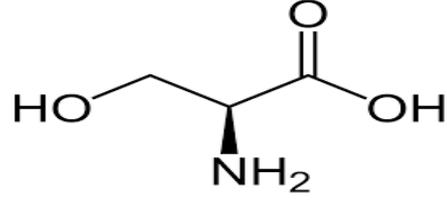
Il existe dans la nature 20 acides aminés codés par les génomes des organismes vivant, et dont chacun confère à la protéine des propriétés chimiques spécifiques. L'ordre d'assemblage des acides aminés donne à la protéine une fonction bien précise.

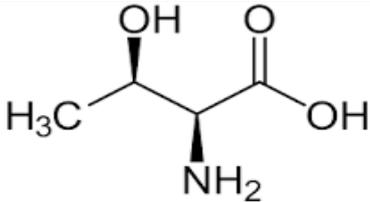
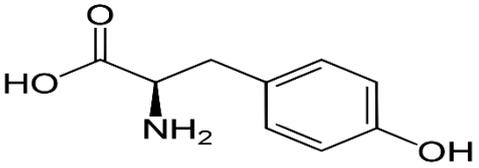
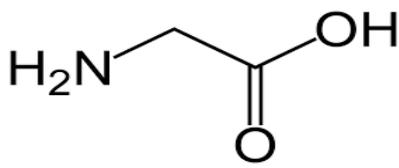
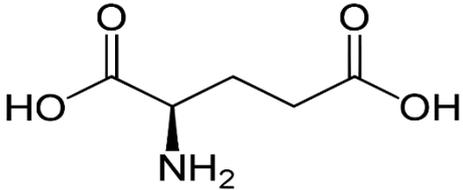
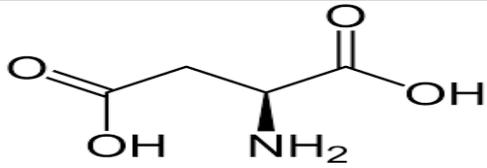
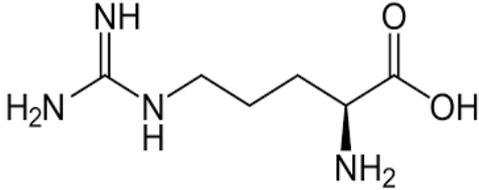
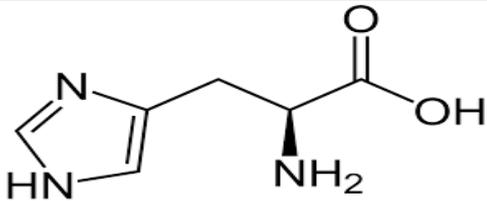
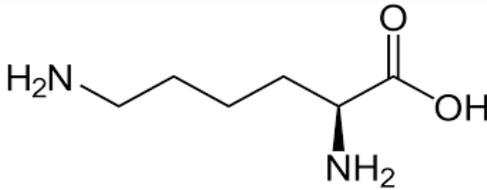
Il existe 8 acides aminés essentiels et qui doivent être impérativement apporté par l'alimentation, car ils ne peuvent être produits par l'organisme lors du métabolisme : l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane et la valine.

Selon la polarité de leurs chaînes latérales (à PH=7), les acides aminés se regroupent en 4 classes (**Tableau 7**).

Tableau7 : Acides aminés.

Classification	Acide aminé	Code à trois lettre	Structure chimique
Chaînes Latérales Non Polaire (Hydrophobes)	Alanine	Ala	
	Isoleucine	Ile	
	Leucine	Leu	
	Méthionine	Met	
	Phénylalanin e	Phe	

	Proline	Pro	
	Tryptophane	Trp	
	Valine	Val	
Chaînes latérales polaire mais non chargées (hydrophile)	Asparagine	Asn	
	Cystéine	Cys	
	Glutamine	Gln	
	Sérine	Ser	

	Thréonine	Thr	
	Tyrosine	Tyr	
	Glycine	Gly	
Chaînes latérales chargées négativement (Acides)	Acide glutamique	Gln	
	Acide aspartique	Asp	
Chaînes latérales chargées positivement (Basiques)	Arginine	Arg	
	Histidine	His	
	Lysine	Lys	

b-Les sécrétases

Dans notre étude nous avons choisi 2 enzymes ; la γ -sécrétase et la β -sécrétase.

-Présentation de la gamma-sécrétase

La γ -sécrétase est une protéase intramembranaire aspartylque qui catalyse le clivage d'un large spectre de protéines membranaires intégrales de type I telles que Notch, APP, CD44 et N-cadhérine (**EDBAUER et al., 2003; LAMMMICH et al., 2002; SATO et al., 2007**). Elle est composée de quatre sous-unités: la préséniline (PS), la nicastrine (Nct), l'Aph-1 et la Pen-2. Le clivage de deux substrats de la γ -sécrétase, à savoir la protéine précurseur amyloïde (APP) et Notch, peut conduire à la maladie d'Alzheimer (AD) et au cancer (**HUR et al., 2016**).

La sous-unité catalytique de la γ -sécrétase est la préséniline-1/2 avec neuf domaines transmembranaires (TM). L'activation autocatalytique de la préséniline entraîne un clivage spécifique entre domaine TM6 et TM7 pour séparer le fragment N-terminal (NTF) et le fragment C-terminal (CTF). Le PEN-2, contenant trois domaine TM, est crucial pour l'activation de la préséniline et facilite la maturation de la γ -sécrétase (**STEINER et al., 2002**). La nicastrine, composée d'un grand domaine extracellulaire et d'un seul domaine MT, serait le composant de recrutement de substrat. APH-1, avec sept domaine TM, semble stabiliser la γ -sécrétase (**Figure 19**) (**ZHOU et al., 2017**)

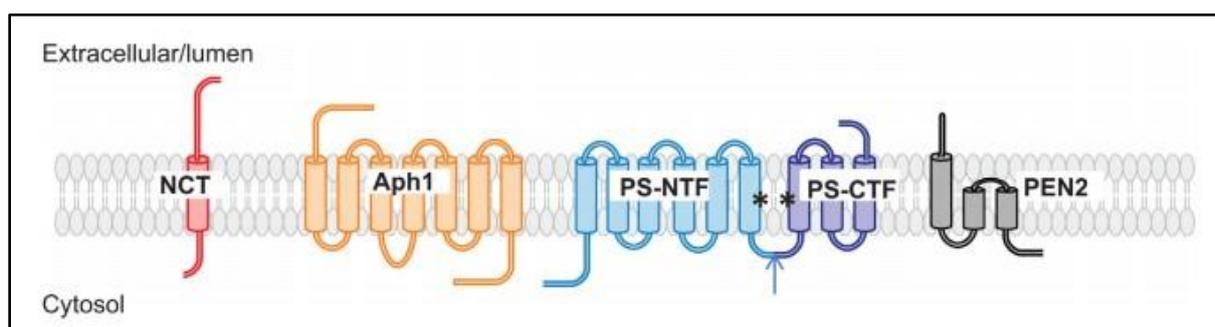


Figure 19 : Représentation schématique des sous-unités de la γ -sécrétase. Les deux résidus aspartyl catalytiques indiqués par *) sont situés sur les domaines transmembranaires 6 et 7 de SP de pleine longueur subit une endoprotéolyse (flèche) pour se former l'hétérodimère PS-NTF /PS-CTF (**HUR et al., 2016**)

-Présentation de la bêta-sécrétase

La BACE1, également connue sous le nom de β -sécrétase ou enzyme de clivage d'APP du site β 1, est principalement exprimée dans les neurones du cerveau. La β -sécrétase est codée par le gène BACE1. Selon, soit une expression accrue du gène BACE1, soit une fonction anormale de la β -sécrétase est l'un des premiers processus de la pathogenèse de la MA. Pour cette raison, BACE1 peut servir de biomarqueur sensible pour détecter la MA déjà à ses débuts (VASSAR *et al.*, 1999). Dans des conditions pathologiques, la β -sécrétase coupe l'APP à un point spécifique de sorte que l'A β 42 neurotoxique est libéré dans le milieu extracellulaire (MURPHY et LEVINE, 2010 ; LI *et al.*, 2016).

Structurellement, la β -sécrétase a un très grand site de liaison (1000 Å) avec moins de domaines hydrophobes, ce qui complique les efforts de découverte de médicaments (ADENIJI *et al.*, 2017).

III-2-2-Présentation des inhibiteurs

Les inhibiteurs enzymatique constitues un moyen important pour réguler l'activité dans les cellules vivantes. Il existe trois types de base d'inhibition enzymatique : compétitif, non compétitif et incompétitif (KEDDERIS, 2010).

Notre travail consiste à étudier l'inhibition des sécrétase (la beta et la gamma-sécrétase) par le principe actif des fruits et des feuilles de *Pistacia atlantica*.

Les inhibiteurs qui font l'objet de cette étude sont au nombre de 14 et qui sont : acide oléique, acide linoléique, acide palmitique, Campstérol, Stigmastérol, β -sitostérol, l'acétate de bornyle, terpinène -4-ol, l'élémol, α -pinène / α -thujène, spathuléol, bicyclogermacrène, δ -3-carène.

Ces inhibiteurs ont été choisi selon le rendement le plus élevé dans chaque partie de la plante, fruit et feuille.

Tableau 8 : Composition de la partie feuille et fruit de *Pistacia Atlantica*

La partie de la plante	Composants	Pourcentages (%)	Références
Fruit	Acide gras insaturés :		BENHASSAINI et al., 2007
	Acide oléique	54.15%	
	Acide linoléique	28,84%	
	Acide palmitique	12,25%	
	Les stérols		BENHASSAINI et al., 2007
	Campestérol	85%	
	Stigmastérol		
	β -sitostérol (constituant majeur)		
	Monoterpènes oxygénés		
	L'acétate de bornyle (Constituant principal)	21.5%	
Feuilles	Monoterpènes		BARRERO et al., 2005
	Sesquiterpènes oxygénés		
	Terpinène -4-ol	21.7%	
	L'éléamol	20%	
	(Les plus abondants)		
Feuilles mâles	α -pinène / α -thujène	(20,32-31%)	GOURINE et al.,2009
	Spathuléol	(12,5-16,71%)	
	Bicyclogermacrène	(1,64-9,89%)	
Feuilles femelles	δ -3-carène.	(16,37-56,18%)	GOURINE et al., 2009

III-2-3-Présentation du matériel

L'objectif principal de notre travail est la détermination de nouveaux inhibiteurs pour la β -sécrétase et la γ -sécrétase ; ces deux enzymes sont devenues une cible médicamenteuse importante en raison de leurs rôles dans la maladie d'Alzheimer.

Les ligands extraits à partir de l'huile essentielle de *Pistacia Atlantica* (Anacardiaceae), contribue à la formation d'un futur traitement à la maladie d'Alzheimer. Pour ce faire, nous avons utilisé les matériaux suivants au niveau du laboratoire des substances naturelles et bioactives « LASNABIO » n°44 à l'université d'Abou Bekr Belkaid.

a-Microordinateur

Pour la réalisation de ce travail nous avons utilisé un micro-ordinateur ayant une mémoire vive de 4 Go. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7.

b-Banques de données

La réalisation du présent travail a nécessité l'utilisation des banques de données suivantes :

RCSB : pour le téléchargement des structures 3D des enzymes

PubChem : pour le téléchargement des ligands

-RCSB :

La RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) ou PDB (Protein Data Bank) est alimentée par les archives de la banque de 111 données de protéines sur les formes 3D des protéines, des acides nucléiques et des assemblages complexes qui aident les étudiants et les chercheurs à comprendre tous les aspects de la biomédecine et de l'agriculture, de la synthèse des protéines à la santé et aux maladies.

Les structures fournies par la PDB sont essentiellement déterminées par spectroscopie « RMN » ou par cristallographie des rayons X par les biochimistes et les biologistes du monde entier et appartiennent au domaine public. La consultation est gratuite et peut se faire directement depuis les sites web de la banque.

Nous avons utilisé cette ressource comme banque de données pour le téléchargement de la bêta et la gamma-sécrétase sous forme d'un code PDB.

-PubChem

PubChem est la plus grande collection au monde d'informations chimiques librement accessibles. Permettant de rechercher des produits chimiques par nom, formule moléculaire, structure et autres identifiants, Et de Trouver des propriétés chimiques et physiques, des activités biologiques, des informations sur la sécurité et la toxicité, des brevets, des citations de la littérature et plus encore.

Nous nous sommes basés sur cette ressource pour télécharger les structures des ligands extraits à partir des huiles essentielles issus des plantes *Pistacia Atlantica* (Anacardiacees).

c-Logiciels utilisés

Pour la réalisation de ce travail nous avons utilisé les logiciels suivants :

-ChemDraw

ChemDraw est un outil puissant, mais facile à utiliser, conçu pour les scientifiques, les étudiants et les auteurs scientifiques. Il permet de produire des dessins chimiques et biologiques (**ChemDraw 17.0 User Guide**)

Dans notre étude, nous avons utilisé le logiciel « ChemDraw Ultra » dans lequel nous avons transformé le fichier contenant la structure téléchargée à partir de banque de données « PubChem » sous format « sdf », en un fichier « chm ».

-HyperChem

HyperChem est un environnement de modélisation moléculaire sophistiqué connu pour sa qualité, sa flexibilité et sa facilité d'utilisation. Unissant visualisation et animation 3D avec calculs chimiques quantiques, mécanique moléculaire et dynamique, HyperChem met plus d'outils de modélisation moléculaire à portée de main que tout autre programme Windows.

Dans ce présent travail nous avons utilisé le logiciel HyperChem pour optimiser les énergies des ligands étudiés.

-Molecular Operating Environment « MOE »

Dans notre travail nous avons utilisé le logiciel Molecular Operating Environment « MOE » (version 2014).

MOE est un système logiciel conçu par le Chemical Computing Group pour prendre en charge la chiminformatique, la modélisation moléculaire, la bioinformatique, le criblage virtuel et la conception moléculaire assistée par ordinateur et de la modélisation moléculaire (TOMAR *et al.*, 2010).

-SwissADME

ADME est un acronyme qui désigne quatre processus : Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion.

SwissADME en ligne est logiciel qui permet de calculer des descripteurs physico-chimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la nature druglike, pour soutenir la découverte des médicaments.

Nous avons utilisé ce logiciel pour déterminer les propriétés de ressemblances médicamenteuses, ainsi pour vérifier la Règle de cinq de Lipinski (LIPINSKI *et al.*, 2001) Règle de Veber (VEBER *et al.*, 2002), règle d'Egan (EGAN *et al.*, 2000) et surface polaire (TPSA), nombre de rotatifs (DAINA *et al.*, 2017).

Les propriétés de ressemblance médicamenteuse des ligands ont été calculées en utilisant ORISIS Property Explorer.

-ADMETlab

ADMETlab est une plateforme qui fournit une interface Web conviviale et disponible gratuitement pour une évaluation ADMET systématique des composés chimiques, elle est basée sur une base de données comprenant 288967 entrées. Quatre modules de fonction permettent aux utilisateurs d'effectuer une analyse de Druglikeness, 31 Prédiction des points finaux ADMET, évaluation systématique et recherche de similarité, ce qui donne une compréhension globale d'un lot de composés et peut réaliser le processus de criblage rapide.

Dans notre travail nous avons utilisé ce serveur pour prédire les propriétés pharmacodynamique et pharmacocinétiques des ligands, y compris la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, l'absorption intestinale humaine, perméabilité au Caco-2, capacité inhibitrice du cytochrome P (CYP), demi-vie, mutagénicité, etc (DONG *et al.*, 2018).

Les valeurs numériques et catégorielles des résultats affichés par ADMETlab ont été transformées en valeurs qualitatives selon l'explication et l'interprétation décrites sur le serveur ADMETlab pour la commodité de l'interprétation.

-PASS (Prédiction des spectres d'activités pour les substances) et site de métabolisme P450

PASS est un logiciel utilisé pour évaluer le potentiel biologique général d'une molécule organique semblable à un médicament. Il fournit des prévisions simultanées de nombreux types d'activité biologique en fonction de la structure des composés organiques. Il peut donc être utilisé pour estimer les profils d'activité biologique des molécules virtuelles, avant leur synthèse chimique et leurs tests biologiques.

Dans le présent travail nous avons utilisé le serveur PASS-Way2Drug pour prédire les risques biologiques les activités et les effets néfastes et toxiques possibles des 3 meilleurs ligands sélectionnés. La prédiction PASS a été effectuée en utilisant les SMILES canoniques du serveur PubChem. Pour effectuer la prédiction PASS, Pa (probabilité d'être active) a été maintenu à plus de 70% car les études ont confirmé que le seuil $Pa > 70\%$ donne une prédiction très fiable (GERONIKAKI *et al.*, 1999).

Les sites du métabolisme P450 (SOM) des trois meilleurs ligands ont été déterminées par l'outil en ligne RS WebPredictor1.0 (ZARETZKI, *et al.*, 2012).

La DL50 et la classe de toxicité ont été prédites en utilisant le serveur ProTox-II (DRWAL *et al.*, 2014).

Les SOURIRE canoniques des ligands ont été tirés du serveur PubChem, et ont été utilisés pour prédire la DL50 et la classe de toxicité.

-Carte graphique et modélisation des pharmacophores

Un pharmacophore est un cadre moléculaire qui porte les caractéristiques essentielles responsables de l'activité biologique d'un médicament. C'est un modèle 3D décrivant le type et l'emplacement des interactions de liaison entre un ligand et son récepteur cible.

Un pharmacophore est un ensemble de caractéristiques stériques et électroniques qui est nécessaire pour assurer les interactions supramoléculaires optimales avec une cible biologique spécifique et pour déclencher (ou bloquer) sa réponse biologique.

Dans cette étude, la carte graphique des Pharmacophore a été réalisée par le serveur en ligne PharmMapper. Les ligands téléchargés au format sdf depuis le serveur PubChem. Le paramètre « nombre maximum de conformation » a été fixé à 1000, « sélectionner l'ensemble de cible » a été fixé à toutes les cibles, « Nombre de cibles correspondantes réservées » a été fixé à 1000. Dans les options avancées, la valeur de coupure du score d'ajustement a été fixé à 0. Tous les autres paramètres ont été conservé par défaut, l'expérience de carte graphique des pharmacophores a été réaliser pour les trois meilleures molécules de ligand parmi les 14 ligands sélectionnés.

A cause de l'indisponibilité de la γ -sécrétase dans le serveur PharmMapper La carte graphie de pharmacophore n'a été réaliser que pour la β -sécrétase

La modélisation pharmacophore des trois meilleurs ligands a été réalisée sélectionnés à l'aide du progiciel MOE (**Molecular Operating Environment (MOE), 2014**).

-Simulation de dynamique moléculaire

La simulation de la dynamique moléculaire a été réalisée par le serveur en ligne iMODS le serveur est un utilisateur rapide et outil de simulation de dynamique moléculaire convivial et efficace qui peut être utilisé efficacement pour étudier la dynamique structurale des complexes protéique. Le serveur fournit les valeurs de déformation, facteur B (profils de mobilité), valeurs propres, variance, carte de co-variance et réseau élastique. Pour un complexe ou une protéine, la déformabilité dépend de la capacité de se déformer à chacun de ces résidus d'acide aminés. La valeur propre a une relation avec l'énergie nécessaire pour déformer une structure donnée, plus la valeur propre est faible, plus la déformabilité du complexe est facile. De plus, la valeur propre représente également la raideur du mouvement du complexe protéique. iMODS est un serveur rapide et facile pour déterminer et mesurer la flexibilité des protéines (**AWAN et al., 2017, PRABHAKAR et al., 2016, LOPEZ-BLANCO et al., 2014, LOPEZ-BLANCO et al., 2011, KOVACS et al., 2004**).

L'étude de simulation de dynamique moléculaire a été réalisée pour le ligand déclaré comme le meilleur parmi les molécules sélectionnées. D'après l'analyse des résultats, il a été déclaré que le β -sitostérol était le meilleur ligand parmi les molécules de ligand sélectionnées.

III-3-Méthodologies du travail

III-3-1-Introduction

Comme méthode pour cette étude, nous avons choisi la modélisation moléculaire.

La modélisation moléculaire pourrait être définie comme une classe de travaux informatisés qui appliquent les lois de la physique appuyées par des données expérimentales pouvant être utilisées pour analyser des molécules, notamment le nombre et les types d'atomes, la nature des liaisons, les longueurs de liaison, les angles et les angles dièdres, les molécules énergie, optimisation de la géométrie, enthalpie et fréquence vibratoire des systèmes moléculaires (NOHA *et al.*, 2017)

Les domaines d'application de la modélisation moléculaire concernent la chimie computationnelle, la conception de médicaments, la biologie computationnelle et la science des matériaux (BARBARA *et al.*, 2019)

III-3-2-Méthodes de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est la description des molécules et de leurs interactions dans l'espace à l'aide de calculs. Pour chaque structure, on peut calculer une énergie et la structure moléculaire la plus probable correspond à celle ayant l'énergie potentielle la plus basse (TRAORE, 2006) Les méthodes de calculs utilisées peuvent être classées en deux groupes selon la molécule étudiée :

-Mécanique moléculaire (MM)

La mécanique moléculaire, qui permet une description plus approximative des systèmes de grandes tailles (plus de 1000 atomes) telles que, les protéines, l'ADN, l'ARN et bien d'autres. Ici, le système est simplifié. On assimile les atomes à des sphères chargées, les liaisons covalentes à des ressorts et l'énergie potentielle du système est donnée à travers l'expression d'un champ de force. Il existe plusieurs types de champs de force selon le système qu'on souhaite étudier. AMBER et CHARMM sont les plus couramment utilisés pour la modélisation des systèmes biologiques (TRAORE, 2006)

-Dynamique moléculaire (DM)

La dynamique moléculaire (MD) est une autre approche pour l'étude de l'emplacement des atomes dans l'espace. Dans cette approche, un modèle à point unique est remplacé par un modèle dynamique dans lequel le système nucléaire est forcé de se déplacer. La simulation du

mouvement est réalisée par la solution numérique des équations dynamiques newtoniennes classiques. L'ensemble des emplacements d'atomes possibles donne, par exemple, le profil d'ensemble conformationnel pour une molécule donnée. Elle peut également fournir des informations sur les propriétés thermodynamiques et dynamiques des molécules **(POLANSKI, 2009)**

-Docking moléculaire

L'amarrage moléculaire est une méthode qui prédit l'orientation relative préférée d'une molécule lorsqu'elle est liée dans un site actif d'une autre molécule pour former un complexe stable de sorte que l'énergie libre du système global soit minimisée. Il exploite le concept de forme moléculaire et de complémentarité physico-chimique. Les structures interagissent comme une main dans un gant, où la forme et les propriétés physicochimiques contribuent à l'ajustement **(KHANNA et al., 2019)**.

C'est un outil clé en biologie moléculaire structurale et en conception de médicaments assistée par ordinateur.

Le but de Docking ligand-protéine est de prédire le (s) mode (s) de liaison prédominant (s) d'un ligand avec une protéine de structure tridimensionnelle connue **(MORRIS, LIM-WILBY, 2008)**

Le Docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le Docking et le scoring

- Le docking : consiste à faire interagir une petite molécule organique avec le récepteur, généralement de nature protéique. Il permet échantillonner les différentes possibilités d'interaction, positions et orientations entre le ligand et le site actif de l'enzyme.
- Le scoring : c'est une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe **(KOLLMAN et al., 2000)** Un score ne prédit en rien une activité mais bien une affinité.

L'utilisation des fonctions de scoring est double. Tout d'abord, elles permettent de déterminer la conformation qui représentera au mieux le ligand concerné. Cette conformation est appelée « première pose ». L'autre utilisation des scores est de pouvoir classer les premières poses de chaque ligand afin d'établir un classement final des molécules les plus prometteuses **(ARRAULT, 2007)**

Au cours de notre étude nous avons appliqués la méthode mécanique (MM) ainsi que le docking moléculaire en utilisant le logiciel « MOE ».

III-3-3-Protocole à suivre

L'organigramme suivant résume les étapes que nous avons suivent lors notre recherche du meilleur inhibiteur pour les enzymes impliquées dans la MA, la β -sécrétase et la γ -sécrétase. **(Figure 20).**

Chapitre III : Matériels et Méthodes

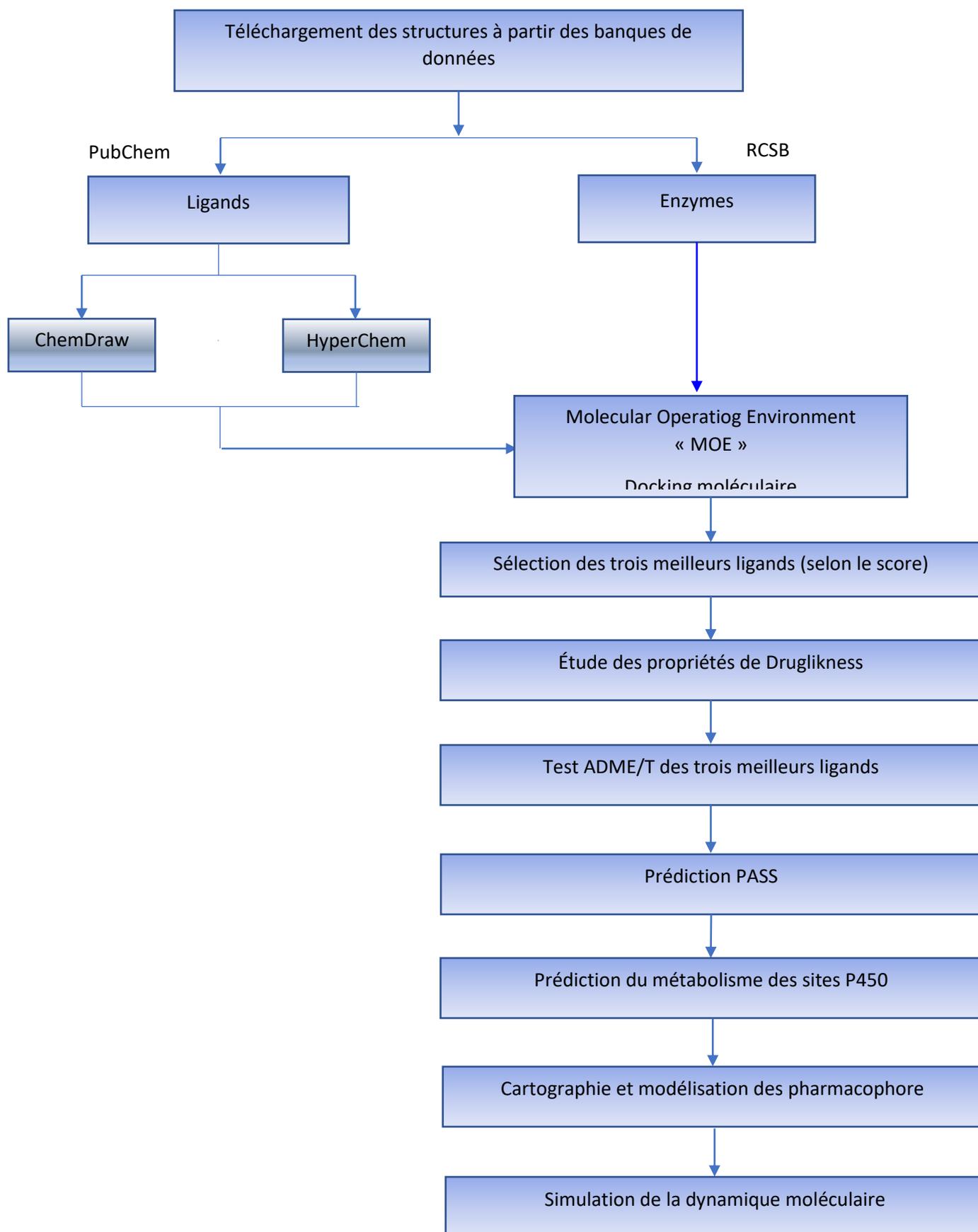


Figure 20 : protocole à suivre

Chapitre IV: Résultats et Discussions

Le présent travail consiste à étudier les interactions entre les 14 inhibiteurs extraits à partir de la partie feuille et fruits de *Pistacia atlantica* (Anacardiaceae) et les deux enzymes, la γ -sécrétase et la β -sécrétase responsable de la génération du peptide A β impliqué dans la maladie d'Alzheimer.

