



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID 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 des produits Naturels

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Science alimentaire

Option: nutrition et diététique

Thème :

*Etude in silico des activités anticancéreuse et anti-Alzheimer des
extraits des feuilles de Prunus persica et Rubus ulmefolius*

Présenté par : M^{lle} Krouni Wassila

Devant le jury composé de :

Mme Belarbi Meriem	Pr au département de biologie à l'Université de Tlemcen	Présidente
Mme Mansouri Hadjer	Dr au département de chimie à l'Université de Tlemcen	Encadrant
Mme Bendimerad Nahida	Dr au département des sciences de techniques appliquées à l'Université de Tlemcen	examinatrice

Année universitaire 2022-2023

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes parents

Pour tous leurs amours, sacrifices,

Leur soutien durant mes études,

Pour toute leur présence et leur aide dans ma vie.

A tous ma famille

A ma collègue CHAIMAA.

Remerciement

Je remercie ALLAH le Tout-Puissant de m'avoir donné la force, la volonté et le courage de réussir, et d'avoir fait ce travail avec persévérance.

*Je voudrais exprimer ma gratitude à mon encadrant, **Dr. Mansouri Hadjer** qui m'a guidé tout au long de ce travail.*

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au **Pr. Belarbi Meriem** d'avoir acceptés de présider ce mémoire.*

*J'adresse mes vifs et sincères remerciements au **Dr. Bendimerad Nahida** pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.*

Merci à tous...

LISTE DES ABREVIATIONS

ER α : Récepteur d'œstrogène alpha.

ER β : Récepteur d'œstrogène bêta.

SERM : Modulateur sélectif des récepteurs d'œstrogènes.

MA : Maladie d'Alzheimer.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide forme réduite.

IRM : Imagerie par résonance magnétique.

ACh : Acétylcholine.

AChE : Acétylcholinestérase.

BuChE : Butyrylcholinestérase.

SMILES: Simplified Molecular-Input Line-Entry System.

3D : Modélisation tridimensionnelle.

PDB : Protein Data Bank.

RMSD : Root Mean Square Deviation.

nRot : Nombre de rotation.

UCSF : Université de Californie, San Francisco.

Phe : Phénylalanine.

Leu : Leucine.

Arg : Arginine.

Glu : Acide Glutamique.

Trp : Tryptophane.

His : Histidine.

ALa : Alanine.

Thr : Thréonine.

Tyr : Tyrosine.

Ser : Serine.

Val : Valine.

Gly : Glycine.

Asp : Acide Aspartique.

Pro : Proline.

p : Prunus persica.

r : Rubus ulmifolius.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	01
Références bibliographiques	03

CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

I. Généralités sur l'activité anticancéreuse	05
I.1. Définition du Cancer	05
I.2 Cancer de sein	05
I.3 Cancer du sein chez L'homme	06
I.4 Causes du cancer du sein	07
I.5 Les symptômes du cancer du sein	07
I.6 Le diagnostic	07
I.6.1. La mammographie	07
I.6.2. L'échographie	08
I.6.3. IRM mammaire	08
I.7 Le traitement du cancer du sein	08
I.7.1. La chirurgie	08
I.7.2. La chimiothérapie	08
I.7.3. La radiothérapie	09
I.7.4. Hormonothérapie	09
I.8. Traitement hormonal anti-estrogènes	09
I.9. Traitement anti-aromatase	11
II. Généralités sur l'activité anti-Alzheimer	13
II.1. Les maladies neurodégénératives	13
II.2 La maladie d'Alzheimer	13
II.4 Les symptômes de la maladie	14
II.5 Facteurs de risques	14
II.6 Diagnostique	15
II.6.1 Diagnostique grâce aux tests médicaux traditionnels	15
II.6.2 Les techniques d'imagerie cérébrale	16
II.7 Le stress oxydatif	16
II.8 Acétylcholine	16
II.9 Cholinestérase	17
II.9.1 Butyrylcholinestérase (BuChE)	17
II.8.2 Acétylcholinestérase (AChE)	18
II.9 Traitement de la maladie d'Alzheimer	18
II.9.1 Inhibiteurs des cholinestérases	18

Table des matières

III. Les plantes médicinales	20
III.1 Historique	20
III.2 Les plantes médicinales	20
III.2 La phytothérapie	20
III.3 Prunus Persica	20
III.4 Rubus ulmifolius	23
III.5 Les composés phénoliques présentés dans les extraits des deux plantes Prunus persica et Rubus ulmifolius	24
Références bibliographiques	26

CHAPITRE II : METHODES DE CALCULS

Historique	33
I. Docking moléculaire	33
I.1 Introduction	33
I.2 Définition	33
I.3 Les types de docking moléculaire	34
I.4 Interactions ligand- protéine	35
I.5 Les outils du Docking moléculaire	37
I.6 Scoring	38
I.7 Algorithme de docking	38
I.8 RMSD	39
II. Règles <i>druglikeness</i>	39
II.1 Description	39
II.2 Propriétés physicochimiques	39
II.2.1 Poids moléculaire (MW)	39
II.2.2 Solubilité (Log S)	39
II.2.3 Hydrophobicité (Log P)	40
II.2.4 Liaison Hydrogène (n.Hacc, n.Hdon)	40
II.2.5 Paramètres géométriques	40
II.2.6 Surface Polaire Topologique (TPSA)	40
II.2.7 Réfractivité Molaire (MR)	40
II.3 Différentes règles <i>druglikeness</i>	41
III. Pharmacocinétique et propriétés ADMET	41
IV. Prédiction ADMET in silico	43
Références bibliographiques	48

CHAPITRE III : Applications, résultats et discussions

Table des matières

I. Matériels et méthodes utilisé dans ce travail.....	51
I.1. Matériels.....	51
I.2 Bases des données.....	51
I.3. Méthodologie de calculs	52
II Evaluation <i>in silico</i> de l'activité anticancéreuse.....	53
II.1 Préparation de la protéine (récepteur).....	53
II.2 Préparation des ligands	53
II.3. Résultats du docking moléculaire	57
III.4. Visualisation des interactions	59
III Evaluation <i>in silico</i> de l'activité anti-Alzheimer.....	62
III.1 Préparation de la protéine (récepteur)	62
III.2 Préparation des ligands.....	65
III.3. Résultats du docking moléculaire.....	65
III.4. Visualisation des interactions	66
IV. Évaluation des règles <i>druglikeness</i> et des paramètres pharmacocinétiques ADMET pour l'activité anticancéreuse, et anti-Alzheimer	69
IV.1 Les propriétés physico-chimiques et les règles <i>druglikeness</i>	69
IV.2. Les propriétés pharmacocinétique (ADME/Tox).....	71
IV.3 Conclusion générale sur ADME/Tox	76
Références bibliographiques	77
CONCLUSION GENERALE	80

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Au cours des dernières décennies les produits naturels ont suscités un intérêt croissant dans le domaine de la recherche scientifique et notamment les métabolites secondaires grâce à leur importance dans la médecine, la nutrition humaine et l'industrie alimentaire [1].

Dans de nombreux pays, les plantes médicinales ont attiré l'attention en tant que source alternative potentielle de thérapie pour de nombreuses maladies [2], en raison de la croyance que ces plantes sont des produits naturels, ils ont moins d'effets secondaires et une meilleure efficacité que leurs homologues synthétiques [3]. Les plantes médicinales sous toutes leurs formes sont largement utilisées en Algérie. En raison de la variabilité du climat, l'Algérie possède une richesse et une variété de plantes médicinales et a donc une longue histoire dans la médecine traditionnelle.

Le cancer du sein est un problème de santé publique ; Cette maladie est la première cause de décès chez les femmes ménopausées. Des changements dans les cellules mammaires peuvent causer le cancer du sein. Il survient le plus souvent dans les cellules tapissant les canaux, qui sont les tubes qui transportent le lait des glandes au mamelon, mais il peut également se former dans les cellules du lobe, qui sont des groupes de glandes qui produisent du lait [4].

La maladie d'Alzheimer (MA) est la forme la plus courante de démence progressive chez les personnes âgées [5]. La MA affecte plus de 50 millions de personnes dans le monde. Près de 10 millions de nouveaux cas sont signalés chaque année [6]. Il s'agit d'une maladie neurodégénérative caractérisée par des enchevêtrements neurofibrillaires intracellulaires et des plaques amyloïdes extracellulaires dans les zones sensibles du cerveau [7]. Le début de la maladie d'Alzheimer est généralement subtil, avec une initiative réduite et un certain manque de mémoire, un jugement altéré, des difficultés progressives de recherche de mots et une perte de mémoire et troubles du comportement avec changement d'humeur [8].

L'interaction entre les molécules et la formation du complexe était une préoccupation pour de nombreux chercheurs jusqu'à l'avènement de docking moléculaire et d'autres outils bio-informatiques [9]. Les méthodes d'amarrage (docking) moléculaire peuvent être utilisées pour identifier les interactions entre un petit ligand de type médicament et une molécule cible, permettant ainsi une prédiction fiable de l'affinité de liaison. Une stratégie pour améliorer la sélection des candidats médicaments-ligands est basée sur les résultats des approches *in silico*. Ces résultats réduisent le nombre d'essais biologiques inutiles et réduisent considérablement le nombre de composés inefficaces synthétisés [10]. La communauté scientifique montre de

INTRODUCTION GENERALE

plus en plus un intérêt croissant pour les méthodes de docking moléculaire, comme en témoigne le nombre croissant de publications dans ce domaine.

Dans notre travail nous avons examiné la capacité d'inhibition des récepteurs d'œstrogène alpha et l'acétylcholinestérase qui sont des cibles thérapeutiques pour le cancer du sein et la maladie d'Alzheimer respectivement, par les composés phénoliques présentes dans les feuilles des plantes médicinales *Prunus persica* et *Rubus ulmefolius* à l'aide d'une approche *in silico* de modélisation moléculaire.

Ce travail est divisé en trois chapitres comme suit:

- ✓ Le premier chapitre est un bref aperçu de la littérature sur le cancer du sein et la maladie d'Alzheimer, ainsi que une présentation succincte des plantes médicinales étudiées dans ce travail.
- ✓ Le deuxième chapitre présente les concepts de base du docking moléculaire, les règles des *druglikenes* et les propriétés de l'ADME/Tox.
- ✓ Et finalement, le troisième chapitre des différents résultats obtenus ainsi que la discussion.

Et nous clôturant ce mémoire par une conclusion générale ainsi que les prochaines perspectives.

INTRODUCTION GENERALE

Références:

- [1] : Oliveira I., Coelho V., Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology*, Vol 47(7), p 1507-1511, 2009.
- [2] : Sheng W. D., Jiddawi, M. S., Treatment of chloroquine-resistant malaria using pyrimethamine in combination with berberine, tetracycline or cotrimoxazole. *East African medical journal*, Vol 74(5), p 283-284, 1997.
- [2] : Batiha, G. E. S., Beshbishy, A. M., Phytochemical screening and antiprotozoal effects of the methanolic *Berberis vulgaris* and acetic *Rhus coriaria* extracts. *Molecules*, Vol 25(3), 2020.
- [3] : Batiha, G. E. S., Beshbishy, A. M., Inhibitory effects of *Syzygium aromaticum* and *Camellia sinensis* methanolic extracts on the growth of *Babesia* and *Theileria* parasites. *Ticks and tick-borne diseases*, Vol 10(5), p 949-958, 2019.
- [4] : Qu'est ce que le cancer du sein [En ligne : <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/breast/what-is-breast-cancer>].
- [5] : Atlam, F., Awad, M., Factors Influencing the Potency of Alzheimer Inhibitors: Computational and Docking Studies. *Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen*, Vol 33(3), p 166-175 2018.
- [6] : Maitre, M., Klein, C., Mechanisms, risk factors and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Npg, Neurol. Psychiatr. Geriatr*, Vol 17(102), p 352-364. 2017.
- [7] : Sennvik, K., Fastbom, J., Levels of α - and β -secretase cleaved amyloid precursor protein in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Neurosci. Lett.* Vol 278(3), p 169-172. 2000.
- [8] : Terry, R.D., Davies, P., Dementia of the Alzheimer type. *Annu. Rev. Neurosci.* Vol 3(1), p 77-95. 1980.
- [9] : Simard, J., Collaboration haptique étroitement couplée pour la déformation moléculaire interactive, thèse de doctorat, Université Paris-Sud, 263, 2012.
- [10] : Menchaca, T. M., Juárez-Portilla, C Past, Present, and Future of Molecular Docking. *InDrug Discovery and Development-New Advances*. IntechOpen. 2020.

CHAPITRE I :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur l'activité anticancéreuse

I.1. Définition du cancer

L'organisation mondiale de la santé définit le cancer comme suit : « Le cancer est un terme général désignant un groupe de plus de 100 maladies qui peuvent affecter n'importe quelle partie du corps. L'une des caractéristiques du cancer est la multiplication rapide de cellules anormales, qui peuvent envahir les parties adjacentes du corps au-delà de leurs limites normales et se propager à d'autres organes, créant ce que l'on appelle des métastases » [1].

Les cellules cancéreuses se développent dans le corps grâce à une modification de la constitution génétique des cellules. Ces cellules anormales se forment tout au long de notre vie, mais sont généralement immédiatement détruites par notre système immunitaire. Cependant, dans certains cas, les cellules anormales ne sont pas détruites, se multiplient rapidement et forment des tumeurs : une tumeur localisée à un endroit précis du corps est rarement dangereuse. À l'inverse, lorsque le cancer se propage, il est presque toujours mortel. Près de 90% des cancers qui se terminent par la mort sont dus à des métastases; la propagation des cellules cancéreuses à d'autres organes et tissus. Pour faciliter l'entrée dans les organes, les cellules cancéreuses sécrètent des enzymes qui digèrent le tissu conjonctif environnant, ouvrant la voie aux cellules cancéreuses pour se déplacer vers d'autres organes du corps [2].

La tumeur correspond donc à une prolifération cellulaire anarchique ; il peut être bénin, c'est-à-dire rester confiné à son lieu d'origine sans se propager aux tissus voisins ou migrer à distance, ou il peut être malin, c'est-à-dire être capable d'envahir les tissus voisins par les voies sanguine et lymphatique. Seules les tumeurs malignes sont classées comme cancer car leur pouvoir d'invasion et de migration les rend si dangereuses [3].

I.2. Cancer de sein

Le sein est essentiellement constitué de tissus adipeux plus ou moins vitaux qui lui donnent une forme et un volume. La glande mammaire, enchâssée dans le tissu conjonctif, est constituée d'une vingtaine de lobules qui s'activent au cours de la lactation. Le lait qui est sécrété est drainé par des conduits galactophores séparés au niveau du mamelon. Le sein, perforé de nombreux vaisseaux sanguins, est maintenu par la peau qui le recouvre et les fibres attachées au muscle pectoral [4].

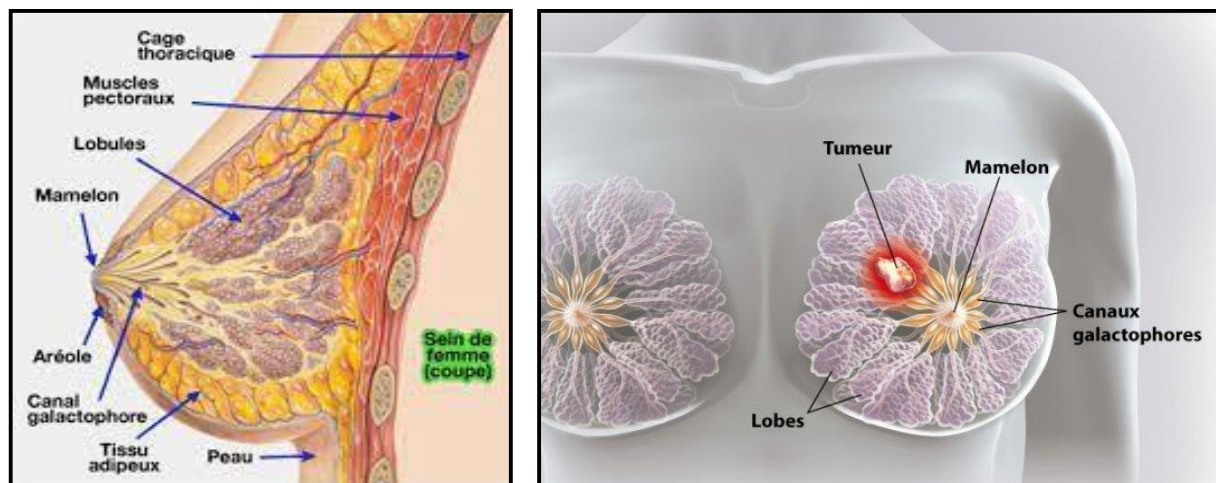


Figure 1 : schéma représentant l'anatomie interne du sein et le cancer du sein (à droite).

Le cancer du sein est une maladie des cellules qui composent la glande mammaire. Il prend naissance dans le sein, en général dans les canaux galactophores (transportent le lait au mamelon) et les lobules (produisent le lait). Il se développe à partir d'une cellule à l'origine normale qui change et se multiplie de manière incontrôlable, formant une tumeur maligne. Au fil du temps et sans traitement, la tumeur grossit. Les cellules cancéreuses peuvent se détacher vers d'autres tissus ou organes, où elles forment de nouvelles tumeurs métastases [5].

Aujourd'hui, l'incidence du cancer du sein augmente rapidement dans le monde et représente un problème majeur de santé publique. Le cancer du sein est le cancer n° 1 le plus fréquemment diagnostiqué dans le monde et le cancer n° 1 chez les femmes. En Algérie, le taux d'incidence par tranche d'âge augmente progressivement à partir de 35 ans et atteint un maximum à 70 ans [6].

I.3. Cancer du sein chez L'homme

On pense que le cancer du sein ne survit que chez les femmes, mais environ 1 % des hommes sont affectés par le cancer du sein. Environ 300 hommes reçoivent un diagnostic de cancer du sein chaque année. Chez les hommes, il y a une petite quantité de tissu derrière le mamelon, qui n'est pas aussi gros que chez les femmes, mais le cancer peut toujours s'y développer [7].

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.4. Causes du cancer du sein

Les véritables causes du cancer du sein ne sont pas exactement connues. Cependant, certains facteurs peuvent augmenter le risque chez les femmes : hérédité, puberté précoce, grossesse tardive ou l'obésité [8].

I.5. Les symptômes du cancer du sein

Les symptômes du cancer du sein apparaissent à un stade avancé du développement, ces symptômes peuvent apparaître comme suit [9] :

- Modification de la forme, du contour ou du volume du sein.
- l'apparition de nouvelles taches de naissance ou de nouvelles veines sur la poitrine.
- rougeur, chaleur et inflammation.
- Une ou plusieurs bosses durs dans la poitrine ou les aisselles qui sont relativement fixes et généralement indolores.
- Rétraction du mamelon durci.
- Un sein dévie vers la gauche ou vers la droite.
- Présence de zones de peau inégales ou bosselées (aspect peau d'orange).
- Douleurs mammaires persistantes.
- Fossettes ou petites fissures dans la peau du sein.
- Écoulement important du mamelon.

I.6. Le diagnostic

I.6.1. La mammographie

Une mammographie est une radiographie du sein. Elle permet d'obtenir des images de l'intérieur du sein à l'aide de rayons X et ainsi de détecter des anomalies. Elle détecte également les petites tumeurs à un stade précoce, avant même l'apparition des symptômes. Elle est préférable de la faire la deuxième semaine du cycle [10].



Figure 2: Une mammographie du sein.

I.6.2. L'échographie :

L'échographie mammaire nécessite l'utilisation de sondes à haute fréquence (minimum 7,5 MHz) avec un réglage optimal du gain et de la focalisation des ultrasons. Il est particulièrement adapté à la caractérisation des tumeurs détectées par mammographie (discrimination solide-liquide) et à l'évaluation des lésions palpables, quel que soit le résultat de la mammographie [11].

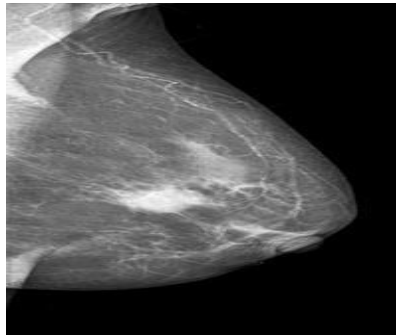


Figure 3: L'échographie de sein.

I.6.3. IRM mammaire

Lorsqu'il existe une incertitude sur la présence ou l'absence d'anomalies dans les deux examens précédents, une imagerie par résonance magnétique (IRM) du sein peut être proposée. L'IRM peut être particulièrement utile pour distinguer une anomalie bénigne d'une anomalie maligne. L'IRM mammaire est également utilisée dans la planification d'une chimiothérapie pour évaluer la réponse clinique après le traitement et avant la chirurgie [12].

I.7. Le traitement du cancer du sein

I.7.1. La chirurgie

La chirurgie est généralement la première étape du traitement après le diagnostic d'un cancer du sein. Selon la taille, la localisation et le type de tumeur, différentes techniques peuvent être utilisées pour assurer une exérèse complète de la lésion et, si possible, un bon résultat esthétique [13].

I.7.2. La chimiothérapie

La chimiothérapie (également appelée chimio) est un traitement médicamenteux du cancer. Il vise à éliminer les cellules cancéreuses quel que soit l'endroit dans l'organisme, y compris celles non détectées par les techniques d'imagerie, en stoppant leur division ou en

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

altérant leur matériel génétique par l'injection de produits chimiques appropriés (destruction directe) [14].

I.7.3. La radiothérapie

La radiothérapie joue un rôle clé dans le traitement locorégional du cancer du sein. Il réduit de 60 % le risque de récurrence locale après mastectomie (l'enlèvement chirurgical du sein). Cependant, différents obstacles ont été rapportés : proximité d'organes critiques, gestion de volumes cibles parfois élevés, ou différences anatomiques chez les patients [13].