Dans ce chapitre nous avons présenté les résultats et la discussion des calculs et des tests effectués.

IV-1-Présentation de la protéine

Pour la réalisation de ce travail nos enzymes ont nécessité une bonne préparation et pour cela nous avons passé par plusieurs étapes :

- Son téléchargement à partir de la banque de données « **Protein Data Bank** »

En général, la structure protéique avec une résolution entre 1,5 et 2,5 Å est de bonne qualité pour des études ultérieures, pour cette raison nous avons choisi le code PDB suivant :

-6IYC pour la γ -sécrétase avec une résolution de 2,6 Å

-4GID pour la β -sécrétase avec une résolution de 2 Å

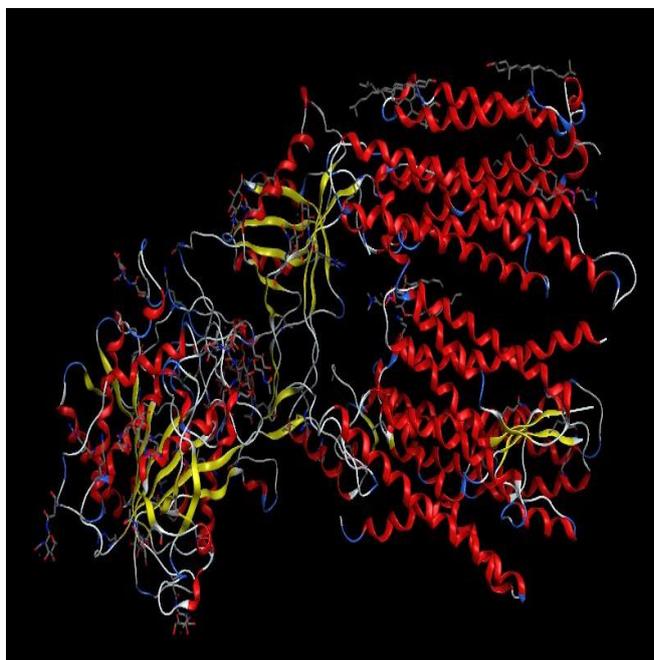


Figure 21 : Structure tridimensionnelle de la γ -sécrétase avec le code PDB 6IYC

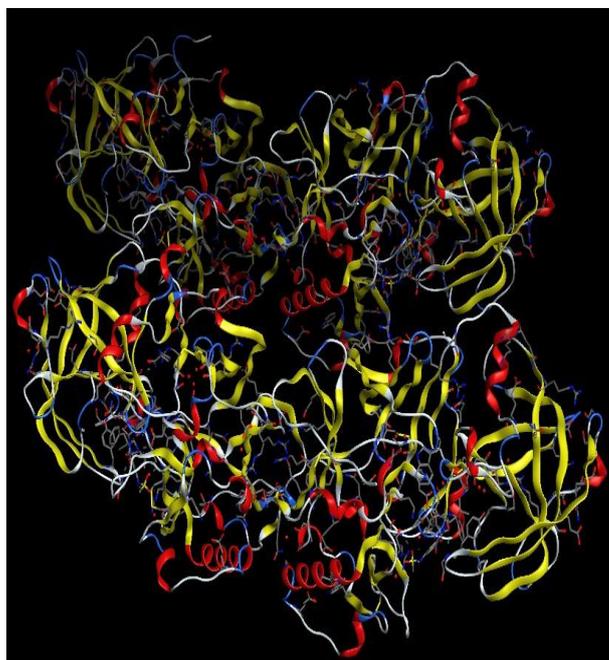


Figure 22 : Structure tridimensionnelle de la β -sécrétase avec le code PDB 4GID

Tableau 9 : Quelques propriétés de la gamma-sécrétase

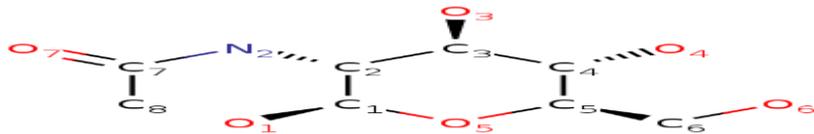
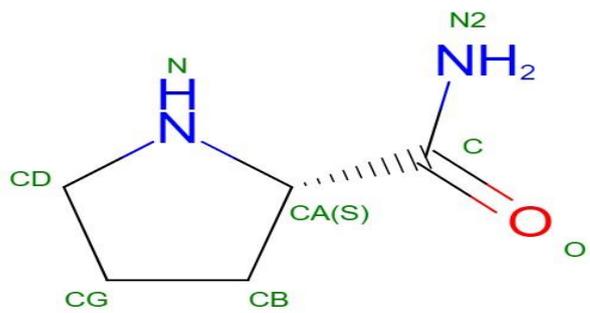
Protéine	γ -sécrétase
Code PDB	6IYC
Classification	Protéine membranaire
Méthode	Microscopie électronique
Résolution	2.6 Å
Nombre de chaînes	4 chaînes : A : Nicastrin C : APH-1A B : Presenilin-1, D : PEN-2
Longueurs des chaînes	A : 709 résidus B : 467 résidus C : 265 résidus D : 101 résidus
Ligand de co-cristallisation	

Tableau 10 : Quelques propriétés de la β -sécrétase

Protéine	β -sécrétase
Code PDB	4GID
Classification	Hydrolase
Méthode	Diffraction aux rayons X
Résolution	2 Å
Longueur de chaîne	388 Résidus
Inhibiteurs de co-cristallisation	 <p>L-Prolineamide</p>

- Importation de l'enzyme dans el logiciel **Molecular Operating Environment** « MOE »
- Exclusion des chaines des acides aminées avec les ligands de co-cristallisation, en gardant seulement les 4 chaines à l'origine de la gamma-sécrétase.
- Exclusion des molécules d'hydrogènes
- Isolation de l'atome pour déterminer le site actif de la protéine
- Nous avons utilisé le module « Site Finder » du logiciel « MOE » pour la détection de la cavité enzymatique, les résidus formant le site actif le plus volumineux en acides aminés et qui représente le site le plus favorable pour l'interaction ont été identifié. Les résultats sont présentés dans la figure.

Site	Size ▲	PLB	Hyd	Side	Residues
13	48	0.60	15	48	1:(SER137 PRO141 ASN142 TYR173
21	48	0.26	12	28	1:(SER258 MET259 LEU260 LYS261
7	49	1.35	16	31	2:(PRO218 LEU219 ARG220)4:(ASN2
9	56	1.31	20	35	1:(SER137 VAL138 CYS140 PRO141
11	67	0.70	21	48	1:(ILE66 HIS220 HIS222 PRO244 G
12	70	0.69	30	36	2:(THR74 LEU75 GLY78 ALA79 HIS8
3	82	3.56	27	49	1:(ASN34)2:(SER401 GLY402 ASP40
4	94	2.95	44	56	1:(VAL72 ASN91 PRO92 PRO93 PHE2
2	171	3.69	64	91	1:(ILE679 PHE682 SER683 VAL686
1	206	3.95	75	95	2:(HIS81 LEU85 ILE143 MET146 TH

Figure23 : Résidus du site actif du 6IYC

Site	Size ▲	PLB	Hyd	Side	Residues
6	19	0.25	12	23	1:(LYS297 SER300 SER301 GLU303
18	23	-0.34	7	15	1:(LYS57 SER58 GLY59 GLN60 ARG3
7	24	0.24	16	21	1:(LEU236 TRP237 TYR238 GLY337
3	25	0.58	13	18	1:(SER84 ASN85 PHE86 LEU128 ALA
20	26	-0.35	10	17	1:(LYS57 GLN60 ASN159 GLY160 SE
17	27	-0.34	8	17	1:(ASP52 ASN53 LEU54 ARG55 TYR6
19	28	-0.35	12	24	1:(GLY82 SER83 SER84 ASN85 VAL1
5	32	0.37	8	16	1:(GLY56 LYS57 SER58 TYR62 CYS2
2	63	1.01	20	48	1:(VAL252 ARG253 VAL254 GLU255
1	188	4.94	49	91	1:(LYS57 SER58 GLY59 GLN60 GLY6

Figure 24 : Résidus du site actif de 4GID

D'après la figure On observe que :

L'enzyme 6IYC contient plusieurs cavités enzymatiques, dont le site actif le plus volumineux est formé de 206 acides aminés.

L'enzyme 4GID contient plusieurs cavités enzymatiques, dont le site actif le plus volumineux est formé de 188 acides aminés.

IV-2-Préparation des ligands

Les structures chimiques des ligands utilisés dans ce travail ont été téléchargé à partir de la banque de donné « PubChem » sous format «SDF ».

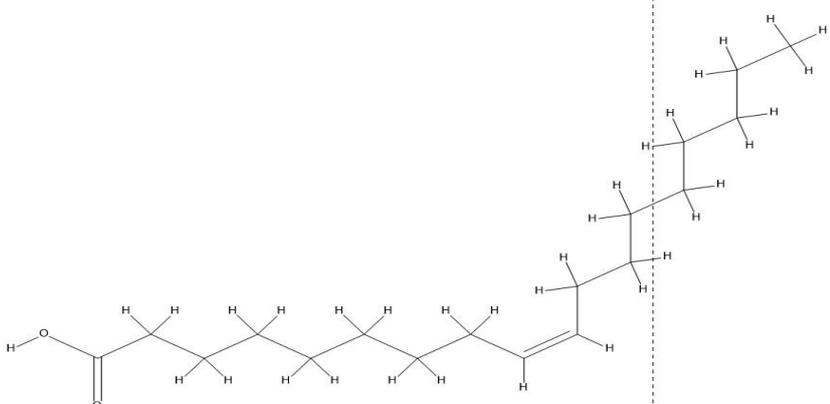
Nous avons importé les 14 ligands dans le logiciel « ChemDraw, version 12.0.2 » puis nous les avons enregistrés sous format « chm ».

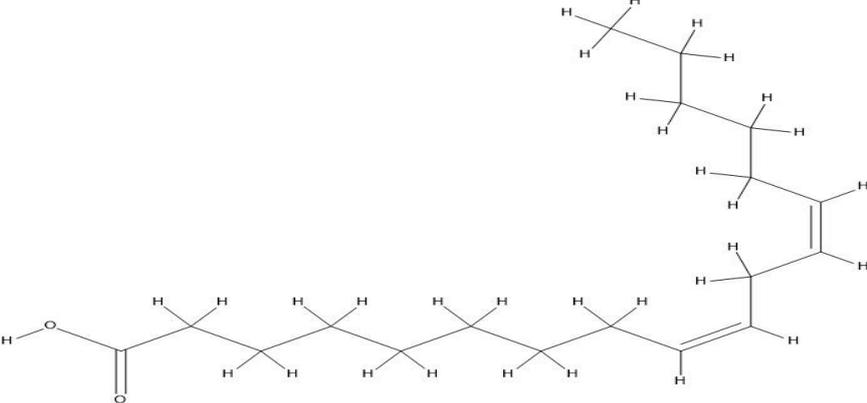
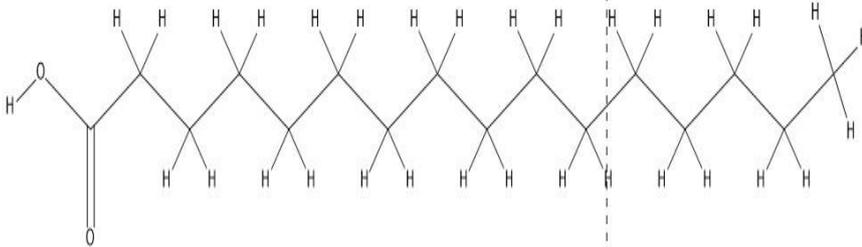
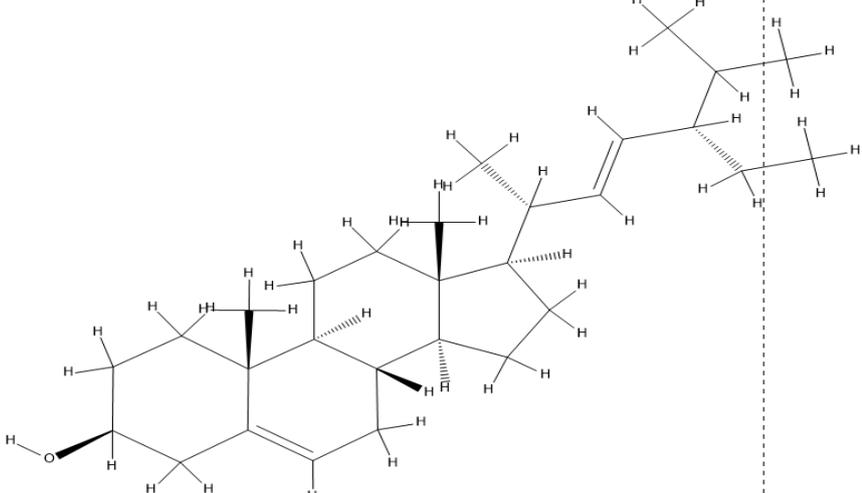
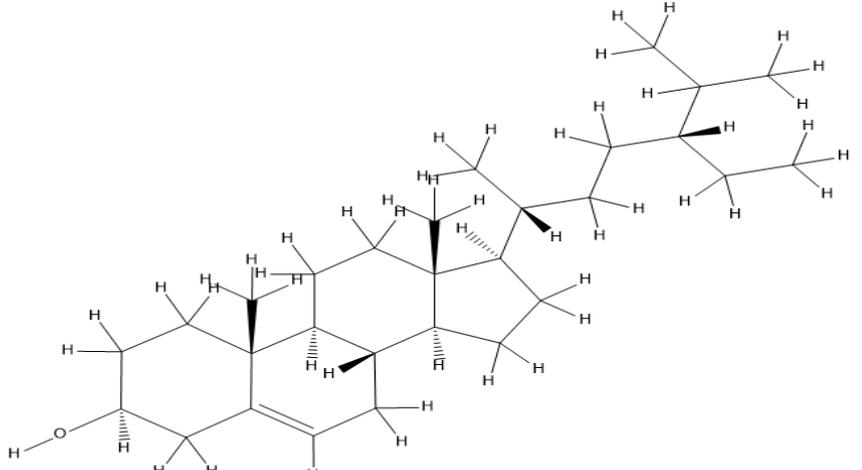
Ensuite nous avons utilisé le logiciel « HyperChem, version 8.0.10 » pour l'optimisation des ligands, qui ont été ensuite enregistré sous format « MOL ».

IV-3-Structures chimiques des inhibiteurs

Dans les deux tableaux ci-dessous sont représenté les structures des 14 ligands utilisés dans ce travail et qui sont présents dans la partie fruit et feuille de *Pistacia atlantica*.

Tableau 11 : Structures chimiques des composés des huiles essentielles des fruits de *Pistacia atlantica*

Composé	Ligand	Structure
L1	Acide oléique	

<p>L2</p>	<p>Acide linoléique</p>	
<p>L3</p>	<p>Acide palmitique</p>	
<p>L4</p>	<p>Stigmastéro l</p>	
<p>L5</p>	<p>β-sitostérol</p>	

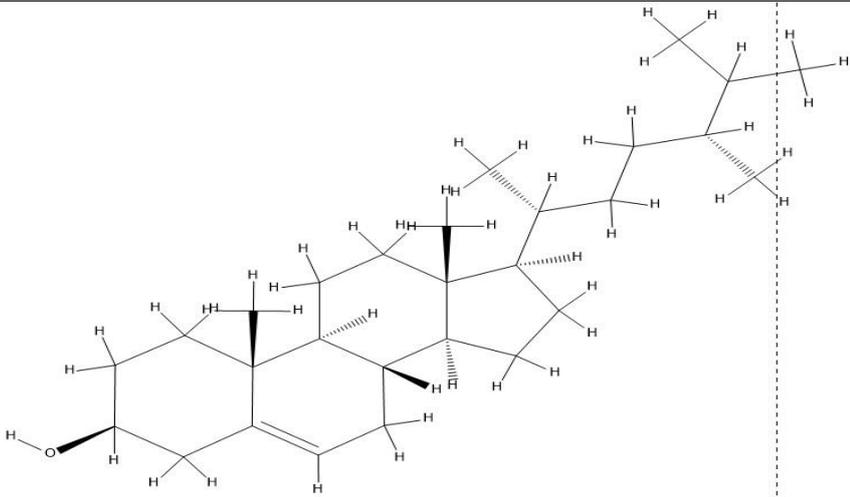
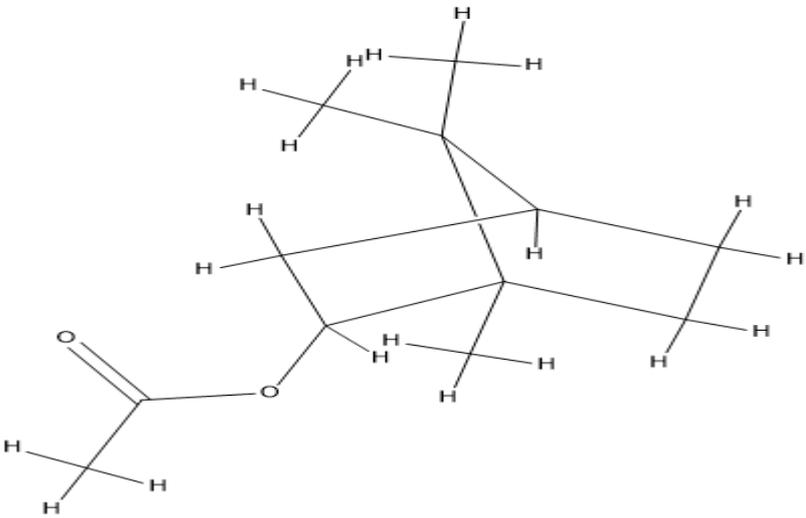
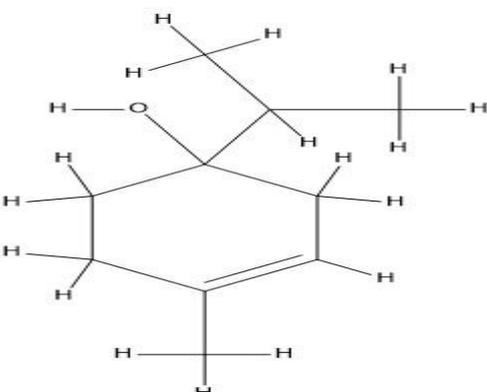
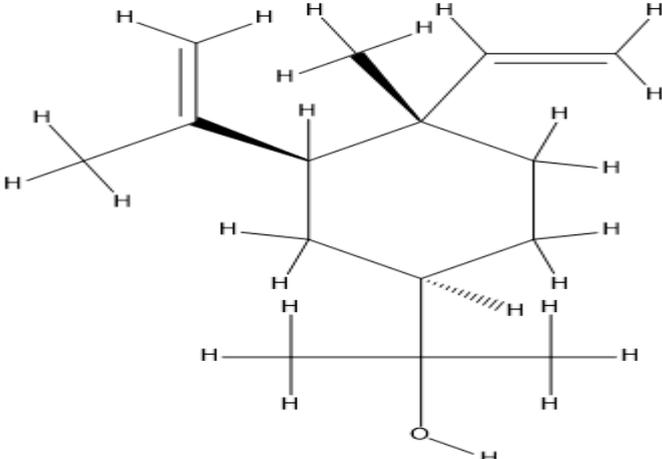
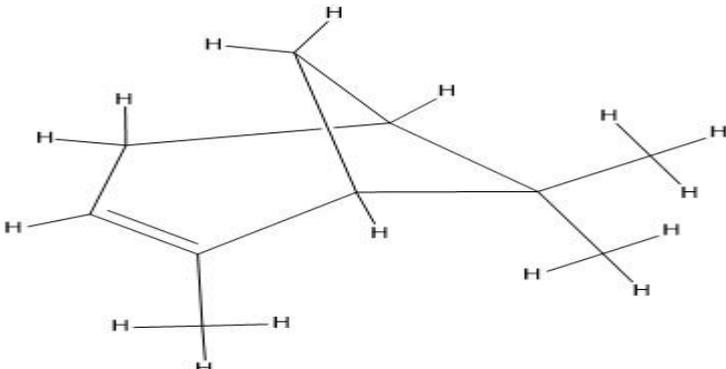
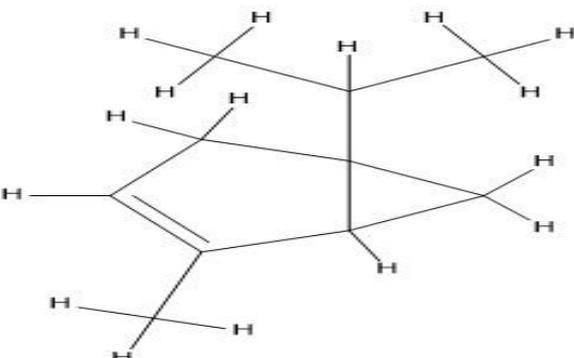
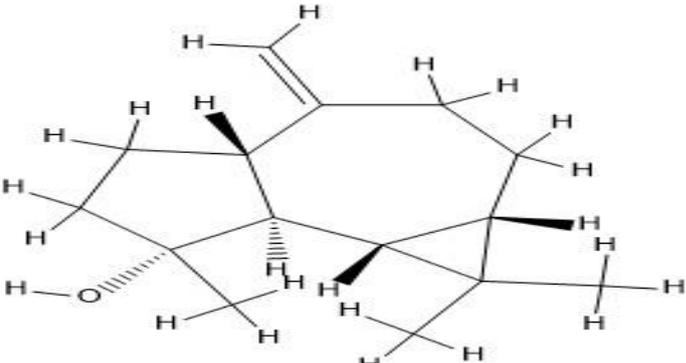
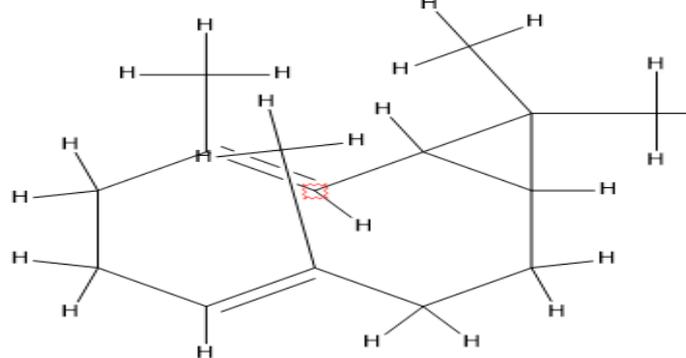
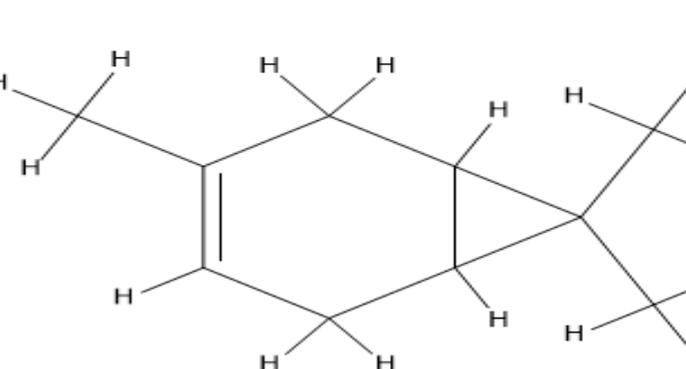
<p>L6</p>	<p>Campstérol</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Campsterol, a complex steroid molecule. It features a four-ring steroid nucleus with a hydroxyl group at C3, a double bond at C5, and a long side chain at C17. The side chain is branched and contains several methyl groups. A vertical dashed line is drawn through the side chain, likely indicating a site of interest or a specific conformational analysis.</p>
<p>L7</p>	<p>Acétate de bornyl</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Bornyl acetate. It consists of a bicyclic bornane skeleton with an acetate group (-O-C(=O)-CH₃) attached to the C2 position. The structure is shown in a perspective view, highlighting the three-dimensional arrangement of the atoms.</p>

Tableau 12 : Structures chimiques des composés des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia atlantica*

Composé	Ligand	Structure
L8	Terpinène -4-ol	
L9	Elémol	
L10	α -pinène	
L11	α -thujène	

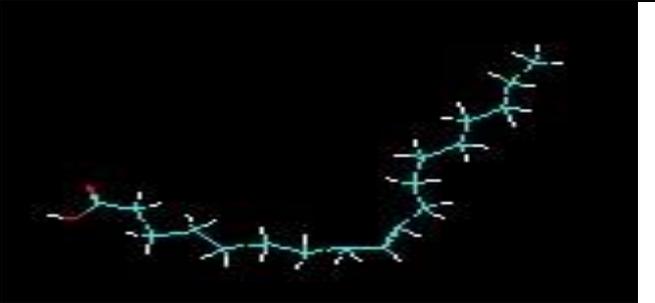
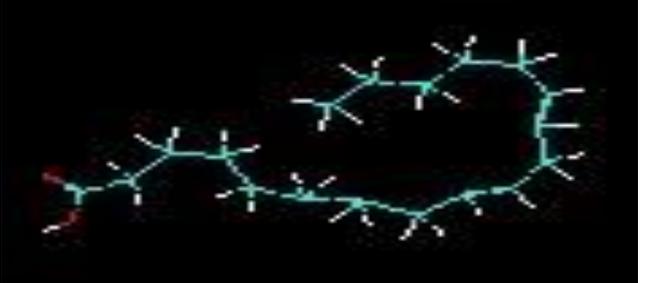
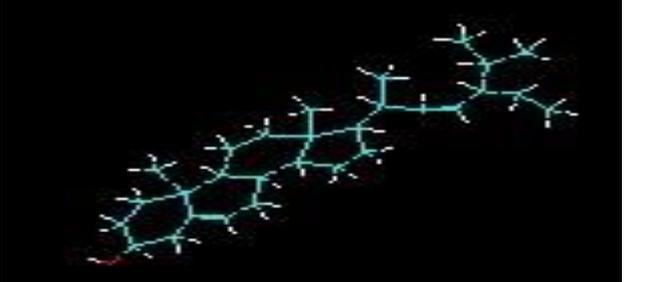
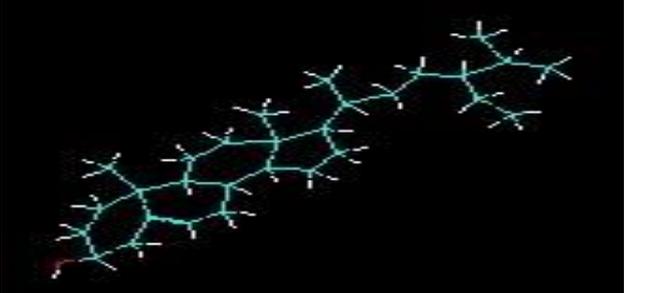
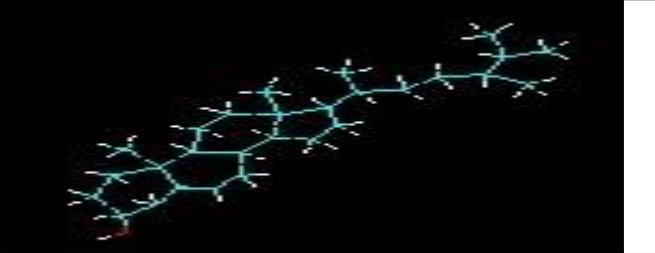
<p>L12</p>	<p>Spathuléol</p>	
<p>L13</p>	<p>Bicyclogermacrène</p>	
<p>L14</p>	<p>δ-3-carène</p>	

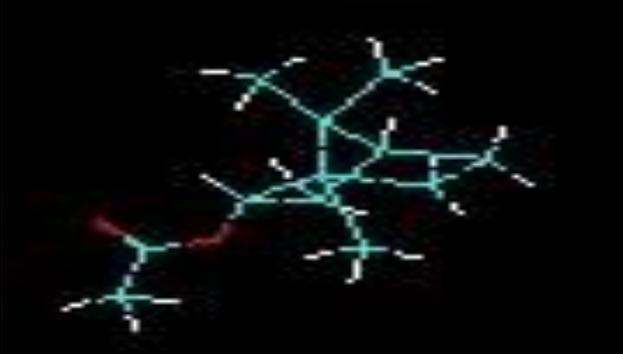
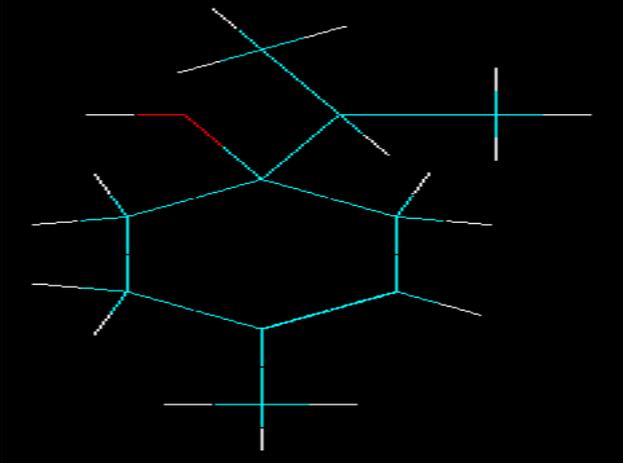
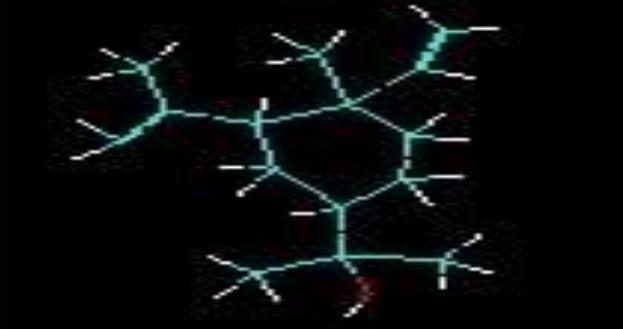
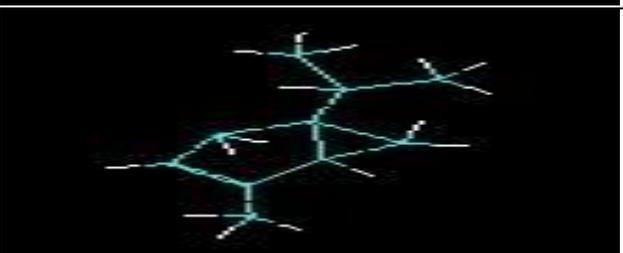
IV-4-Optimisation de l'énergie

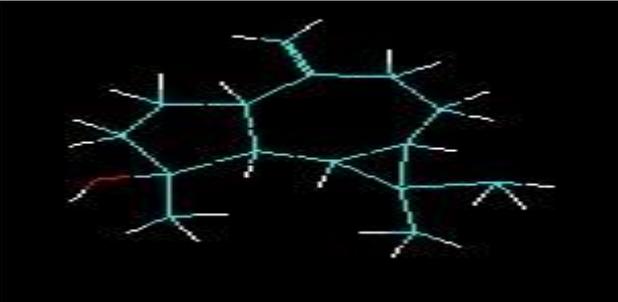
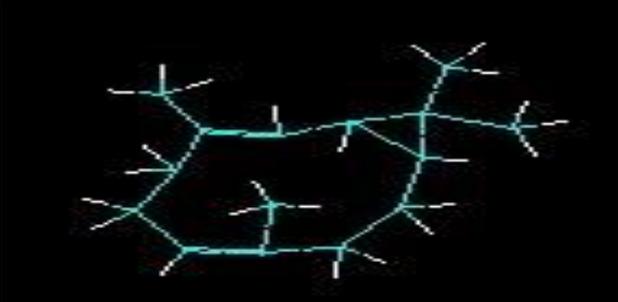
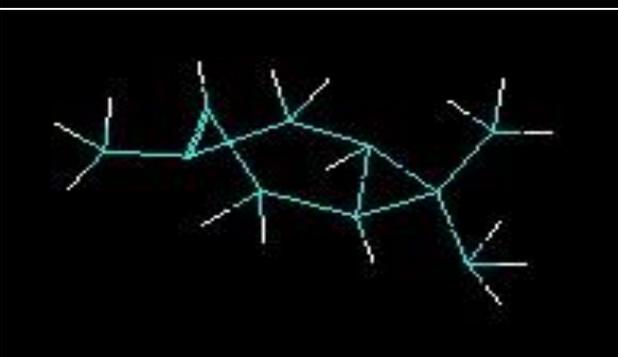
Nous avons réalisé l'optimisation des 14 ligands dans la partie fruit et feuille en utilisant le logiciel « HyperChem » selon la méthode semi empirique.

L'énergie d'optimisation est exprimée en Kcal/mol.

Tableau 13 : Ligand optimisé ainsi que leurs énergies d'optimisation

Ligand	Energies d'optimisation (Kcal/mol)	Ligands optimisé
Acide oléique	2305,054078	
Acide linoléique	2287,434480	
Acide palmitique	2244,031000	
Stigmastérol	4328,440273	
β-sitostérol	4478,367361	
Campstérol	4671,751855	

<p>Acétate de bornyl</p>	<p>3351,118931</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Bornyl acetate, a bicyclic monoterpene with an acetate group. The structure is rendered in cyan and red on a black background.</p>
<p>Terpinène-4-ol</p>	<p>4449457,762425</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Terpinen-4-ol, a bicyclic monoterpene with a hydroxyl group. The structure is rendered in cyan and red on a black background.</p>
<p>Elémol</p>	<p>2006,166036</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Elemol, a bicyclic monoterpene with a hydroxyl group. The structure is rendered in cyan and red on a black background.</p>
<p>α-pinène</p>	<p>4595,239329</p>	 <p>The image shows the chemical structure of α-pinene, a bicyclic monoterpene. The structure is rendered in cyan and red on a black background.</p>
<p>α-thujène</p>	<p>1739,767885</p>	 <p>The image shows the chemical structure of α-thujene, a bicyclic monoterpene. The structure is rendered in cyan and red on a black background.</p>

<p>Spathuléol</p>	<p>2416,963262</p>		
<p>Bicyclogermacrène</p>	<p>2665,412150</p>		
<p>δ-3-carène</p>	<p>2540,644697</p>		

Pour pouvoir entamer le Docking, nous avons préparé les ligands en utilisant le logiciel « MOE », où nous avons minimisé leurs énergies.

IV-5-Etude *in silico*

En plus des méthodes *in vivo* et *in vitro* il existe des méthodes dites *in silico*. Les méthodes *in silico* font référence à des méthodes ou à des prédictions utilisant des approches informatiques.

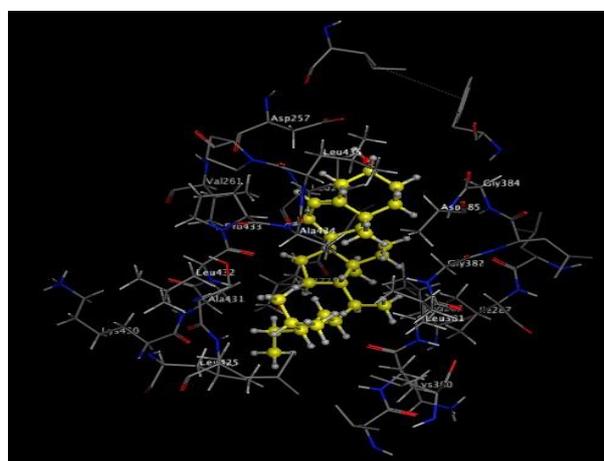
Les modèles de calcul *in silico* sont l'une des approches les plus rapides et les plus récentes impliquées dans le processus de découverte et de développement de nouveaux médicaments (BALAKUMAR *et al.*, 2018).

IV-5-A- Etude *in silico* de l'inhibition de γ -sécrétase

IV-5-A-1-Docking moléculaire (Interaction enzyme-ligands)

Après avoir préparé l'enzyme 6IYC et les inhibiteurs, vient l'étape du positionnement de ces inhibiteurs dans le site actif de cette enzyme. Pour réaliser cette étape nous avons utilisé le module Docking dans le logiciel « MOE ».

Dans le Docking moléculaire, les inhibiteurs sont placés de manière à ce qu'ils soient flexibles et l'enzyme rigide. Une fois que le complexe « enzyme-ligand » est formé **figure 25**, ce dernier va prendre plusieurs conformations pour prendre finalement celle qui est la plus stable et qui correspond au niveau énergétique le plus faible. Une fois les complexes formés les résultats vont être analysés.



a-Comparaison entre les complexes formés (6IYD /ligands)

Le Docking moléculaire a été réalisé dans le but de comparer la stabilité des ligands dans le site actif du 6IYC, Les résultats obtenus sont classés et regroupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 14 : Résultats du Docking moléculaire de tous les ligands, ainsi que les acides aminés formant des interactions avec le ligand

Nom des ligands	Scores (Kcal/mol)	Interaction (ligand-résidus du site actif)	Types d'interaction	Distance (Å)	Energies (kcal/mol)
β-sitostérol (CID :222284)	-8,0233	/	/	/	/
Stigmastérol (CID :5280794)	-7,4828	/	/	/	/
Acide oléique (CID :445639)	-7,0246	O2-NH1-ARG269 O2-NH2-ARG269 O1-NH1-ARG269 O1-NH1-ARG269 O1-NH2-ARG269	H-accepteur H-accepteur Ionique Ionique Ionique	3,06 3,42 3,38 3,06 3,42	-7,8 -1,0 -2,4 -4,1 -2,2
Campstérol(CID : 173183)	-6.8019	/	/	/	/
Acide linoléique (CID :5280450)	-6,3156	O2-NH1-ARG269 O2-NH2-ARG269 O2-N-ALA431 O2-NH1-ARG269 O2-NH2-ARG269	H-accepteur H-accepteur H-accepteur Ionique Ionique	2,87 2,97 3,48 2,87 2,97	-5,7 -2,8 -0,6 -5,4 -4,7
Acide palmitique (CID :985)	-5.9938	/	/	/	/
Bicyclogermacrène (CID :5315347)	-5.3892	/	/	/	/
Spathuléol (CID :92231)	-5.3853	O1-Lys380	H-donneur	2,95	-1,8
Ligand de co-cristallisation N-acétyl-D-Glucosamine	-5,1074	O2-N-LEU432 O4-N-GLY382	H-accepteur H-accepteur	3,06 3,15	-0,4 -0,5
Acétate de bornyle (CID :	-4 ,8529	/	/	/	/

6448)					
Terpinène -4-ol (CID : 11230)	- 4 ,7653	O1-N-ALA434	H-accepteur	3.13	-1,9
α-pinène (CID :6654)	-4,7059	/	/	/	/
élémol (CID :92138)	-4.6666	/	/	/	/
α-thujène (CID :17868)	-4.6540	/	/	/	/
δ-3-carène (CID :26049)	-4,4714	/	/	/	/

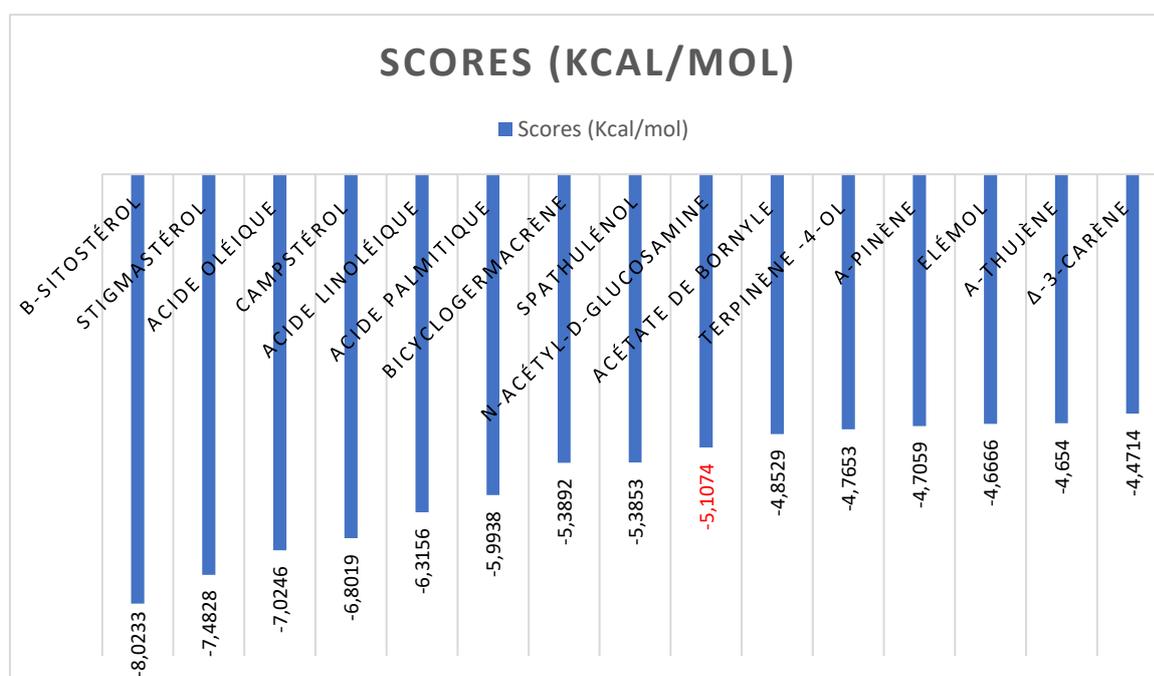


Figure 26 : Score du Docking moléculaire

Les ligands ont été amarré avec succès dans leur cible, la gamma sécrétase, une enzyme responsable dans développement de la MA pour déterminer leurs activités inhibitrices. Dans le tableau ci-dessus, les 14 ligands sont représentés en ordre croissant selon le score générer après le Docking (tableau 14 et figure 26), dont les molécules qui avaient la plus faible

énergie de liaison du score ont été considérées comme les meilleures molécules en inhibant le récepteur cible. Car l'énergie de liaison inférieure correspond à une affinité de liaison plus élevée (KOVACS *et al.*, 2004 ; YURIEV *et al.*, 2013)

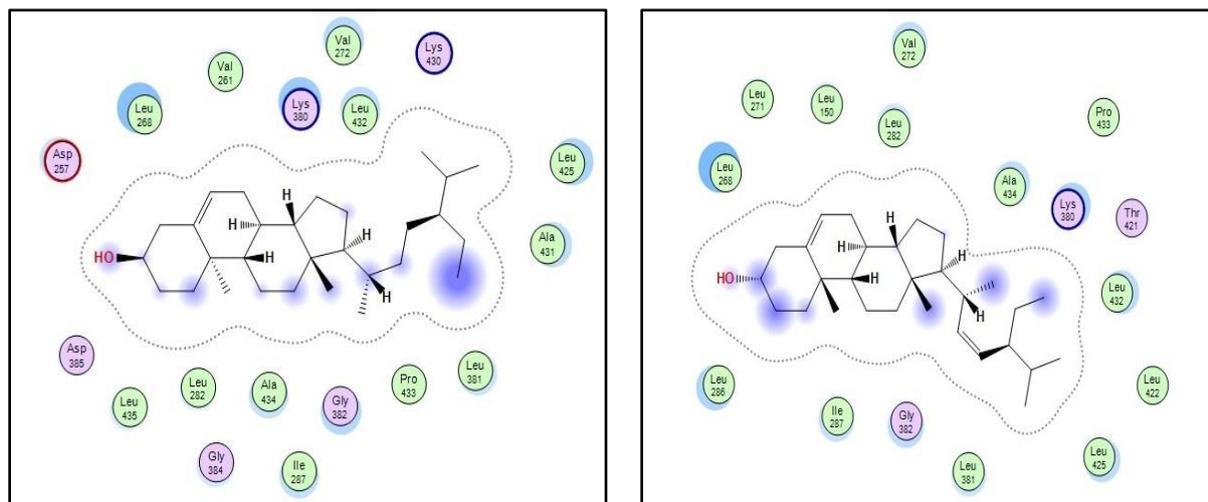
D'après le tableau nous avons le β -sitostérol qui a généré un score de -8,0233 Kcal/mol suivie par le stigmastérol avec un score de -7,4828 Kcal/mol, ces deux n'avaient formé aucune interaction avec les résidus du site actif de l'enzyme, puis nous avons l'acide oléique avec un score de -7,0246 Kcal/mol, ce dernier a formé cinq interactions avec ARG269. Le compstérol a généré un score de -6.8019 sans former aucune interaction. L'acide linoléique a montré un score de -6,3156 Kcal/mol et il a formé quatre interactions avec ARG269 et une interaction avec ALA431. L'acide palmitique et le bicyclogermacrène ont généré -5.9938 Kcal/mol et -5.3892 Kcal/mol respectivement sans former aucune interaction avec les résidus du site actif. Le spathuléol a généré un score de -5.3853 Kcal/mol avec une interaction avec la lys380. L'acétate de bornyl a montré un score de -4,8529 Kcal/mol sans former aucune interaction. Le terpnène-4-ol a généré un score de -4,7653 Kcal/mol avec interaction avec ALA434. Puis nous avons le α -pinène, l'élémol, α -thujène et le δ -3-carène qui ont généré -4,7059 Kcal/mol, -4.6666 Kcal/mol, -4.6540 Kcal/mol et -4,4714 Kcal/mol ces derniers n'ont formé aucune interaction respectivement.

Nous avons comparé toutes les valeurs des complexes de score ; nous avons constaté que les complexes formés par 6YIC- β -sitostérol, 6YIC-stigmastérol et 6YIC-acide oléique donnent le meilleur score après le Docking par rapport au ligand de co-cristallisation N-acétyl-D-Glucosamine (-5,1074Kcal/mol). Pour cette raison le β -sitostérol, le stigmastérol et l'acide oléique ont été sélectionnés comme les meilleures molécules de ligands parmi les 14 ligands extraits à partir des huiles essentielles de *Pistacia atlantica*. Ces trois derniers ont été sélectionnés pour une étude plus approfondie.

b-Interactions Enzyme-Ligand

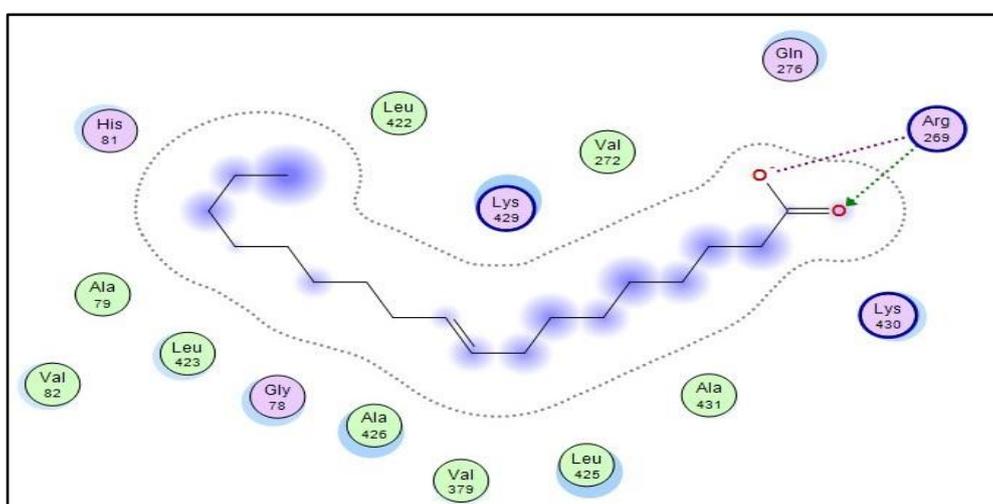
Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes. Tandis que les interactions supérieures à 3.55Å sont faibles ou absentes (IMBERTY *et al.*, 1991)

Nous avons présenté dans cette partie les différentes interactions trouvées pour les trois ligands β -sitostérol, stigmastérol et l'acide oléique. Les représentations 2D des meilleures interactions de pose entre les ligands et leurs récepteurs ont été visualisées en utilisant le logiciel « MOE »



Interaction 6IYC- β -sitostérol

Interaction 6IYC-stigmastérol



Interaction 6IYC-acide oléique

Figure 27 : interactions entre le 6IYC et les ligands

Les distances mesurées entre les ligands et les acides aminés qui constituent le site actif, varient entre 2,87Å et 3,48 Å. Ces résultats nous permettent de dire que les interactions formées entre chacun des ligands et l'enzyme sont des interactions moyennes à fortes.

IV-5-A-2-Propriétés de Druglikeness

Les expériences des propriétés de Druglikeness ont été réalisées pour les trois meilleures molécules de ligands : β -sitostérol, Stigmastérol, Acide oléique (**Tableau 15**). Ce test a été effectué pour faciliter la création de nouvelles molécules médicamenteuses, dont les

molécules doivent respecter les conditions de la règle de Lipinski de cinq suivantes: poids moléculaire: ≤ 500 , nombre de donneurs de liaisons hydrogène: ≤ 5 , nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène: ≤ 10 , lipophilicité (exprimée en LogP): ≤ 5 et réfractivité molaire de 40 à 130 (**LIPINSKI et al., 2001**).

Le poids moléculaire du β -sitostérol, Stigmastérol et de l'Acide oléique étaient de 414,71g/mol, 412,69g/mol et 282,86 g/mol respectivement comme le poids moléculaire inférieur est toujours appréciable, l'acide oléique devrait être le meilleur parmi les trois ligands. Cependant les deux autres ligands ont des poids moléculaires qui leurs permettent de franchir la barrière biologique. β -sitostérol et Stigmastérol ont montré des valeurs TPSA de 20,23 et l'acide oléique avait une valeur TPSA de 30,37. Puisque la valeur TPSA inférieur donne toujours le bon résultat, les molécule de *Pistacia atlantica* ont mieux performé que Le ligand de co-cristallisation. En ce qui concerne la liposolubilité (exprimée en LogP), la valeur inférieure est toujours la plus requise. En plus l'acide oléique avait la valeur LogP la plus faible parmi les trois ligands (5,71), ses performances étaient très bonnes dans l'expérience de lipophilicité. Les deux autres ligands avaient des valeurs LogP de 6,96 et 7,19 respectivement. La valeur LogS montré par β -sitostérol, Stigmastérol et l'acide oléique était de -7,90 ; -7,46 et -5,41 respectivement, comme les valeurs les plus basse sont toujours appréciables, les 3 trois meilleurs ligands ont mieux performé que le N-acétyl-D-Glucosamine. Le nombre de liaisons rotatives montrés par le β -sitostérol (6) et le stigmastérol (5) se situaient bien dans un intervalle acceptable, tandis que l'acide oléique (15) était loin. Les trois ligands ont suivi la règle de Lipinski, le β -sitostérol, Stigmastérol et de l'Acide oléique ont des poids moléculaires 414,71g/mol, 412,69g/mol et 282,86 g/mol respectivement, qui sont inférieur à 500g/mol, tous les trois ligands avaient 1 donneurs de liaisons hydrogènes, seulement l'acide oléique avait 2 accepteurs de liaison hydrogènes alors que le β -sitostérol et le stigmastérol avaient 1 accepteurs de liaisons hydrogènes, qui ont suivi la règle de Lipinski. La réfractivité molaire du β -sitostérol, Stigmastérol et de l'Acide oléique était de 133,23, 132,75, 89,94 respectivement. Aucun des ligands n'a suivi la règle de Ghose, Egan et Muegge. Le règle de Veber a été suivi par le β -sitostérol et Stigmastérol. β -sitostérol, stigmastérol ont montré des scores de biodisponibilités similaires 0,55 alors que pour l'acide oléique était de 0,56. L'acide oléique a donné la plus faible accessibilité synthétique (3,07), que β -sitostérol (6,30) et Stigmastérol (6,21) pour cette raison l'acide oléique devrait être le plus facile à synthétisé que le β -sitostérol et le Stigmastérol. De plus aucun des trois meilleurs ligands n'a donné des effets reproducteurs, des propriétés irritantes, tumorigènes, mutagènes. Compte tenu de tous

les aspects de l'expérience de propriété de Druglikeness, on peut conclure que les trois meilleures molécules de ligands extraite à partir de l'huile essentielles de *Pistacia atlantica* ont effectué de manière assez similaire dans l'expérience des propriétés de druglikeness, par rapport aux ligands de co-cristalisateur.