I.7.4. Hormonothérapie

Il s'agit d'un traitement anti-hormonal qui consiste à empêcher ou bloquer les récepteurs hormonaux ou inhibition de l'aromatase, afin de ralentir ou d'interrompre la croissance de cellules cancéreuses qui ont besoin d'hormones pour se développer [15].

I.8. Traitement hormonal anti-œstrogènes :

Les œstrogènes, hormones sexuelles notamment sécrétées par les femmes, ils sont susceptibles d'activer la croissance de certaines cellules cancéreuses. Le traitement par hormonothérapie vise à empêcher ces hormones de fonctionner ou à limiter leur production afin d'éliminer les cellules cancéreuses qui y sont sensibles. Avant la ménopause, ces hormones sont principalement produites par les ovaires, après la ménopause ils sont produits dans les muscles, le foie et la graisse après transformation d'autres hormones. Un traitement anti-œstrogénique est recommandé pour les femmes non ménopausées [16].

Les anti-œstrogènes bloquent les effets des œstrogènes contre les cellules cancéreuses hormono-sensibles. C'est l'un des traitements standard du cancer du sein hormono-sensible et il est utilisé depuis plus de 30 ans. Il est prescrit depuis au moins 5 ans et est généralement bien toléré. Cependant, il y a parfois des effets secondaires, dont certains ressemblent aux symptômes de la ménopause (bouffées de chaleur) [16].

✚ Les récepteurs des œstrogènes

Les récepteurs des œstrogènes (ER) sont utilisés comme cibles thérapeutiques pour soit activés (par exemple dans la contraception ou pendant la ménopause) soit inhibés (par exemple dans le cancer du sein). Il existe deux types de récepteurs œstrogéniques : ER [alpha] et ER [bêta] :

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les récepteurs aux œstrogènes ER α et ER β appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires et sont codés par des gènes distincts. Leur rôle est important non seulement dans la reproduction féminine mais aussi masculine. ER α étant le principal prédicteur significatif du pronostic du cancer du sein. Il est utilisé comme cible principale des thérapies antihormonales adjuvantes dans le traitement du cancer du sein pour bloquer la croissance des cellules tumorales et prévenir une éventuelle récurrence [17].

✚ Les médicaments anti-œstrogènes

➤ Le tamoxifène :

Le tamoxifène, un SERM (*Selective Estrogen Receptor Modulator*) de première génération approuvé par la *Food and Drug Administration* (FDA) des Etats-Unis. C'est le médicament le plus couramment utilisé pour traiter et prévenir le cancer du sein. Il est utilisé pour bloquer les effets des œstrogènes sur les cellules mammaires qui contiennent des récepteurs hormonaux. Il est généralement prescrit aux femmes post-ménopausées et aux femmes pré-ménopausées. Il se présente en comprimés, avec une dose de 20 mg/jour. La durée de ce traitement varie entre 5 et 10 ans [18].

Le tamoxifène est couramment utilisé en complément des autres traitements du cancer du sein (chirurgie, chimiothérapie...) en raison de son effet cytostatique, c'est-à-dire de ralentissement de la multiplication des cellules dépendantes des œstrogènes. Il entraîne un allongement de la survie dans 25% à 30% des cas. Cet effet cytostatique observé dans les cellules cancéreuses du sein est également observé dans les cellules normales, ce qui rend son utilisation a priori intéressante dans le cadre d'une politique de prévention primaire du cancer du sein [18].



Figure 4 : la structure chimique et le médicament du tamoxifène.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

➤ Le raloxifène :

Le raloxifène, un SERM de deuxième génération approuvé par l'agence FDA pour la prévention de l'ostéoporose chez les femmes ménopausées. Il se distingue du tamoxifène par son absence d'effets prolifératifs dans le tissu utérin et est en cours d'évaluation pour traiter et prévenir le cancer du sein, l'ostéoporose et les maladies cardiovasculaires [19].

Le raloxifène est un dérivé non stéroïdien du benzothiophène présentant une grande affinité avec le $RE\alpha$, ce qui entraîne une activité à la fois antagoniste et agoniste.

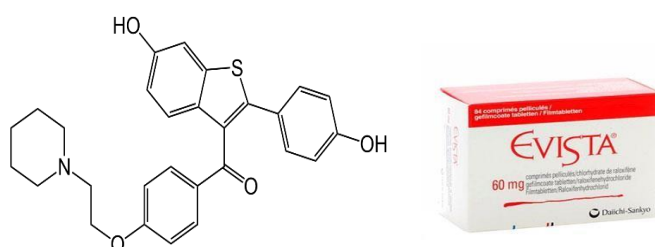


Figure 5 : La structure chimique et le médicament du raloxifène.

I.9. Traitement anti-aromatase

✚ L'aromatase

L'aromatase est une enzyme de la superfamille des cytochromes P450, que le corps utilise pour produire des œstrogènes dans des zones autres que les ovaires, telles que le tissu adipeux et les glandes surrénales [20].

L'aromatase est une enzyme humaine fonctionnelle monomérique constituée d'un groupe hème et d'une chaîne polypeptidique constituée de 503 résidus d'acides aminés. La structure tertiaire se compose de 12 hélices α majeures et de 10 brins β , divisés en 1 pli majeur et 3 plis mineurs, et suit le pli caractéristique du cytochrome P450 [21].

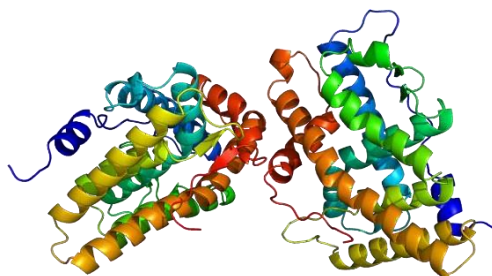


Figure 6 : La structure tertiaire de l'aromatase humaine.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Cet enzyme responsable de la biosynthèse des œstrogènes à partir de précurseurs d'androgènes. Il a été montré que trois molécules d'oxygène et six équivalents de NADPH sont consommés lors de la formation d'œstrogène. Cette transformation peut se résumer en trois étapes principales. Ces étapes séquentielles conduisent à la perte du groupe méthyle de l'angle C19 et à l'aromatisation du cycle stéroïde A [22]. Les deux premières étapes d'oxydation sont une hydroxylation typique du cytochrome P450 le mécanisme de la troisième oxydation n'est pas bien défini [23].

✚ Les inhibiteurs de l'aromatase

Les inhibiteurs de l'aromatase sont des médicaments qui arrêtent la production d'aromatase ou bloquent son action, réduisant ainsi les niveaux d'œstrogène dans le corps. Ils sont indiqués que pour les femmes post-ménopausées. Après la ménopause, les ovaires ne produisent plus d'œstrogènes, mais ils sont toujours produits par les tissus adipeux, les glandes surrénales et d'autres parties du corps. Étant donné que les inhibiteurs de l'aromatase interrompent la production d'œstrogènes dans ces zones, très peu d'œstrogènes dans le corps sont disponibles pour les cellules cancéreuses [24].

Les inhibiteurs de l'aromatase ne sont pas efficaces chez les femmes préménopausées car ces médicaments n'affectent pas les ovaires, où la plupart des œstrogènes sont produits avant la ménopause, Ils sont pris par voie orale sous forme de comprimés. Les plus couramment utilisés dans le traitement du cancer du sein sont : Létrozole (Femara), Anastrozole (Arimidex), Exémestane (Aromasin) [25].



Figure7 : Médicaments inhibiteurs de l'aromatase.

II. Généralités sur l'activité anti-Alzheimer

II.1. Les maladies neurodégénératives

Il existe plus de 600 maladies du système nerveux regroupées sous le terme de maladies neurodégénératives. Elles sont définies comme des maladies qui peuvent être génétiques ou héréditaires, survenir parfois de façon sporadique, et se caractérisent par la destruction des neurones ou de leur gaine de myéline, qui est un dysfonctionnement progressif du système nerveux. Ces maladies neurodégénératives tel que : la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, la sclérose latérale amyotrophique... etc, peuvent être graves, voire même mortelles, et la plupart d'entre elles sont incurables [26].

II.2. La maladie d'Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative qui se caractérise cliniquement par des troubles cognitifs et comportementaux progressifs, entraînant une perte d'autonomie progressive [28]. Les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer présentent souvent des problèmes de mémoire, de langage, de reconnaissance et de jugement. C'est la pathologie la plus fréquente qui affecterait plus de 25 millions de personnes dans le monde, elle touche environ 1 % des personnes âgées de 65 ans à 69 ans, 20 % des personnes ayant de 85 ans à 89 ans et 40 % des personnes ayant de 90ans à 95ans [27].

En examinant le cerveau des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, on peut observer des lésions telles que des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires, ainsi qu'une perte neuronale.

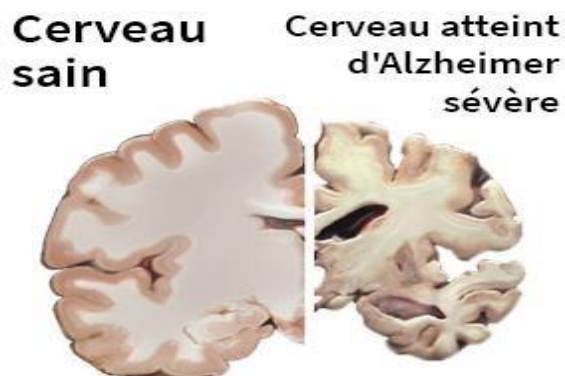


Figure 8 : La différence entre un cerveau sain et d'un malade d'Alzheimer.

II.3. Les symptômes de la maladie

La maladie d'Alzheimer se manifeste généralement par des troubles de la mémoire, notamment pour se souvenir d'événements récents qui se sont produits au cours des heures ou des jours précédents. Ensuite, le patient peut rencontrer des difficultés à s'orienter dans le temps et l'espace (désorientation temporo-spatiale), ainsi qu'une difficulté à trouver les mots justes pour communiquer (anomie). D'autres symptômes peuvent également apparaître, tels que des difficultés à effectuer des gestes connus (apraxie gestuelle) ou à reconnaître des visages familiers (prosopagnosie). De plus, des troubles du comportement peuvent survenir, comme une apathie, de l'agressivité ou des délires. L'ensemble de ces symptômes peut affecter plus ou moins rapidement l'autonomie du patient [28].

II.4. Facteurs de risques

De nombreux facteurs ont été étudiés, dans le but d'expliquer l'origine de la maladie d'Alzheimer.

- **L'âge** : C'est le facteur de risque le plus fréquemment cité dans les études épidémiologiques. Le nombre de nouveaux cas de patients Alzheimer augmente de façon exponentielle avec l'âge après 65 ans [29].
- **Les antécédents familiaux et la génétique** : peuvent jouer un rôle dans la survenue de la maladie d'Alzheimer. Dans environ 5 à 7 % des cas, la maladie est liée à une forme précoce de la maladie d'Alzheimer familiale (FFMA). Cette forme précoce est associée à une mutation génétique héréditaire qui se transmet de génération en génération. Si un parent est atteint de FFMA, chacun de ses enfants a 50% de chances d'hériter de la maladie. Si les deux parents sont atteints de FFMA, tous leurs enfants développeront la maladie d'Alzheimer à l'âge adulte [30].
- **Les facteurs de risque vasculaires** : peut-être annexés à la maladie d'Alzheimer comme l'obésité, l'hypertension, le diabète de type 2. Des antécédents d'accident vasculaire cérébral et de traumatisme crânien peuvent également augmenter le risque de développer la maladie d'Alzheimer en raison d'une diminution du flux sanguin [31].
- **Le genre** : Deux fois plus de femmes que d'hommes souffrent de la maladie d'Alzheimer. Certains pensent que cela est principalement dû aux changements hormonaux qui se produisent avec la ménopause, en particulier la baisse des œstrogènes, une hormone clé [32].

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

- **Facteurs d'environnement** : Pour de nombreuses pathologies, il est désormais clair que le mode de vie est un facteur important dans l'apparition et la progression des maladies, y compris la maladie d'Alzheimer. Ainsi, les troubles nutritionnels et métaboliques ont un impact sur la survenue de cette maladie. Une alimentation riche en graisses saturées, en glucides simples et en sel peut entraîner l'obésité, le diabète et l'hypertension artérielle. Ces syndromes peuvent s'accompagner d'un syndrome inflammatoire et augmenter l'incidence de la maladie d'Alzheimer. La consommation d'alcool et de tabac sont aussi des comportements pro-oxydants et augmentent probablement le vieillissement cellulaire et donc le taux de maladie d'Alzheimer. Les polluants environnementaux peuvent également augmenter le taux de cette maladie tels que certains métaux neurotoxiques (plomb, mercure, aluminium, cadmium, etc.) [33].

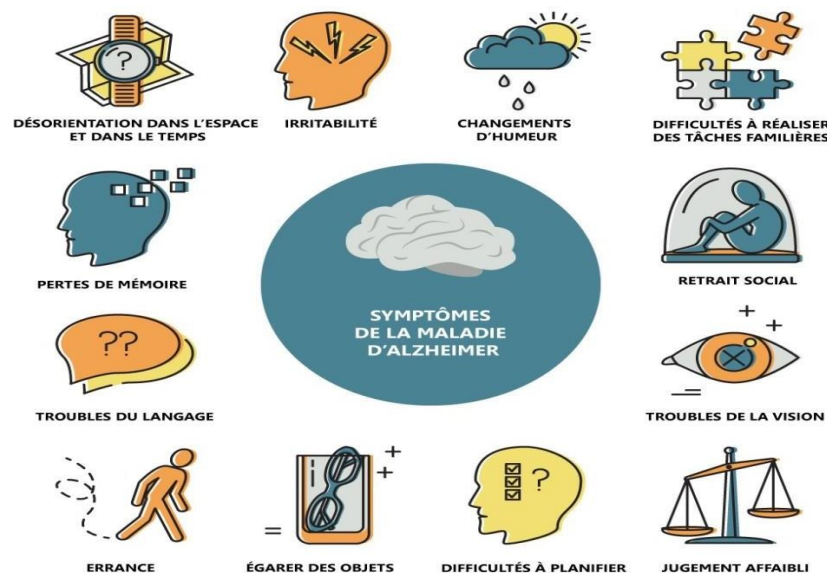


Figure 8 : Symptômes de la maladie d'Alzheimer.

II.5. Diagnostique

II.5.1 Diagnostique grâce aux tests médicaux traditionnels

Pour établir un diagnostic, le médecin utilise les résultats de plusieurs tests médicaux et interroge d'abord le patient pour connaître ses pertes de mémoire et les autres difficultés qu'il rencontre dans la vie quotidienne. Des tests sont ensuite administrés pour évaluer les capacités cognitives comme des tests de vision, d'écriture, de mémoire, de résolution, etc.,

II.5.2 Les techniques d'imagerie cérébrale

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est maintenant utilisée plus fréquemment et permet un diagnostic plus précis. L'IRM permet de diagnostiquer les démences neurodégénératives, en particulier la maladie d'Alzheimer. L'analyse morphologique des structures cérébrales par résonance magnétique montre des changements visibles sous forme d'atrophie focale ou d'anomalies de signalisation typiques de certaines démences dégénératives [34].

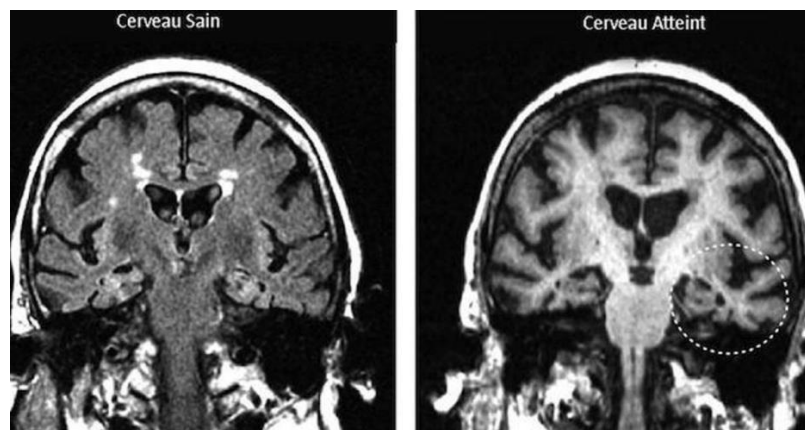


Figure 9 : IRM d'un cerveau sain et d'un cerveau malade.

II.6 Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la génération de *Reactive Oxygen Species* (ROS) et les systèmes de défense antioxydants [35]. Ce phénomène est connu pour jouer un rôle crucial dans l'apparition de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (MA) en raison que ces espèces peuvent être produites dans le cerveau par des sources exogènes, comme les médicaments dont le mécanisme d'action est médié par les ROS. Cependant, il existe également des sources endogènes, où la production de ROS est médiée par des enzymes mitochondriales et non mitochondriales, notamment le nicotinamide, adénine dinucléotide phosphate oxydase (NOX) et la xanthine oxydase [36].

II.7 Acétylcholine

L'acétylcholine (ACh) a été le premier neurotransmetteur découvert au début du XX^e siècle. Il transporte l'influx nerveux entre les neurones et exécute diverses fonctions cérébrales telles que la mémorisation et l'apprentissage [37]. Il est synthétisé par la choline et l'acétyl-CoA dans les neurones pré-synaptiques sous l'action de la choline acétyl-transférase (ChAT).

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Par la suite, l'ACh se retrouve dans les vésicules synaptiques à l'aide du transporteur vésiculaire de l'ACh (VAcHT). Lorsqu'un potentiel d'action arrive, la vésicule synaptique fusionne avec la membrane cellulaire et l'ACh est libéré dans la fente synaptique. Il agit donc sur les récepteurs cholinergiques. Elle est ensuite rapidement hydrolysée par l'acétylcholinestérase (AChE) en choline et acétate, et la choline est immédiatement captée par son transporteur pré-synaptique [37].

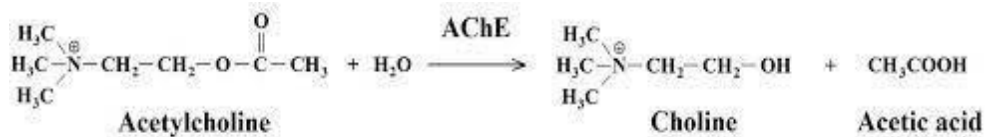


Figure 9 : Réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine.

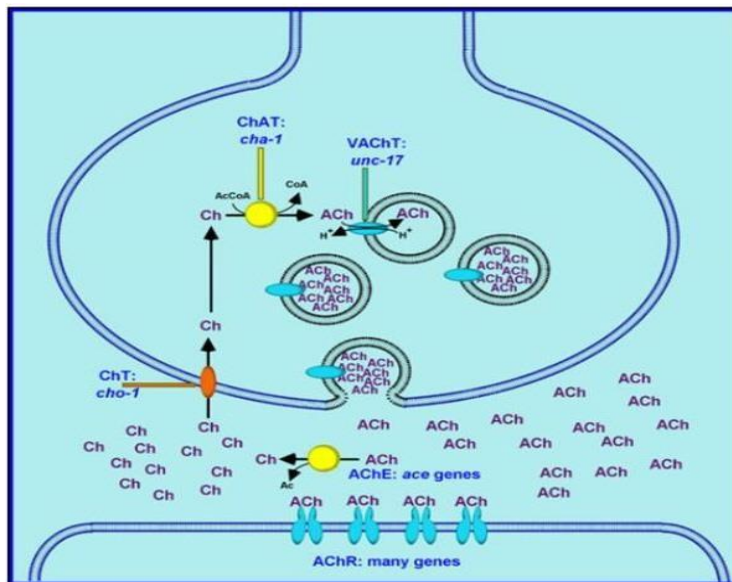


Figure 10 : Synthèse et dégradation de l'acétylcholine.

II.8 Cholinestérase

Le cholinestérase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine en acétate et en choline, en d'autres termes détruit puis inhibe l'acétylcholine dans le sang et le reste du corps afin de le rendant inactif [38]. Il existe deux types différents chez l'homme :

II.8.1 Butyrylcholinestérase (BuChE)

Aussi appelée pseudo-cholinestérase, plasma-cholinestérase ou acylcholine. C'est un alpha glycoprotéine. Il est capable d'hydrolyser une variété d'esters synthétiques et naturels, y

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

compris l'acétylcholine et la succinylcholine. On le trouve dans le plasma et le sérum, dans l'intestin, le pancréas, le foie...etc.

II.8.2 Acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase est une enzyme cholinergique synthétisée dans les globules rouges (où son rôle est inconnu) et dans les tissus nerveux. Il se produit principalement au niveau des synapses du tissu nerveux et des jonctions neuromusculaires, de la matière grise, et des poumons. Son rôle physiologique est d'assurer le fonctionnement des synapses acétylcholinergiques et d'éviter l'accumulation du neurotransmetteur [39].

L'acétylcholinestérase (AChE) décompose ou hydrolyse immédiatement le neurotransmetteur naturel acétylcholine (ACh) en acétate et choline. Le rôle principal de l'AChE est de mettre fin à la transmission neuronale et à la signalisation entre les synapses pour empêcher l'ACh de se propager et d'activer les récepteurs à proximité [40].

II.9. Traitement de la maladie d'Alzheimer

Il n'existe actuellement aucun traitement médicamenteux capable de guérir la maladie d'Alzheimer et les maladies neurodégénératives. Cependant, il existe des médicaments qui peuvent ralentir les symptômes de la maladie et améliorer la qualité de vie [41].

II.9.1. Inhibiteurs des cholinestérases

Ces médicaments sont les premiers remèdes contre la maladie d'Alzheimer. Le premier médicament c'est la tacrine, mais il a un usage limité en raison de sa toxicité hépatique. Des médicaments de deuxième génération comme le donépézil, la rivastigmine, puis la galanthamine. Ces traitements sont indiqués pour les démences légères à modérées [42].