Tableau 15 : Résultats des propriétés de druglikeness des trois meilleurs ligands. Les propriétés des druglikeness ont été analysés par le serveur SWISSADME et OSIRIS Property Explorer

Propriétés Druglikeness	β -sitostérol	Stigmastérol	Acide oléique	N-acétyl-D-Glucosamine
Poids moléculaire	414,71 g/mol	412,69 g/mol	282,86 g/mol	221.2 g/mol
Consensus Log $P_{o/w}$	7,19	6,96	5,71	-1.71
Log S	-7,90	-7,46	-5,41	-0.28
Accepteur d'hydrogène	1	1	2	6
Donneur d'hydrogène	1	1	1	5
Réfractivité molaire	133,23	132,75	89,94	47,19
Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui
Ghose	Non	Non	Non	Non
Veber	Oui	Oui	Non	Oui
Egan	Non	Non	Non	Oui
Muegge	Non	Non	Non	Oui
Score de biodisponibilité	0,55	0,55	0,56	0,55
Accessibilité synthétique	6,30	6,21	3,07	3,79
TPSA (Å^2)	20,23	20,23	37,30	127
Nbre. De liaisons rotatives	6	5	15	3
Score de Druglikeness	-4,48	1,22	-28,9	-2,84
Drug-Score	0,13	0,25	0,22	0,52
Solubilité	-6,67	-6,44	-4,55	0,06
Reproductive effective	Non	Non	Non	Non
Irritant	Non	Non	Non	Non
Tumorigène	Non	Non	Non	Non
Mutagène	Non	Non	Non	Non

IV-5-A-3-Tests ADME

Le tableau ci-dessous répertorie les résultats des tests ADME des trois meilleurs ligands. Ces tests ont été effectués pour déterminer les propriétés pharmacologiques et pharmacodynamiques d'un médicament dans un système biologique.

Dans la section absorption, Les trois ligands se sont comportés de manière assez similaire. Tous les ligands ont montré une perméabilité optimale à Caco-2 à l'exception du N-acétyl-D-Glucosamine qui a montré une faible perméabilité à Caco-2. Ce test est effectué pour vérifier si le médicament sera facilement absorbé dans l'intestin ou non. Si la glycoprotéine Pgp est inhibée, cela facilite le transport de nombreux médicaments à l'intérieur de la cellule. Selon nos résultats le β -sitostérol et le stigmastérol étaient inhibiteurs de la glycoprotéine Pgp donc ils seront facilement absorbés par les cellules. Cependant, Comme les trois ligands présentent une capacité HIA ils doivent être bien absorbés par l'intestin humain. Dans la section absorption, tous les ligands ont fonctionné de manière assez similaire. Dans la distribution, les trois ligands avaient une bonne capacité de liaison aux protéines plasmatiques, et tous étaient capables de franchir la barrière hémato-encéphalique, tandis que le N-acétyl-D-Glucosamine avait une faible capacité de liaison aux protéines plasmatiques et ne peut pas franchir la barrière hémato-encéphalique. Dans la section métabolisme, le β -sitostérol et le stigmastérol étaient substrats du CYP 3A4, cette enzyme peut donc métaboliser ces ligands très efficacement, l'acide oléique était inhibiteur pour le CYP1A2 pour cette raison l'acide oléique a inhibé les activités des isoenzymes CYP450 1A2. De plus ce ligand était le substrat du CYP450 2C9 et du CYP450 2D6. Pour cette raison ces enzymes peuvent également métaboliser très efficacement l'acide oléique. Dans cette section du métabolisme les trois ligands ont montré des résultats assez bons et presque similaires. Dans la section d'excrétion, la demi-vie d'un médicament décrit le temps nécessaire pour réduire la quantité d'un médicament dans le corps de moitié ou 50% (SWIERCZEWSKZ, 2015 ; SMALLING, 1996 ; SAHIN, 2008). Le β -sitostérol et le stigmastérol ont montré une demi-vie de 1,9 heure et l'acide oléique a montré une demi-vie de 1,7 dans cette section les performances des trois ligands étaient satisfaisantes. Dans la section toxicité, HERG est un canal K⁺ trouvé dans le muscle cardiaque et assure le bon rythme cardiaque, si HERG est bloqué par certains médicaments, il peut provoquer une arythmie cardiaque et la mort (SANGUINETTI, 1995 ; ARONOV, 2005), le β -sitostérol et le stigmastérol étaient des bloqueurs alors que l'acide oléique était non bloqueur. Cependant, tous se sont révélés sûrs dans le test de mutagénicité d'Ames. D'un autre côté, puisque tous étaient DILI négatifs, ils ne provoquent pas des lésions hépatiques. De plus ils sont tous

révélés sans danger pour le foie. Dans cette section les performances des trois ligands étaient assez bonnes. Par rapport au ligand de co-cristallisation nous pouvons déclarer que les trois ligands ont bien performé l'étude du Docking, l'expérience de propriété de Druglikeness et le test ADME/T. les trois meilleurs ligands ont montré des résultats satisfaisants dans ces expériences. De plus, le β -sitostérol a généré encore plus de résultats que le N-acétyl-D-Glucosamine dans certains aspects.

Tableau 16 : Les résultats des tests ADME/T des ligands : les propriétés pharmacologiques et pharmacodynamiques.

Classe	Propriétés	β -sitostérol	Stigmastérol	Acide oléique	N-acétyl-D-Glucosamine
Absorption	Perméabilité Caco-2	Optimal	Optimal	Optimal	Faible
	Pgp-inhibitor	Inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	Pgp-substrate	Non-substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat
	Absorption intestinale humaine (HIA)	HIA positive	HIA positive	HIA positive	HIA négative
Distribution	PPB (Plasma protein binding)	Bien	Bien	Bien	Faible
	BBB (Brain Blood Barrier)	BBB positive	BBB positive	BBB positive	BBB négative
Métabolisme	CYP450 1A2 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 1A2 substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat
	CYP450 3A4 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 3A4 substrat	Substrat	Substrat	Non substrat	Non substrat
	CYP450 2C9 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2C9 substrat	Non substrat	Non substrat	Substrat	Non substrat
	CYP450 2C19 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2C19 substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Substrat
	CYP450 2D6 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2D6	Non	Non substrat	Substrat	Non substrat

	substrat	substrat			
Excrétion	T1/2 (h)	1,9	1,9	1,7	1,03
Toxicité	Bloqueurs Herg	Bloqueurs	Bloqueurs	Non Bloqueurs	Non bloqueurs
	H-HT (Toxicité Hépatique)	H-HT négative	H-HT négative	H-HT négative	H-HT positive
	Ames (Ames mutagénicité)	Ames négative	Ames négative	Ames négative	Ames négative
	DILI (lésion hépatique induite par un médicament)	DILI négative	DILI négative	DILI négative	DILI négative

IV-5-A-4-Prédiction PASS et prédiction du site de métabolisme P450 (SOM)

Pour effectuer la prédiction PASS, Pa (probabilité d'être active) a été maintenue à plus de 70% car les études ont confirmé que le seuil Pa >70% donne une prédiction plus fiable (GERONIKAKI *et al.*, 1999).

La prédiction PASS a été réalisée pour déterminer 10 activités biologiques (**tableau 17**) et 5 effets indésirables et les effets toxiques (**tableau 18**) des trois ligands sélectionnés. Cependant les activités prévues ont été générées par le serveur PASS Way2Drug à Pa>0,7.

Dans ce test le β -sitostérol et le stigmastérol ont donné 3 activités parmi les 10 activités déterminées qui sont : Amplificateur d'expression HMOX1, Protecteur mucomembraneux et activité Chemopreventive, tandis que l'acide oléique a montré 6 activités ; Agoniste de l'intégrité de la membrane, Amplificateur d'expression HMOX1, Inhibiteur de chlordécone réductase, Antimutagène, Protecteur mucomembraneux, Amplificateur d'expression TP53. On ce qui concerne les effets toxiques le β -sitostérol a montré 3 effets qui sont : toxicité vasculaire, inflammation, néphrotoxique. Tandis que le stigmastérol a montré 2 effets toxiques : inflammation et néphrotoxique. Et l'acide oléique a montré 4 effets toxiques : toxicité vasculaire, inflammation, hématurie et frissons.

Le serveur ProTox-II mesure la toxicité d'un composé chimique et le classe en une classe de toxicité en allant de 1 à 6. Les classes de toxicité sont définies selon le système harmonisé mondial de classification de l'étiquetage des produits chimiques (SGH). Classe I : mortel en cas d'ingestion ($DL50 \leq 5$), Classe II : mortel en cas d'ingestion ($5 < DL50 \leq 50$), Classe III : toxique en cas d'ingestion ($50 < DL50 \leq 300$), Classe IV : nocif en cas d'ingestion ($300 < DL50 \leq 2000$), Classe V : peut-être nocif en cas d'ingestion ($2000 < LD50 \leq 5000$), Classe VI : non

toxique (DL50 > 5000) (DRWAL et al., 2014). Cependant, le β -sitostérol et le stigmastérol étaient classe de toxicité 4 ce qui signifie qu'ils seraient nocifs en cas d'ingestion, et l'acide oléique était classe de toxicité 2, donc il est mortel en cas d'ingestion.

Tableau 17 : Résultats de la prédiction PASS des activités biologiques des trois meilleures molécules de ligands. Les tests ont été effectués à l'aide du serveur PASS-Way2Drug

	Activités biologique	β -sitostérol		Stigmastérol		Acide oléique	
		DL50 : 890		DL50 : 890		DL50 : 48 mg/kg	
		Classe de toxicité : 4		Classe de toxicité : 4		Classe de toxicité : 2	
		Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
1	Agoniste de l'intégrité de la membrane	-	-	-	-	0,807	0,035
2	Amplificateur d'expression HMOX1	0,745	0,005	0,729	0,005	0,777	0,004
3	Inhibiteur de chlordécone réductase	-	-	-	-	0,854	0,011
4	Inhibiteur d'expression HIF1A	-	-	-	-	-	-
5	Inhibiteur d'histidine kinase	-	-	-	-	-	-
6	Inhibiteur d'aldéhyde oxydase	-	-	-	-	-	-
7	Antimutagène	-	-	-	-	0,852	0,003
8	Protecteur mucomembraneux	0,744	0,037	0,763	0,030	0,958	0,003
9	Amplificateur d'expression TP53	-	-	-	-	0,791	0,012
10	Chemopreventive	0,831	0,003	0,827	0,003	-	-

Tableau 18 : Résultats de la prédiction PASS montrant les effets nocifs et toxiques des trois meilleurs molécules ligands. Les tests ont été réalisés à l'aide du serveur PASS-Way2Drug

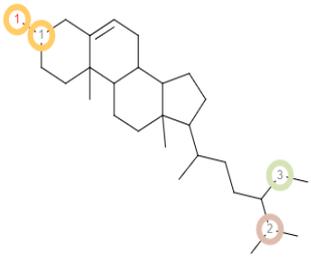
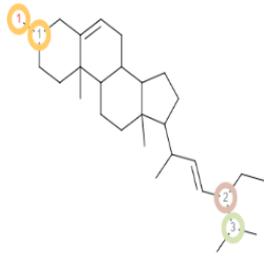
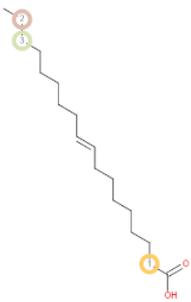
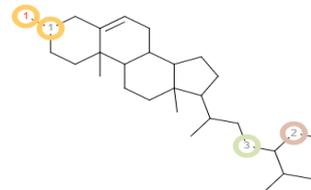
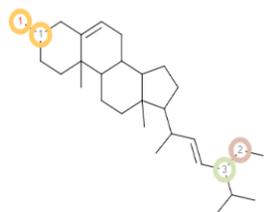
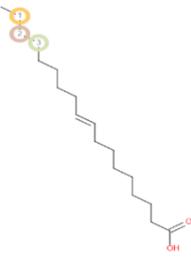
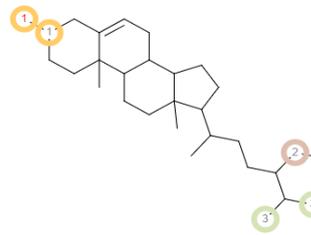
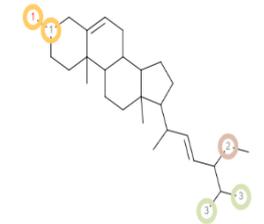
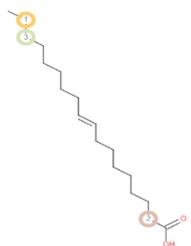
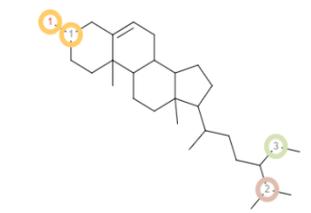
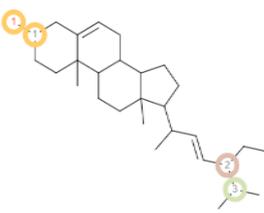
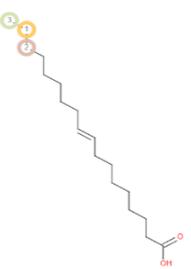
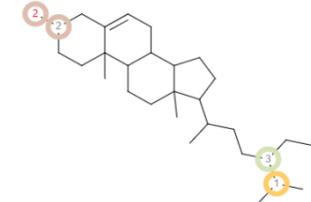
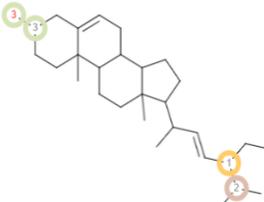
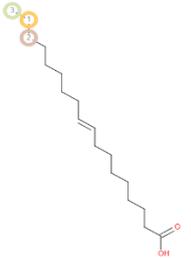
	Effets néfastes et toxiques	β-sitostérol		Stigmastérol		Acide oléique	
		Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
1	Toxicité vasculaire	0,744	0,028	-	-	0,830	0,012
2	Inflammation	0,848	0,010	0,850	0,010	0,772	0,018
3	Hématémèse	-	-	-	-	0,802	0,013
4	Néphrotoxique	0,827	0,009	0,851	0,007	-	-
5	Frissons	-	-	-	-	0,938	0,003

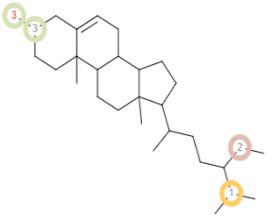
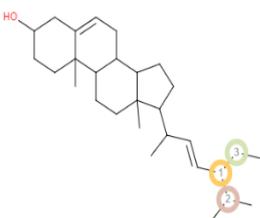
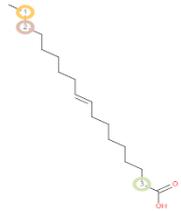
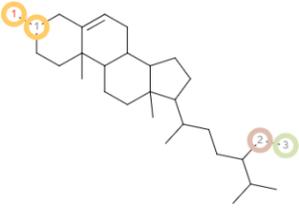
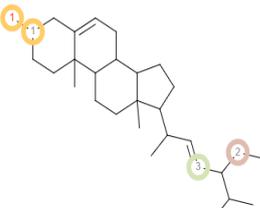
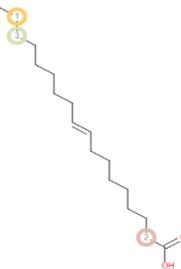
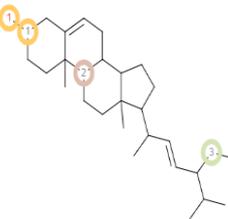
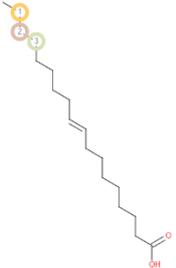
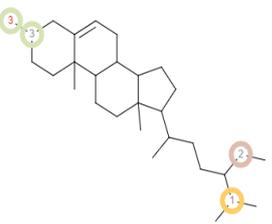
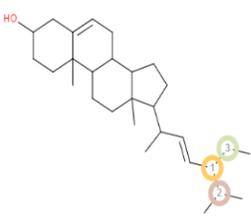
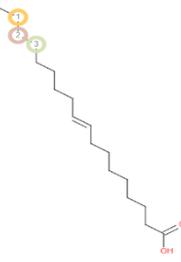
Les sites possibles de métabolisme par les CYP 1A2, 2A6, 2B6, 2C19, 2C8, 2C9, 2D6, 2E1 ET 3A4 du β-sitostérol, le stigmastérol et de l'acide oléique ont été déterminées.

Les sites possibles d'un composé chimique, où le métabolisme par les isoformes des enzymes CYP450 peut avoir lieu, sont indiqués par des cercles sur la structure chimique de la molécule (ZARETZKI *et al.*, 2012).

Les prédictions P450 (SOM) ont montré que le β-sitostérol avait 4 sites de métabolisme (SOM) pour tous les CYP450 à l'exception du CYP450 2B6. Cependant le stigmastérol avait 5 sites pour le CYP450 2B6, 3 sites CYP450 2C19 et pour le CYP450 3A4, et avait 4 sites pour tous les autres CYP450. L'acide oléique avait 3 sites de métabolisme pour tous les CYP450. (Tableau 19)

Tableau 19 : Liste des sites P450 d'étude de prédiction du métabolisme des molécules de ligands

Nom des isoenzymes P450	β -sitostérol	Stigmastérol	Acide oléique
1A2			
2A6			
2B6			
2C8			
2C9			

<p>2C19</p>			
<p>2D6</p>			
<p>2E1</p>			
<p>3A4</p>			

IV-5-A-5-Prédiction de cible

Les études sur les cibles moléculaires sont importantes pour trouver les effets secondaires phénotypiques provoquée par l'action du β -sitostérol, le meilleur ligand. Les 25 premiers résultats ont été présentés sous forme de camembert. Le camembert prédit 32% de récepteur nucléaire, 4% d'autres protéines membranaires, 8% de transporteur électrochimique, 4% de la famille A des récepteurs couplés à la protein G, 4% des oxydoréductases, 4% de protéines non classée, 4% de phosphatase, 4% phosphatase, 4%

d'enzymes, 16% de Cytochrome P450, 8% de protéines sécrétés, 8% d'hydrolase, 4% de canaux ioniques ligands dépendants (**Figure 28**)

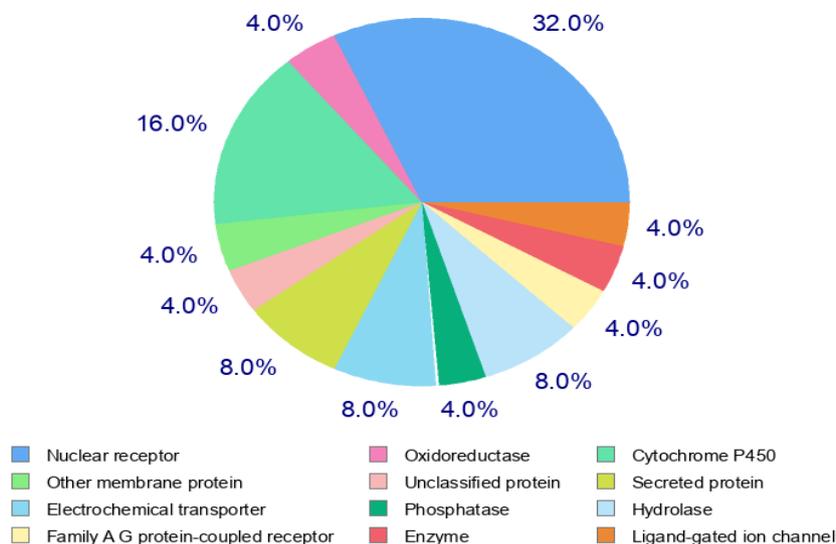
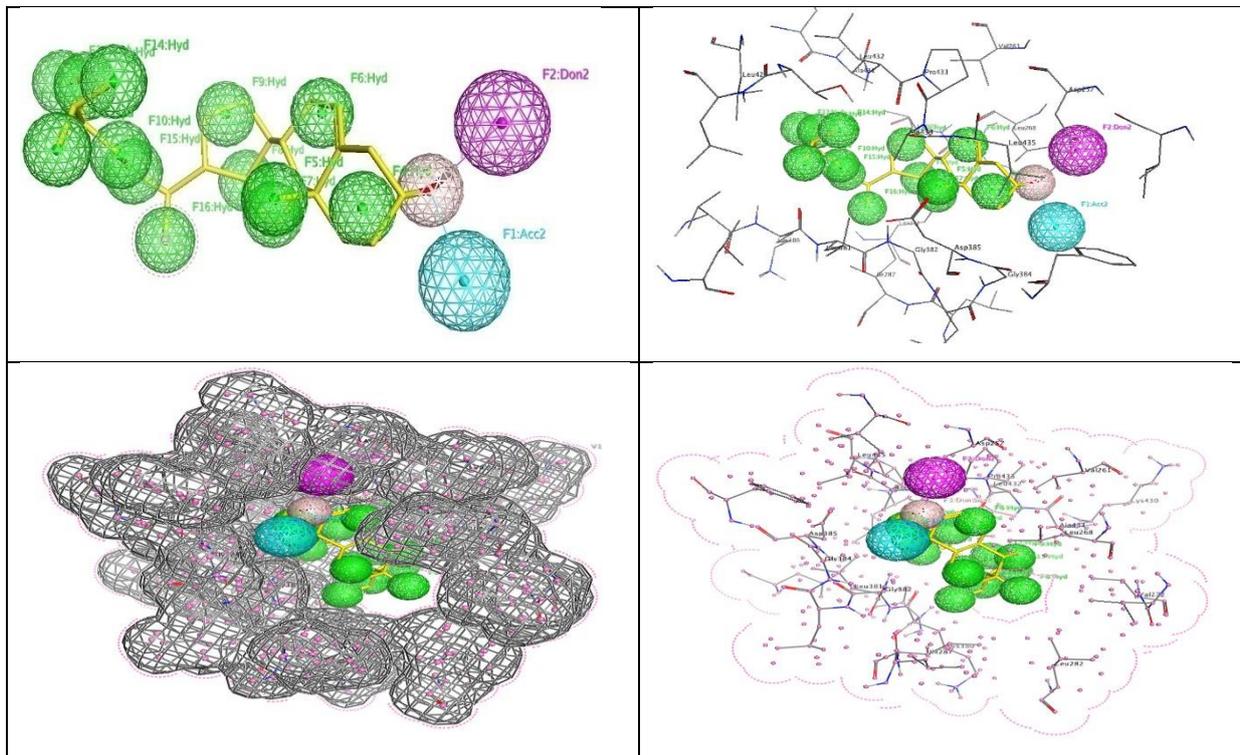


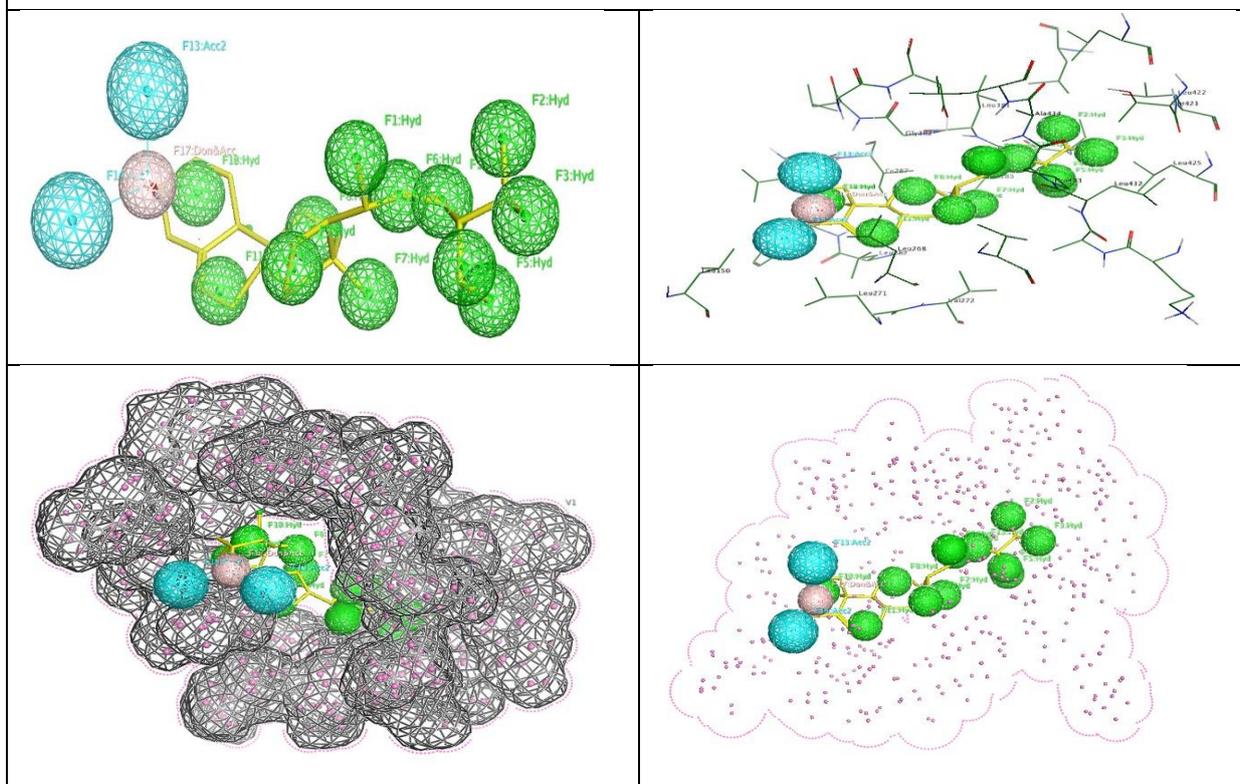
Figure 28 : Top-25 cibles prévu pour le β -sitostérol

IV-5-A-6-Carte graphique des pharmacophores :

Un pharmacophore est l'ensemble des groupes fonctionnels disposés dans une disposition spatiale adéquate, assurant la fixation du médicament sur le récepteur et donc capable d'induire la réponse physiologique. La carte graphique des pharmacophores est réalisée pour les 3 meilleurs ligands de *Pistacia atlantica*. β -sitostérol a montré 1 liaison accepteurs d'hydrogène, 13 groupes hydrophobes, 1 liaison donneurs hydrogène et une liaison donneur&accepteur d'hydrogène. Pour le stigmastérol ; a montré 2 liaisons accepteur d'hydrogène, 12 groupes hydrophobes et 1 donneur&accepteur d'hydrogène. L'acide oléique 8 liaisons accepteur d'hydrophobes et 8 groupes hydrophobes. (**Figure 29**)



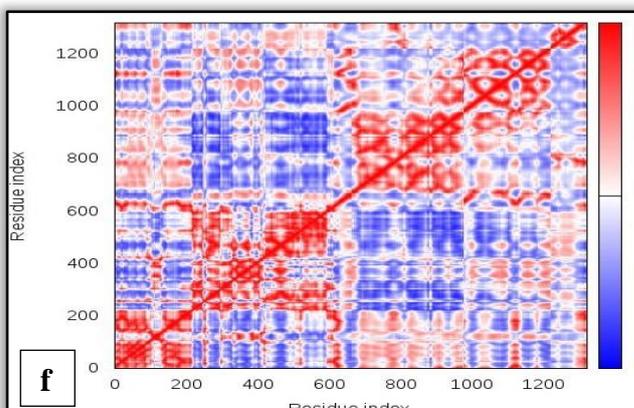
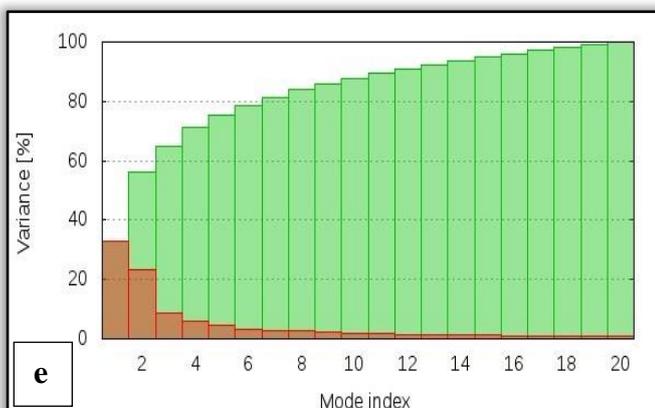
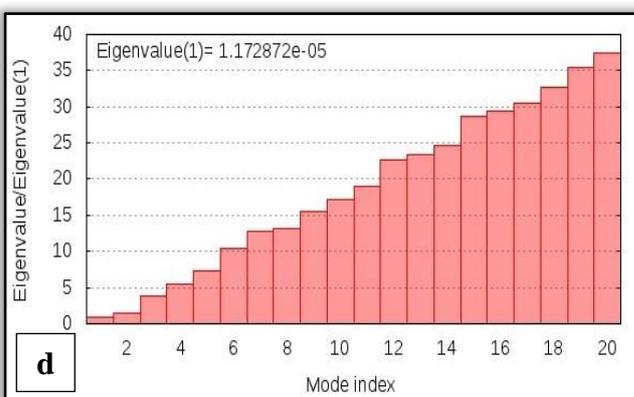
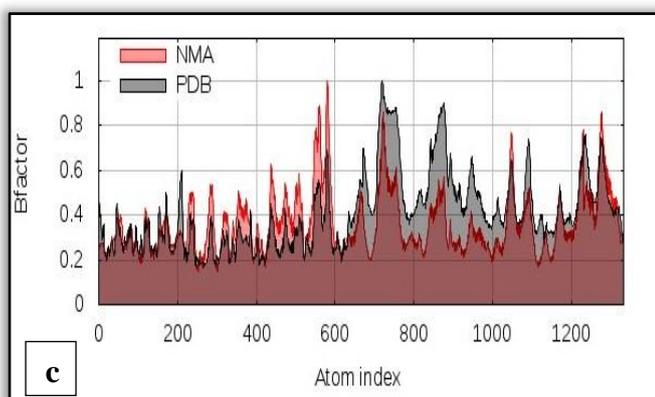
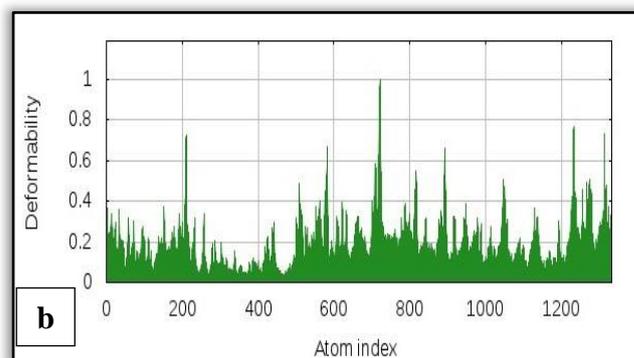
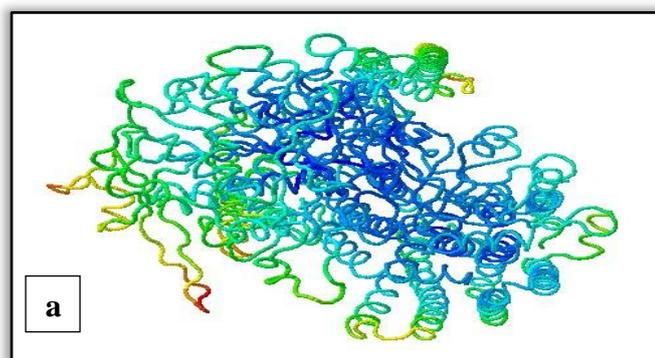
a :Carte graphique du pharmacophore du β -sitostérol



b: Carte graphique du pharmacophore du stigmastérol

indiqué par la couleur bleue. La carte élastique du complexe montre la connexion entre les atomes et les régions grises plus foncées indiquent des régions plus rigides (**Figure 30g**).

D'après l'étude de la dynamique moléculaire il est clair que le complexe avait une très bonne quantité de déformation (**figure 30b**). Ainsi qu'il avait une faible valeur propre de $1,172872e-05$, pour cette raison, la déformation serait facile pour le complexe (**figure 30d**). Cependant la carte de variance a montré un degré élevé de variances cumulatives que les variances individuelles (**figure 30e**). La co-variance et la carte du réseau élastique ont également produit des résultats satisfaisants (**Figure 30f et Figure 30g**).



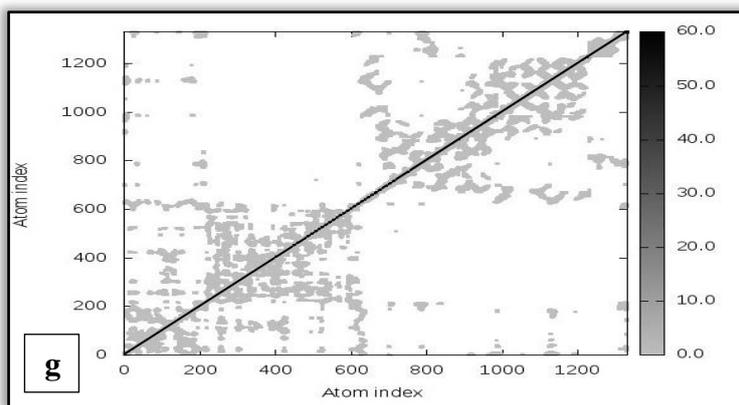


Figure 30 : Résultats de la simulation de la dynamique moléculaire du complexe β -sitostérol- γ -sécrétase. (A) mobilité NMA, (B) déformation, (C) facteur B, (D) valeurs propres, (E) variance (couleur rouge indique variances individuelles et la couleur verte indique les variances cumulatives), (F) carte de co-variance (mouvement corrélés (rouge) non corrélé (blanc) ou anti-corrélés (bleu)) et (G) élastique réseau (les régions grises plus foncées indiquent les régions les plus rigides du complexe.

Pour compléter cette étude nous avons sélectionné 8 médicaments utilisé pour l'inhibition de la γ -sécrétase : PF-3084014 (Nirogacestat), Semagacestat, Avagacestat, MK-0752, GSI-953 (Begacestat), E2012, CHF 5074, Tarenflurbil. (LARDE, 2012)

Nous avons étudié leurs interactions avec la γ -sécrétase, leurs propriétés de druglikeness ainsi que leurs propriétés médicamenteuses.

-Docking moléculaire des médicaments

Tableau 20 : Résultats du Docking moléculaire des inhibiteurs de la γ -sécrétase

Nom des ligands	Scores (Kcal/mol)	Interaction (ligand-résidus du site actif)	Types d'interaction	Distance (Å)	Energies (kcal/mol)
PF-3084014 (Nirogacestat)	-7,5559	/	/	/	/
Semagacestat	-7,0729	/	/	/	/
Avagacestat	-5,9790	/	/	/	/

MK-0752	-5,1534	C5-GLY-382 C6-ALA-434	H-accepteur H-accepteur	4,30 3,72	-7,3 -2,3
GSI-953 (Begacestat)	-4,5473	CL1-GLU-280	H-donneur	3,43	-1,5
E2012	-7,2989	/	/	/	/
CHF 5074	-6,2299	/	/	/	/
Tarenflurbil	-5,2173	O2-N-LEU432	H-accepteur	3,10	-2,3

D'après le tableau ci-dessus, parmi 8 inhibiteurs étudié, Nous avons le PF-3084014 (Nirogacestat), qui a généré le meilleur score du docking (-7 ,5559).

En comparant les résultats représentés dans le **tableau 20** avec ceux des inhibiteurs extrait à partir de la plante *Pistacia atlantica* (**Tableau 14**) nous pouvons conclure que le β -sitostérol a généré un score (**-8,0233**) meilleurs que ceux des médicaments qui inhibent la γ -sécrétase. β -sitostérol peut donc être considéré comme un meilleur inhibiteur de la γ -sécrétase.

-Propriétés de Druglikeness des médicaments

Les résultats des propriétés de Druglikeness des 8 médicaments sélectionné sont représentés dans le (**tableau 21**)

En prenant en considération tous les aspects de cette expérience nous pouvons suggérer que les ligands extraits à partir de l'huile essentielles de *Pistacia atlantica* ont mieux performé que les médicaments.

-Test ADME/T des médicaments :

Les résultats des propriétés médicamenteuses des 8 médicaments sont représentés dans le (**Tableau 22**)

On remarque d'après ces résultats que la majorité des médicaments étaient bloqueurs Herg donc ils peuvent provoquer une arythmie cardiaque et la mort, et qu'ils présentaient une toxicité hépatique, et provoquent des lésions hépatiques induites par un médicament.

Tableau 21 : Résultats des propriétés de druglikeness des inhibiteurs de la gamma-sécrétase

Propriétés Druglikeness	PF-3084014 (Nirogacestat)	Semagacestat	Avagacestat	MK-0752	GSI-953 (Begacestat)	E2012	CHF 5074	Tarenflurbil
Poids moléculaire	489,64	361,44	520,88	442,9	391,74	419,5	325,2	244,26
Consensus Log $P_{o/w}$	4,80	1,03	3,89	4,96	3,49	4,26	6,61	3,61
Log S	-5,37	-2,58	-5,29	-5,43	-4,32	-5,24	-5,05	-4,27
Accepteur d'hydrogène	6	4	11	6	10	4	3	3
Donneur d'hydrogène	3	3	1	1	2	0	1	1
Réfractivité molaire	137,58	101,31	112,31	106,95	66	123,3	80,78	68,19
Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Ghose	Non	Oui	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui
Veber	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Egan	Oui	Oui	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui
Muegge	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Score de biodisponibilité	0,55	0,55	0,55	0,56	0,55	0,55	0,56	0,56
Accessibilité synthétique	4,92	3,75	3,86	4,18	3,63	3,74	2,28	2,45
TPSA (Å^2)	70,98	98,74	127,77	79,82	103,02	47,36	37,3	37,30
Nbre. De liaisons rotatives	12	7	10	6	7	5	3	3
Score de Druglikeness	-1,2	6,31	-6,28	-	-7,58	2,83	-0,4	-0,74
Drug-Score	0,27	0,9	0,2		0,37	0,35	0,27	0,49

Chapitre IV: Résultats et Discussions

Solubilité	-5,42	-1,75	-6,26	-	-3,92	-6,34	-6,21	-4,36
Reproductive effective	Non	Non	Non	-	Non	Non	Non	Non
Irritant	Non	Non	Non	-	Non	Non	Non	Non
Tumorigène	Non	Non	Non	-	Non		Non	Non
Mutagène	Non	Non	Non	-	Non	Non	Non	Non

Tableau22 : Les résultats des tests ADME/T des inhibiteurs de la γ -sécrétase : les propriétés pharmacologiques et pharmacodynamiques.

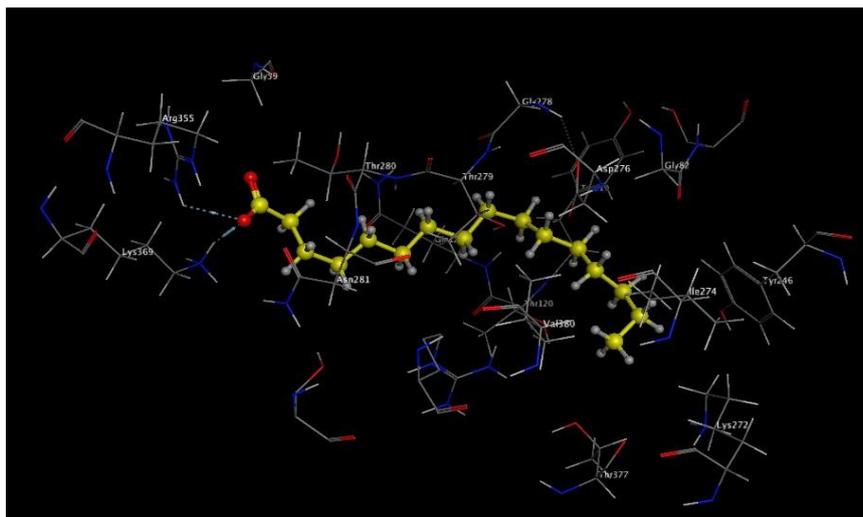
Classe	Propriétés	PF-3084014 (Nirogacestat)	Semagacestat	Avagacestat	MK-0752	GSI-953 (Begacestat)	E2012	CHF 5074	Tarenflur bil
Absorption	Perméabilité Caco-2	Optimal	Faible	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal
	Pgp-inhibitor	Inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	Pgp-substrate	Substrat	Substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat
	Absorption intestinale humaine (HIA)	HIA positive	HIA négative	HIA positive	HIA positive	HIA positive	HIA positive	HIA positive	HIA positive
Distribution	PPB (Plasma protein binding)	Bien	Faible	Bien	Bien	Faible	Bien	Bien	Bien
	BBB (Brain Blood Barrier)	BBB positive	BBB positive	BBB positive	BBB positive	BBB positive	BBB positive	BBB positive	BBB positive
Métabolisme	CYP450 1A2 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 1A2 substrat	Non substrat	Substrat	Substrat	Non substrat	Non substrat	Substrat	Non substrat	Substrat

Chapitre IV: Résultats et Discussions

	CYP450 3A4 inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 3A4 substrat	Substrat	Substrat	Substrat	Substrat	Non substrat	Substrat	Substrat	Non substrat
	CYP450 2C9 inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2C9 substrat	Non substrat	Non substrat	Substrat	Substrat	Non substrat	Non substrat	Substrat	Substrat
	CYP450 2C19 inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2C19 substrat	Non substrat	Substrat	Substrat	Non substrat	Non substrat	Substrat	Non substrat	Substrat
	CYP450 2D6 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2D6 substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Substrat	Non substrat	Non substrat
Excrétion	T1/2 (h)	2,03	1,09	1,8	1,9	1,8	1,7	1,8	1,6
Toxicité	Bloqueurs Herg	Bloqueur	Bloqueur	Bloqueur	Bloqueur	Non bloqueur	Bloqueur	Non bloqueur	Non bloqueur
	H-HT (toxicité hépatique)	H-HT positive	H-HT positive	H-HT positive	H-HT positive	H-HT positive	H-HT positive	H-HT positive	H-HT positive
	Ames (Ames)	Ames négative	Ames	Ames	Ames	Ames	Ames	Ames	Ames

Chapitre IV: Résultats et Discussions

	mutagénicité)		négative						
	DILI (lésion hépatique induite par un médicament)	DILI positive	DILI négative	DILI positive					



Complexe 4GID- acide palmitique

Figure 31 : Complexes formés après le Docking de l'enzyme 4GID

1-a-Comparaison entre les complexes formés (4GID/ligands)

Les résultats obtenus sont classés et regroupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 23 : Résultats du Docking moléculaire de tous les ligands, ainsi que les acides aminés formant des interactions avec le ligand.

Nom des ligands	Scores (Kcal/mo)	Interaction (ligand-résidus du site actif)	Types d'interaction	Distance (Å)	Energies (kcal/mo l)
Acide oléique	-8,1157	O1-NE-ARG283	Ionique	3,17	-3,4
		O1-NH2-ARG283	Ionique	3,89	-0,7
		O2-NE-ARG283	Ionique	3,92	-2,2
Acide linoléique	-7,4611	O1-NE-ARG176	H-accepteur	3,26	-1,5
		O1-NH2-ARG176	H-accepteur	2,94	-7,4
		O1NE-ARG176	Ionique	3,26	-2,9
		O1NH2-ARG176	Ionique	2,94	-4,9
		O2NE-ARG176	Ionique	2,99	-4,5
		O2NH2-ARG176	Ionique	3,24	-3,1
Acide palmitique	-7,0471	O1-NH2-ARG355	H-accepteur	3,09	-1,1
		O1-NZ-LYS369	H-accepteur	2,83	-4,8
		O1-NE-ARG355	Ionique	3,35	-2,5
		O1-NH2-ARG355	Ionique	3,09	-3,9
		O1-NZ-LYS369	Ionique	2,83	-5,7
		O2-NE-ARG355	Ionique	3,57	-1,6
		O2-NH1-ARG355	Ionique	3,93	-0,6
		O2-NH2-ARG355	Ionique	2,96	-4,7

Chapitre IV: Résultats et Discussions

β-sitostérol	-7,0640	/	/	/	/
Campstérol	-5,5231	O1-NE2-GLN121	H-accepteur	2,86	-2,8
Elemol	-5.3982	O1-O-GLN121	H-donneur	3,04	-0,7
Terpinène-4-ol	-5,1299	O1-O-GLN121 O1-N-GLN121	H-donneur H-accepteur	2,72 2,94	-1,7 -1,5
Stigmastérol	-5.1060	/	/	/	/
Bicyclogermacrène	-4,9471	/	/	/	/
L-prolinamide (ligand de co- cristaliation)	-4,9143	N2-OD1-ASP80 N2-OD1-ASP276 N2-OD2-ASP276 N3-OD2-ASP276 C7-OD2-ASP80 O1-N-GLN121 N2-OD1-ASP80 N2-OD2-ASP80 N2-OD1-ASP276 N2-AD2-ASP276	H-donneur H-donneur H-donneur H-donneur H-donneur H-accepteur Ionique Ionique Ionique Ionique	3,38 3,18 2,93 3,09 3,00 3,19 3,38 3,72 3,18 2,93	-1,04 -1,5 -5,1 -6,4 -1,4 -2,7 -2,4 -1,2 -3,4 -5,0
α-thujène	-4 ,9019	/	/	/	/
Spathuléol	- 4 ,8954	O1-OD2-ASP276	H-donneur	2,63	-2,9
α -pinène	-4,6404	/	/	/	/
δ-3-carène	-4,5849	/	/	/	/
Acétate de botnyl	-4.4963	/	/	/	/

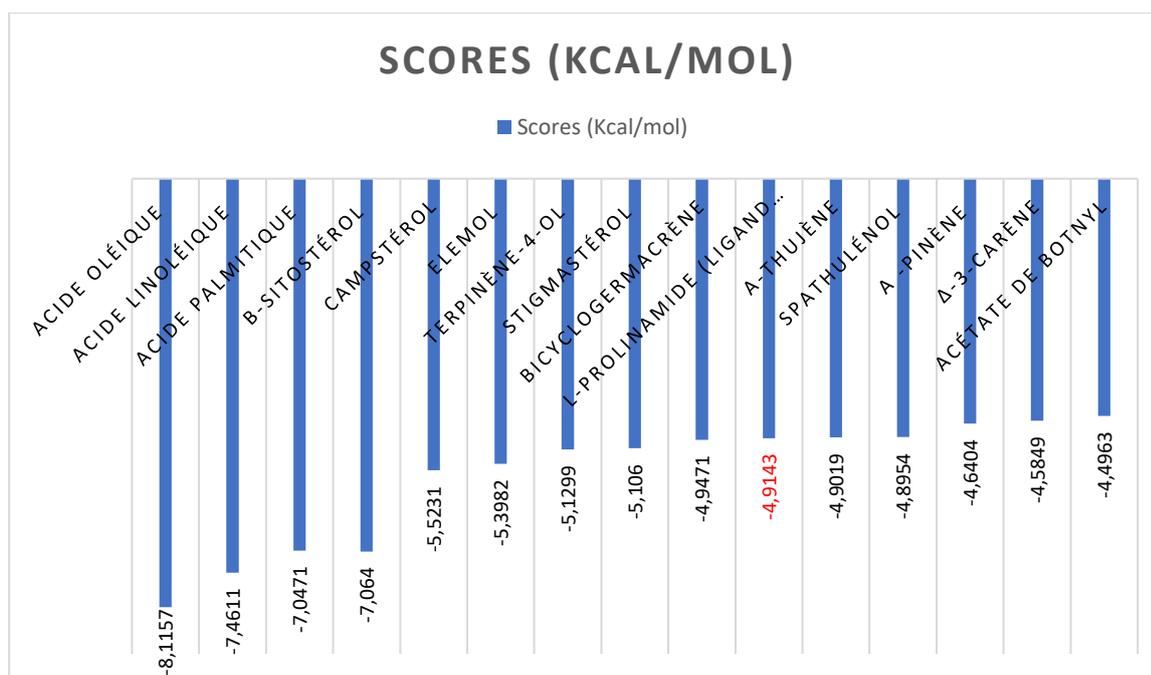


Figure 32 : Score du Docking moléculaire

Les ligands ont été amarré avec succès contre leur cible, la β -sécrétase, une enzyme responsable dans le développement de la MA. Dans le tableau ci-dessus, les 14 ligands sont représentés en ordre croissant selon le score générer (**tableau 31 et figure 32**), dont les molécules qui avaient la plus faible énergie de liaison du score ont été considérées comme les meilleurs molécules en inhibant le récepteur cible. Car l'énergie de liaison inférieur correspond à une affinité de liaison plus élevée (**KOVACS et al., 2004 ; YURIEV et al., 2013**)

D'après le tableau nous avons l'acide oléique qui a généré un score de -8,1157 Kcal/mol, et qui a formé 3 interactions avec ARG 283 du site actif de l'enzyme, suivie par l'acide linoléique avec un score de -7,4611 Kcal/mol et 6 interactions avec ARG 176, puis nous avons l'acide palmitique avec un score de -7,0741 Kcal/mol et 6 interactions avec ARG 235 et 2 interactions avec la LYS 369. Le β -sitostérol a généré un score de -7,0640 Kcal/mol sans former aucune interaction. Le Campstérol et l'éléamol ont généré -5,5231 Kcal/mol et -5,3982 Kcal/mol respectivement ils n'ont formé qu'une seule interaction avec GLN121. Terpinène-4-ol a généré -5.1299 Kcal/mol avec 2 interactions avec GLN 121. Le stigmastérol, le Bicyclogermacrène et le α -thujène ont généré -5,1060 Kcal/mol ; -5,9471 Kcal/mol et -4,9019 Kcal/mol respectivement sans former aucune interaction avec les résidus du site actif de l'enzyme. Spathulénole a montré un score de -4,8954 Kcal/mol et une interaction avec

ASP276. Le α -pinène, δ -3-carène et l'Acétate de botnyl ont montré des scores de -4,6404 Kcal/mol, -4,5849 Kcal/mol et -4,4963 Kcal/mol respectivement.

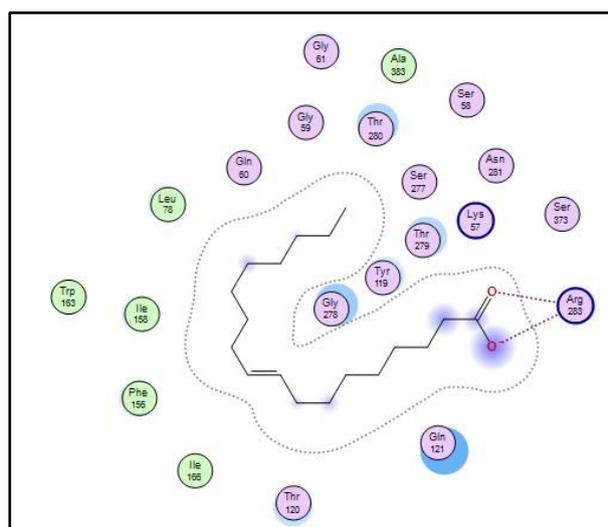
Nous avons comparé toutes les valeurs de score générées par les complexes formés par les 14 ligands et l'enzyme β -sécrétase ; nous avons constaté que les complexes formés par 4GID-acide oléique, 4GID-acide linoléique et 4GID-acide palmitique donnent des scores meilleurs par rapport au ligand de co-cristallisation le L-prolinamide (-4,9143cal/mol).

Pour cette raison l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique ont été sélectionnés comme les meilleures molécules de ligands parmi les 14 ligands extraits à partir des huiles essentielles de la plante *Pistacia atlantica*. Ces trois derniers ont été sélectionnés pour une étude plus approfondie.

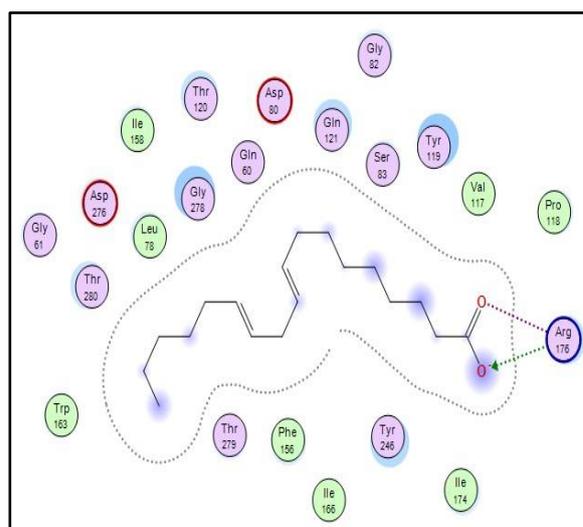
1-b-Interactions Enzyme-Ligand

Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes. Tandis que les interactions supérieures à 3.55Å sont faibles ou absentes. (IMBERTY *et al.*, 1991)

Nous avons présenté dans cette partie les différentes interactions trouvées pour les trois ligands l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique. Les représentations 2D des meilleures interactions de pose entre les ligands et leurs récepteurs ont été visualisées en utilisant le logiciel « MOE »



Interaction 4GID-acide oléique



Interaction 4GID-acide linoléique

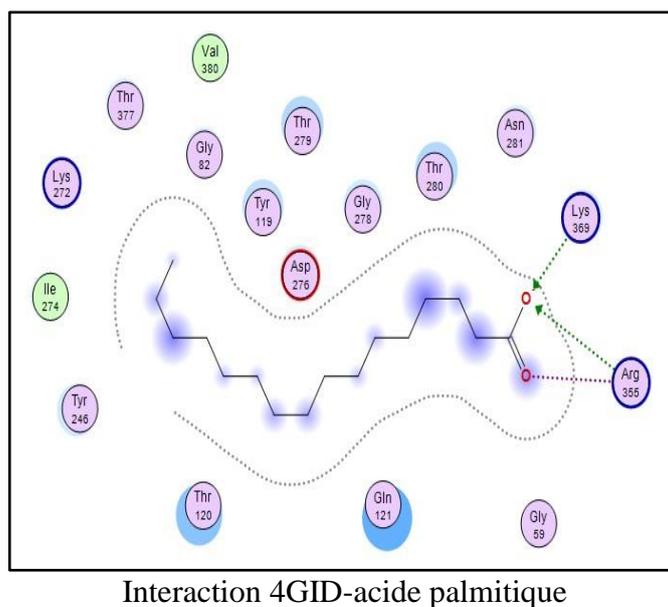


Figure 33 : Interactions entre le 6IYC et les ligands

Les distances mesurées entre les ligands et les acides aminés qui constituent le site actif, varient entre 2,63Å et 3,93 Å. Ces résultats nous permettent de dire que les interactions formées entre chacun des ligands et l'enzyme sont des interactions moyennes à fortes

IV-5-B-2-Propriétés de Druglikeness

Les expériences des propriétés de Druglikeness ont été réalisées pour les trois meilleures molécules de ligands : l'acide oléique, l'acide linoléique, Acide palmitique.