La rivastigmine



La galanthamine



Le donépézil

Figure 11 : médicament inhibiteurs des cholinestérases

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Le tableau suivant résume les principales caractéristiques des inhibiteurs des cholinestérases.

Tableau 1. Résumé sur les inhibiteurs des cholinestérases [43].

<i>Composés</i>	<i>Mécanisme d'inhibition</i>	<i>Inhibition l'AChE et BChE</i>	<i>barrière hémato-encéphalique</i>	<i>Importance</i>
<i>Tacrine</i>	non compétitif	AChE>BChE	Bien	ancien médicament, abandonné maintenant
<i>Rivastigmine</i>	pseudo-irréversible	AChE et BChE	Bien	Élevé
<i>Donepezil</i>	non compétitif	AChE	Bien	Élevé
<i>Galantamine</i>	compétitif	AChE	Bien	Élevé

III Les plantes médicinales

III.1. Historique

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé les plantes médicinales comme remède pour les maladies. L'utilisation de ces plantes est très appréciée dans toutes les traditions médicinales, il y a deux cents ans, les remèdes naturels étaient le seul moyen dont disposait l'humanité. Par conséquent, leur utilisation et leurs effets ont été minutieusement étudiés, documentés et développés. Les plantes médicinales, comme d'autres thérapies, ont toujours été intégrées dans la culture d'une époque ou d'une civilisation particulière [44].

III.2. Les plantes médicinales

Selon la 10^e édition de la pharmacopée française, les plantes médicinales sont «des plantes végétales, dont certaines possèdent au moins des propriétés médicinales ». Ces plantes médicinales peuvent aussi avoir des usages alimentaires ou hygiéniques. En d'autres termes, une plante médicinale peut être considérée comme une plante dont l'organe a des propriétés curatives lorsqu'il est utilisé dans une dose spécifique et précise [45].

Ainsi, contrairement à une plante « classique », une plante médicinale possède des principes actifs qui sont responsables de l'effet thérapeutique mais qui sont également responsables d'effets secondaires appelés toxicité, tout comme les médicaments chimiques [46].

III.2.1. La phytothérapie

Le mot phytothérapie vient de deux mots grecs qui veulent dire "soigner avec les plantes". Par phytothérapie, on entend le traitement curatif ou préventif des maladies et affections subjectives à l'aide de préparations obtenues à partir de plantes entières ou de leurs organes : feuilles, fleurs, racines, fruits, etc [47].

III.3. *Prunus persica*

Description botanique :

Prunus persica (pêcher), appelé *Amygdalus persica*, est un arbre à feuilles caduques de la sous-famille *prunoideae* de la famille des *rosaceae* [48]. Le pêcher mesure 3 à 7 mètres de haut, large au sommet, souvent sans tronc central. C'est un arbre à l'écorce sombre et lisse, brun rougeâtre pour les arbres centenaires.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les branches sont larges et minces avec des rameaux arrondis et glabres. Le pêcher a des feuilles caduques alternes de 7-16 cm de long et 2-3 cm de large, de couleur verte, qui dégagent un parfum d'amande. Les fleurs ont la forme de bourgeons coniques ou émoussés et apparaissent avant les feuilles au début du printemps. Ce sont des hermaphrodites à cinq pétales avec 20 à 25 étamines. La couleur passe du blanc au rose et au rougeâtre [49].



Figure 1 : La plante de Prunus Persica

Elle est largement cultivée en Asie occidentale, en Europe, dans l'Himalaya et en Inde à des altitudes supérieures à 300 mètres. La famille des Rosacées comprend près de 100 genres et 3000 espèces. Prunus compte près de 200 espèces cultivées pour leurs fruits et graines comestibles [50].

Puis elle occupe la troisième place dans la zone tempérée après le pommier et le poirier. La production mondiale de pêches est passée de 7,7 millions de tonnes en 1980 à 17,8 millions de tonnes en 2008, dans la région du Maghreb, l'Algérie étant en tête de la production de pêches au cours des 10 dernières années [51].

🚩 **Classification:**[52]

<i>Sous-règne</i>	Tracheobionta
<i>Division</i>	Magnoliophyta
<i>Classe</i>	Magnoliopsida
<i>Sous-classe</i>	Rosidae
<i>Ordre</i>	Rosales
<i>Famille</i>	Rosacée
<i>Sous-famille</i>	Amygdaloideae
<i>Genre</i>	Prunus

✚ Utilisation thérapeutique de *Prunus persica*

Prunus persica est connu par ses propriétés nutritionnelles et médicinales. Les feuilles de *Prunus persica* contiennent un large éventail de nutriments et d'antioxydants pour le bon fonctionnement du corps humain. Traditionnellement, ses feuilles ont été utilisées comme émoullient, diurétique, expectorant, laxatif, vermifuge, insecticide, sédatif, pour traiter la leucodermie et comme antipyrétique. Ils sont pris en interne pour traiter la gastrite, la coqueluche, la toux et la bronchite chronique [53].

Les feuilles sont vermifuges, et utilisées contre les hémorroïdes. La pâte des feuilles est utilisée pour tuer les vers dans les plaies et les infections fongiques [54], elle est également recommandée pour traiter le tube digestif irrité, l'huile qu'elle contient est censée accélérer la croissance des cheveux et le thé aux feuilles de pêcher est un bon nettoyant pour les reins [55].

Les fleurs peuvent réduire les dommages cutanés induits par les UV et peuvent être bénéfiques pour la protection contre les dommages à l'ADN et la carcinogénèse induits par les UV. Ils ont été utilisés comme laxatifs ou diurétiques dans le traitement de la jaunisse et ont également été introduits dans les cosmétiques et pour réguler la motilité gastro-intestinale [56]. Le fruit est utilisé comme antiscorbutique et antipyrétique il a un effet fortifiant sur le cerveau et élimine les odeurs désagréables de la bouche [57].

✚ Les propriétés biologiques de *Prunus persica*

Diverses parties de la plante *Prunus persica* sont connus pour leurs propriétés médicinales bénéfiques telles que les propriétés anticancéreuses, antiallergiques, antitumorale, antioxydants, antibactériennes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires [58].

En outre, les propriétés anti-acétylcholinestérase, hyperménorrhée, dysménorrhée, vermifuge, laxatif, sédatif, hépatoprotecteur, antiasthmatique, antithrombotique, antimycotiques ont été rapportés [59]. Cet arbre a également une valeur nutritionnelle élevée, ce qui est important pour la nutrition humaine [60].

✚ Principaux composés phénoliques de l'espèce *Prunus Persica*

L'analyse chimique des feuilles de *Prunus persica*, a révélé la présence de métabolites secondaires en grande quantité tels que les composés phénoliques (tanins, flavonoïdes,

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

coumarines, acides phénoliques), en quantité variable des terpénoïdes (saponines), et des alcaloïdes en petites quantités [61].

III.4 *Rubus ulmefolius*

✚ Description botanique

Rubus ulmefolius, appartient à la famille des rosacées. C'est un arbuste pleureur qui forme un buisson difficile à fermer. Il est communément appelées mûres sauvages ou mûres d'orme, réputées pour leurs fruits comestibles et leur belle couleur, passant du vert au noir à mesure qu'elles mûrissent. C'est une plante très variable, généralement robuste, très arquée peut former des ronces tentaculaires et denses avec des pétales rose violacé, rarement rose pâle ou blanc.

Rubus ulmefolius est présent dans de nombreuses régions du monde, répandu en Europe, Asie et en Afrique du Nord [62]. Et présente aussi en Algérie dans la région d'El Kala et de Bougous [63].



Figure 2 : La plante de *Rubus ulmefolius*

✚ Classification : [64]

Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermathophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	Rubus

✚ Utilisation thérapeutique de *Rubus ulmefolius*

L'utilisation de l'espèce *Rubus* en médecine traditionnelle repose sur son utilisation en ethnomédecine. Plusieurs espèces de *Rubus* synthétisent différents types de composés phytochimiques médicalement actifs [65].

Elle est utilisée en médecine traditionnelle italienne pour traiter les ulcères, les abcès, les furoncles, les yeux rouges, les troubles vaginaux, les entérites, la diarrhée et les hémorroïdes. Les feuilles sont très astringentes et peuvent être utilisées pour traiter les aphtes et renforcer les gencives. Elle est également utilisée en tisane ou en gargarisme pour la toux, les maux de gorge, le diabète, les saignements et la lithiase urinaire [67].

✚ Les propriétés biologiques de *Rubus ulmefolius*

Les fruits sauvages méditerranéens sont considérés comme une source intéressante d'antioxydants de haute qualité pour les nutraceutiques, les compléments alimentaires ou les aliments fonctionnels. *Rubus ulmefolius* possède plusieurs propriétés hypoglycémiant, bactéricide, antipyrétique, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant [68].

✚ Principaux composés phénoliques de l'espèce *Rubus ulmefolius*

Rubus ulmefolius contient des acides phénoliques et des flavonoïdes. Les principaux composés de ce dernier sont l'acide caféique, l'acide férulique, quercétine 3-O-glucuronide, kaempférol-3-O- β -D-glucuronide, acide gallique et tiliroside [69], et acide ellagique [70]. De plus, il contient des acides organiques, Acide ascorbique, tanins et huiles essentielles [71]. Le kaempférol 3-O-rutinoside et la naringénine sont des composés phénoliques dominant dans les feuilles de *R. ulmefolius* [72].

III.5 Les composés phénoliques présentent dans les extraits des deux plantes *Prunus persica* et *Rubus ulmefolius*

Dans notre travail nous avons étudiés 17 composés de types flavonoides, caroténoïdes, coumarines, acides phénoliques, tanins, saponines, alcaloïdes qui ont été identifié dans les extrait des feuilles des deux plantes médicinales *prunus persica* et *rubus ulmefolius*, ces composés sont donnés dans le tableau ci-dessous :

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 2. Les composés phénoliques de Prunus persica et Rubus ulmefolius

Composé	Plante	Activité
Hesperidin (flavonoïde)	Prunus persica [73]	Anti alzheimer [82]
Rutin (flavonoïde)	Prunus persica Rubus ulmefolius [73]	Anti cancer [83]
Quercitin (flavonoïde)	Prunus persica Rubus ulmefolius [74]	Anti alzheimer [84]
Kaempferol (flavonoïde)	Prunus persica Rubus ulmefolius [74]	Anti cancer [85]
Ursolic acide (triterpène)	Prunus persica [74]	Anti cancer [86]
Astragaline(flavonoïde glycoside)	Prunus persica [74]	Anti cancer [87]
Zexanthin (caroténoïde)	Prunus persica [74]	Anti alzheimer [88]
Persicoside(Flavonoides)	Prunus persica [75]	Anti alzheimer [89]
Luteolin(flavonoideglycoside)	Prunus persica [73]	Anti cancer [90]
Apigenin(flavonoideglycoside)	Prunus persica [75]	Anti cancer [91]
Isoquercitroside (flavonoideglycoside)	Rubus ulmefolius [76]	Anti alzheimer [92]
Ellagicacid (phenolicacid)	Rubus ulmefolius [77]	Anti cancer [93]
Naringenine (flavonoïde)	Rubus ulmefolius [78]	Anti cancer [94]
Caffeicacid(hydroxycinnamic acid)	Rubus ulmefolius [79]	Anti alzheimer [95]
Ferulicacid(hydroxycinnamic acid)	Rubus ulmefolius [80]	Anti cancer [96]
Quercitin 3-o-glucuronide (flavonoideglycoside)	Rubus ulmefolius [81]	Anti alzheimer [97]
Nicotiflorin(flavonoideglycoside)	Rubus ulmefolius [78]	Anti cancer [98]

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Référence :

- [1] : Benrais N., Biyi A., Mécanisme de la carcinogenèse à la lumière des données de la biologie moléculaire, *Médecine du Maghreb*. n° 69,1998.
- [2] : Matthias Rath., *Avancée de la recherche cellulaire dans la lutte contre le cancer*. *Medecine cellulaire*.2002.
- [3] : Maud Antoine., *Synthèse et évaluation pharmacologique de composés indoliques et pyridopyraziniques visée antitumorale*. Thèse de doctorat : chimie thérapeutique. Université de Nantes U.F.R. des sciences pharmaceutiques. France.p 9, 2005.
- [4] : Imen cheikhrouhou., Esp kachouri, « Description et classification des masses mammaires pour le diagnostic du cancer du sein », thèse pour l'obtention du titre de docteur de université d'Evry- Val d'Essonne, soutenue le 27 juin 2012.
- [5] : GUIDE PATIENT - AFFECTION DE LONGUE DURÉE. La prise en charge du cancer du Sein p 02. Juin 2010.
- [6] : el hakim., *revue médicale*, article de s,difi .k,bouzid ,EHS pierre et marie curie(cpmc) alger numéro 24, p6, 22september,2019.
- [7]: Axelsson J., Andersson A., Cancer of the male breast. *World J Surg* . Vol 7, p 281-7 . 1983.
- [8]: Cong Lu., *Analyse micro électrochimique du stress oxydant à l'échelle de la cellule unique: application aux cellules cancéreuses du sein*. Thèse de doctorat : Chimie analytique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 50p, 2012.
- [9] : Tretarre B ; Guizard AV ; Fontaine D. Cancer du sein chez la femme : incidence et mortalité, France 2000. *Instituts de veille Sanitaire : bulletin épidémiologique hebdomadaire*. Vol 44, p 209-210, 2004.
- [10] : Institut National Du Cancer. Mammographie - Diagnostic [Internet]. [cited 2016 Apr 28]. [En ligne <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Lescancers/Cancer-du-sein/Diagnostic/Mammographie>].
- [11]: TARDIVON A., MALHAIRE C., *Cancer du sein (I). Epidémiologie, facteurs de risque, imagerie*, *Encycl Med Chir (Elsevier SAS, Paris)*, Vol. 34-8000-A-40, 2009.
- [12]: Sardanelli, F., Boetes, C., et al., 2010. Magnetic resonance imaging of the breast: recommendations from the EUSOMA working group. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 Vol 46(8): 1296–1316. doi:10.1016/j.ejca.2010.02.015.
- [13]: Baillet F., *Radiothérapie : principes, indications,effets secondaires*. EMC -AKOS (Traité de Médecine) Vol 9(2), p 1-8, 1999.
- [14]: Blandeau E., *Etat des lieux du potentiel anticancéreux de neuf champignons macroscopiques*. Thèse de Doctorat. Université Angers.114p, 2012.
- [15] : Frodeau C., *L'hormonothérapie dans le cancer du sein et l'observance des traitements*. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Joseph. Fourier.France. 122p, 2012.
- [16] : *Les traitements médicamenteux du cancer du sein*. Programme Soins de support oncologiques, Centre hospitalier universitaire vaudois. 2^{ème} Edition, 2014.
- [17] : Adlanmerini Marine., Fabre Aurélie., *Effets membranaires du récepteur alpha des œstrogènes: Une question de spécificité tissulaire*. Vol 31, 1083-1091,12-2015.
- [18]: Philippe Touraine ., Frédérique Kuttann., *Prévention hormonale du le tamoxifène est-il un cancer du sein : bon choix ?* *M/S LIBRE OPINION médecine/scimcs* 1 993 ; 9: 1386-91).
- [19]: Ana Carolina Rennó., Nelilma Correia., *Application of 4D-QSAR Studies to a Series of Raloxifene Analogs and Design of Potential Selective Estrogen Receptor Modulators*, *Molecules* Vol.6(17), 7415-7439, 2012-06-15.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

- [20]: Goss PE., Pritchard KJ.. Extending aromatase-inhibitor adjuvant therapy to 10 years . *New England Journal of Medicine*. 2016.
- [21] : Debashis G., Jennifer G., X-ray Structure of Human Aromatase Reveals An Androgen-Specific Active Site. *J Steroid BiochemMol Biol*. Vol 118(4-5), p 197–202. 28 February 2010.
- [22]: Thompson E.A., Siiteri P.K. The involvement of human placental microsomal cytochrome P450 in aromatization . *J. Biol. Chem.*; 249, p 5373-5378, 1974.
- [23]: Ahmed S., Davis P.J. Molecular modeling of inhibitors of aromatase: a novel approche. *Bioorg.Med.Chem.Lett*. Vol 5, p 1673-1678, 1995.
- [24]: National Cancer Institute. *Breast Cancer Treatment for Health Professionals (PDQ®)*. 2015.
- [25]: Goss, PE., Pritchard KJ., Extending aromatase-inhibitor adjuvant therapy to 10 years. *New England Journal of Medicine* . 2016.
- [26] : GBAYA, Abdoul Azizat ., Les maladies neurodégénératives . Les maladies chroniques dans Lanaudière, Joliette, Agence de la santé et des serviczs sociaux de Lanaudière, Direction de santé publique, Service de surveillance, recherche et évaluation, mars. 28p, 2012.
- [27] : AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (2000). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (IV-TR)*. 4th - Text Revised ed. Washington, D.C.
- [28] : ANAES (2000). *Recommandations pratiques pour le diagnostic de Maladie d'Alzheimer*.
- [29] : Fratiglioni, L., Launer, L. J., Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurology*, Vol 10-5. 2000.
- [30] : Scarmeas, N., Albert, S., Education and rates of cognitive decline in incident Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, Vol 77, 308- 316. 2006.
- [31] : Haan, M. N., La prévention primaire de la démence en population : recherche de facteurs de risque modifiables, 141-145, 2005.
- [32] : Scarmeas, N., Albert, S. M., Education and rates of cognitive decline in incidentAlzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, Vol 77, 308- 316. 2006.
- [33] : Laurent Letrilliart., Denis Pouchain. La prise en charge thérapeutique de la maladie d'Alzheimer et des démences apparentées. *Exercer- La revue française de médecine générale*. Vol 9;22, 2011.
- [34] : C Delmaire., service de neurologie CHU de Lille, Article issu du quotidien de JFR 210 .Samedi 23 octobre mis à jour le 5 juillet 2011 par la SFR.
- [35] : Butterfield, D. A., & Halliwell, B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience*, Vol 20(3), 148-160, 2019.
- [36] : Teixeira, J. P., de Castro, A. A., Future Therapeutic Perspectives into the Alzheimer's Disease Targeting the Oxidative Stress Hypothesis. *Molecules (Basel, Switzerland)*, Vol 24(23), 4410, 2019.
- [37] : Rand JB., Acetylcholine. *WormBook*. Vol 1-21. 2007.
- [38] : Mandour, R.A., Environmental Risks of Insecticides Cholinesterase Inhibitors. *Toxicology International*, Vol 20(1), p 30-34, 2013.
- [39] : Lauwerys RR., Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles : Insecticides organophosphorés.-4e édition. Paris:Masson. p 774-782. 1999.
- [40] : Amy T., Paras BK. Physiologie , Acétylcholinestérase StatPearls-NCBI Bookshelf Last Update : Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539735/> . May 9, 2021.
- [41]. Nathalie., Cartier-lacave, maladie d'Alzheimer. *Encyclopaedia Universalis [en ligne]*, [consulté le 15/04/2022]. Disponible sur : <https://www.universalis.fr/encyclopedie/maladie-dalzheimer/>.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

- [42] : Doudrich J., Odile R., le livre vert de la maladie d'Alzheimer état des lieux et perspectives. France Alzheimer et maladies apparentées, Union nationale des Associations Alzheimer 2006.
- [43] : Miroslav Pohanka., Inhibitors of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Meet Immunity. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol 15, p 9809-9825, 2014.
- [44]: Grunwald J., Janick C., guide de la phytothérapie. 2éme édition. Italie : marabout, 2006.
- [45]: Debuigne G., Larousse des plantes qui guérissent, Ed. Larousse, 1974.
- [46] : Ordre National des Pharmaciens. Les plantes médicinales requièrent la plus grande attention, mai 2012.
- [47] : V. Fintelmann., R. F Weiss., Manuel pratique de phytothérapie. Edition VIGOT 2004.
- [48] : Sumaira A., Rahman H U., Biological activities of *Prunus persica* L. batch. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol 7(11), p 987-951, 2013.
- [49] : Raturi R., Singh H., Antibacterial and antioxydants activity of Methanolic Extract of Barack of *Prunus persica*. *Journal. App. National. Science*. Vol 3(2), p 312-314, (2011).
- [50] : Sumaira A., Rahman H U., Biological activities of *Prunus persica* L. batch. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol 7(11), p 987-951, 2013).
- [51] : Zaghdoudi K., Optimisation de l'extraction des caroténoïdes à partir du persimmon (*Diospyros kaki* L.), de l'abricot (*Prunus armeniaca* L.) et de la pêche (*Prunus persica* L.) : étude photophysique en vue d'une application en thérapie photodynamique (PDT). p 52-56, 2015.
- [52] : Zaghdoudi K., Optimisation de l'extraction des caroténoïdes à partir du persimmon (*Diospyros kaki* L.), de l'abricot (*Prunus armeniaca* L.) et de la pêche (*Prunus persica* L.) : étude photophysique en vue d'une application en thérapie photodynamique (PDT). p 52-56, 2015.
- [53]: Eman M., Ahmed M., A Unique Acylated Flavonol Glycoside from *Prunus persica* L. Var Florida Prince : A New Solid Lipid Nanoparticle Cosmeceutical Formulation For Skincare. *Nat Res Cent* p 10-436, 2021.
- [54] : Qaiser J., Arif S., Anjum F., Chemically _induced peptic Ulcer : gastroprotective effects of peach fruit. *Pharmacy and alternative medicine*. p 2641-1652, 2018.
- [55] : Wani A., Talab H., Phytochemical Screening of Methanolic Extract of *Prunus Persica*. *International Journal of Scientific Research* . Vol 4(3), p 52- 53, 2015.
- [56] : Han W., Xu J.D., Prokinetik activity of *prunus persica* L Batsch Flowers extrac and its possible mechanism of action in rat. *BioMed Res. International*. p 569-853, 2015.
- [57] : Sumaira A., Rahman H U., Biological activities of *Prunus persica* L. batch. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol 7(11), p 987-951, 2013.
- [58] : Kant R., Shukla R.K., A review on peach (*Prunus persica*): an asset of medicinal phytochemicals. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology*, Vol 6(1), p 2186-2200, 2018.
- [59] : Edrah S., Alafid F., Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of *Pistacia atlantica* and *Prunus persica* plants of Libyan origin. *Int J Sc Res*, Vol 4(2), p 1552-5, 2013.
- [60] : Kant R., Shukla R.K., A review on peach (*Prunus persica*): an asset of medicinal phytochemicals. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology*, Vol 6(1), p 2186-2200, 2018.
- [61] : Arif B., Phytochemical screening of Methanoloc Extract of *prunus persica* L., *International Journal of scientic*. Vol 4, p 2277-8179, 2015.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