Ce test a été effectué pour faciliter la création de nouvelles molécules médicamenteuses, dont les molécules doivent respecter les conditions de la règle de Lipinski de cinq suivantes: poids moléculaire: ≤ 500 , nombre de donneurs de liaisons hydrogène: ≤ 5 , nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène: ≤ 10 , lipophilicité (exprimée en LogP): ≤ 5 et réfractivité molaire de 40 à 130 (**LIPINSKI et al., 2001**).

Le poids moléculaire de l'acide oléique, l'acide linoléique et Acide palmitique étaient de 282,86g/mol, 280,45g/mol et 256,42 g/mol cependant les trois ligands ont des poids moléculaires ≤ 500 g/mol, leur permettant de franchir la barrière biologique. La valeur de la surface polaire topologique (TPSA) pour tous les trois ligands était de 37,30. Puisque la valeur TPSA inférieure donne toujours de bon résultat, les molécules de *Pistacia atlantica* ont mieux performé que le ligand de co-cristallisation. En ce qui concerne la liposolubilité

(exprimée en LogP), les valeurs LogP de l'acide oléique, l'acide linoléique et acide palmitique étaient de 5,71 ; 5,45 et 5,20 respectivement. La valeur LogS montré par de l'acide oléique, l'acide linoléique et Acide palmitique était de -5,41 ; -5,05 et -5,02 respectivement, comme les valeurs les plus basse sont toujours appréciables, les 3 trois meilleurs ligands ont mieux performé que le L-prolinamide. Cependant, tous les ligands ont un certain nombre de donneurs de liaison hydrogène : ≤ 5 , un certain nombre d'accepteurs de liaison hydrogène : ≤ 10 et également des valeurs de Réfractivité molaire compris entre 35,75 et 130. On peut donc dire que la règle des cinq Lipinski a été vérifiée pour les ligands de la plante *Pistacia atlantica*. Aucun des ligands n'a suivi la règle de Veber et Muegge. La règle de Ghose et d'Egan n'a été suivie par l'acide palmitique. Tous les trois ligands ont montré des scores de biodisponibilités similaires 0,56. L'accessibilité synthétique montré par l'acide oléique, l'acide linoléique et Acide palmitique était de 3,07 ; 3,10 ; 2,31 respectivement, donc les trois ligands devront être facile à synthétisé. On remarque également que certains ligands confèrent des effets reproducteurs, des propriétés irritantes, tumorigènes. Compte tenu de tous les aspects de l'expérience de propriété de Druglikeness, on peut conclure que les trois meilleures molécules de ligands extraite à partir de l'huile essentielles de *Pistacia atlantica* ont effectué de manière assez similaire dans l'expérience des propriétés de Druglikeness, par rapport aux ligands de co-cristaliation.

Tableau 24 : Résultats des propriétés de Druglikeness des trois meilleurs ligands. Les propriétés des Druglikeness ont été analysés par le serveur SWISSADME et OSIRIS Property Explorer

Propriétés Druglikeness	Acide oléique	Acide linoléique	Acide palmitique	L-prolinamide
Poids moléculaire	282,86 g/mol	280,45g/mol	256.42 g/mol	114.15 g/mo
Consensus Log $P_{o/w}$	5,71	5,45	5,20	-0,42
Log S	-5,41	-5,05	-5,02	0,07
Accepteur d'hydrogène	2	2	2	2
Donneur d'hydrogène	1	1	1	2
Réfractivité molaire	89,94	89,46	80,80	33,66
Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui
Ghose	Non	Non	Oui	Non

Veber	Non	Non	Non	Oui
Egan	Non	Non	Oui	Oui
Muegge	Non	Non	Non	Non
Score de biodisponibilité	0,56	0,56	0,56	0,55
Accessibilité synthétique	3,07	3,10	2,31	1,47
TPSA (Å²)	37,30	37,30	37,30	55,12
Nbre. De liaisons rotatives	15	14	14	1
Score de Druglikeness	-28,9	-25,56	-25,22	-0,13
Drug-Score	0,22	0,14	0,09	0,76
Solubilité	-4,55	-4,32	-4,24	-7,78
Reproductive effective	Non	Oui	Non	Non
Irritant	Non	Non	Oui	Non
Tumorigène	Non	Non	Oui	Non
Mutagène	Non	Non	Non	Non

IV-5-B-3-Tests ADME

Le tableau ci-dessous répertorie les résultats des tests ADME des trois meilleurs ligands. Ces tests ont été effectués pour déterminer les propriétés pharmacologiques et pharmacodynamiques d'un médicament dans un système biologique.

Dans la section absorption, Les trois ligands se sont comportés de manière assez similaire Tous les ligands ont montré une perméabilité optimale à Caco-2 à. Ce test est effectué pour vérifier si le médicament sera facilement absorbé dans l'intestin ou non. Les trois ligands présentent une capacité HIA donc, ils doivent être bien absorbés par l'intestin humain. Dans la section absorption, tous les ligands ont fonctionné de manière assez similaire. Dans la distribution, les trois ligands avaient une bonne capacité de liaison aux protéines plasmatique, et tous étaient capable de franchir la barrière hémato-encéphalique, tandis que leL-prolinamide avait une faible capacité de liaison aux protéine plasmatique. Également dans la partie métabolisme, le cytochrome P450 est une famille d'enzymes qui métabolise les médicaments. Par conséquent, dans notre test, l'acide oléique et l'acide linoléique sont des inhibiteurs du CYP 450 A2 et également des substrats pour CYP450 2C9,

CYP450 2D6, donc ces deux molécules peuvent être métabolisés par ces enzymes. Dans la section d'excrétion, la demi-vie d'un médicament décrit le temps nécessaire pour réduire la quantité d'un médicament dans le corps de moitié ou 50% (SWIERCZEWSKA, 2015 ; SMALLING, 1996 ; Sahin, 2008). Tous les trois ligands ont montré une demi-vie de 1,7 heure dans cette section les performances des trois ligands étaient satisfaisantes. Dans la section toxicité, HERG est un canal K⁺ trouvé dans le muscle cardiaque et assure le bon rythme cardiaque, si HERG est bloqué par certains médicaments, il peut provoquer une arythmie cardiaque et la mort (SANGUINETTI, 1995 ; ARONOV, 2005), l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique étaient non bloqueurs et présentaient des tests négatifs dans la partie toxicité, donc les molécules dérivées de *Pistacia atlantica* se sont révélés sans danger pour le foie. D'un autre côté, puisque tous les trois ligands étaient DILI négatifs, ils ne provoquent pas des lésions hépatiques. Dans cette section les performances des trois ligands étaient assez bonnes. Par rapport au ligand de co-cristallisation nous pouvons déclarer que les trois ligands ont bien performé l'étude du Docking, l'expérience de propriété de Druglikeness et le test ADME/T. les trois meilleurs ligands ont montré des résultats satisfaisants dans ces expériences. De plus, l'acide oléique a généré encore plus de résultats que le L-prolinamide dans certains aspects.

Tableau 25 : Les résultats des tests ADME/T des ligands : les propriétés pharmacologiques et pharmacodynamiques.

Classe	Propriétés	Acide oléique	Acide linoléique	Acide palmitique	L-prolinamide
Absorption	Perméabilité Caco-2	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal
	Pgp-inhibitor	Non Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	Pgp-substrate	Non-substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat
	Absorption intestinale humaine (HIA)	HIA positive	HIA positive	HIA positive	HIA positive
Distribution	PPB (Plasma protein binding)	Bien	Bien	Bien	Faible
	BBB (Brain Blood Barrier)	BBB positive	BBB positive	BBB positive	BBB positive
Métabolisme	CYP450 1A2 inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Non Inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 1A2	Non	Non substrat	Non	Non substrat

	substrat	substrat		substrat	
	CYP450 3A4 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 3A4 substrat	Non Substrat	Non Substrat	Non substrat	Non substrat
	CYP450 2C9 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2C9 substrat	Substrat	Substrat	Substrat	Non substrat
	CYP450 2C19 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2C19 substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Non Substrat
	CYP450 2D6 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2D6 substrat	Substrat	Substrat	Non Substrat	Non substrat
Excrétion	T1/2 (h)	1,7	1,7	1,7	1,14
Toxicité	Bloqueurs Herg	Non Bloqueurs	Non Bloqueurs	Non Bloqueurs	Non bloqueurs
	H-HT (toxicité Hépatique)	H-HT négative	H-HT négative	H-HT négative	H-HT positive
	Ames (Ames mutagénicité)	Ames négative	Ames négative	Ames négative	Ames négative
	DILI (lésion hépatique induite par un médicament)	DILI négative	DILI négative	DILI négative	DILI négative

IV-5-B-4-Prédiction PASS et prédiction du site de métabolisme P450 (SOM)

La prédiction PASS a été réalisée pour déterminer 10 activités biologiques (**tableau 26**) et 5 effets indésirables et les effets toxiques (**tableau 27**) des trois meilleurs ligands sélectionnés. Cependant les activités prévues ont été générées par le serveur PASS Way2Drug à $Pa > 0,7$. Dans ce test l'acide linoléique et l'acide palmitique ont donné 6 activités parmi les 10 activités déterminées qui sont : Agoniste de l'intégrité de la membrane, Amplificateur d'expression HMOX1, Inhibiteur de chlordécone, Antimutagène, Protecteur mucomembraneux et Amplificateur d'expression TP53. Tandis que l'acide oléique a montré 4 activités : Agoniste de l'intégrité de la membrane, Inhibiteur de chlordécone réductase, Protecteur mucomembraneux, Inhibiteur d'aldéhyde oxydase. On ce qui concerne les effets toxiques l'acide oléique a montré 2 effets qui sont : Hématémèse et frissons. Tandis que l'acide linoléique a montré 5 effets toxiques : toxicité vasculaire, inflammation hématémèse,

néphrotoxique et frissons. Et l'acide palmitique a montré 3 effets toxiques : toxicité vasculaire, hématurie et frissons.

Le serveur ProTox-II mesure la toxicité d'un composé chimique et le classe en une classe de toxicité en allant de 1 à 6. Les classes de toxicité sont définies selon le système harmonisé mondial de classification de l'étiquetage des produits chimiques (SGH). Classe I : mortel en cas d'ingestion ($DL50 \leq 5$), Classe II : mortel en cas d'ingestion ($5 < DL50 \leq 50$), Classe III : toxique en cas d'ingestion ($50 < DL50 \leq 300$), Classe IV : nocif en cas d'ingestion ($300 < DL50 \leq 2000$), Classe V : peut-être nocif en cas d'ingestion ($2000 < LD50 \leq 5000$), Classe VI : non toxique ($DL50 > 5000$) (**DRWAL et al., 2014**). Cependant, l'acide oléique était classe de toxicité 2 ce qui signifie qu'il est mortel en cas d'ingestion, l'acide linoléique était classe de toxicité 6, donc il est non toxique, et l'acide palmitique était classe de toxicité 3, ce qui signifie qu'il est toxique en cas d'ingestion.

Tableau 26 : Résultats de la prédiction PASS des activités biologiques des trois meilleures molécules de ligands. Les tests ont été effectués à l'aide du serveur PASS-Way2Drug

	Activités biologique	Acide oléique		Acide linoléique		Acide palmitique	
		DL50 : 48 mg/kg		DL50 : 10000 mg/kg		DL50 : 130 mg/kg	
		Classe de toxicité : 2		Classe de toxicité : 6		Classe de toxicité : 3	
		Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
1	Agoniste de l'intégrité de la membrane	0,869	0,019	0,753	0,045	0,857	0,022
2	Amplificateur d'expression HMOX1	-	-	0,777	0,004	0,709	0,007
3	Inhibiteur de chlordécone réductase	0,864	0,009	0,835	0,014	0,895	0,005
4	Inhibiteur d'expression HIF1A	-	-	-	-	-	-

5	Inhibiteur d'histidine kinase	-	-	-	-	-	-
6	Inhibiteur d'aldéhyde oxydase	0,721	0,015	-	-	-	-
7	Antimutagène	-	-	0,792	0,004	0,783	0,004
8	Protecteur mucomembraneux	0,858	0,008	0,949	0,003	0,933	0,004
9	Amplificateur d'expression TP53	-	-	0,764	0,015	0,740	0,019
10	Chemopreventive	-	-	-	-	-	-

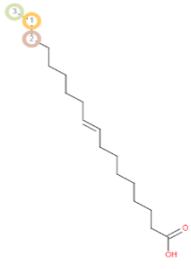
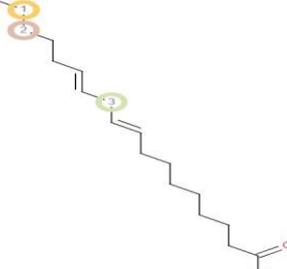
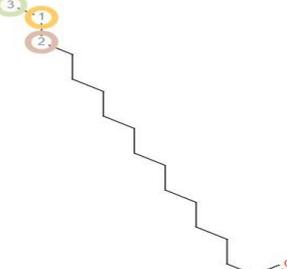
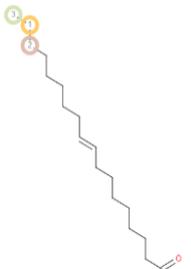
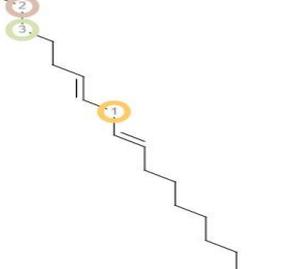
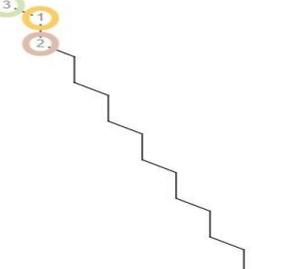
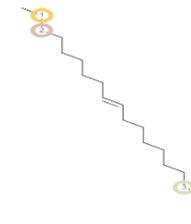
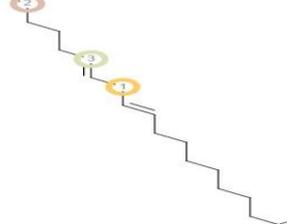
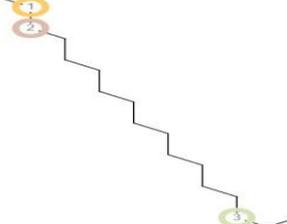
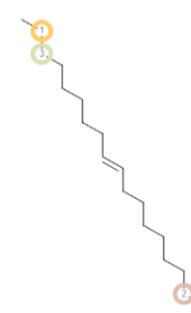
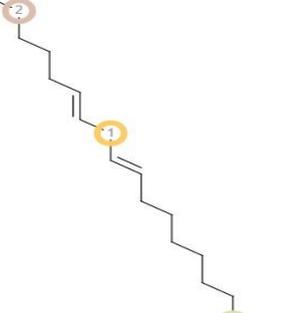
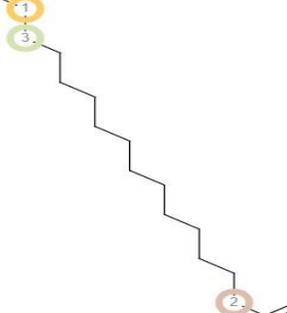
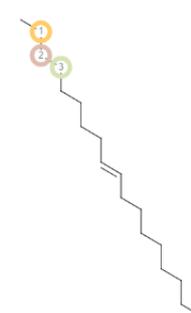
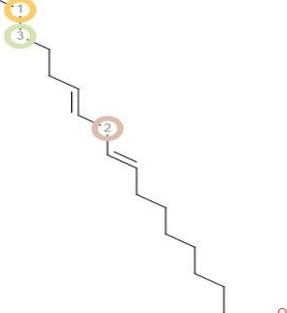
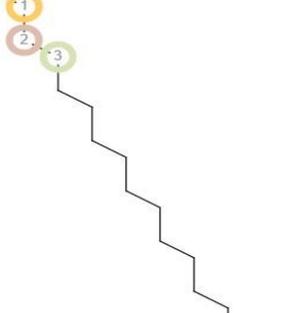
Tableau 27 : Résultats de la prédiction PASS montrant les effets nocifs et toxiques des trois meilleurs molécules ligands. Les tests ont été réalisés à l'aide du serveur PASS-Way2Drug

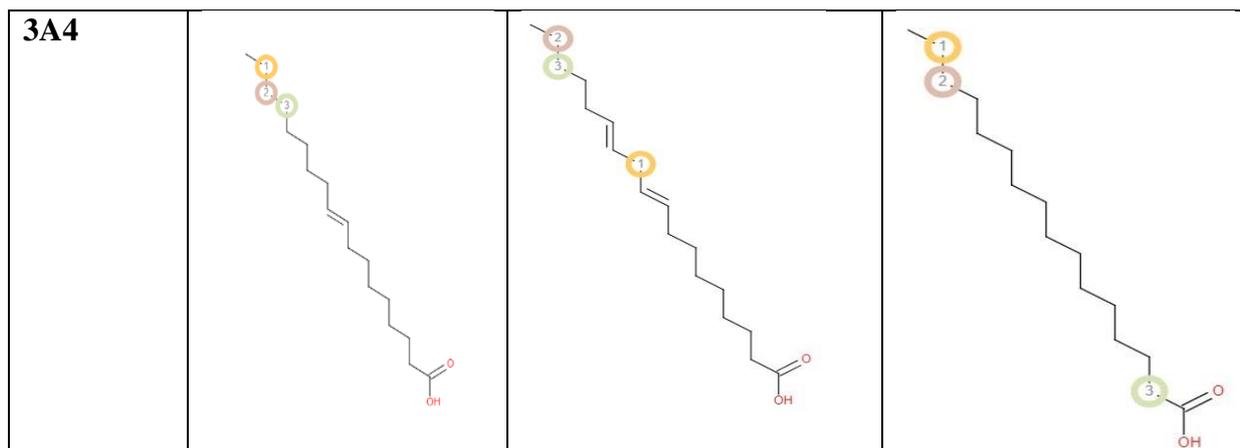
	Effets néfastes et toxiques	Acide oléique		Acide linoléique		Acide palmitique	
		Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
1	Toxicité vasculaire	-	-	0,809	0,016	0,800	0,017
2	Inflammation			0,779	0,017	-	-
3	Hématémèse	0,837	0,009	0,766	0,018	0,874	0,005
4	Néphrotoxique	-	-	-	-	-	-
5	Frissons	0,954	0,002	0,930	0,004	0,949	0,003

Les sites possibles de métabolisme par les CYP 1A2, 2A6, 2B6, 2C19, 2C8, 2C9, 2D6, 2E1 et 3A4 de l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique ont été déterminées. Les cercles sur la structure chimiques de la molécule indiquent les sites possibles d'un produit chimique composé, où le métabolisme par les isoformes des enzymes CYP450 peut avoir lieu. (ZARETZKI *et al.*, 2012). Les prédictions P450 (SOM) ont montré que tous les trois ligands ; l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique avait 3 sites de métabolisme (SOM) pour tous les CYP450. (Tableau 28)

Tableau 28 : Liste des sites P450 d'étude de prédiction du métabolisme des molécules de ligands

Nom des isoenzymes P450	Acide oléique	Acide linoléique	Acide palmitique
1A2			
2A6			
2B6			

2C8			
2C9			
2C19			
2D6			
2E1			



IV-5-B-5-Carte graphique et modélisation des pharmacophores :

L'étude de la carte graphique du pharmacophore des trois meilleures molécules de ligands a été réalisée par le serveur PharmMapper. PharmMapper génère trois types de scores : score d'ajustement, score d'ajustement normalisé et z'score. Les protéines cibles avec le score d'ajustement et le score normalisé les plus élevés entre le composé de la requête et son modèle de pharmacophore correspondants reflètent que les protéines cibles doivent être les cibles potentielles du composé de la requête à lier. De plus, le z'score est généré à partir du score d'ajustement, et le z'score élevé correspond à une haute signification de la cible pour un composé de requête et vice versa.

L'expérience de carte graphique de pharmacophore de l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique a donné un score d'ajustement de 2,764 ; 2,978 et 2,684 respectivement. Et des scores d'ajustement normalisés de 0,921 ; 0,744 et 0,894 respectivement. En fonction du score d'ajustement le plus élevé, la protéine cible β -sécrétase devrait être la cible la plus potentielle pour l'acide linoléique parmi les trois ligands. Comme l'acide linoléique a également généré le plus haut z'score de 0,569, la liaison entre l'acide linoléique et la β -sécrétase est la plus importante parmi les trois ligands. L'acide oléique avait le z'score de 0,529. Cependant avec le z'score le plus bas de l'acide palmitique (0,484), la liaison entre l'acide palmitique et la β -sécrétase est moins significative que les deux autres ligands. (**Tableau 29**)

L'acide oléique et l'acide palmitique avaient 2 centres hydrophobiques, et l'acide linoléique en avait 3. De plus l'acide linoléique avait 1 centre chargé positivement tandis que l'acide oléique et l'acide palmitique n'en avaient pas. Aucun des ligands n'a montré de centre chargé négativement, accepteur de liaison hydrogène et anneau aromatique. L'acide oléique et l'acide

palmitique ont montré 1 donneurs de liaison hydrogène et l'acide linoléique n'en avait pas montré. **(Figure 34)**

La modélisation pharmacophore est réalisée pour les 3 meilleurs ligands de *Pistacia atlantica*. Tous les ligands : l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique ont montré 8 liaison donneurs hydrogène 8 centre hydrophobique. **(Figure 35).**

Tableau 29 : Résultats de l'expérience de carte graphique pharmacophore des trois meilleurs ligands : l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique. L'expérience a été menée à l'aide de l'outil en ligne PharmMapper

Nom des composés	Score d'ajustement	Valeur d'ajustement normalisé	Z'-score	Caractéristiques du pharmacophore					
				Centre Hydrophobique	Centre chargé positivement	Centre chargé négativement	Donneur de liaison hydrogène	Accepteur de liaison hydrogène	Anneau aromatique
Acide oléique	2,764	0,921	0,529	2	0	0	1	0	0
Acide linoléique	2,978	0,744	0,569	3	1	0	0	0	0
Acide palmitique	2,684	0,894	0,484	2	0	0	1	0	0