- [62] : Akkari H., Hajaji S., Correlation of polyphenolic content with radical-scavenging capacity and anthelmintic effects of *Rubus ulmifolius* (Rosaceae) against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. Vol 221, p 46-53, 2016.
- [63] : Lazli A., *Description de la végétation et approche phyto-sociologique et phytoécologique de la région méridionale du Parc National d'El Kala. Ecologie – Cartographie*. Mém. Ing. Université de Annaba. P 60, 1991.
- [64] : Boukef. M. K., Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Agence de coopération culturelle et technique, Paris. Francia. Vol 208, 1986.
- [65] : Souilah. N., Madjrubi. K., Etude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien. Thèse de doctorat : Chimie organique. Université des Frères Mentouri, Constantine Vol 1, p 95, 2018.
- [67] : Souilah. N., Madjrubi. K., Etude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien. Thèse de doctorat : Chimie organique. Université des Frères Mentouri, Constantine Vol 1, p 95, 2018.
- [68] : Ahmad M., Masood S., Antioxidant and nutraceutical value of wild medicinal *Rubus* berries. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences* . Vol 28(1), p 241-247, 2015.
- [69] : Panizzi. L., Caponi. C., In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus Ulmifolius*. *Journal of Ethnopharmacol*. Vol 79(2), p 165–168, 2002.
- [70] : Martini. S., D'Addario., Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus Ulmifolius*) and isolated compounds. *International journal of antimicrobial agents*. Vol 34(1), p 50-59, 2009.
- [71] : Wada. L., Ou. B., Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 50(12), p 3495–3500, 2002.
- [72] : Tabarki. S., Aouadhi. C., Comparison of phytochemical composition and biological activities of *Rubus*. 2017.
- [73] : Seham S El-Hawary., Ola Mohamed Mousa., Cytotoxic, antimicrobial activities, and phytochemical investigation of three peach cultivars and acerola leaves. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*. Vol 9, p 221-236, 18 Aug 2020.
- [74] : Ali Esmail Al-Snafi., Constituents, nutritional and pharmacological importance of *Prunus persica* - A review. *World Journal of Advanced Pharmaceutical and Medical Research*. Vol 03(01), p 019–029, 2022.
- [75] : Enaam Y Backheet., Salwa F Farag., Flavonoids and cyanogenic glycosides from the leaves and stem bark of *Prunus persica* (L.) Batsch (Meet Ghamr) peach local cultivar in Assiut region. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*. Vol 26(1), p 55-66, 2003.
- [76] : A. Bouron., E. Lorrain., Effets cellulaires et moléculaires de l'hyperforine, un antidépresseur végétal : revue de la littérature Cellular and molecular effects of the antidepressant hyperforin on brain cells: Review of the literature. *Science Direct* Vol 40, p 108-113, April 2014.
- [77] : Silvia Martini., Claudia D'Addario., Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Vol 34, p 50-59, 1 July 2009.
- [78] : Sonia Tabarki., Chedia Aouadhi., Comparison of phytochemical composition and biological activities of *Rubus ulmifolius* extracts originating from four regions of Tunisia. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*. 12 August 2016.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

- [79] : Stefano Dall'Acqua., Rinaldo Cervellati., Evaluation of *in vitro* antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants: Investigation of the high antioxidant capacity of *Rubus ulmifolius*. *Science Direct*. Vol 106, p 745–749, 2008.
- [80] : L Panizzi., C Caponi., In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Rubus ulmifolius*. *Science Direct*, Vol 79, p 165-168, 2002.
- [81]: Stefano Dall'Acqua., Rinaldo Cervellati., Evaluation of in vitro antioxidant properties of some traditional Sardinia medicinal plants: Investigation of the high antioxidant capacity of *Rubus ulmifolius*. *Food Chemistry*. Vol 106(2), p 745-749, 2008.
- [82]: Marziyeh Hajjalyani., Mohammad Hosein Farzaei., Hesperidin as a Neuroprotective Agent *molécules* 2019. 24,648.
- [83] : Aditya Ganeshpurkar., Ajay K.Saluja., The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal* Vol(25), 149-164, February 2017.
- [84] : Haroon Khan., Hammad Ullah., Neuroprotective Effects of Quercetin in Alzheimer's Disease. *Biomolécules* Vol 10(1), 2019 Dec 30.
- [85] : Malak Yahia Qattan., Mohammad Idreesh Khan ., Therapeutic Importance of Kaempferol in the Treatment of Cancer through the Modulation of Cell Signalling Pathways. *Molécules* Vol 27(24), 2022 Dec 13
- [86] : Vuyolwethu Khwaza., Opeoluwa O., Ursolic Acid-Based Derivatives as Potential Anti- Cancer Agents: An Update. *International Journal of Molecular Sciences* Vol 21(16), 2020 Aug 18.
- [87] : Masuma Akter., Mst. Shahnaj Parvin, Anti-tumor and antioxidant activity of kaempferol-3-O-alpha-L-rhamnoside (Afzelin) isolated from *Pithecellobium dulce* leaves. *BMC Complementary Medicine and Therapies* 2022.
- [88] : Barbara Demmig-Adams., Marina López-Pozo., Zeaxanthin and Lutein: Photoprotectors, Anti-Inflammatories, and Brain Food. *Molecules* Vol 25(16), 2020 Aug 8.
- [89] : Mohammed Laid TLILI, Roukia Hammoudi., ANTIDIABETIC, ANTI-ALZHEIMER AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF ALKALOIDS EXTRACT OF PERGULARIA TOMENTOSAL. COLLECTED FROM ALGERIAN SAHARA. *Ponte Academic Journal* Vol 76, Feb 2020.
- [90] : Hardeep Sing Tuli., Prangya Rath., Luteolin, a Potent Anticancer Compound: From Chemistry to Cellular Interactions and Synergetic Perspectives. *Cancers* Vol 14(21), 31 October 2022.
- [91] : Haidy A. Abbas., Soad H. Tadros., A Review on Traditional uses, Phytochemistry and Pharmacological Potential of Family Malpighiaceae. *Egyptian Journal of Chemistry* Vol 65, pp. 235 - 274 (2022).
- [92] : A. Bouron., E. Lorrain., Effets cellulaires et moléculaires de l'hyperforine, un antidépresseur végétal : revue de la littérature Cellular and molecular effects of the antidepressant hyperforin on brain cells: Review of the literature. *Science Direct* Vol 40, p 108-113, April 2014.
- [93] : Ashutosh Gupta., Amit Kumar Singh ., Neuroprotective Potential of Ellagic Acid: A Critical Review. *National Library of Medicine* Vol 12(4), 2021 Jul.
- [94] : Maria Baetriz Madureira., Virginia Marcia Concato et al., Naringenin and Hesperidin as Promising Alternatives for Prevention and Co-Adjuvant Therapy for Breast Cancer. *Antioxidants* Vol 12(3), 21 February 2023.
- [95] : Solomon Habtemariam., Protective Effects of Caffeic Acid and the Alzheimer's Brain: An Update. *National Library of Medicine* Vol 17(8), 2017.
- [96] : Jinhua Gao., Hui Yu ., The anticancer effects of ferulic acid is associated with induction of cell cycle arrest and autophagy in cervical cancer cells. *National Library of Medicine*, 2018 Jul 13.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

- [97] : Haroon Khan., Hammad Ullah., Neuroprotective Effects of Quercetin in Alzheimer's Disease. *Biomolécules* Vol 10(1), 2019 Dec 30.
- [98] : Malak Yahia Qattan., Mohammad Idreesh Khan ., Therapeutic Importance of Kaempferol in the Treatment of Cancer through the Modulation of Cell Signalling Pathways. *Molecules* Vol 27(24), 2022 Dec.

CHAPITRE II :
METODES DE CALCULS

Historique

Depuis près de deux siècles, la médecine a produit des avancées thérapeutiques continues qui se caractérisent par des innovations majeures afin de traiter les maladies jusque-là incurables, ces progrès rendent le médicament plus efficace, plus facile à utiliser et plus sûr [1].

Le chemin de la première phase de découverte d'un médicament est long et difficile. Il faut entre 12 à 15 ans la découverte et l'approbation d'un médicament et un investissement d'environ un milliard de dollars. En moyenne, sur plus d'un million de molécules envisagées, une seule est testée en phase finale d'essais cliniques et finalement mise à la disposition des patients [2].

La phase de découverte de médicaments consistera à comprendre le mécanisme d'action au niveau moléculaire. Une fois la cible est identifiée, les composés sont criblés à l'aide d'un modèle simplifié *in vitro* ou *in silico*. Le docking moléculaire est parmi les méthodes de découverte des médicaments *in silico*.

I. Docking moléculaire

I.1. Introduction

Les interactions protéine-ligand et protéine-protéine jouent un rôle clé dans l'organisation de systèmes biologiques. Ils permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission de signaux et même la catalyse de diverses réactions biochimiques. Cela ouvre la porte à la prédiction de leur structure 3D, ce qui représente aujourd'hui un enjeu majeur pour l'industrie pharmaceutique dont l'intérêt réside dans le développement de nouveaux médicaments et l'étude de leurs propriétés associées.

Le médicament se compose généralement d'un ligand et d'une protéine. Le ligand est la partie thérapeutique du médicament, la protéine correspond au porteur du ligand. L'industrie pharmaceutique produit chaque jour de nouveaux ligands qui nécessitent une méthode d'assimilation dans les cellules pour être médicalement efficaces [1].

I.2. Définition

Le docking ou l'amarrage moléculaire est un processus de simulation moléculaire combinant différentes approches chimiques, informatique et biologiques pour étudier les interactions entre deux molécules; un récepteur qui est généralement de nature protéique et le ligand qui est une petite molécule ou une autre protéine, afin de comprendre les réactions biologiques.

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

Il s'agit également d'un outil important dans la conception de médicaments assistée par ordinateur. La conformation et l'orientation du ligand à son site de liaison de la protéine sont également prédites avec l'affinité de la liaison qui détermine énergétiquement comment il interagit avec les différentes interactions probables [3].

Cela aide à déterminer les conformations les plus favorables pour l'amarrage du ligand à la cible, entraînant la formation du complexe ligand-protéine le plus stable [2](figure 1).

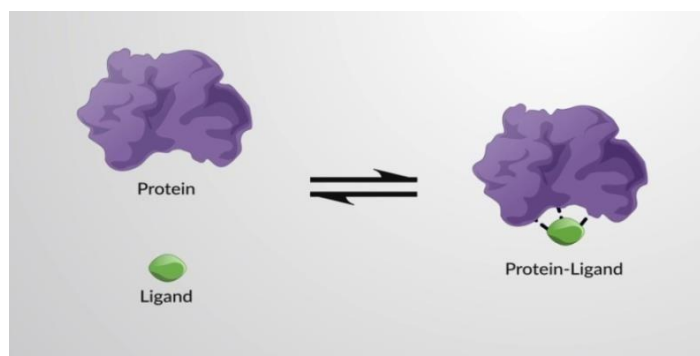


Figure 1 : Principe du docking moléculaire.

I.3. Les types de docking moléculaire

➤ Docking rigide

Lors de l'amarrage rigide, la protéine et le ligand sont traités comme totalement rigides. Par conséquent, seuls les degrés de liberté en translation et en rotation du ligand par rapport au récepteur sont examinés. Cette simplification est similaire à l'examen d'un modèle de liaison "serrure-clé" dans lequel ni le ligand ni le récepteur ne sont réarrangés conformations suivent leur interaction [4].

L'amarrage rigide est généralement utilisé pour l'amarrage entre deux macromolécules dont les degrés de liberté sont trop grands pour un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calcul raisonnables [5].

➤ Docking flexible

L'amarrage flexible tient compte à la fois de la flexibilité du ligand et du récepteur. Les degrés de liberté conformationnels de ces derniers peuvent être restreints à certaines chaînes latérales. Ce type d'amarrage représente une approche plus réaliste, en revanche, l'exploration de tous les degrés de liberté du ligand et du récepteur est associée à des

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

difficultés importantes en termes de temps de calcul nécessaire à l'utilisation efficace de l'amarrage flexible [6].

➤ Docking semi-flexible

Avec l'amarrage semi-flexible, le ligand est flexible et la protéine rigide, le balayage des degrés de liberté du ligand s'ajoute aux balayages rotationnels. Ce type d'amarrage repose sur l'hypothèse que la conformation du récepteur utilisé est capable de reconnaître le ligand. Il est "asymétrique" et est couramment utilisé pour le docking des ligands protéiques. Les approches d'amarrage semi-flexibles ou flexibles sont les plus couramment utilisées pour modéliser les interactions protéine-ligand [7].

I.4. Interactions ligand- protéine

Le docking moléculaire permet l'étude des interactions non covalentes impliquées dans la formation d'un complexe ligand-récepteur. Cette association est assumée par plusieurs types de liaisons:

- **Les interactions de Van Der Waals**

Ils résultent de l'interaction des nuages d'électrons de deux atomes voisins, ce qui conduit à la présence d'une force attractive. Le potentiel de Van Der Waals a une composante attractive lorsque les atomes sont accolés et une composante répulsive lorsque les atomes sont trop proches les uns des autres. Il peut être utilisé pour empêcher deux protéines de se pénétrer lors de l'amarrage interactif en calculant les forces entre les atomes à l'interface [8].

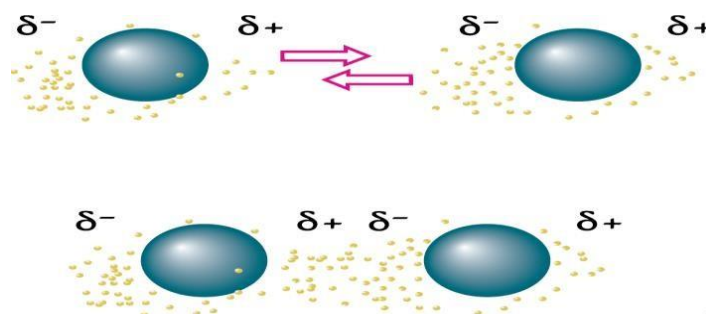


Figure2 : Les interactions de Van Der Waals.

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

- **Les liaisons hydrogène**

Les liaisons hydrogène sont formées par l'interaction électrostatique entre un atome d'hydrogène (donneur) et un élément fortement électronégatif avec au moins une paire non liante (accepteur) telle que (oxygène, azote ou fluor). La liaison hydrogène est responsable de la structure secondaire des protéines, car elle consiste en une chaîne (ou séquence) d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques [9].

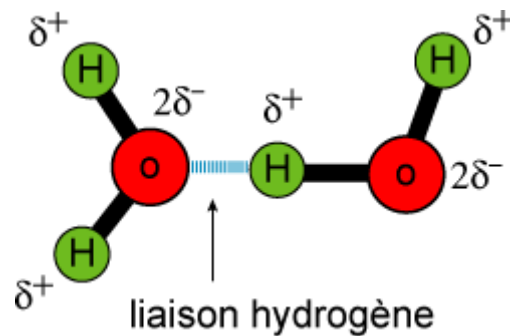


Figure 3 : Les liaisons hydrogène.

- **Les interactions électrostatiques**

Les interactions électrostatiques, ou liaisons ioniques résultent de l'interaction entre deux atomes de charges opposées, entraînant la création d'une force attractive. Certains acides aminés peuvent être chargés positivement ou négativement et générer des phénomènes électrostatiques favorisant la formation d'un complexe protéique spécifique [9].

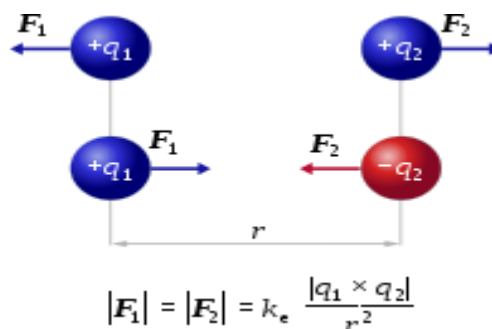


Figure 4 : Les interactions électrostatiques.

- **Les interactions hydrophobes**

Les interactions hydrophobes sont des chaînes organiques ou aromatiques saturées non polaires avec une très faible affinité pour l'eau. Ils sont généralement disposés de manière à avoir le moins de surface de contact avec le milieu aquatique [10].

I.5. Les outils du Docking moléculaire

- **Les récepteurs**

La plupart des structures des protéines sont disponibles dans la base de données des protéines "Protein Data Bank" et peuvent être téléchargées sous format PDB. La PDB est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques principalement les protéines et les acides nucléiques. Ces structures sont fondamentalement déterminées l'utilisation de la cristallographie aux rayons X ou de la spectroscopie RMN [11].

- **Ligand**

Un ligand est une molécule qui possède des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. La sélection des ligands est une étape très importante dans l'amarrage moléculaire, elle doit être effectuée sous forme 3D. Il y a deux manières de procéder : la première est souvent commerciale ; se compose de bases de données de structures chimiques appelées "chimio thèques" et La deuxième voie est l'utilisation des ligands issus de la PDB ou de la littérature, qui peuvent être conçus, optimisés et enregistrés sous différents formats (pdb, mol, mol2...) [11].

- **Les étapes de docking moléculaire**

Le docking moléculaire consiste essentiellement en deux étapes : l'amarrage proprement dit et le scoring.

- La première étape consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à sélectionner les conformations, positions et orientations possibles. Cette étape est souvent automatisée à l'aide d'algorithmes de l'amarrage qui améliorent la vitesse et la précision de la simulation [12].
- La deuxième étape (Scoring) est la classification, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés à l'étape précédente.

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

Cette activité est réalisée par des outils informatiques appelés fonctions de score. Ils évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques à la stabilisation du complexe protéine-ligand, avec les interactions les plus probables [13].

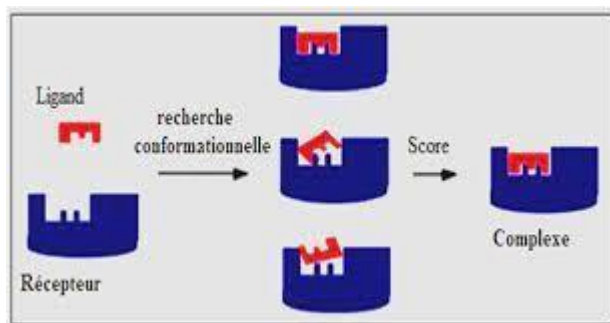


Figure 5: Principe général de Docking.

I.6. Scoring

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré de complexation du ligand avec le récepteur. Globalement, il s'agit d'une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à la forme liée d'un complexe. L'affinité du complexe est calculée suivant la loi de la thermodynamique par l'équation suivante [14] :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{Ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}} \quad \Delta G < 0$$

Avec

$$\Delta G_{\text{Bind}} = \Delta G_{\text{VDW}} + \Delta G_{\text{Hbond}} + \Delta G_{\text{hydrophobe}} + \Delta G_{\text{déformation}} + \Delta G_0$$

ΔG_{vdw} : représente les interactions de Van der Waals entre le ligand et la protéine.

ΔG_{Hbond} : représente les liaisons hydrogène.

$\Delta G_{\text{déformation}}$: représente les pénalités de déformation.

$\Delta G_{\text{hydrophobe}}$: représente les interactions hydrophobes.

ΔG_0 : est une constante qui inclut de manière implicite la perte entropique liée à la formation du complexe.

I.7. Algorithme de docking

L'algorithme d'amarrage devrait être capable de générer les modes de liaison attendus pour les ligands. Pour cela il est nécessaire que l'algorithme de recherche conformationnelle puisse explorer efficacement et exhaustivement l'espace conformationnel possible.

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

La capacité d'un algorithme à trouver la position correcte d'un ligand par rapport à son récepteur est généralement exprimée par l'écart quadratique moyen ou RMSD (Root-Mean-Square Deviation) du modèle conçu par logiciel en utilisant des coordonnées cartésiennes (x pose, y pose, z pose) et ceci en respectant les coordonnées cartésiennes de la structure cristalline (x cristal, y cristal, z cristal) [15].

I.8. RMSD

RMSD signifie Root Mean Square Deviation (écart quadratique moyen). Il est souvent utilisé dans la géométrie 3D des molécules pour comparer deux conformations d'un ensemble donné de points, généralement des atomes. En d'autres termes, étant donné une liste de points appariés, il donne une mesure de la distance entre ces points [16].

II. Règles *druglikeness*

II.1. Description

Les "règles" sont basées sur l'observation des propriétés physico-chimiques. Ces règles sont souvent utilisées comme filtres pour hiérarchiser les composés les plus susceptibles d'être des candidats-médicaments [17]. La première règle découverte est la règle de Lipinski (1996), qui a ensuite subi plusieurs transformations, aboutissant à d'autres variantes de règle [18].

II.2. Propriétés physicochimiques

II.2.1 Poids moléculaire (MW)

Le poids moléculaire d'un médicament ou d'un produit chimique est la somme des poids atomiques ajoutés de tous les atomes des éléments qui composent le médicament ou la substance. Le poids moléculaire est généralement exprimé en grammes par mole (g/mole) [19].

II.2.2 Solubilité (Log S)

La solubilité dans l'eau est une mesure de la quantité de substance chimique qui peut se dissoudre dans l'eau. Elle est décrite par le coefficient de solubilité "Log S" [20].