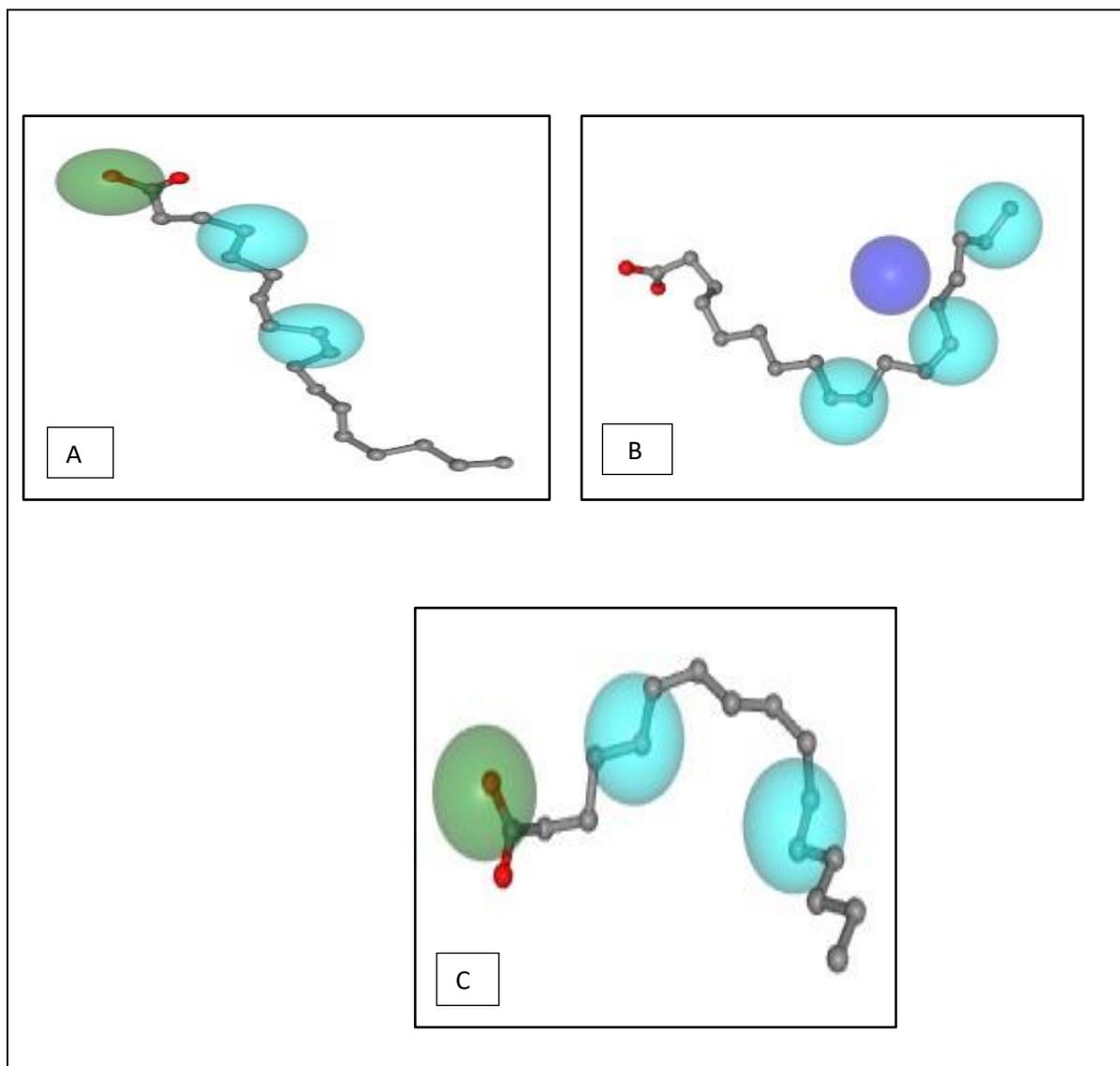
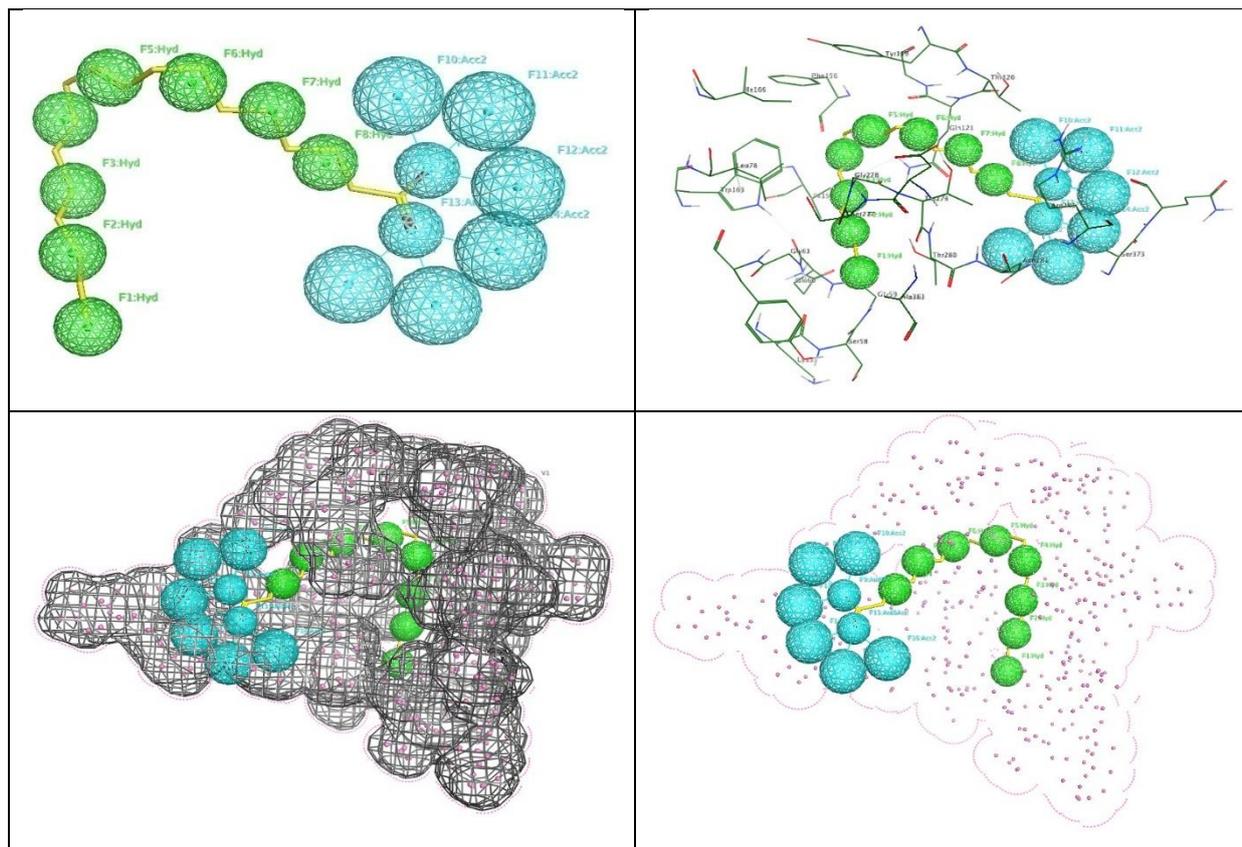
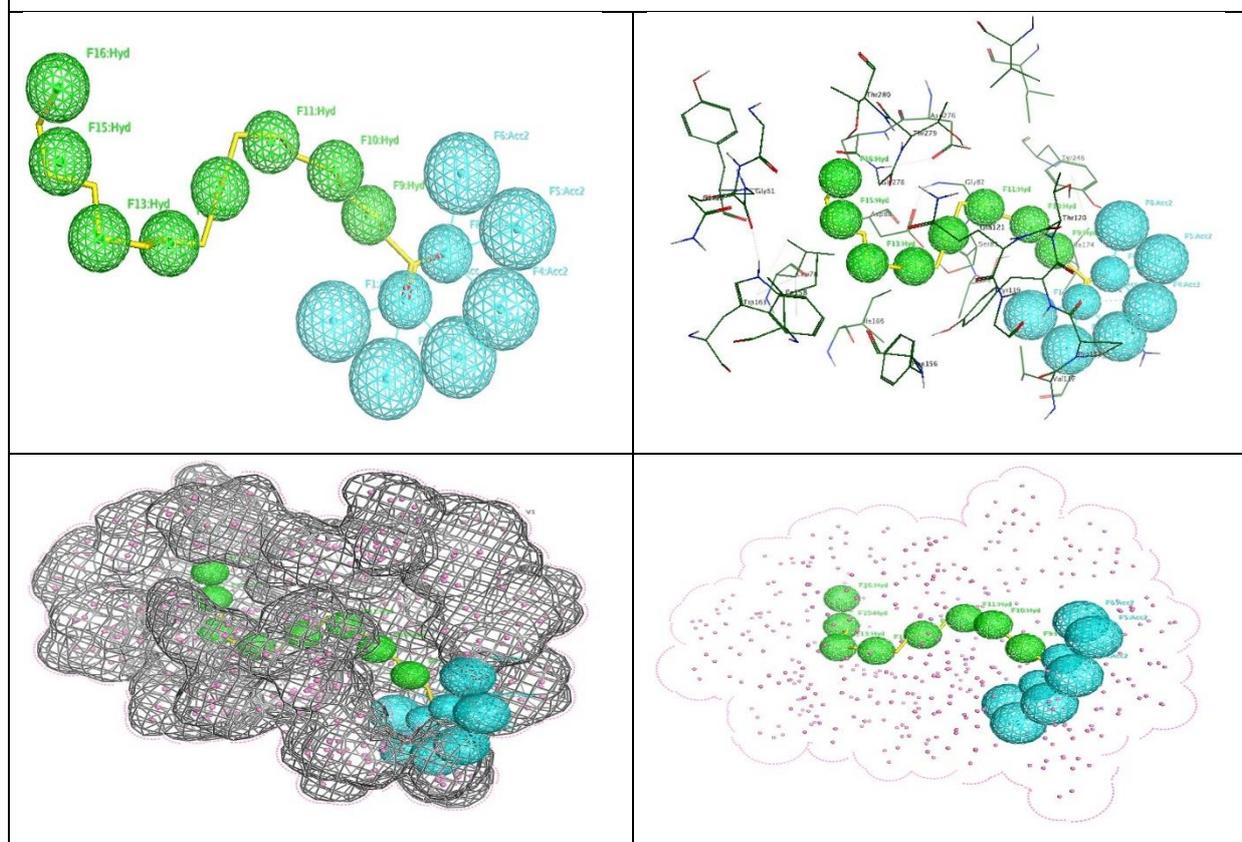


Figure 34 : Carte graphique des pharmacophores de A. acide oléique, B. acide linoléique, C. acide palmitique. Ici la couleur verte : donneur de liaisons hydrogènes, la boule lumineuse : centre hydrophobe, la couleur bleue : centre chargé positivement



a: Carte graphique pharmacophore de l'acide oléique



b : Cartographie pharmacophore de l'acide linoléique

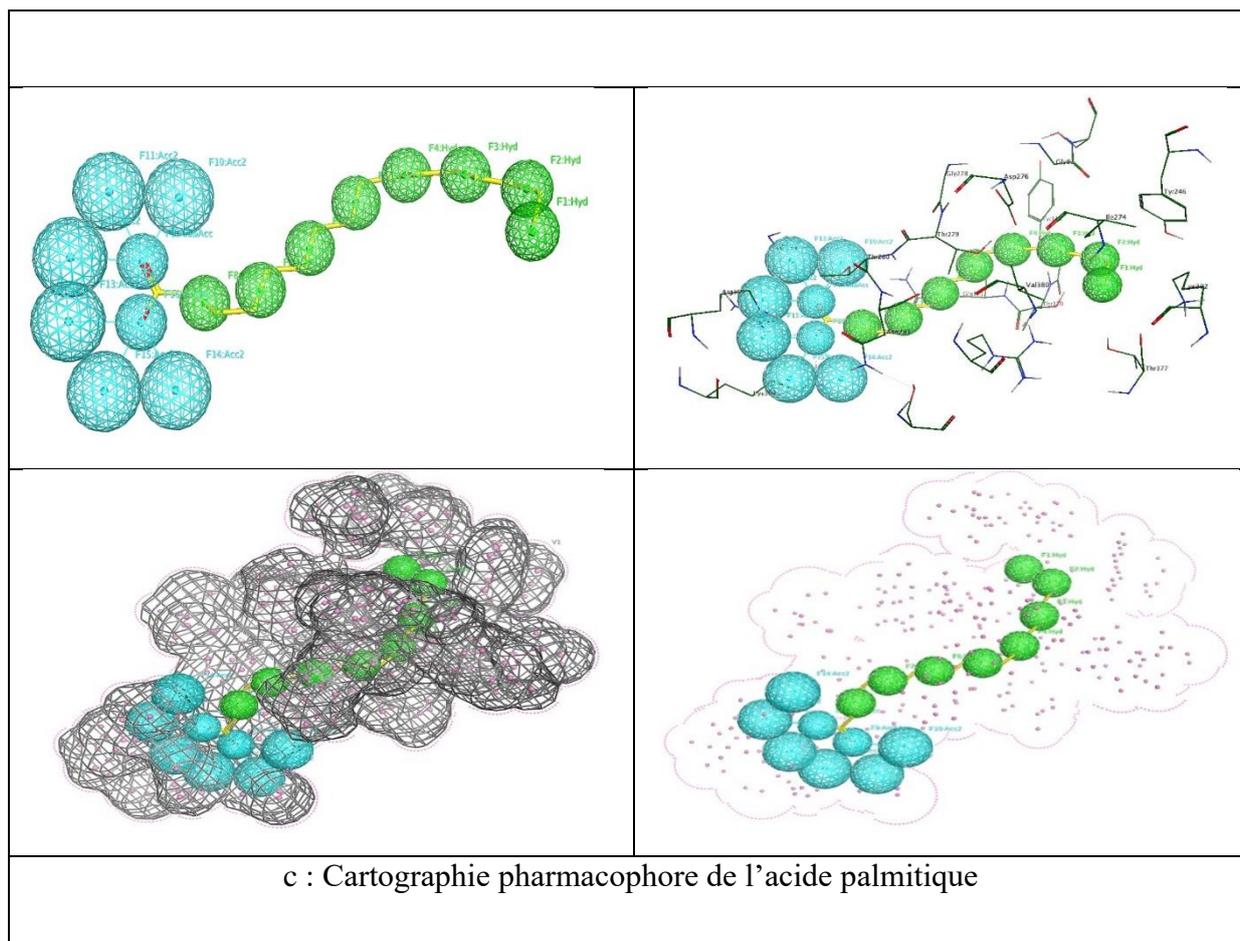


Figure 35 : Carte graphique du pharmacophore de l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique : couleur bleu accepteur de liaisons hydrogène, couleur verte centre hydrophobique

IV-5-B-6-Prédiction de cible

Un pharmacophore est l'ensemble des groupes fonctionnels disposés dans une disposition spatiale adéquate, assurant la fixation du médicament sur le récepteur et donc capable d'induire la réponse physiologique. Les 25 premiers résultats ont été présentés sous forme de camembert. Le camembert prédit 16% de la famille de protéine de liaisons aux acides gras, 20% phosphatase, 4% protéase, 20% d'enzyme, 12% d'oxydoréductase, 4% phosphodiesterase, 16% de récepteur nucléaire, 8% de la famille A des récepteurs couplé à la protéine G. (**figure36**).

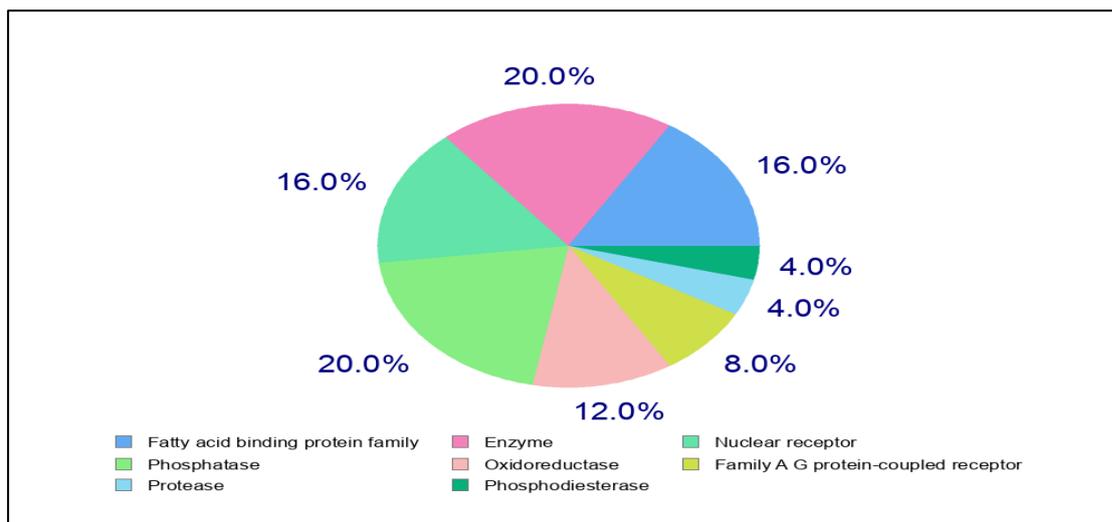


Figure 36: Top-25 cibles prévu pour l'acide oléique

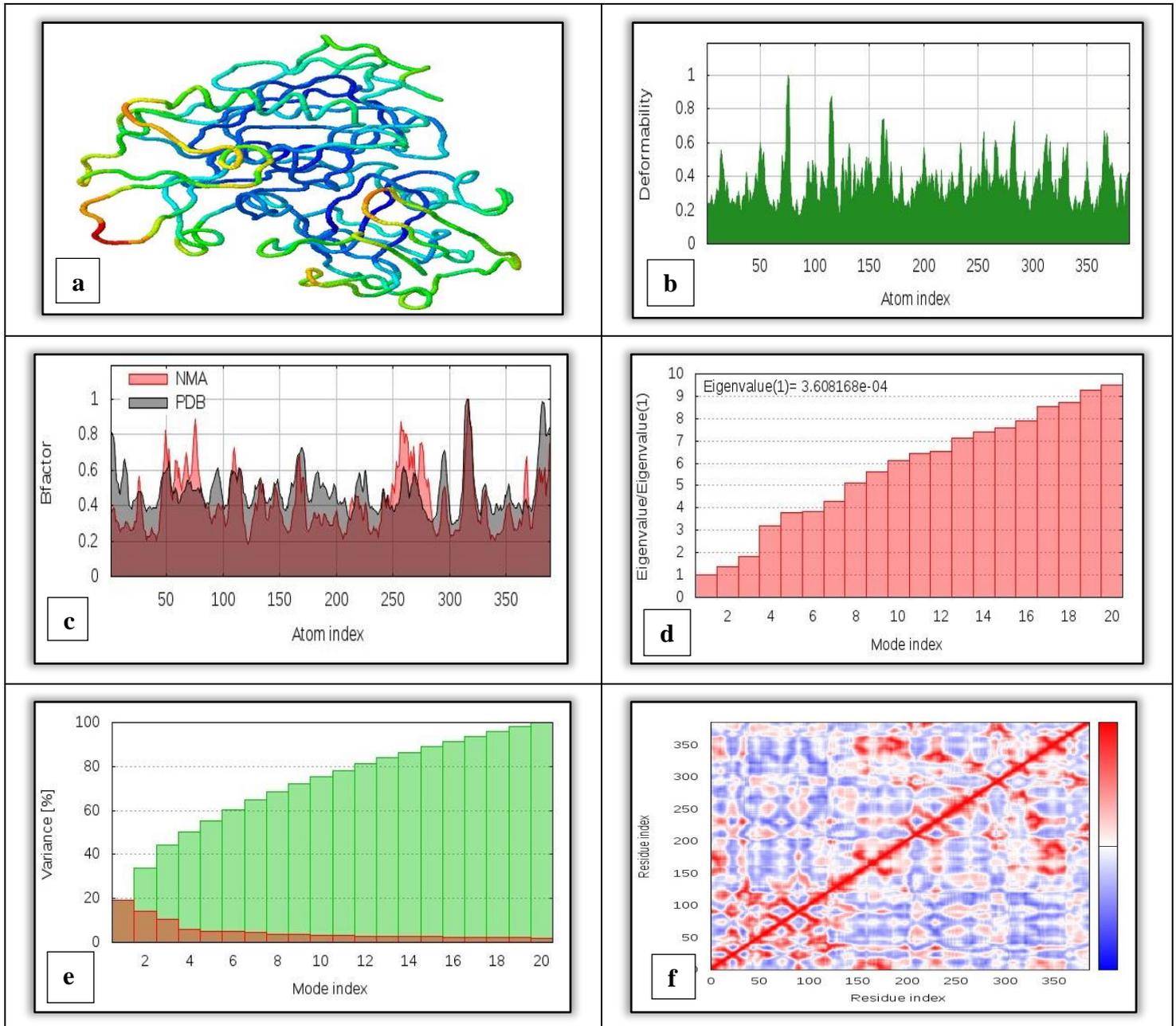
IV-5-B-7-Simulation de la dynamique moléculaire

Les résultats de la simulation de dynamique moléculaire sont présentés sur la **figure 37**.

La **figure 37a** illustre l'analyse en mode normal (NMA) du complexe β -sécrétase-acide oléique. Le graphique de déformation du complexe illustre les pics qui correspondent aux régions déformées dans la protéine. (**Figure 37b**). Le graphique du facteur B du complexe permet de visualiser et de comprendre facilement la comparaison entre le champ NMA et le champ PDB du complexe (**figure 37c**). La valeur propre du complexe est illustrée sur (**la figure 37d**). Le complexe ancré a généré une valeur propre de $3,608168 \times 10^{-4}$. Le graphique de variance indique la variance individuelle par des barres de couleur rouge et la variance cumulative par des barres de couleur verte (**figure 37e**). La figure 3f illustre la carte de covariance du complexe où le mouvement corrélé entre une paire de résidus est indiqué par la couleur rouge, le mouvement non corrélé est indiqué par la couleur blanche et le mouvement anti-corrélé est indiqué par la couleur bleue. La carte élastique du complexe montre la connexion entre les atomes, et les régions grises plus foncées indiquent des régions plus rigides (**Figure 37g**).

D'après l'étude de la dynamique moléculaire il est clair que le complexe avait une très bonne quantité de déformation (**figure 37b**). Ainsi qu'il avait une valeur propre assez élevées de $3,608168 \times 10^{-4}$ pour cette raison, la déformation serait assez difficile pour le complexe (**figure 37d**). Cependant la carte de variance a montré un degré élevé de variances

cumulatives que les variances individuelles (**figure 37e**). La co-variance et la carte du réseau élastique ont également produit des résultats satisfaisants (**Figure 37f et Figure 37g**).



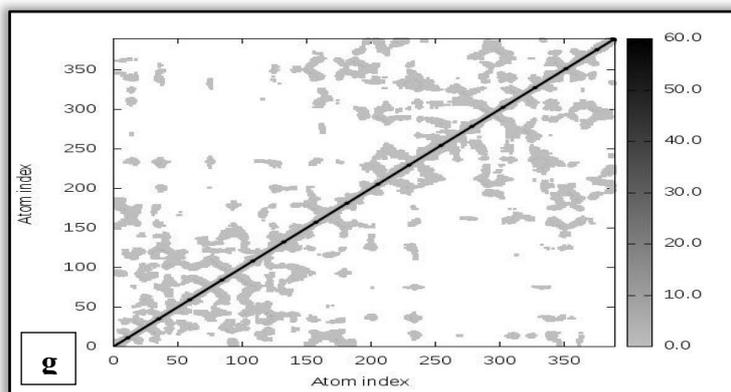


Figure 37 : Résultats de la simulation de la dynamique moléculaire du complexe β -sitostérol- γ -sécrétase. (A) mobilité NMA, (B) déformation, (C) facteur B, (D) valeurs propres, (E) variance (couleur rouge indique variances individuelles et la couleur verte indique les variances cumulatives), (F) carte de co-variance (mouvement corrélés (rouge) non corrélé (blanc) ou anti-corrélés (bleu)) et (G) élastique réseau (les régions grises plus foncées indiquent les régions les plus rigides du complexe.

Toujours dans le but de compléter cette étude nous avons sélectionné 4 médicaments utilisé pour l'inhibition de la β -sécrétase: MK-8931 (Verubecesta), E2609 (Elenbecestat), LY2886721, Lanabacestat (**DEGANDT, 2019 ; DESCOURS, 2014 ; Lardé, 2012 ; VOLLOCH, RITS, 2018**)

Nous avons étudié leurs interactions avec la β -sécrétase, leurs propriétés de Druglikeness ainsi que leurs propriétés médicamenteuses.

Docking moléculaire des médicaments

Tableau 30 : Résultats du Docking moléculaire des inhibiteurs de la β -sécrétase

Nom des inhibiteurs	Scores (Kcal/mol)	Interaction (ligand-résidu du site actif)	Types d'interaction	Distance (Å)	Energies (kcal/mol)
MK-8931 (Verubecesta)	-7,6076	N9-OG1-THR280	H-donneur	3,11	-1,6
E2609 (Elenbecestat)	-7,4585	S1-O-PHE156 N7-O-GLN121 N8-O-LN121 N8-O-PHE156	H-donneur H-donneur H-donneur H-donneur	2,97 3,89 3,15 3,15	0,8 -1,7 -1,0 -2,7
LY2886721	-6,8577	S1-O-PHE156 N6-O-GLN121 N7-O-GLN121	H-donneur H-donneur H-donneur	3,09 2,93 2,87	-1,4 -4,2 -2,7

		N7-O-LYS155 N7-O-PHE156 O5-O-THR280 6-RING-CA- THR 279	H-donneur H-Donneur H-accepteur Pi-H	3,06 3,24 3,01 4,16	-0,8 -1,4 -1 ;8 -0,8
Lanabacestat	-6,2642	N4-O-PRO118 6-ring-N- THR120	H-donneur Pi-H	2,85 4,28	-1,2 -1,4

D'après le tableau ci-dessus, parmi 4 inhibiteurs étudiés, Nous avons le MK-8931 (Verubecesta) qui a généré le meilleur score après le Docking **(-7,6076)**

En comparant les résultats représentés dans le tableau ci-dessus avec ceux des inhibiteurs extraits à partir de la plante *Pistacia atlantica* (Tableau) nous pouvons conclure que l'acide oléique a généré un score **(-8,1157)** meilleurs que ceux des médicaments qui inhibe la β -sécrétase. L'acide oléique peut donc être considéré comme un meilleur inhibiteur de la β -sécrétase.

-Propriétés de Druglikeness des médicaments

Les résultats des propriétés de Druglikeness des 4 médicaments sélectionnés sont représentés dans le **tableau 31**

En prenant en considération tous les aspects de cette expérience nous pouvons suggérer que les ligands extraits à partir de l'huile essentielles de *Pistacia atlantica* ont mieux performé que les médicaments dans plusieurs aspects de l'expérience.

-Test ADME/T des médicaments

Les résultats des propriétés médicamenteuses des 4 médicaments sont représentés dans le **tableau 32**

On remarque d'après ces résultats que tous les médicaments étaient bloqueurs Herg donc ils peuvent tous provoquer une arythmie cardiaque et la mort, et qu'ils présentaient tous une toxicité hépatique, et que certains d'entre eux provoquent des lésions hépatiques induites par un médicament.

Tableau 31 : Résultats des propriétés de Druglikeness des inhibiteurs de la β -sécrétase

Propriétés Druglikeness	MK-8931 (Verubecesta)	E2609 (Elenbecestat)	LY2886721	Lanabecestat
Poids moléculaire	409.41 g/mol	437.44 g/mol	390.41 g/mol	412.53 g/mol
Consensus Log $P_{o/w}$	1,44	2,39	2,30	3,97
Log S	-2,80	-3,39	-3,25	-4,43
Accepteur d'hydrogène	7	8	6	4
Donneur d'hydrogène	2	2	2	1
Réfractivité molaire	105,82	109,13	101,42	131,51
Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui
Ghose	Oui	Oui	Oui	Non
Veber	Oui	Oui	Oui	Oui
Egan	Oui	Oui	Oui	Oui
Muegge	Oui	Oui	Oui	Oui
Score de biodisponibilité	0,55	0,55	0,55	0,55
Accessibilité synthétique	3,87	4,59	4,22	5,85
TPSA (Å^2)	126,13	127,79	114,90	72,86
Nbre. De liaisons rotatives	4	5	4	2
Score de Druglikeness	-2,56 or	-2,76	-3,54	-
Drug-Score	0,4	0,37	0,38	-
Solubilité	-4,06	-4,27	-4,25	-
Reproductive effective	Non	Non	Non	-
Irritant	Non	Non	Non	-
Tumorigène	Non	Non	Non	-
Mutagène	Non	Non V	Non	-

Tableau 32 : Les résultats des tests ADME/T des inhibiteurs de la β -sécrétase : les propriétés pharmacologiques et pharmacodynamiques.

Classe	Propriétés	MK-8931 (Verubecesta)	E2609 (Elenbecestat)	LY2886721	Lanabacestat
Absorption	Perméabilité Caco-2	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal
	Pgp-inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur
	Pgp-substrate	Non substrat	Non substrat	Non substrat	Non substrat
	Absorption intestinale humaine (HIA)	HIA positive	HIA positive	HIA positive	HIA positive
Distribution	PPB (Plasma protein binding)	Bien	Bien	Bien	Bien
	BBB (Brain Blood Barrier)	BBB positive	BBB positive	BBB positive	BBB positive
Métabolisme	CYP450 1A2 inhibiteur	Non Inhibiteur	Non Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 1A2 substrat	Substrat	Substrat	Substrat	Substrat
	CYP450 3A4 inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur
	CYP450 3A4 substrat	Substrat	Substrat	Non substrat	Substrat
	CYP450 2C9 inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2C9 substrat	Non Substrat	Non Substrat	Non substrat	Non substrat
	CYP450 2C19 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
	CYP450 2C19 substrat	Non substrat	Non substrat	Non Substrat	Substrat
	CYP450 2D6 inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Inhibiteur
	CYP450 2D6 substrat	Non Substrat	Non Substrat	Non substrat	Non substrat
Excrétion	T1/2 (h)	1,7	1,7	1,6	1,8
Toxicité	Bloqueurs Herg	Bloqueurs	Bloqueurs	Bloqueurs	Bloqueurs
	H-HT (toxicité Hépatique)	H-HT positive	H-HT positive	H-HT positive	H-HT positive

	Ames (Ames mutagénicité)	Ames négative	Ames négative	Ames négative	Ames négative
	DILI (lésion hépatique induite par un médicament)	DILI négative	DILI positive	DILI positive	DILI négative

En faisant la comparaison des résultats donnés par les médicaments qui inhibe la β -sécrétase avec ceux des inhibiteurs extrait à partir des huiles essentielles de la partie fruits de la plante *Pistacia atlantica* on conclut que ces derniers ont donné des résultats meilleurs. L'acide oléique qui a généré le meilleur score après le Docking a donné de très bons résultats et peut être considéré comme un meilleur inhibiteur de la β -sécrétase.