- Faible solubilité : $\text{Log S} < 10$ [21, 22]
- Solubilité Moyenne : $10 < \text{Log S} < 60$
- Forte solubilité : $\text{Log S} > 60$

II.2.3 Hydrophobicité (Log P)

L'hydrophobicité est l'association de groupes ou de molécules non polaires dans un environnement aqueux qui résulte de la tendance de l'eau à exclure les molécules non polaires. LogP, ou coefficient de partage octanol-eau, est une mesure du degré d'hydrophilie ou d'hydrophobie d'une molécule. Un composé hydrophile plus polaire aura un logP plus faible (la valeur peut même être négative) et préférera « résider » dans la phase aqueuse. Des composés hydrophobes plus non polaires auront un logP plus élevé et se répartiront dans une phase organique [23].

- Mauvaise perméabilité lipidiques : $\text{Log P} < 0$ [21, 24]
- Mauvaise solubilité aqueuse : $\text{Log P} > 3$

II.2.4 Liaison Hydrogène (n.Hacc, n.Hdon)

n.Hacc : Somme des atomes d'hydrogène accepteurs. L'atome accepteur a toujours une ou plusieurs paires d'électrons libres capables de former une liaison hydrogène.

n.Hdon : somme des atomes donneurs. La somme des atomes d'une molécule qui ont les propriétés nécessaires pour être un donneur d'hydrogène [25].

II.2.5 Paramètres géométriques

n.At : c'est la somme de tous les atomes qui composent la molécule.

n.Cyl : c'est le nombre de cycles présents dans la molécule.

n.LR: c'est le nombre de liaisons rigides qui assurent une position relative bien définie et constante dans le temps, quels que soient le type et l'intensité des chocs extérieurs, dans des conditions normales d'utilisation.

n.LF : c'est le nombre de liaisons flexibles qui permettent un mouvement relatif limité [26].

II.2.6 Surface Polaire Topologique (TPSA)

La surface polaire (PSA) ou surface topologique polaire (TPSA) d'une molécule est définie comme la somme des surfaces de tous les atomes ou molécules polaires, notamment l'oxygène et l'azote, y compris leurs atomes d'hydrogène associés. [27]

II.2.7 Réfractivité Molaire (MR)

La réfraction molaire est une mesure de la polarisabilité totale d'une mole d'une substance et dépend de la température, de l'indice de réfraction et de la pression [28].

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

II.3. Différentes règles *druglikeness*

Lipinski (1996) [21,29] : pour qu'une structure vérifiée la règle de Lipinski, il faut :

- $MW \leq 500$
- $\text{Log } P \leq 5$
- $n.\text{Hacc} \leq 10$
- $n.\text{Hdon} \leq 5$

Ghose (1998) [21,30] : pour qu'une structure vérifiée la règle de Ghose, il faut que :

- $5.6 < \text{MclogP} < -0.4$
- $160 < MW < 480$
- $40 < MR < 130$
- $20 < n.\text{At} < 70$

Oprea (1999) [21,31] : pour que la structure vérifiée la règle d'Oprea, les éléments suivants sont requis :

- $n.\text{Cyl} \geq 3$
- $n.\text{LR} \geq 18$
- $n.\text{LF} \geq 6$

Veber (2002) [21,32]: pour qu'une structure vérifiée la règle de Veber, il faut que :

- $n.\text{LR} \leq 10$
- $\text{TPSA} \leq 140$
- $n.\text{Hdon} \leq 12$
- $n.\text{Hacc} \leq 12$

Varma (2009) [21,33]: pour que la structure vérifiée la règle de Varma, il faut :

- $MW \leq 500$
- $\text{TPSA} \leq 125$
- $-5 < \log D < -2$
- $n.\text{Hacc} + n.\text{Hdon} \leq 9$
- $n.\text{LF} \leq 12$

III. Pharmacocinétique et propriétés ADMET

La pharmacocinétique (PK) est l'étude de la façon dont le corps interagit avec les substances administrées par voie orale (médicaments). Les quatre principaux paramètres généralement examinés par la pharmacocinétique du médicament comprennent l'absorption

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

(A), la distribution (D), le métabolisme (M), et l'excrétion (E). Et la toxicité (T), car le médicament doit avoir un profil toxicologique acceptable [34].

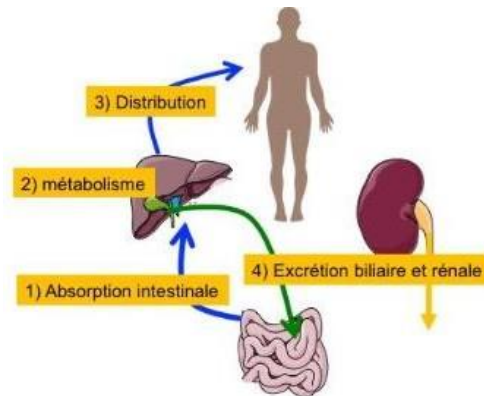


Figure 06: Principe ADME

- **Absorption**

L'absorption est le processus qui amène le médicament du site de l'administration, vers la circulation systémique. Cette phase du devenir des médicaments chez l'homme est essentielle à étudier car elle peut être une source de variabilité importante dans la réponse aux médicaments, en particulier par le biais d'interactions médicamenteuses importantes [35].

- **Distribution**

La distribution décrit comment le médicament se propage dans tout le corps. Dès le site d'entrée et après absorption, le médicament est distribué dans la circulation systémique. Pour qu'un médicament soit efficace, il doit atteindre sa destination désignée. Le terme "distribution" résume le transport du médicament dans le sang (phase plasmatique) puis sa propagation dans les tissus (phase tissulaire) [35].

- **Métabolisme**

Le métabolisme est la transformation du médicament par le corps en métabolites. Un métabolisme peut être nécessaire pour convertir le médicament en métabolites actifs. Différentes stratégies de métabolisme peuvent se produire dans plusieurs zones du corps, telles que le tractus gastro-intestinal, la peau, le plasma, les reins ou les poumons, mais la majorité du métabolisme se fait par des réactions de phase I (CYP450) et de phase II dans le foie. Les réactions de phase I transforment généralement les substances en métabolites polaires par oxydation permettant aux réactions de conjugaison de la phase II d'avoir lieu.

Le plus souvent, ces processus inactivent le médicament, le convertissent en un métabolite plus hydrophile et lui permettent d'être excrété dans l'urine ou la bile [35].

- **Excrétion**

L'excrétion est le processus par lequel le médicament est éliminé de l'organisme. Les médicaments et leurs métabolites sont principalement excrétés par les voies urinaires et biliaires. Les reins effectuent le plus souvent l'excrétion, mais pour certains médicaments, cela peut se faire par les poumons, la peau ou le tractus gastro-intestinal [35].

- **Toxicité**

La toxicité est le niveau dans laquelle une substance peut endommager un organisme ou la sous-structure d'un organisme, comme les cellules et les organes, et reste l'une des principales causes d'échec du développement de médicaments à tout moment. Une priorité essentielle dans le développement de médicaments est de détecter la toxicité sévère tôt avant de consacrer du temps et des ressources aux étapes suivantes [36].

IV. Prédiction ADMET in silico

Au fil des décennies, les propriétés liées à l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) sont devenues l'un des problèmes les plus importants pour évaluer les effets ou les risques de ces composés sur le corps humain. Les évaluations *in vivo* et *in vitro* étant coûteuses et laborieuses, les techniques *in silico* ont été largement utilisées pour estimer ces propriétés. Dans ce qui suit, nous décrirons brièvement les paramètres de la prédiction ADMET in silico, à l'aide des serveurs web et en se basant sur la structure moléculaire [37].

➤ **Absorption :**

- **Caco-2 (colon adenocarcinoma)**

Avant qu'un médicament oral n'atteigne la circulation systémique, il doit traverser les membranes cellulaires intestinales. Les cellulaires d'adénocarcinome du côlon humain (Caco-2), en tant qu'approche alternative pour l'épithélium intestinal humain, ont été couramment utilisées pour estimer la perméabilité aux médicaments *in vivo* en raison de leurs similitudes morphologiques et fonctionnelles. Ainsi, la perméabilité des cellules Caco-2 a également été un indice important pour qu'un composé soit un candidat-médicament éligible [38, 39].

Décision empirique :

- Mauvaise Absorption : Caco-2 < -5.15 cm/s. [40]

- Bonne Absorption : Caco-2 > -5.15 cm/s.

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

- **HIA (Human intestinal absorption)**

Absorption intestinale humaine est décrite par le processus dans lequel les médicaments administrés par voie orale sont absorbés du système gastro-intestinal dans la circulation sanguine. De plus, la relation étroite entre la biodisponibilité orale et l'absorption intestinale a également été prouvée et l'HIA peut être considérée dans une certaine mesure comme un indicateur alternatif de la biodisponibilité orale [41].

Décision empirique :

- Mauvaise Absorption : Valeur = non (+++) → HIA < 30% [40]
- Bonne Absorption : Valeur = oui (---) → HIA ≥ 30%

- **F% (Oral Bioavailability)**

Pour tout médicament administré par voie orale, la biodisponibilité orale est l'un des paramètres pharmacocinétiques les plus importants car c'est l'indicateur de l'efficacité de la délivrance du médicament à la circulation systémique elle est symbolisée quantitativement par F% [42].

Décision empirique :

- Mauvaise Absorption : Valeur = non (+++) → F% < 20% [40]
- Bonne Absorption : Valeur = oui (---) → F% ≥ 20%

➤ **Distribution :**

- **PPB (Protein Plasma Binding)**

La liaison de la protéine plasmatique humaine (PPB) est l'un des principaux mécanismes de distribution des médicaments dans les tissus corporels. Ceci est également important pour les interactions médicamenteuses avec des médicaments qui se lient fortement aux protéines [43].

Décision empirique :

- Mauvaise Distribution : PPB ≤ 90% [40]
- Bonne Distribution : PPB > 90%

- **BBB (Blood–Brain Barrier)**

Les médicaments qui agissent dans le système nerveux central doivent traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) pour atteindre leur cible moléculaire. En revanche, pour

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

les médicaments ayant une cible périphérique la pénétration de la BBB pourrait être nécessaire afin d'éviter les effets secondaires sur le SNC [44].

Décision empirique :

- Mauvaise Distribution : Valeur = non (+++) [40]
- Bonne Distribution : Valeur = oui (---)

- **VD (Volume de distribution)**

Le VD relie la dose administrée à la concentration initiale réelle présente dans la circulation et c'est un paramètre important pour décrire la distribution *in vivo* des médicaments dans les fluides corporels [40].

Décision empirique :

VD= 0.04-20L/kg

➤ **Métabolisme**

Le cytochrome P450 est une famille d'iso-enzymes responsables de la biotransformation de divers médicaments [45]. Le processus de biotransformation des médicaments peut être divisé en deux grandes catégories : la phase I (réactions oxydatives) et la phase II (réactions conjugatives). La famille du cytochrome P450 humain (enzymes de phase I) contient 57 isozymes et ces isozymes métabolisent environ les deux tiers des médicaments connus chez l'homme avec 80% de cet attribut en cinq isozymes - 1A2, 3A4, 2C9, 2C19 et 2D6. La plupart de ces CYP responsables des réactions de phase I sont concentrés dans le foie.

- **Inhibiteur du CYP 1A2 / 2C19 / 2C9 / 2D6 / 3A4**

- Mauvais Métabolisme : Valeur = oui (+++) [40]
- Bon Métabolisme : Valeur = non (---)

- **Substrat du CYP 1A2 / 2C19 / 2C9 / 2D6 / 3A4**

- Mauvais Métabolisme : Valeur = oui (+++) [40]
- Bon Métabolisme : Valeur = non (---)

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

➤ Excrétion

- **CL (Clearance)**

La clairance est un paramètre pharmacocinétique important qui indique à quelle vitesse le composé est éliminé de la circulation sanguine, et donc la fréquence d'administration d'un médicament [40].

Décision empirique :

- Mauvaise Excrétion : $CL < 5 \text{ mL/min/kg}$
- Excrétion Moyenne : $5 \text{ mL/min/kg} < CL < 15 \text{ mL/min/kg}$
- Bonne Excrétion : $CL > 15 \text{ mL/min/kg}$

- **T_{1/2} (Temps demi-vie)**

Le temps demi-vie d'un médicament est le temps nécessaire à l'élimination de la moitié de la concentration d'un médicament dans le sang. [46].

Décision empirique :

- Mauvaise Excrétion : $T_{1/2} < 3\text{h}$ [40]
- Excrétion Moyenne : $3\text{h} < T_{1/2} < 8\text{h}$
- Bonne Excrétion : $T_{1/2} > 8\text{h}$

➤ Toxicité

- **hERG (Human Ether-à-go-go-Related Gene)**

Human Ether-a-go-go-related Gene (hERG) est un gène qui code la protéine qui forme la sous-unité alpha du canal potassique Kv11.1. Les canaux potassiques hERG sont essentiels à l'activité électrique normale du cœur. Des mutations héréditaires du gène hERG ou le blocage des canaux hERG par des médicaments, provoquent des arythmies potentiellement mortelles. [47].

Décision empirique :

- Risque de Toxicité : Valeur = oui (+++) [40]
- Pas de Risque de Toxicité : Valeur = non (---)

- **AMES**

Le test d'Ames le test le plus largement utilisé pour tester la mutagénicité des composés. L'effet mutagène a une relation étroite avec la cancérogénicité [47].

Décision empirique :

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

- Risque de Toxicité : Valeur = oui (+++) [40]
- Pas de Risque de Toxicité : Valeur = non (---)

- **H-HT**

L'hépatotoxicité humaine est considérée comme le pouvoir qu'a une substance de provoquer des dommages au foie. Dans les essais cliniques, les effets hépatiques indésirables d'un médicament conduisent à un arrêt du développement de ce dernier [40].

Décision empirique :

Aucun risque toxique : Valeur = ---(Non)

Risque de Toxicité : Valeur = +++ (oui)

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

Références :

- [1] : Eschwege P., Deledinghen V., Weksler B. .Acide arachidonique et prostaglandines,inflammation et oncologie la presse médicale. Vol 30 (10), p 508-510, 2001.
- [2]: Vanryn., J.;Pairet, M., Clinical experience with cyclooxygenase-2 inhibitors. *Inflammares*. Vol 48, p 247-254, 1999.
- [3] : Alexandre Beautrait., Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat : chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. p 122, 2008.
- [4]: Kitchen D., Decornez H., Docking and scoring in virtual screening for drug discovery : methods and applications . *Nat Rev Drug Discov*. Vol 3, p 935-949, 2004.
- [5]: Kitchen D., Decornez H., Docking and scoring in virtual screening for drug discovery : methods and applications . *Nat Rev Drug Discov*.Vol 3, p 935-949, 2004.
- [6]: Kitchen D., Decornez H., Docking and scoring in virtual screening for drug discovery : methods and applications . *Nat Rev Drug Discov*.Vol 3, p 935-949, 2004.
- [7] : Chevrollier N., Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Phdthesis, Université Paris-Saclay 2019.
- [8] : Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications." *Nature reviews Drug discovery*, 3(11): 935-949.
- [9] : MmeLaouar Iman., Etude des interactions enzyme-ligand. cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. 2014-2015.
- [10]: Goldberg M., Regards sur la biochimie., une fonction majeure des proteines: la catalyses enzymatique. 2003.
- [11] : Monge. A., Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silicos de nouveaux composés bioactifs, Thèse de doctorat, Université d'Orléans, France, 2006.
- [12] : Mr ayachi H., Doctorat, Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire: cas du diabète de type Vol 2, p 26.
- [13]: Docking and scoring in virtualscreening for drug discovery: methods and applications.2004.
- [14]: Houtzager, V., Ouellet, M., Falguyret, J. P., Passmore, L. A., Bayly, C., and Percival, M. D.J. *Biochemistry*. Vol 35, p 10974–10984, 1996.
- [15]: Vieth M., Hirst JD., Assessing energy functions for flexible docking.*Journal ofComputational Chemistry* Vol 19, p 1612- 1622, 1998.
- [16]: Maiti R., Van Domselaar GH., SuperPose: a simple server for sophisticated structural superposition. *Nucleic Acids Res*. Vol 1(32), Jul 2004.
- [17]: Luo S. Pal, D., Shah, S. J., *Pharmaceutics* Vol 7, p 412–420. 2010.
- [18] : Aymar, G. W. L. ; Thèse « Simulation numérique et approche orientée connaissance pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques », Université Henri Poincaré. 2010.
- [19] : [En ligne : <https://dev.drugbankplus.com/guides/terms/molecular-weight/>].
- [20] : [En ligne : <https://dev.drugbankplus.com/guides/terms/log-s/>].
- [21] : [En ligne : <http://admet.scbdd.com/home/interpretation/>].
- [22] : She, B., MING Y., «Drug design - from entry to the master(Chinese Edition) », East China University of Science and Technology Press. 2000.
- [23] : [En ligne : https://fr.qwe.wiki/wiki/Partition_coefficient].

CHAPITRE II : METHODE DE CALCUL

- [24] : Testa B., Van de Waterbeemd H., «pharmacokinetic Optimization in Drug Research».2001.
- [25] : She, B., MING Y., «Drug design - from entry to the master(Chinese Edition) », East China University of Science and Technology Press. 2000.
- [26] : Testa B., Van de Waterbeemd H., «pharmacokinetic Optimization in Drug Research».2001.
- [27] : Pajouhesh H, Lenz GR "Medicinal Chemical Properties of Successful Central Nervous System Drugs". Vol 2 (4), p 541–553, Oct 2005.
- [28] : [En ligne : https://fr.wikipedia.org/wiki/Réfractivité_molaire].
- [29] : Lombardo, F., Dominy B. W., Advanced Drug Delivery Reviews, Lipinski. Vol 21, 2001.
- [30] : Viswanadhan, V. N., Wendoloski, J., Comb. Chem. Ghose. Vol 1, p 55–68,1999.
- [31] : T. I.; Journal of Computer-Aided Molecular Design, Oprea. Vol 14, p 251–264, 2000.
- [32] : D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H.-Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D. J. Med. Chem. Veber. Vol 45, p 2615–2623, 2002.
- [33] : M. V. S., Obach, R. S., Med. Chem. Varma. Vol 53, p 1098–1108. 2010.
- [34] : Pozzan, A. ; «chapter 18 : QM Calculations in ADMET Prediction» in «Quantum Mechanics in Drug Discovery, Methods in Molecular Biology, 2114, 2020.
- [35] : Site du Collège National de Pharmacologie Médicale [En ligne : <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinetique/36-etapes-du-devenir-du-medicament>]. Modifié le 15/05/2023.
- [36] : Wang Y., Xing J., Rev. Biophys Vol 48, p 488–515, 2015.
- [37] : Lombardo, F.; Desai, P. V.; Arimoto, R.; Desino, K. E.; Fischer, H.; Keefer, C. E.; Petersson, C.; Winiwarter, S.; Broccatelli, F. J. Med. Chem. 2017, 60, 9097–9113.
- [38] Van Breemen, R. B.; Li, Y. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology 2005, 1, 175–185.
- [39] Luo, S.; Pal, D.; Shah, S. J.; Kwatra, D.; Paturi, K. D.; Mitra, A. K. J. Mol. Pharmaceutics 2010, 7, 412–420.
- [40]: [En ligne : <https://admetmesh.scbdd.com/explanation/index>]
- [41] : [En ligne : <https://dev.drugbankplus.com/guides/terms/human-intestinal-absorption>].
- [42] : Kim, M. T.; Sedykh, A.; Chakravarti, S. K.; Saiakhov, R. D.; Zhu, H. Pharm Res 2014, 31,1002–1014.
- [43] Lill, M. A.; « In Silico Drug Discovery and Design». Ltd.; Future Science: Purdue University, IN, USA, 2013.
- [44] Daneman, R.; Prat, A. Cold Spring Harb Perspect Biol 2015, 7, a020412.
- [45] Guengerich, F. P.; J. Chem. Res. Toxicol. 2008, 21, 70–83.
- [46] Kerns, E. H.; Di, L.; « Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: From ADME to Toxicity Optimization », Ed.; Elsevier; Academic Press: Amsterdam ; Boston,2008
- [47] Zhang, C.; Zhou, Y.; Gu, S.; Wu, Z.; Wu, W.; Liu, C.; Wang, K.; Liu, G.; Li, W.; Lee, P. W.; Tang, Y. J.; Toxicol. Res. 2016, 5, 570–582.

CHAPITRE III :

Applications, résultats et discussions

I. Matériels et méthodes utilisé dans ce travail

I.1. Matériels :

➤ **Micro-ordinateur**

Dans ce travail nous avons utilisé un microordinateur Windows 7 avec un système d'exploitation 64 bits, une mémoire de 2 Go et un processeur de 2.16 GHz.

➤ **Les programmes Gaussian (G09) et GaussView:** sont des logiciels de la chimie computationnelle utilisés pour l'optimisation et la visualisation des géométries des moléculaires ainsi que pour le calcul des fréquences de vibration [1,2].

➤ **Le programme UCSF Chimera**

Le logiciel chimera de l'UCSF (Université de Californie, San Francisco) version 1.16 est appliqué pour la visualisation et l'analyse des cartes de densité, la microscopie 3D, et données associées aux structures moléculaires [3]. Ce logiciel résout les défis liés à la taille et au type de données utilisées. Il offre des options avancées et un résultat fiable. Il est disponible gratuitement pour une utilisation non commerciale et fournit des améliorations telles que les performances, l'extensibilité, et la visualisation [4].

➤ **Le programme AutodockVina**

Auto Dock Vina (sous UCSF Chimera) version 1.1.2 est parmi les outils de simulation et docking moléculaire gratuits et open source le plus largement utilisé [5]. Auto Dock Vina est conçu pour prédire la conformation d'un petit ligand flexible avec une cible macromoléculaire de structure connue [6]. Ce programme dispose d'un algorithme d'amarrage plus précis d'optimisation locale de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (BFGS) et la fonction de scoring XScore.

➤ **Discovery studio visualizer**

Biovia Discovery Studio est un outil de visualisation, qui permet un affichage 3D d'une structure de molécule biologique et les résultats des poses obtenus par les logiciels d'amarrage. Il propose plusieurs fonctions telles que : la présentation des liaisons chimiques (liaison hydrogène, Van der Waals, pi-sigma...), la mesure de distances interatomiques, l'annotation des acides aminés (nom, numéro), choix de couleur (selon les atomes, les structures...). [7].

I.2. Bases des données

Une base de données est une collection d'informations organisées de manière à être facilement gérées et accessibles. Elle est employée par les organisations comme méthode de

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

récupération, de gestion et de stockage d'informations. Les données sont organisées en tableaux, colonnes, lignes et sont indexées pour faciliter la recherche [8].

➤ Banque de données sur les protéines (PDB)

PDB ou la Protein Data Bank est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle des macromolécules biologiques : principalement les protéines et les acides nucléiques. Ces structures sont généralement déterminées par cristallographie aux rayons X ou spectroscopie RMN. Ces données expérimentales sont déposées dans la Protein Data Bank par des biochimistes et des biologistes. Les consultations sont gratuites et peuvent être effectuées directement via les sites web de la banque [9].

➤ Base des données pubchem

Pubchem est une base de données créée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) qui contient plusieurs informations sur les structures chimiques comme les propriétés physico-chimiques, la toxicité et les essais biologiques [10].

➤ Cambridge crystallographic data centre

La *Cambridge Structural Database* (CSD) est une base de données qui contient désormais plus de 1,1 million de structures 3D précises, avec des données de diffraction des rayons X. Elle est largement utilisée par les scientifiques des industries pharmaceutique, agrochimique et de la chimie fine [11].

➤ Serveur ADMETlab

Est un serveur web pour la prédiction des propriétés pharmacocinétiques et la toxicité des composés chimiques, et également des informations liées à l'ADME/Tox (absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité) [12].

I.3. Méthodologie de calculs :

Les géométries des ligands ont été optimisées au niveau théorique DFT/B3LYP en combinaison avec la base 6-311+G (d,p) suivi par un calcul des fréquences de vibrations. Les minima locaux des points stationnaires ont été vérifiés par absence des fréquences imaginaires.

Ensuite, les calculs de docking moléculaire ont été effectués avec le programme Auto dock vina sous chimera. Les complexes obtenus ont été visualisés avec *discovery studio visualizer*. Les règles *druglikeness* et la pharmacocinétique ADMET, ont été prédits à l'aide du serveur web ADMETlab.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

II. Evaluation *in silico* de l'activité anticancéreuse

II.1. Préparation de la protéine (récepteur) :

Pour le traitement de la maladie du cancer du sein, nous avons choisis la cible « récepteur d'estrogène alpha » qui est disponible sur la banque de données sur les protéines (PDB) avec le code ID 5t1z et co-cristallisée avec l'inhibiteur « Ethoxytriphenylethylene».

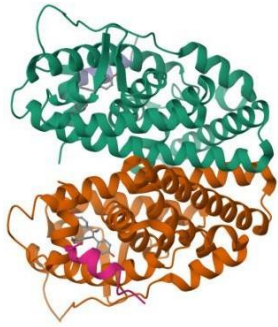
	<i>Code ID</i>	5T1Z
	<i>Chaines</i>	A, B, C, D
	<i>Résolution</i>	2.10 Å
	<i>Date de déposition</i>	2016-08-22
	<i>Organisme</i>	Etre Humain

Tableau 1 : Structure 3D et données cristallographique de la cible 5T1Z

➤ Identification du site actif

Philipp .Y et al [13] ont effectués une étude expérimentales cristallographique sur certains inhibiteurs y compris l'ethoxytriphenylethylene (EtOXTPE) sur le récepteur des œstrogènes la cible 5T1Z. La figure ci-dessous montre le ligand inhibiteur (EtOXTPE) au sein du site actif du récepteur ainsi que les acides aminés qui forment des interactions avec ce dernier.

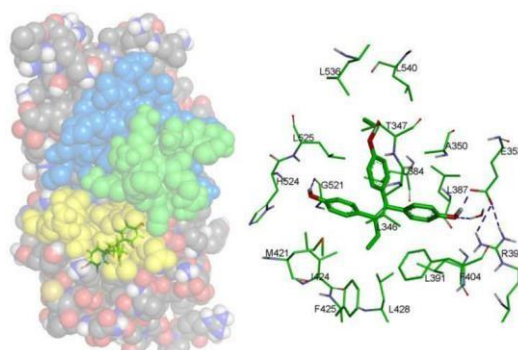


Figure 1: les résidus du site actif du complexe 5t1z trouvés par Philipp .Y et al.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Ensuite, pour réaliser les calculs du docking moléculaire il faut identifier le site actif de la cible choisi, et cela en se basant sur les résidus donnés dans la figure 1 et sur les acides aminés donnés par défaut dans le logiciel chimera, donc les acides aminés qui forment le site actif pour les deux chaînes A et B de la cible 5t1z sont :

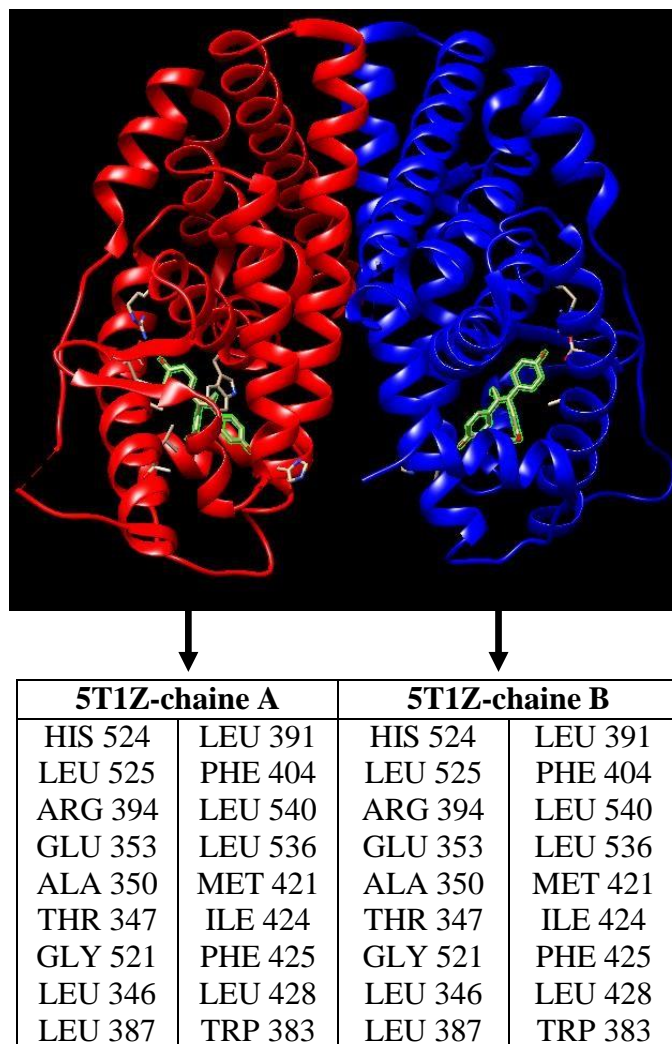


Figure 2: Les acides aminés du site actif de 5T1Z.

➤ Préparation du récepteur

La préparation de la structure du récepteur pour le docking moléculaire est une étape primordiale, cela est réaliser avec le logiciel UCSF chimera. Les principales étapes sont :

- Ouverture de la structure PDB de la cible.
- Élimination de tous les résidus et les molécules d'eau (solvant) contenus dans la cible.
- Séparation des chaînes (A et B) de la cible 5T1Z pour examiner chacune à part.
- Addition les atomes d'hydrogènes et les charges.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

- Préparation du site d'inhibition en dessinant la boîte de grille tridimensionnelle qui englobe le ligand et les résidus u site actif.

Les dimensions du grid box pour les deux chaînes A et B du récepteur 5T1A sont donnée dans le tableau suivant :

Tableau 2: les coordonnées de Grid box de chaque chaine de la cible 5t1z.

5T1Z	Center	Size
Chaîne A	x=24.64, y= -2.48 z= 7.42	x = 14.00, y= 5.13, z= 34.58
Chaîne B	x= 25.00, y= 25.00 z= 25.00	x =25.00, y= 22.00, z= 20.00

➤ Le test de fiabilité du logiciel (Re-Docking):

Dans le but de valider le logiciel et les résultats, nous avons fait le re-docking du ligand co-cristallisé (Ethoxytriphenylethylene) avec les deux chaines A et B de la cible 5T1Z. Les résultats des affinités (ΔG) ainsi que la superposition du ligand obtenu avec le ligand expérimentale sont donnée ci-dessous :

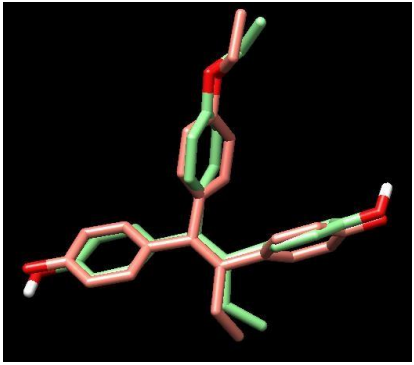
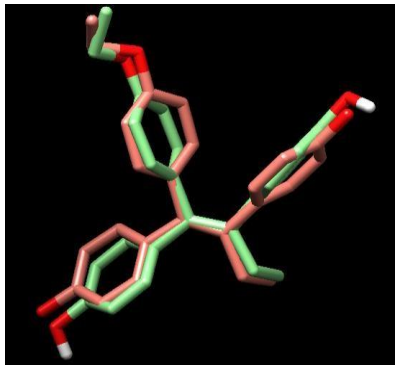
<i>L'affinité ΔG (kcal/mol)</i>	
Chaîne A	Chaîne B
-10.9 kcal/mol	-10.3 kcal/mol
<i>Superposition (pose verte du docking/ pose rose expérimentale)</i>	
	

Tableau 3: Résultats de docking du complexe 5T1Z

- L'analyse des résultats donnés dans le tableau précédant montre que :

- L'énergie d'interaction obtenue par docking moléculaire entre l'inhibiteur ethoxytriphenylethylene et la cible 5T1Z est égale à -10.9 kcal/mol pour la chaîne A et -10.3 kcal/mol pour la chaîne B. Ces deux énergies sont proches et similaire.
- La superposition effectuée entre la pose obtenue par docking moléculaire dans le cas de chaque chaine et la pose expérimentale de l'inhibiteur ethoxytriphenylethylene est presque parfaite.

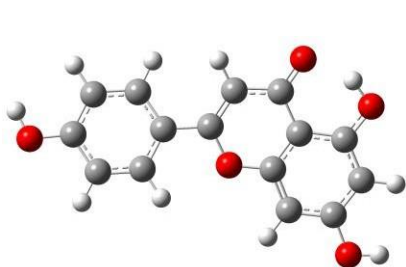
CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Finalement, nous avons opté pour le choix de la chaîne A car l'affinité obtenue est faible par rapport à l'affinité de la chaîne B, et cette chaîne sera utilisé dans le reste de notre travail.

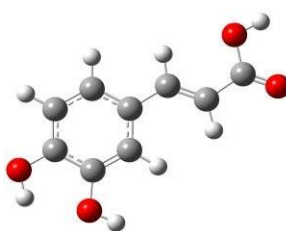
II.2 Préparation des ligands:

Les structures des 17 molécules identifiées dans les plantes *Prunus persica* et *Rubus ulmefolius* (voir chapitre I) ont été téléchargées à partir des bases de données pubchem et cambridge crystallographic data centre. Ensuite, les géométries ont été optimisées et ils sont donnés dans le tableau suivant :

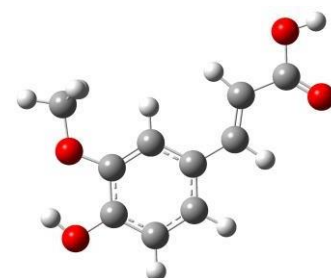
Tableau 4 : Structures moléculaire des 17 ligands



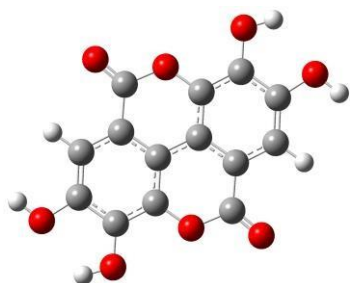
Apigenin (p)



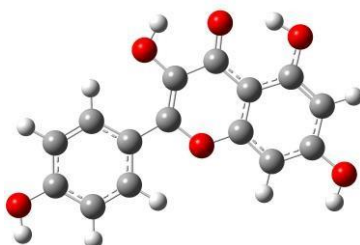
Caffeic Acid (r)



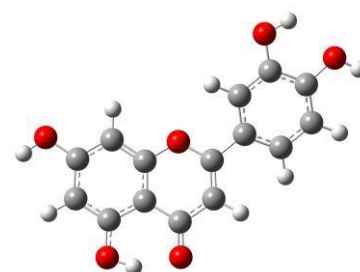
Ferulic acid (r)



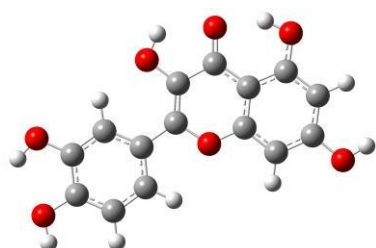
Ellagic acide (r)



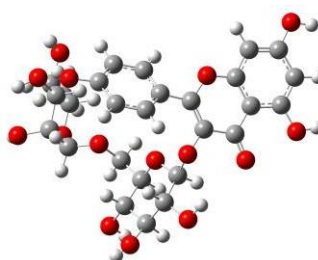
Kaempferol (p+r)



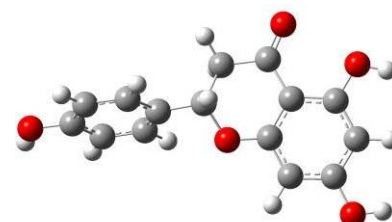
Luteolin (p)



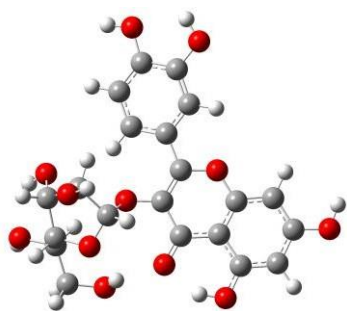
Quercetin (p+r)



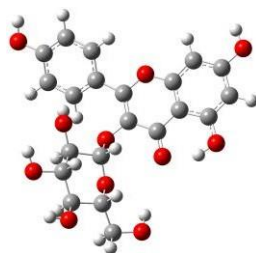
Nicotiflorin (r)



Naringenine (p+r)



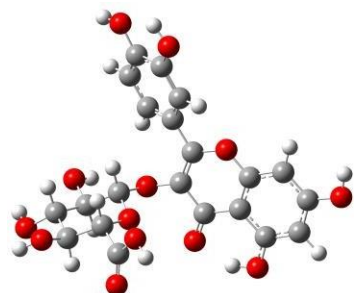
Isoquercitroside (r)



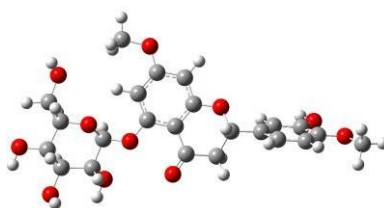
Astragaline (p)



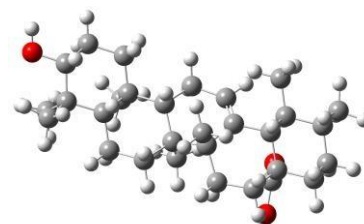
Hesperidin (p)



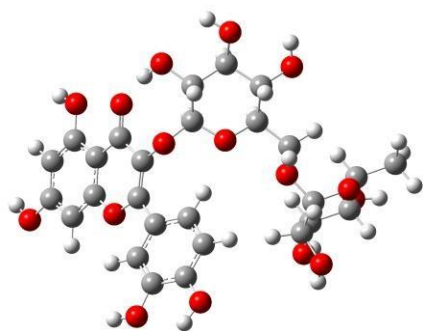
Quercetin3-O-glucuronide (r)



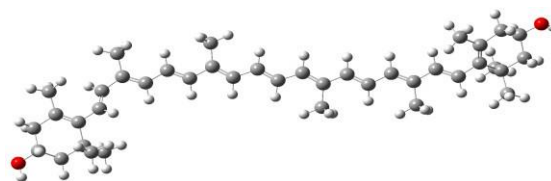
Persicoside (p)



Ursolic acide (p)



Rutin (p+r)



Zeaxanthin (p)

II.3. Résultats du docking moléculaire

Nous avons étudié la simulation par docking moléculaire pour les 17 ligands avec la chaîne A de la cible 5T1Z afin de trouver les meilleurs inhibiteurs des récepteurs d'œstrogènes alpha impliqués dans la maladie du cancer de sein.

Les énergies d'inhibitions sont comparées par rapport à l'énergie d'inhibition du médicament raloxifène qui était choisi dans ce travail comme une molécule de référence. Le raloxifène est un modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes (SERM) Il est largement utilisé pour les traitements hormonaux est également pour la diminution du risque de cancer du sein.

Les résultats de calculs sont récapitulés dans le tableau suivant

Tableau 4 : Résultats du docking moléculaire des 17 ligands avec la cible 5T1Z

5T1Z-Chaine A		
Ligands	ΔG (kcal/mol)	RMSD
Raloxifene	-8.7	0
Ellagic acid	-8.8	0
Kaempferol	-8.8	0
Naringenine	-8.5	0
Apigenin	-8.4	0
Luteolin	-8.3	0
Quercitin	-7.9	0
Quercitin 3-O-glucuronide	-7.7	0
Astragaline	-7.7	0
Isoquercitroside	-7.4	0
Persicoside	-7.3	0
Acide caffeic	-6.3	0
Ferulic acide	-5.9	0
Rutin	-3.5	0
Nicotiflorin	-3	0
Ursolic acide	-2	0
Hesperidin	2.6	0
Zeaxanthin	9.5	0

➤ Analyse des résultats

Les résultats obtenus montrent que :

- Les composés : acide caffeic, ferulic acide, rutin, nicotiflorin, ursolic acide, hesperidin, et le zeaxanthin, ont des affinités élevés compris entre **-6.3** et **9.5** kcal/mol ce qui indique que ces composés ne peuvent pas inhiber la cible 5T1Z et notamment le zeaxanthin qui a une affinité > 0
- Les composés : persicoside, isoquercitroside, astragaline, quercitin 3-o-glucuronide, quercitin, luteolin, apigenin et naringenine ont des affinités compris entre **-7.3** et **-8.5** kcal/mol, ces composés peuvent inhiber la cible 5T1Z cependant les énergies d'inhibitions sont supérieures à celle de la molécule de références (raloxifene $\Delta G = -8.7$ kcal/mol).
- Les composés : ellagic acid et kaempferol ont les meilleurs score avec ($\Delta G = -8.8$ kcal/mol) pour les deux composés. Cette affinité est faible par rapport à l'affinité du raloxifene ce qui signifie que ces composés sont des bons inhibiteurs de l'enzyme 5T1Z.

III.4. Visualisation des interactions

Ensuite, la visualisation des interactions des deux meilleurs composés ellagic acid et kaempferol ainsi que le raloxifene au sein du site actif de l'enzyme 5T1Z a été effectuée avec le logiciel discovery studio (Figure 2).