L'Etude *in silico* de l'inhibition de la γ -sécrétase et la β -sécrétase, deux enzymes clé dans la génération du peptide β amyloïde, a montré que le β -sitostérol et l'acide oléique ont montré de très bonnes affinités contre leurs cibles la γ -sécrétase et la β -sécrétase respectivement, et ont très bien performé dans l'étude des propriétés de druglikness et le test ADME/T.

Ces résultats nous permettent de conclure que les fruits de *Pistacia atlantica* peuvent être utilisé comme un traitement naturel pour la maladie d'Alzheimer, comme ils peuvent être utilisé pour la conception de nouveaux médicaments pour cette maladie.

Conclusion Générale

Dans notre étude nous nous sommes focalisés sur l'étude théorique de l'inhibition des enzymes impliqués dans la génération du peptide A β , responsable de la maladie d'Alzheimer, la β -sécrétase et la γ -sécrétase par une série de molécules extraites de la partie feuille et fruit de *Pistacia atlantica* (Anacardiaceae) choisi en fonction du rendement le plus élevé, en utilisant les méthodes de modélisation moléculaire et plus précisément le Docking moléculaire.

Le premier chapitre a été consacré pour une synthèse bibliographique sur la maladie d'Alzheimer, où nous avons donné une définition de la démence et de la maladie d'Alzheimer, historique de la maladie, la protéine précurseur de l'amyloïde, L'inhibition de BACE1 : une cible thérapeutique, le complexe γ -sécrétase.

Au niveau du chapitre II nous avons présenté la plante *Pistacia atlantica*, ses caractères botaniques, sa distribution au monde et en Algérie, ses propriétés et usages traditionnelles, la composition chimique de ses différentes parties.

Dans le troisième chapitre, nous avons présenté le matériel et les différents logiciels utilisés. Nous avons abordé aussi les méthodes de modélisation moléculaire (mécanique moléculaire, Docking moléculaire et dynamique moléculaire) et les différents tests utilisés pour vérifier les propriétés médicamenteuses des trois meilleurs ligands sélectionnés pour chacune des deux enzymes.

Dans le chapitre IV nous avons exposé et discuté les résultats des calculs effectués dans ce travail.

L'analyse des résultats nous a permis de conclure que :

- Le β -sitostérol est le meilleur ligand qui inhibe la γ -sécrétase
- L'acide oléique est le meilleur ligand qui inhibe la β -sécrétase

En se basant sur les énergies d'interaction minimale des complexes γ -sécrétase- β -sitostérol et β -sécrétase-acide oléique obtenus à l'aide du logiciel « MOE » les deux ligands extraits à partir du fruit de *Pistacia atlantica* ont des affinités de liaison élevées (**β -sitostérol : -8,0233 Kcal/mol**) et (**acide oléique : -8,1157 Kcal/mol**) avec leurs cibles la γ -sécrétase et la β -sécrétase respectivement. Ces deux composants naturels ont montré des résultats assez similaires et très bons dans tous les aspects de notre étude.

CONCLUSION GENERALE

Ces résultats ont été renforcés par une étude comparative où nous avons sélectionnés 8 médicaments qui inhibent la γ -sécrétase et 4 médicaments qui inhibent la β -sécrétase. Où les résultats donnés par les composants naturels ont toujours été meilleurs.

Ces résultats nous ont conduit à proposer ces deux molécules naturelles issus de la plante *Pistacia atlantica* comme de nouveaux inhibiteurs potentiels de la γ -sécrétase et la β -sécrétase, et par la suite à la conception de nouveaux médicaments pour traiter la maladie d'Alzheimer et comme un traitement naturel pour cette maladie.

Perspectives :

Ce travail reste théorique, nous envisageons :

- Effectuer des tests sur des patients en premier stades.
- Élargir ces études sur d'autres espèces végétales pour la conception de nouveaux médicaments à partir de produits naturels.

*Références
bibliographiques*

- ABDELLI I, DAOUD Ismail, MERAD Meriem, GHALEM Said, Theoretical study of the alzheimer drug posiphen by molecular modeling methods,2018, International Journal of Advances in Science Engineering and Technology.
- ABDELLI I, Sari, S., Ziani-Cherif, C., & Ghalem, S. (2007). Theoretical Study of The Inhibition of beta-secretase. *Asian Journal of Chemistry*, 19(7), 5407.
- ABDELLI, Mohammed A Kamel, I Daoud, S Ghalem, M Merad, Theoretical study by molecular modeling methods the inhibition of acetylcholinesterase, *Der Pharma Chemica*, 2015, 7(8):181-186.
- ADAMS, M., Plitzko, I., Kaiser, M., Brun, R., & Hamburger, M. (2009). HPLC-profiling for antiplasmodial compounds—3-Methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*. *Phytochemistry Letters*, 2(4), 159-162.
- AIT SAID, S. (2011). *Stratégies adaptatives de deux espèces du genre pistacia (p. lentiscus l. et p. atlantica Desf.) aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité: [texte imprimé]: approches morpho-anatomiques, phytochimiques et ecophysiologiques* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- AL-SAGHIR, M. G., Porter, D. M., & Nilsen, E. T. (2006). Leaf anatomy of *Pistacia* species (Anacardiaceae). *Journal of Biological Sciences*, 6(2), 242-244.
- AWAN, F. M., Obaid, A., Ikram, A., & Janjua, H. A. (2017). Mutation-structure-function relationship based integrated strategy reveals the potential impact of deleterious missense mutations in autophagy related proteins on hepatocellular carcinoma (HCC): A comprehensive informatics approach. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 139.
- BAILEY, L. H. (1949). Manual of cultivated plants. *Manual of Cultivated Plants.*, (Rev. Edn.).
- BAKCHINE, S., & Habert, M. O. (2007). Classification des démences: aspects nosologiques. *Médecine nucléaire*, 31(6), 278-293.
- BALAKUMAR, C., Ramesh, M., Tham, C. L., Khathi, S. P., Kozielski, F., Srinivasulu, C., ... & Karpoornath, R. (2018). Ligand and structure-based in silico studies to identify kinesin spindle protein (KSP) inhibitors as potential anticancer agents. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 36(14), 3687-3704.
- BARRERO, A. F., Herrador, M. M., Arteaga, J. F., Akssira, M., Mellouki, F., Belgarrabe, A., & Blázquez, M. A. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research*, 17(1), 52-54.
- BAUM, A., Sachidanandam, R., & García-Sastre, A. (2010). Preference of RIG-I for short viral RNA molecules in infected cells revealed by next-generation sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(37), 16303-16308.
- BELHADJ, S., Derridj, A., Auda, Y., Gers, C., & Gauquelin, T. (2008). Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany*, 86(5), 520-532.

- BELHADJ, S. (1999). Les pistacheraies algériennes. Etat actuel et dégradation. *Cahiers Options MED*, 56, 107-109.
- BENABDERRAHMANE, M., Benali, M., Aouissat, H., & Bueso, M. J. J. (2009). Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. del'Algérie. *Phytothérapie*, 7(6), 304-308.
- BENABIDE, A., & Fennane, M. (1994). Connaissances sur la végétation du Maroc: Phytogéographie, phytosociologie et séries de végétation. *Lazaroa*, 14, 21.
- BENABID, A., & Fennane, M. (1994). Connaissances sur la végétation du Maroc: Phytogéographie, phytosociologie et séries de végétation. *Lazaroa*, 14, 21.
- BENHAMMOU, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2007). ANTIRADICAL CAPACITY OF THE PHENOLIC COMPOUNDS OF *Pistacia lentiscus* L. AND *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences*, 29(3), 155-161.
- BENHAMMOU, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2), 022-028.
- BENHASSAINI, H., Bendeddouche, F. Z., Mehdadi, Z., & Romane, A. (2008). GC/MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Natural Product Communications*, 3(6), 1934578X0800300621
- BENHASSAINI, H., Mehdadi, Z., Hamel, L., & Belkhodja, M. (2007). Phytoécologie de *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* dans le Nord-Ouest algérien. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 18(3), 199-205
- BENHASSAINI, H., & Belkhodja, M. (2004). Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. *La feuille et l'aiguille*, 54, 1-2
- BIGOT-CORBEL, E., & Le Carrer, D. (2017). EVALUATION OF THE RAPIDCOM® SOFTWARE IN HbA1c POCT ISO 22870 ACCREDITATION: Cod: T076. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 55.
- BLENNOW, K., & Zetterberg, H. (2006). Pinpointing plaques with PIB. *Nature medicine*, 12(7), 753-754.
- BOUKLIKHA, Z., & BERRICHI, M. (2017). *Estimation de l'envasement d'un barrage par le modèle PISA. Cas du barrage de El Izdihar* (Doctoral dissertation).
- BURTE, J. N. (1992). Le bon jardinier. *Rustique*, 2276-7.
- Cheignon, C., Tomas, M., Bonnefont-Rousselot, D., Faller, P., Hureau, C., & Collin, F. (2018). Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox biology*, 14, 450-464.
- DAINA, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7, 42717.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DAOUDI, A., Terranti, S., Hammouda, R. F., &Bédrani, S. (2013). Adaptation à la sécheresse en steppe algérienne: le cas des stratégies productives des agropasteurs de Hadj Mechri. *Cahiers Agricultures*, 22(4), 303-310.
- DELACOURTE, A., Campion, D., &Davous, P. (2007). Maladie d'Alzheimer. *EMC Neurologie*, 17-056.
- DELAZAR, A., Reid, R. G., &Sarker, S. D. (2004). GC-MS analysis of the essential oilfrom the oleoresin of Pistacia atlantica var. mutica. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(1), 24-27.
- DONG, J., Lu, G., Wu, F., Xu, C., Kang, X., & Cheng, Z. (2018). Facile synthesis of a nitrogen-dopedgrapheneflower-like MnO₂ nanocomposite and its application in supercapacitors. *Applied Surface Science*, 427, 986-993.
- DRWAL, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R., &Preissner, R. (2014). ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleicacidsresearch*, 42(W1), W53-W58.
- DUVCKAERTS, C., Dürr, A., Cancel, G., & Brice, A. (1999). Nuclear inclusions in spinocerebellarataxia type 1. *Acta neuropathologica*, 97(2), 201-207.
- EDBAUUER, D., Winkler, E., Regula, J. T., Pesold, B., Steiner, H., &Haass, C. (2003). Reconstitution of γ -secretase activity. *Nature cellbiology*, 5(5), 486-488.
- EGAN, T. D. (2000). *U.S. Patent No. 6,106,545*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- El KADMIRI, N., Hamzi, K., El Moutawakil, B., Slassi, I., &Nadifi, S. (2013). Les aspects génétiques de la maladie d'Alzheimer (Revue). *Pathologie Biologie*, 61(6), 228-238.
- FAKROUNI, H. (2017). *Contribution à l'étude éco-physiologique de Desf. dans la région d'Aïn El melh (Daïet El Btom)* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf, M'sila).
- FENNANE, M. M. Ibn Tattou, A. Ouyahya& J. El Oualidi (eds.)(2007). Flore Pratique du Maroc 2. *Trav. Inst. Sci., Sér. Bot*, 38.
- FENNANE, M., Ibn Tattou, J., Ouyahya, A., & El Oualidi, J. (2007). Flore pratique du Maroc, Vol. II. *Trav. Inst. Sci. Rabat*.
- FOLCH, J., Ettcheto, M., Petrov, D., Abad, S., Pedrós, I., Marin, M., ... &Camins, A. (2018). Review of the advances in treatment for Alzheimer disease:strategies for combating β -amyloid protein. *Neurologia (English Edition)*, 33(1), 47-58.
- FRATIGLIONI, L., Wang, H. X., Ericsson, K., Maytan, M., &Winblad, B. (2000). Influence of social network on occurrence of dementia: a community-based longitudinal study. *The lancet*, 355(9212), 1315-1319.
- GAUSSEN, H. (1982). Précis de botanique.
- Geronikaki, A., Poroikov, V., Hadjipavlou-Litina, D., Filimonov, D., Lagunin, A., &Mgonzo, R. (1999). Computer aidedpredicting the biologicalactivityspectra and experimentaltesting of new thiazole derivatives. *Quantitative Structure-Activity Relationships*, 18(1), 16-25.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- GHALEM, B. R., & Mohamed, B. (2009). Essential oil from gum of *Pistacia atlantica* Desf.: screening of antimicrobial activity. *Afr J Pharm Pharmacol*, 3(3), 87-91.
- GOURINE, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., Stocker, P., & Gaydou, E. M. (2010). Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products*, 31(2), 203-208.
- HAMDAN, I. I., & Afifi, F. U. (2004). Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 93(1), 117-121.
- HANON, O., & Duron, E. (2011). Maladie d'Alzheimer et facteurs de risque vasculaire. *La Revue de médecine interne (Paris)*, 32.
- HEIDARI-BENI, M., Rafie, N., Golpour-Hamedani, S., & Derakhshande-Rishehri, S. M. (2018). The role of nutrition in the prevention and treatment of Alzheimer's Disease.
- HU, N., Yu, J. T., Tan, L., Wang, Y. L., Sun, L., & Tan, L. (2013). Nutrition and the risk of Alzheimer's disease. *BioMed research international*, 2013.
- HUAT, T. J., Camats-Perna, J., Newcombe, E. A., Valmas, N., Kitazawa, M., & Medeiros, R. (2019). Metal toxicity links to Alzheimer's disease and neuroinflammation. *Journal of molecular biology*, 431(9), 1843-1868.
- HUR, J. Y., & Chung, M. L. (2016). Risk factor analysis and scoring system for neurodevelopmental outcomes after neonatal seizures. *J Neonatal Biol*, 5(4).
- IMBERTY, A., Buléon, A., Tran, V., & Pérez, S. (1991). Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch-Stärke*, 43(10), 375-384.
- KAWACHTY, S. A., Mosharafa, S. A. M., El-Gibali, M., & Saleh, N. A. M. (2000). The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(9), 915-917.
- KEDDERIS, G. L. (2010). Biotransformation of toxicants.
- KHANNA, V., Ranganathan, S., & Petrovsky, N. (2019). Rational structure-based drug design. In *Encyclopedia of bioinformatics and computational biology* (pp. 585-600). Elsevier.
- KOLLMAN, P. A., Massova, I., Reyes, C., Kuhn, B., Huo, S., Chong, L., ... & Donini, O. (2000). Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models. *Accounts of chemical research*, 33(12), 889-897.
- KOVACS, J. A. (2004). Synthetic analogues of cysteinylated non-heme iron and non-corrinoid cobalt enzymes. *Chemical reviews*, 104(2), 825-848.
- LAMMICH, S., Okochi, M., Takeda, M., Kaether, C., Capell, A., Zimmer, A. K., ... & Haass, C. (2002). Presenilin-dependent intramembrane proteolysis of CD44 leads to the liberation of its intracellular domain and the secretion of an A β -like peptide. *Journal of Biological Chemistry*, 277(47), 44754-44759.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- LAPRE, E. (2010). *Maladie d'Alzheimer et thérapies non médicamenteuses: évaluation de la stimulation cognitive et de l'activité physique sur le fonctionnement exécutif* (Doctoral dissertation, Bordeaux 2).
- LIPINSKI, E. (2001). *Semitic languages: outline of a comparative grammar* (Vol. 80). Peeters Publishers.
- LOPEZ-BLANCO, J. R., Aliaga, J. I., Quintana-Ortí, E. S., & Chacón, P. (2014). iMODS: internal coordinates normal mode analysis server. *Nucleic acids research*, 42(W1), W271-W276.
- LOPEZ-BLANCO, J. R., Garzón, J. I., & Chacón, P. (2011). iMod: multipurpose normal mode analysis in internal coordinates. *Bioinformatics*, 27(20), 2843-2850.
- MECHERARA-IDJERI, S., Hassani, A., Castola, V., & Casanova, J. (2008). Composition of leaf, fruit and gall essential oils of Algerian *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research*, 20(3), 215-219.

- MITCHEH, A. (1986). *Tous les Arbres de nos Forêts*, édition Bordas, p 319.
- MONJAUZE, A. (1980). *Connaissance du bétoum Pistacia atlantica* Desf.
- MORRIS, G. M., & Lim-Wilby, M. (2008). Molecular docking. In *Molecular modeling of proteins* (pp. 365-382). Humana Press.
- MOULTON, P. V., & Yang, W. (2012). Air pollution, oxidative stress, and Alzheimer's disease. *Journal of environmental and public health*, 2012.
- MOZZAFAIN, V. (1998). *A dictionary of Iranian plants names*. Tehran.
- MURPHY, M. P., & LeVine III, H. (2010). Alzheimer's disease and the amyloid- β peptide. *Journal of Alzheimer's disease*, 19(1), 311-323.
- MUTTER, J., Naumann, J., Sadaghiani, C., Schneider, R., & Walach, H. (2004). Alzheimer disease: mercury as pathogenetic factor and apolipoprotein E as a moderator. *Neuroendocrinology Letters*, 25(5), 331-339.
- O'BRIEN, R. J., & Wong, P. C. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annual review of neuroscience*, 34, 185-204.
- OKOYE, T. C., Uzor, P. F., Onyeto, C. A., & Okereke, E. K. (2014). Safe African Medicinal Plants for Clinical Studies. In *Toxicological Survey of African Medicinal Plants* (pp. 535-555). Elsevier.
- OZENDA, P. (1983). *Flore du Sahara*. 2e éd. CNRS, Paris.
- POLANSKI, M., & Bystrzycki, J. (2009). Comparative studies of the influence of different nano-sized metal oxides on the hydrogen sorption properties of magnesium hydride. *Journal of Alloys and Compounds*, 486(1-2), 697-701.
- PRABHAKAR, P. K. (2016). Pathophysiology of secondary complications of diabetes mellitus. *PATHOPHYSIOLOGY*, 9(1).
- RIEDEL, B. C., Thompson, P. M., & Brinton, R. D. (2016). Age, APOE and sex: triad of risk of Alzheimer's disease. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 160, 134-147.
- ROUAUD, O., & Demonet, J. F. (2018, March). La maladie d'Alzheimer et les maladies apparentées. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 18, No. 11, pp. 247-253). EMH Media.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- SEUBERT, P., Vigo-Pelfrey, C., Esch, F., Lee, M., Dovey, H., Davis, D., ... & McCormack, R. (1992). Isolation and quantification of soluble Alzheimer's β -peptide from biological fluids. *Nature*, 359(6393), 325-327.
- SHIMIZU, H., Nakagami, H., Osako, M. K., Hanayama, R., Kunugiza, Y., Kizawa, T., ... & Morishita, R. (2008). Angiotensin II accelerates osteoporosis by activating osteoclasts. *The FASEB Journal*, 22(7), 2465-2475.
- SINGH, N. M., Husain, S., & AST Infectious Diseases Community of Practice. (2013). Aspergillosis in solid organ transplantation. *American Journal of Transplantation*, 13(s4), 228-241.
- STEINER, H., Winkler, E., Edbauer, D., Prokop, S., Basset, G., Yamasaki, A., ... & Haass, C. (2002). PEN-2 is an integral component of the γ -secretase complex required for coordinated expression of presenilin and nicastrin. *Journal of Biological Chemistry*, 277(42), 39062-39065.
- TCHOUNWOU, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. In *Molecular, clinical and environmental toxicology* (pp. 133-164). Springer, Basel.
- TIWARI, S., & Bahadur, P. (2019). Modified hyaluronic acid based materials for biomedical applications. *International journal of biological macromolecules*, 121, 556-571.
- TOL, R. S. (1999). Safe policies in an uncertain climate: an application of FUND. *Global Environmental Change*, 9(3), 221-232.
- TOMAR, N. R., Singh, V., Marla, S. S., Chandra, R., Kumar, R., & Kumar, A. (2010). Molecular docking studies with rabies virus glycoprotein to design viral therapeutics. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 72(4), 486.
- TOPCU, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816-822.

- VASSAR, R., Bennett, B. D., Babu-Khan, S., Kahn, S., Mendiaz, E. A., Denis, P., ... & Luo, Y. (1999). β -Secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *science*, 286(5440), 735-741.
- VASSAR, R., Kovacs, D. M., Yan, R., & Wong, P. C. (2009). The β -secretase enzyme BACE in health and Alzheimer's disease: regulation, cell biology, function, and therapeutic potential. *Journal of Neuroscience*, 29(41), 12787-12794.
- VEBER, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12), 2615-2623.
- WOLFE, M. S. (2019). Dysfunctional γ -secretase in familial Alzheimer's disease. *Neurochemical research*, 44(1), 5-11.
- YEGAMBARAM, M., Manivannan, B., G Beach, T., & U Halden, R. (2015). Role of environmental contaminants in the etiology of Alzheimer's disease: a review. *Current Alzheimer Research*, 12(2), 116-146.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- YI, T., Wen, J., Golan-Goldhirsh, A., & Parfitt, D. E. (2008). Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). *American Journal of Botany*, 95(2), 241-251.
- YAAQOBI, A., El Hafid, L., & Haloui, B. (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc. *Biomatec Echo*, 3(6), 39-49.
- YOUSFI, M., Nadjemi, B., Belal, R., Bombarda, I., & Gaydou, E. M. (2005). Triacylglycerol composition of oil from *Pistacia atlantica* fruit growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(2), 93-96.
- YOUSFI, M., Nadjemi, B., Belal, R., & Bertal, D. B. (2003). Étude des acides gras de huile de fruit de pistachier de l'Atlas algérien. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 10(5-6), 425-427.
- YOUSFI, M., Nadjmi, B., Bellal, R., Ben Bertal, D., & Palla, G. (2002). Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(10), 1049-1050.
- YURIEV, E., & Ramsland, P. A. (2013). Latest developments in molecular docking: 2010–2011 in review. *Journal of Molecular Recognition*, 26(5), 215-239.
- ZAGANAS, I., Kapetanaki, S., Mastorodemos, V., Kanavouras, K., Colosio, C., Wilks, M. F., & Tsatsakis, A. M. (2013). Linking pesticide exposure and dementia: what is the evidence?. *Toxicology*, 307, 3-11.
- ZARETZKI, J., Rydberg, P., Bergeron, C., Bennett, K. P., Olsen, L., & Breneman, C. M. (2012). RS-Predictor models augmented with SMARTCyp reactivities: robust metabolic regioselectivity predictions for nine CYP isozymes. *Journal of chemical information and modeling*, 52(6), 1637-1659.
- ZARETZKI, J., Rydberg, P., Bergeron, C., Bennett, K. P., Olsen, L., & Breneman, C. M. (2012). RS-Predictor models augmented with SMARTCyp reactivities: robust metabolic regioselectivity predictions for nine CYP isozymes. *Journal of chemical information and modeling*, 52(6), 1637-1659.
- ZHANG, X., Qin, J., Xue, Y., Yu, P., Zhang, B., Wang, L., & Liu, R. (2014). Effect of aspect ratio and surface defects on the photocatalytic activity of ZnO nanorods. *Scientific reports*, 4, 4596.
- ZHANG, Y., Tang, Z. R., Fu, X., & Xu, Y. J. (2011). Engineering the unique 2D mat of graphene to achieve graphene-TiO₂ nanocomposite for photocatalytic selective transformation: what advantage does graphene have over its forebear carbon nanotube?. *ACS nano*, 5(9), 7426-7435.
- ZHOU, R., Yu, X., Ottosen, C. O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., ... & Wu, Z. (2017). Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC plant biology*, 17(1), 24.

يعد مرض الزهايمر من أكثر الخرف شيوعًا. في هذا المرض التنكسي العصبي، هناك تراكم تدريجي β -amyloid ($A\beta$) في الدماغ. لذلك، فإن التأثير على إنتاج وتجميع ببتيد β -amyloid ($A\beta$) يمثل نهجًا علاجيًا لعلاج هذا المرض. هذا التأثير يرجع بشكل رئيسي إلى تثبيط إفرازات سرية مسؤولة عن توليد هذا الببتيد: β - و γ -secretase. في هذه الدراسة وباستخدام طرق النمذجة الجزيئية (الميكانيكا الجزيئية والرسو الجزيئي والديناميكيات الجزيئية)، اكتشفنا أن نبات *Pistacia atlantica* من عائلة *anacardiaceae* يحتوي على جزيئات تمثل مثبطات جيدة لهذه الإفرازات: β - سيتوسترول وحمض الأوليك اللذين يثبطان على التوالي γ -secretase و β -secretase. **الكلمات المفتاحية:** مرض الزهايمر، β -secretase، γ -secretase، *Pistacia atlantica*، النمذجة الجزيئية

Résumé

La maladie d'Alzheimer est l'une des démences les plus fréquentes. Dans Cette maladie neurodégénérative on observe une accumulation progressive d'oligomères solubles de peptides β -amyloïdes ($A\beta$) dans le cerveau. Par conséquent, une influence sur la production et l'agrégation du peptide β -amyloïdes ($A\beta$) représenterait une approche thérapeutique pour le traitement de cette maladie. Cette influence est bas surtout sur l'inhibition des sécrétases responsable de la génération de ce peptide : la γ -sécrétase et la β -sécrétase. Dans cette étude et en faisant appel aux méthodes de modélisation moléculaire (mécanique moléculaire, Docking moléculaire et dynamique moléculaire), nous avons découvert que la plante *Pistacia atlantica* de la famille des *anacardiaceae* contient des molécules qui représentent de bons inhibiteurs pour ces sécrétases : le β -sitostérol et l'acide oléiques qui inhibent respectivement la γ -sécrétase et la β -sécrétase.

Mots clés : Maladie d'Alzheimer, β -sécrétase, γ -sécrétase, *Pistacia atlantica*, modélisation moléculaire

Abstract

One of the most common dementias is Alzheimer's disease. In this neurodegenerative disease there is a progressive accumulation of soluble oligomers of β -amyloid peptides ($A\beta$) in the brain. Therefore, an influence on the production and aggregation of the β -amyloid peptide ($A\beta$) would represent a therapeutic approach for the treatment of this disease. This influence is mainly due to the inhibition of secretases responsible for the generation of this peptide: γ -secretase and β -secretase. In this study and using molecular modeling methods (molecular mechanics, molecular docking and molecular dynamics), we discovered that the plant *Pistaciaatlantica* of the *Anacardiaceae* family contains molecules which represent good inhibitors for these secretases: β -sitosterol and oleic acid which respectively inhibit γ -secretase and β -secretase.

Key words : Alzheimer disease, β -secretase, γ -secretase,*Pistaciaatlantica*, molecular modeling.