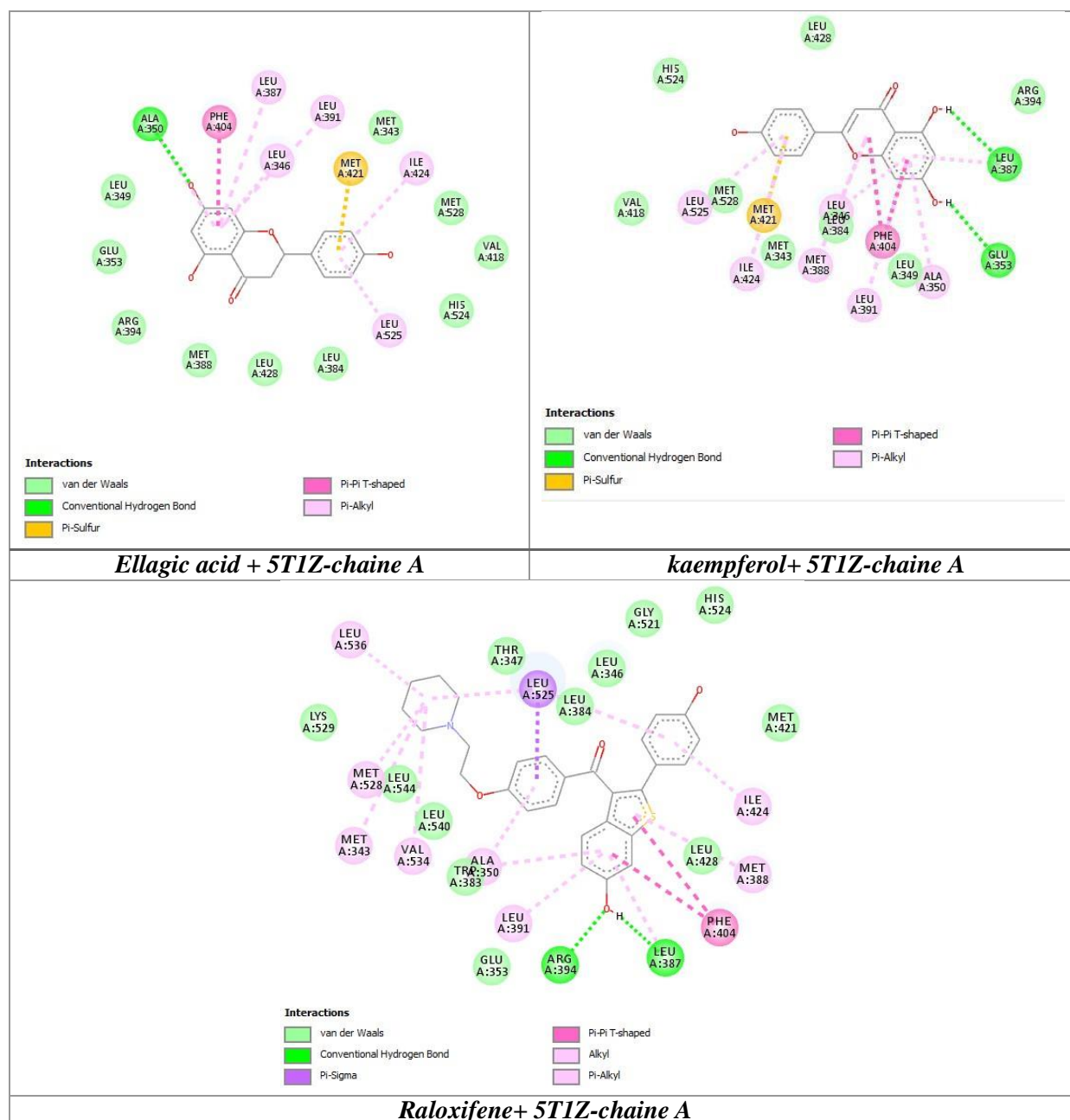


Figure 2: Les interactions entre les ligands et la cible 5T1Z

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 5 : Les interactions entre les meilleurs ligands et les résidus du site actif de 5T1Z

Complexe	Interactions hydrogène (Å°)	Interactions hydrophobiques (Å°)				
	Conventional Hydrogen Bonds	Alkyl	Pi-Alkyl	Pi-Sulfur	Pi-Sigma	Pi-Pi-T-shaped
5T1Z + Ellagic acid -8.8 kcal/mol	Ala ³⁵⁰ (2.90)	/	Leu ³⁴⁶ (5.03) Ala ³⁵⁰ (4.84) Leu ³⁸⁷ (5.36) Leu ³⁹¹ (5.46) Ile ⁴²⁴ (5.03) Leu ⁵²⁵ (5.20)	Met ⁴²¹ (3.97)	/	Phe ⁴⁰⁴ (4.98)
5T1Z + kaempferol -8.8 kcal/mol	Leu ³⁸⁷ (2.72) Glu ³⁵³ (2.69)	/	Leu ³⁴⁶ (5.31) Met ³⁸⁸ (5.44) Leu ³⁴⁶ (5.16) Ala ³⁵⁰ (4.84) Leu ³⁸⁷ (5.25) Leu ³⁹¹ (5.38) Ile ⁴²⁴ (5.09) Leu ⁵²⁵ (5.31)	Met ⁴²¹ (3.89)	/	Phe ⁴⁰⁴ (5.34) Phe ⁴⁰⁴ (5.01)
5T1Z + raloxifene -8.7 kcal/mol	Arg ³⁹⁴ (2.03) Leu ³⁸⁷ (1.98)	Met ³⁴³ (5.40) Leu ⁵²⁵ (4.13) Met ⁵²⁸ (4.86) Val ⁵³⁴ (5.44) Leu ³⁵⁶ (4.09)	Met ³⁸⁸ (5.14) Ala ³⁵⁰ (5.19) Leu ³⁸⁷ (4.54) Leu ³⁹¹ (4.87) Ala ³⁵⁰ (3.82) Ile ⁴²⁴ (4.52) Leu ⁵²⁵ (5.14)	/	Leu ⁵²⁵ (3.94) Leu ⁵²⁵ (3.97)	Phe ⁴⁰⁴ (5.47) Phe ⁴⁰⁴ (5.71)

- Modes d'interactions des complexes *5T1Z*-chaîne A+ *ellagic acid* et *5T1Z*-chaîne A+ *kaempferol*

Les ligands au sein du site actif de l'enzyme 5T1Z sont stabilisés par plusieurs interactions qui ont été avec la plupart des acides aminés qui caractérisent le site actif. Ces interactions sont :

- ✚ Des interactions de types Van Der Walls faisant intervenir le ligand ellagic acid et les acides aminés Leu 349, Glu 353, Arg 394, Met 388, Leu428, Leu 384, His 524, Val 418, Met 528, Met 343. Dans le cas de kaempferol les acides aminés qui ont fait les interactions sont : Leu 428, His 524, Val 418, Met 528, Met 343, Leu 384, Leu 349, Arg 394.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

- ✚ Trois interactions de type liaisons hydrogènes une dans le cas du ellagic acid qui se forme entre l'hydrogène de l'acide aminés Ala 350 et l'oxygène du cycle aromatique du ligand, et deux dans le cas de kaempferol qui se forment entre les hydrogènes du ligand et l'oxygène des résidus Leu 387 et Glu 353. Les distances sont données dans le tableau 5
- ✚ De nombreuses interactions hydrophobiques de type Pi-alkyl, Pi-Sulfur et Pi-Pi-T-shaped faisant intervenir les résidus donnés dans le tableau.
- Modes d'interactions du complexe *5T1Z-chaine A+ raloxifene*

Les interactions du ligand de référence raloxifene avec l'enzyme 5T1Z sont de même nature que les deux meilleurs ligands cités auparavant, ces interactions se forment également avec les même résidus du site actif. Les principales interactions sont :

- ✚ Des interactions de types Van Der Walls faisant intervenir les acides aminés suivant : His 524, Gly 521, Leu 346, Leu 384, Thr 347, Lys 529, Leu 544, Leu 540, Trp 383, Glu 353, Leu 428, Met 421.
- ✚ Deux interactions de type liaisons hydrogènes avec les acides aminés Leu 387 et Arg 394 avec les distances données dans le tableau 5
- ✚ De nombreuses interactions hydrophobiques de type Alkyl, Pi-alkyl, Pi-Sulfur Pi-Sigma et Pi-Pi-T-shaped faisant intervenir les résidus donnés dans le tableau 5.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

III Evaluation *in silico* de l'activité anti-Alzheimer

III.1 Préparation de la protéine (récepteur) :

Pour le traitement des maladies neurodégénératives y compris la maladie d'Alzheimer, nous avons choisis la cible « acétylcholinestérase » qui est disponible sur la banque de données des protéines (PDB) sous le code ID 4EY6 et co-cristallisée avec l'inhibiteur « galanthamine ».

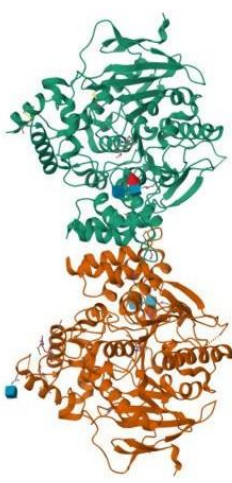
	<i>Code ID</i>	4EY6
	<i>Chaines</i>	A, B, C, D
	<i>Résolution</i>	2.40 Å
	<i>Date de déposition</i>	2012-05-01
	<i>Organisme</i>	Etre Humain

Tableau 6: Données cristallographique de l'Acétylcholinestérase.

➤ Identification du site actif

Jonah Cheung *et al* [14] ont étudiés expérimentalement la structure de l'acétylcholinestérase humaine en complexe avec trois ligands pharmacologiquement importants tels que huperzine, donepezil et la galanthamine. La figure suivant représente les résidus qui forment le site actif du complexe 4EY6 avec la galanthamine.

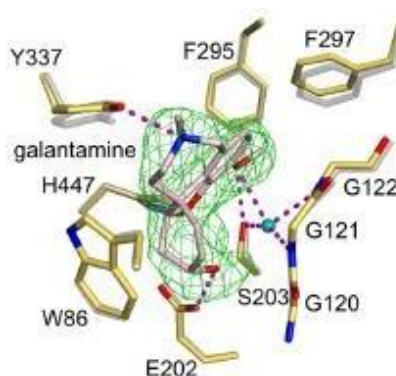


Figure 3: les acides aminés du site actif de la cible 4EY6.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Ainsi, en se basant sur les résidus du site actif donné par défaut avec le logiciel chimera pour les deux chaînes A et B de la cible 4EY6 et des résidus donnés dans la figure 3 on obtient:

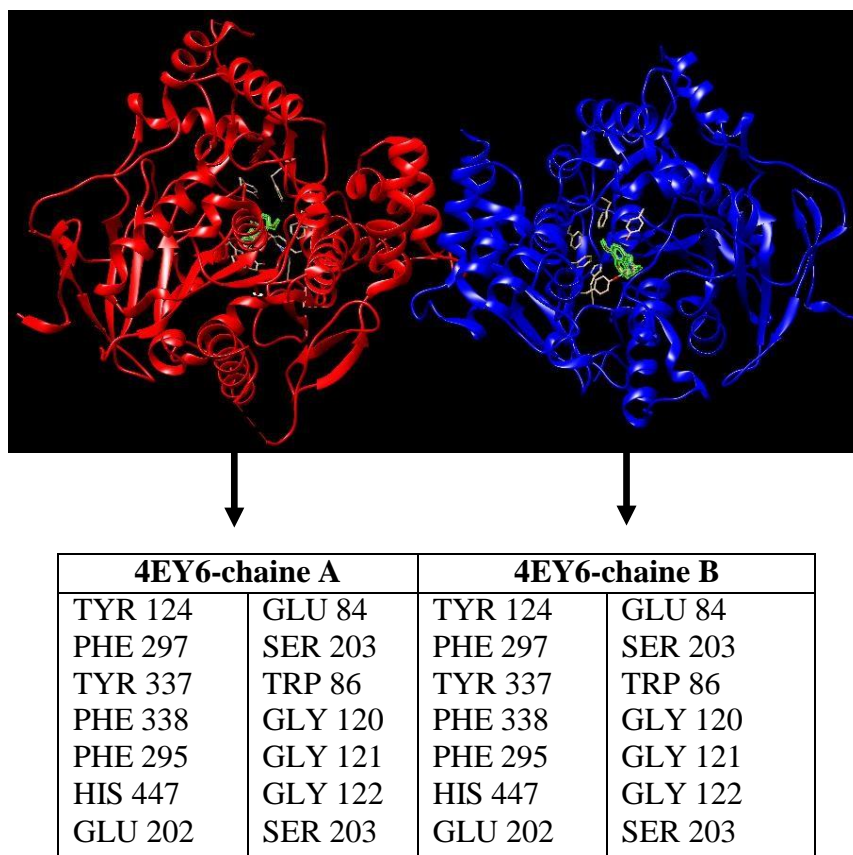


Figure 4: Les acides aminés du site actif de 4EY6.

➤ Préparation du récepteur

La préparation de la structure du récepteur pour le docking moléculaire est effectuée suivant les étapes données ci-dessous:

- Ouverture de la structure PDB de la cible 4EY6.
- Élimination de tous les résidus et les molécules d'eau (solvant) contenus dans la cible.
- Séparation des chaînes (A et B) pour examiner chacune à part.
- Addition des atomes d'hydrogènes et des charges.
- Préparation du site d'inhibition en dessinant la boîte de grille tridimensionnelle qui englobe le ligand et les résidus du site actif.

Les dimensions du grid box pour les deux chaînes A et B du récepteur 4EY6 sont données dans le tableau suivant :

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 7: Les coordonnées de Grid box de chaque chaîne de la cible 4EY6.

5T1Z	Center	Size
Chaîne A	x= -9.00, y= -43.48 z= 30.29	x= 7.00, y= -59.26 z= -24.58
Chaîne B	x= 22.00, y= 20.00 z= 20.00	x= 22.00, y= 21.00 z= 20.00

➤ **Le test de fiabilité du logiciel (Re-Docking):**

Comme mentionné auparavant, nous avons fait le re-docking du ligand co-cristallisé (galanthamine) avec les deux chaînes A et B de la cible 4EY6 pour valider le logiciel. Les résultats des affinités (ΔG) ainsi que la superposition du ligand obtenu avec le ligand expérimentale sont donnée ci-dessous :

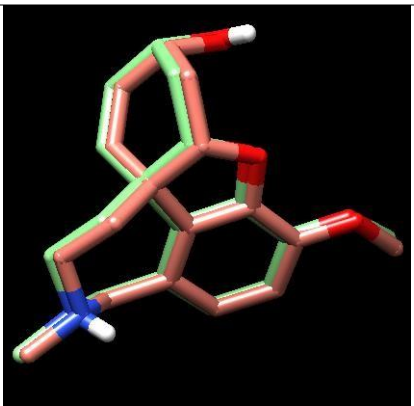
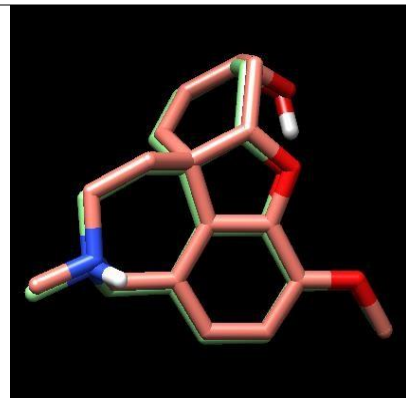
<i>L'affinité ΔG (kcal/mol)</i>	
Chaîne A	Chaîne B
-10.6	-10.5
<i>Superposition (pose verte du docking/ pose rose expérimentale)</i>	
	

Tableau 8: Résultats de docking du complexe 4EY6

- L'analyse des résultats obtenus montre que :

- Les affinités obtenues par docking moléculaire entre l'inhibiteur galanthamine et les chaînes A et B de la cible 4EY6 sont -10.6 kcal/mol et -10.5 kcal/mol respectivement. Les deux énergies sont presque identiques.
- La superposition effectuée entre la pose obtenue par docking moléculaire et la pose expérimentale de l'inhibiteur pour les deux chaînes A et B est idéal.

Finalement, pour réaliser les calculs de simulations on peut choisir une des deux chaînes car les deux donnent les mêmes résultats. Par conséquent, nous avons choisi la chaîne A pour le reste du travail.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.2 Préparation des ligands:

Les structures des 17 molécules utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-Alzheimer ont été données dans le tableau 4 de la section II:

III.3. Résultats du docking moléculaire

Les résultats des calculs docking moléculaire effectués entre les 17 composés avec la chaîne A de la cible 4EY6 afin d'inhiber l'acétylcholinestérase sont récapitulés dans le tableau 9.

Les énergies obtenues sont comparées par rapport à l'énergie d'inhibition du médicament galanthamine qui était l'inhibiteur co-cristallisé avec la cible 4EY6. La galanthamine est un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, largement utilisé dans le monde entier pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. La galanthamine inhibe de manière compétitive et réversible l'enzyme acétylcholinestérase dans le SNC en se liant au site de liaison de la choline et au site actif de l'enzyme. En bloquant la dégradation de l'acétylcholine, et cela améliore les niveaux l'acétylcholine dans la fente synaptique. La galanthamine est un alcaloïde aminé tertiaire isolé de plantes appartenant à la famille des Amaryllidacées. C'est un inhibiteur sélectif, compétitif et réversible de l'AChE.

Tableau 9 : Résultats du docking moléculaire des 17 ligands avec la cible 4EY6

4EY6-Chaine A		
Ligands	ΔG (kcal/mol)	RMSD
Galantamine	-10.6	0
Apignin	-10.8	0
kaempferol	-10.7	0
Isoquercitroside	-10.6	0
Persicoside	-10.5	0
Luteolin	-10.3	0
Naringenine	-10.2	0
Ellagic acid	-10.2	0
Quercitin	-10.1	0
Astragalin	-9.7	0
Rutin	-9.3	0
Nicotiflorin	-8.6	0
Hesperidin	-8.4	0
Quercetin 3-o-glucuronide	-8.4	0
Acide caffeic	-7.1	0
Ferulic acide	-7	0
Ursolic acide	3.8	0
Zeaxanthin	53.8	0

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

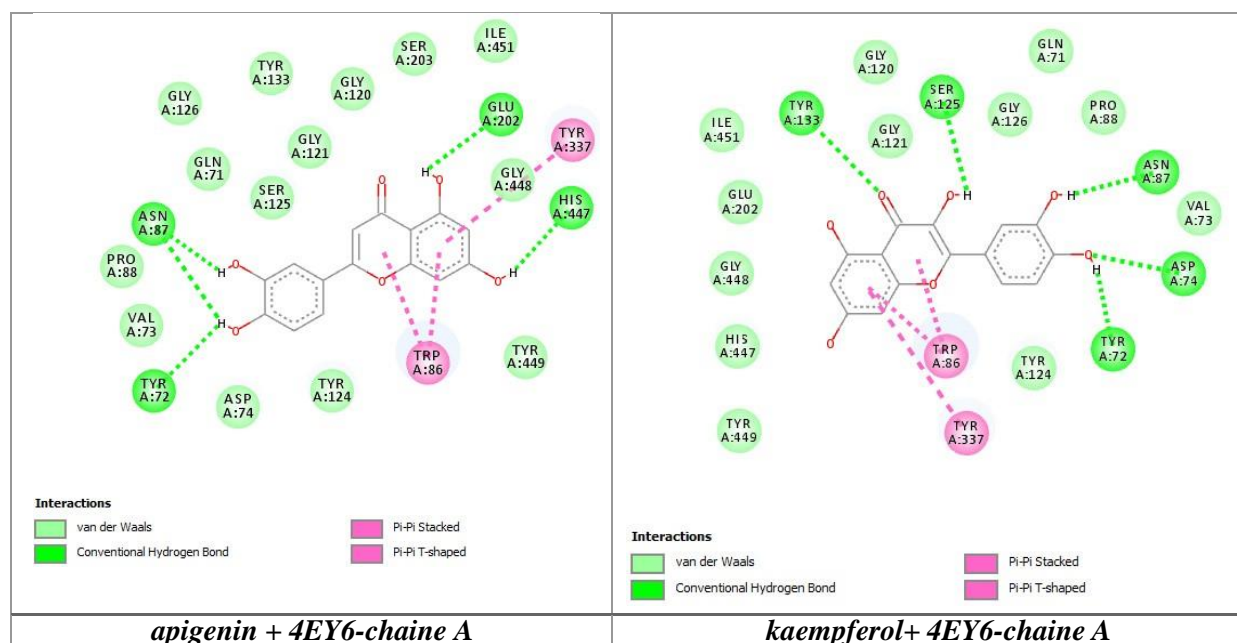
➤ Analyse des résultats

Les résultats donnés dans le tableau montrent que :

- Les composés : ursolic acide et le zeaxanthin donnent des affinités positives $\Delta G > 0$ qui égale à **3.8** et **53.8** kcal/mol, respectivement. Ces composés sont des mauvais inhibiteurs de l'enzyme 4EY6 donc ils ne peuvent pas être utilisés pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.
- Les composés : acide caffeic, ferulic acide, rutin, nicotiflorin, hespiridin, persicoside, Quercetin 3-o-glucuronide, astragaline, quercitin et ellagic acid, naringenine et luteolin ont des énergies d'inhibitions négatives comprises entre **-7** et **-10.5** kcal/mol, cependant ces ligands possèdent un effet inhibiteur inférieur à ce de la molécule de références (galanthamine $\Delta G = -10.6$ kcal/mol).
- Les composés : apigenin, kaempferol, isoquercitroside ont les meilleures affinités avec $\Delta G = -10.8$, **-10.7** et **-10.6** kcal/mol respectivement. Par conséquent, ces trois composés sont prédits comme des meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 4EY6 mieux que le médicament galanthamine.

III.4. Visualisation des interactions

Les interactions obtenues entre les meilleurs composés apigenin, kaempferol, Isoquercitroside ainsi que le galanthamine avec les acides aminés du site actif de l'enzyme 4EY6 sont données dans la figure 4.



CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

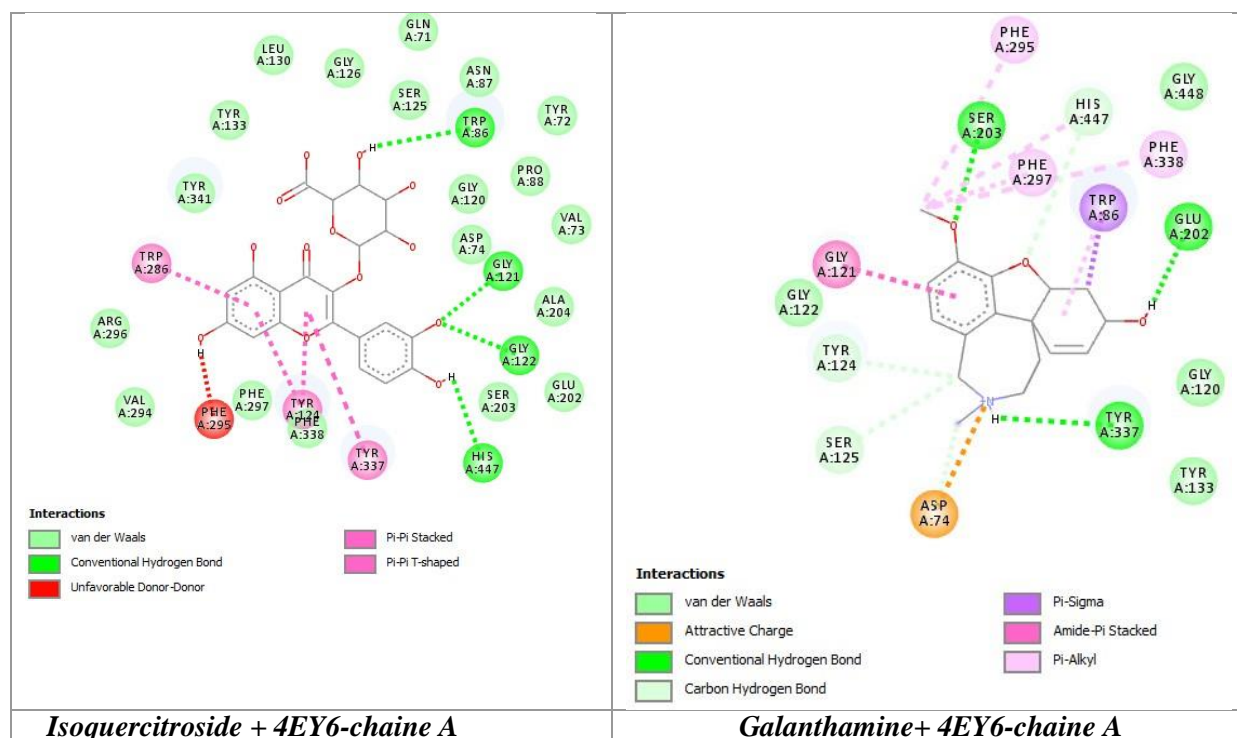


Figure 4: Les interactions entre les ligands et la cible 4EY6

Tableau 5 : Les interactions entre les meilleurs ligands et les résidus du site actif de 4EY6

Complexes	Hydrogen Bonds		Hydrophobic Bonds					Electrostatic Bonds
	Conventionnel Hydrogen	Carbone Hydrogene	Pi-Alkyl	Pi-σ	Pi-Pi Stacked	Pi-Pi-T-shaped	Amide Pi-Stacked	
4EY6 + apigenin	Asn ⁸⁷ (2.51) Tyr ⁷² (2.42) Asn ⁸⁷ (2.76) Glu ²⁰² (2.29) His ⁴⁴⁷ (2.18)	/	/	/	Trp ⁸⁶ (4.04) Trp ⁸⁶ (3.88) Trp ⁸⁶ (4.30) Trp ⁸⁶ (3.78)	Tyr ³³⁷ (5.17)	/	/
4EY6 + kaempferol	Asp ⁷⁴ (2.25) Tyr ¹³³ (3.07) Tyr ⁷² (1.80) Asn ⁸⁷ (2.18) Ser ¹²⁵ (2.55)	/	/	/	Trp ⁸⁶ (4.08) Trp ⁸⁶ (3.98) Trp ⁸⁶ (4.25) Trp ⁸⁶ (3.79)	Tyr ³³⁷ (5.35)	/	/
4EY6 + Isoquercitroside	Gly ¹²¹ (2.25) Gly ¹²² (2.14) Trp ⁸⁶ (2.80) His ⁴⁴⁷ (2.93)	/	/	/	Trp ²⁸⁶ (5.35)	Tyr ¹²⁴ (5.55) Tyr ¹²⁴ (5.83) Tyr ³³⁷ (5.19)	/	/
4EY6 + Galantamine	Ser ²⁰³ (2.47) Tyr ³³⁷ (2.34) Glu ²⁰² (2.12)	His ⁴⁴⁷ (3.32) Tyr ¹²⁴ (3.37) Ser ¹²⁵ (3.72) Asp ⁷⁴ (3.78)	Trp ⁸⁶ (4.74) Phe ²⁹⁵ (4.39) Phe ²⁹⁷ (4.49) Phe ³³⁸ (5.05) His ⁴⁴⁷ (5.17)	Trp ⁸⁶ (3.65)	/	/	Gly ¹²¹ (3.96) Gly ¹²² (3.96)	Asp ⁷⁴ (4.96)

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

- Modes d'interactions des complexes **4EY6-chaine A+ apigenin** et **4EY6-chaine A+ kaempferol**, **4EY6-chaine A+ Isoquercitroside**

A partir de la figure 4 et le tableau 5, les résidus du site d'inhibition de la cible 4EY6 forment plusieurs interactions avec les ligands à savoir :

- ✚ Des interactions de types Van Der Walls faisant intervenir les acides aminés : Val 73, Pro 88, Asp 74, Tyr 449, Tyr 449, Gly 448, Ile 451, Ser 203, Gly 120, Gly 121, Ser 125, Tyr 133, Gly 126, Glu 71 et le ligand apigenin.

Le même type d'interaction a été obtenu avec le kaempferol avec les acides aminés : Ile451, Glu 202, Gly 448, His 447, Tyr 449, Gly 120, Gly 121, Gly 126, Glu 71, Pro 88,

Val 73, Tyr 124.

Dans le cas du Isoquercitroside les résidus impliqués ans les interactions deVan Der Walls sont : Val 294, Arg 296, Tyr 341, Tyr 133, Leu 130, Gly 126, Glu 71,

Ser 125, Asn 87, Tyr 72, Gly 120, Pro 88, Val 73, Asp 74, Ala 204, Ser 203, Glu 202, Phe 297, Phe 338.

- ✚ Plusieurs interactions de type liaisons hydrogènes cinq dans le cas de apigenin et kaempferol et quatre dans le cas du Isoquercitroside. Ces interactions ont lieu entre les atomes d'hydrogènes du ligand apigenin et les atomes d'oxygène des résidus Asn 87, Tyr 72, Asn 87, Glu 202, et His 447. Les résidus impliqués dans le cas du kaempferol sont Asp 74, Tyr 133, Tyr 72, Asn 87, Ser 125. Et les quatre liaisons formés dans le cas du Isoquercitroside inclus les acides aminés Gly 121, Trp 86, et le His 447 avec différentes distances qui sont données dans le tableau.

- ✚ Les complexes sont également stabilisés par des interactions hydrophobiques de type Pi-Pi- Stacked et Pi-Pi-T-shaped dans le cas des trois ligands et qui faisant intervenir les résidus Trp 86, Tyr 337, Trp 286, Tyr 124 avec différentes distances.

- Modes d'interactions du complexe **4EY6-chaine A+ galanthamine**

Les principales interactions du ligand de référence galanthamine avec l'enzyme 4EY6 sont données comme suit :

- ✚ Des interactions de types Van Der Walls acides aminés suivant : Gly 122, Gly 448, Gly 120, Tyr133.

- ✚ Des interactions hydrogènes dont trois sont de type liaison hydrogène et quatre de nature carbone hydrogène faisant intervenir les résidus Ser 203, Tyr 337, Glu 202 et His 447, Tyr 124, Ser 125, Asp 74 respectivement.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

- ✚ De nombreuses interactions hydrophobiques de type Pi-alkyl, Pi-Sigma et Amide Pi-Stacked avec les résidus donnés dans le tableau 5.
- ✚ Une interaction de type électrostatique entre le cation N⁺ du galanthamine et anion O⁻ de l'acide aminé Asp 74.

IV. Évaluation des règles *druglikeness* et des paramètres pharmacocinétiques ADMET pour l'activité anticancéreuse, et anti-Alzheimer

La pharmacocinétique indésirable et la toxicité des composés candidats sont les principales raisons de l'échec du développement de médicaments. L'évaluation de l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) est une étape primordiale dans le processus du développement des médicaments. Par conséquent, les modèles d'évaluation in silico ADMET ont été conçus pour aider les chercheurs dans la conception et l'optimisation des substances pharmacologiquement actives.

A cet égard, nous avons évalué les règles *druglikeness* ainsi que les propriétés pharmacologiques et médicamenteuses des ligands sélectionnés dans la section II et III de l'activité anticancéreuse et anti-Alzheimer, à l'aide du serveur "ADMETlab 2.0" à partir des "SMILE" de chaque ligand.

Le *Simplified Molecular Input Line Entry Specification* ou SMILES est un langage symbolique utilisé pour la description de la structure des molécules chimiques.

Ligands	SMILES
Ellagic acid	<chem>C1C(OC2=CC(=CC(=C2C1=O)O)O)C3=CC=C(C=C3)O</chem>
kaempferol	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
Raloxifen	<chem>C1CCN(CC1)COC2=CC=C(C=C2)C(=O)C3=C(SC4=C3C=CC(=C4)O)C5=CC=C(C=C5)O</chem>
apigenin	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
Isoquercitroside	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)OC4C(C(C(C(O4)C(=O)O)O)O)O)O)O</chem>
Galanthamine	<chem>CN1CCC23C=CC(CC2OC4=C(C=CC(=C34)C1)OC)O</chem>

Tableau 6: Les SMILES de chaque ligand sélectionné ainsi que les molécules de références.

IV.1 Les propriétés physico-chimiques et les règles *druglikeness*:

Le concept de *druglikeness* permet de prédire si un composé chimique est similaire aux médicaments par des propriétés, plus principalement l'hydrophobicité, la distribution électronique, les caractéristiques de liaison hydrogène, la taille et la flexibilité des molécules.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Ces caractéristiques pharmacophoriques influencent le comportement de la molécule dans un organisme comme la biodisponibilité orale. Ces caractéristiques sont évaluées à l'aide de plusieurs règles plus particulièrement les règles de Lipinski et Veber qui sont données dans le tableau 7 ci-dessous.

Tableau 7: Les propriétés physico-chimiques caractérisant les règles druglikeness

	Lipinski				Veber				Validation
	MW ≤ 500	Log P ≤ 05	nHA ≤ 10	nHD ≤ 05	nRot ≤ 11	TPSA ≤ 140	nHA ≤ 12	nHD ≤ 12	
Ellagic acid	272.07	2.56	5	3	1	86.99	5	3	✓
kaempferol	270.05	3.30	5	3	1	90.90	5	3	✓
Raloxifene	459.15	5.24	5	2	6	70.00	5	2	✓
apigenin	286.05	2.90	6	4	1	111.13	6	4	✓
Isoquercitrosi de	492.09	0.78	13	7	5	216.58	13	7	✗
Galanthamine	287.15	1.38	4	1	1	41.93	4	1	✓

➤ *L'analyse du Tableau 7 :*

D'après l'analyse des propriétés physicochimiques des composés donnés dans le tableau on constate que :

- Le poids moléculaire (MW) qui reflète la perméabilité est de l'ordre de [270.05 – 492.09], le coefficient de partage (Log P) qui est lié à l'hydrophobicité est dans l'intervalle [0.78-5.24], le nombre de liaisons hydrogène donneur (HBD) et accepteur (HBA), qui sont corrélés à la perméabilité à <5 et <10 respectivement dans le cas de la règle de Lipinski et <12 avec la règle de Veber sauf le composé Isoquercitroside ne vérifié pas ces valeurs. Le nombre de liaisons rotatives (NRB) qui est corrélé à la flexibilité est inférieur à 10 pour tous les composés. Ensuite, La surface polaire (PSA) qui permet également d'estimer la perméabilité est de l'ordre de [41,93 - 131,36 Å²] tandis que, l'Isoquercitroside a une valeur de 216.58 qui dépasse la valeur optimale.

En résumé, tous les composés respectent les règles de *Lipinski* et de *Veber* et sont bien corrélés avec la biodisponibilité orale sauf l'Isoquercitroside qui ne répond pas aux critères des deux règles Lipinski et Veber. Cela indique que ce composé peut causer des problèmes lors de l'administration orale, donc il est éliminé pour le reste de travail.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

IV.2. Les propriétés pharmacocinétique (ADME/Tox) :

Ensuite, on continue par l'analyse des propriétés pharmacocinétiques qui sont l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité).

Absorption

Pour qu'un composé candidat soit un bon médicament il doit être totalement absorbé dans la circulation sanguine. Dans notre travail nous avons étudié trois paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'absorption: Caco-2 (colon adenocarcinoma), HIA (Human intestinal absorption) et F% (biodisponibilité orale humaine). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 8: Les trois paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'absorption

	Absorption		
	Caco-2	HIA	F%
Ellagic acid	-4.80	Oui (---)	Non (+++)
kaempferol	-4.84	Oui (---)	Non (+++)
Raloxifene	-5.51	Oui (---)	Non (+++)
apigenin	-5.02	Oui (---)	Non (+++)
Gаланthamine	-4.58	Oui (---)	Oui (---)

D'après le tableau on remarque que:

➤ **Caco-2 (colon adenocarcinoma) :**

- ✓ Les composés : ellagic acid, kaempferol, apigenin, et la galanthamine ont des valeurs de Caco-2 supérieur à > -5.15 cm/s ce qui signifie qu'ils peuvent pénétrer les cellules Caco-2.
- ✓ Les composé : kaempferol et le raloxifen possèdent des valeurs de Caco-2 inférieure à -5.15 cm/s). Ce qui indique qu'ils ont une mauvaise perméabilité à travers les couches Caco-2. Cette tendance a été obtenue expérimentalement par d'autres chercheurs qui ont justifié que le kaempferol et le raloxifene ont été mal absorbés par ces cellules [15, 16].

➤ **HIA (Human intestinal absorption) :**

- ✓ Tous les composés testés ont une réponse positive (Oui) envers HIA. Cela montre clairement que ces composés sont bien absorbés dans le système gastro-intestinal vers la circulation systémique.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

➤ *F% (Oral Bioavailability) :*

- ✓ Tous les composés autres que le galanthamine ont une réponse négative (non). Cela nous mène à dire que les candidats présentent une faible biodisponibilité orale cela est fortement associé à la faible solubilité et perméabilité des composés. Ces résultats se concorde bien avec les résultats trouvés dans la littérature [17-20] qui cherchent à améliorer ce paramètre.

✚ **Distribution:**

Un bon médicament doit être distribué dans la circulation générale vers son site d'action. De ce fait, les paramètres liés à la distribution sont: PPB (Protein Plasma Binding), BBB (Blood–Brain Barrier) et VD (volume de distribution). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 9: Les trois paramètres pharmacocinétiques correspondant à la distribution

	Distribution		
	PPB	VD	BBB
Ellagic acid	93.76%	0.50	Oui (---)
kaempferol	97.25%	0.51	Oui (---)
Raloxifene	99.27%	1.65	Oui (---)
apigenin	95.43%	0.53	Oui (---)
Galanthamine	19.52%	2.76	Non (+++)

On remarque que:

➤ *PPB (Protein Plasma Binding)*

Les liaisons aux protéines plasmatiques sont cruciales pour la distribution d'un médicament dans les tissus corporels.

- ✓ Le composé galanthamine forme des liaisons aux protéines plasmatiques inférieures à 90%. Ceci montre que ce médicament peut être distribué facilement dans les tissus.
- ✓ Les composés : kaempferol, apigenin, ellagic acid et le raloxifene ont des PPB > 90 %. Donc ces composés forment des liaisons aux protéines plasmatiques ce qui signifie que ces composés peuvent avoir des difficultés lors de la pénétration tissulaire. Dans le cas du médicament raloxifene, les études pharmacologique montrent que environ 95 % du raloxifene est lié aux protéines plasmatiques ce qui est relativement élevé. L'étiquette conseille toujours aux patients d'utiliser le raloxifene avec prudence

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

en cas de co-administration avec d'autres médicaments fortement liés aux protéines [21].

➤ *VD (Volume de distribution)*

- ✓ Tous les ligands possèdent un volume de distribution appropriés (0,04-20L/kg), cela indique que ces composés peuvent être distribués dans la circulation sanguine.

✚ **BBB (Blood–Brain Barrier) :**

- ✓ Les ligands ellagic acid, kaempferol, apigenin et raloxifene possèdent une réponse (oui) au paramètre BBB, cela indique que les ligands peuvent pénétrer la barrière hémato encéphalique et par la suite distribués sans avoir des problèmes par rapport au système nerveux central (SNC).
- ✓ Le galanthamine qui est un médicament destiné pour le traitement de la maladie d'Alzheimer, par contre il a un BBB négatif donc il a une faible pénétration de la barrière hémato encéphalique. Bakker C *et al* [22] ont étudié la pharmacocinétique de ce composé est les résultats trouvés montrent que la galanthamine est un ammonium quaternaire et donc il ne passe pas facilement par la barrière hémato-encéphalique.

✚ **Métabolisme**

Pour que le composé candidat soit un bon médicament il doit être métabolisé sans détériorer les fonctions de l'organisme. Dans notre travail nous avons prédit deux paramètres pharmacocinétiques concordant au métabolisme: CYP450 Substrat et CYP450 Inhibiteur. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 10: Paramètres pharmacocinétiques correspondant au métabolisme.

	Métabolisme									
	P450 CYP Substrat					P450 CYP Inhibiteur				
	1A2	3A4	2C9	2C19	2D6	1A2	3A4	2C9	2C19	2D6
Ellagic acid	Non	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
kaempferol	Non	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Raloxifene	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui
apigenin	Non	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
Galanthamine	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non	Oui

D'après le tableau on remarque que:

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

- ✓ De manière générale les ligands subits des métabolismes avec les cytochromes (inhibiteur) 1A2, 3A4, 2C9, 2C19, 2D6 sauf le kaempferol (non inhibiteur de 3A4,2C16, 2D6) et apigenin (non inhibiteur de 2C19).
- ✓ Les ligands font des métabolismes avec les cytochromes (substrat) 2C9 et 2D6
- ✓ les résultats des études in vitro rapporte que: le raloxifene subit principalement un métabolisme de premier passage dans les voies du cytochrome P450 [21]. Il est largement métabolisé, où moins de 1 % de la dose totale existe sous forme de composé inchangé.

Aussi, les études suggèrent qu'environ 75 % du médicament galanthamine est métabolisé par le CYP2D6 et le CYP3A4 [22].

Excrétion

Un bon médicament doit être éliminé sans entrainer des dommages. Dans ce qui suit, nous avons prédits les deux paramètres pharmacocinétiques concordant à l'excrétion: le temps demi-vie ($T_{1/2}$) exprimé en heure (h) et la Clairance (CL). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 11: Les paramètres pharmacocinétiques correspondant à l'excrétion

	Excrétion	
	CL	$T_{1/2}$
Ellagic acid	17.38	0.77 (+)
kaempferol	7.02	0.85(+)
Raloxifene	10.32	0.03 (-)
apigenin	8.14	0.89(+)
Galanthamine	4.16	0.54 (-)

D'après le tableau on remarque que:

➤ CL (la Clairance)

- ✓ Ellagic acid a une clairance supérieur à > 15 ml /min/kg ce qui signifie que ce composé à une bonne excrétion.
- ✓ Le kaempferol, apigenin et le raloxifene, ont une clairance supérieure à 5 ml/min/kg, ce qui signifie que les composés ont une excrétion modérée.
- ✓ Le galanthamine a une valeur de CL < 5 ml /min/kg ce qui signifie qu'il a une mauvaise excrétion, cela est lié à son faibles pourcentage de PPB (19%).

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

➤ $T_{1/2}$ (le temps demi-vie)

- ✓ le temps de demi-vie de les ligands ellagic acid, kaempferol, apigenin est $T_{1/2} < 3$ h, cela indique que le temps d'élimination de la moitié de la concentration du médicament dans le sang est rapide.
- ✓ Le raloxifene et galanthamine ont un $T_{1/2} > 3$ h.

✚ Toxicité

Un composé candidat doit représenter un bon profil toxicologique:

Tableau 12: Les paramètres pharmacocinétiques correspondant à la toxicité

	Toxicité		
	hERG	H-HT	AMES
Ellagic acid	Non (---)	Non (---)	Non (-)
kaempferol	Non (---)	Non (---)	Non (-)
Raloxifene	Oui (+++)	Oui (+)	Oui (++)
apigenin	Non (---)	Non (---)	Oui (+)
Galanthamine	Non (--)	Non (-)	Non (---)

Analyse du tableau montre que:

➤ **Test de hERG : (Human Ether-à-go-go-Related Gene)**

- ✓ Tous les composés présentent un test hERG négatif (Non), donc ces composés ne présentent pas un risque de développer des problèmes cardiaques. Sauf le raloxifene qui présente un test hERG positive, ce résultat a été trouvé expérimentalement et que le raloxifene affecte le canal hERG cloné (I(hERG)) et le canal cardiaque humain recombinant KCNQ1/KCNE1 (I(Ks)) [23].

➤ **Test H-HT**

- ✓ Tous les composés présentent une réponse négatif (Non) donc c'est composé sont prédit comme non hépatotoxiques. Sauf le raloxifene qui est faiblement hépatotoxique. Des tests *in vivo* de hépatotoxicité ont été effectué sur les singes montre que le raloxifene à signalé une toxicité légère mais significative dans le singe rhésus [24].

✚ Test d'AMES :

- ✓ Les composés : kaempferol, ellagic acid, et galanthamine sont prédits comme non toxique et pas de risque d'induire des modifications au niveau de l'ADN.
- ✓ Les composés apigenin et kaempferol présente une réponse positive (oui) mais faible donc pas de grand risque à induire des modifications au niveau de l'ADN et d'être génotoxiques.
 - ✓ Le raloxifene est prédit comme moyennement toxique. Cependant, Les informations sur la génotoxicité du raloxifene sont peu étudiées donc des travaux détaillés doivent être menés à l'aide de différents systèmes de test.

IV.3 Conclusion générale sur ADME/Tox :

➤ *Activité anticancéreuse*

Les composés ellagic acid et kaempferol sont actifs par voie orale avec une bonne biodisponibilité en raison des paramètres *druglikeness* favorable, aussi un profil ADMET acceptable. Cela indique clairement que ces inhibiteurs peuvent être utilisé au tant que composés candidat avec une bonne activité anticancéreuse

➤ *Activité anti-Alzheimer*

Le composé Isoquercitroside a été éliminé à cause de ses paramètres physicochimiques inappropriés ainsi que la mauvaise biodisponibilité, donc il ne peut pas être considéré comme un composé candidat.

Ensuite, on constate que les composés : apigenin, et kaempferol possèdent des propriétés physicochimiques acceptable et des paramètres ADMET généralement bien corrélés avec les règles optimales donc ces composés peuvent atteindre le stade clinique et considérés comme des composés candidats avec un excellent pouvoir anti-Alzheimer.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Références :

- [1] : Gaussian 09, Revision B.01, Frisch, M. J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H. et al. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- [2] : Frisch, M. J.; Nielsm, A. B.; Holder, A. J. Gaussview User Manual Gaussian, Pittsburgh, 2008.
- [3] : Goddard TD., Huang CC., Ferrin TE., Visualizing density maps with UCSF Chimera. J Struct Biol. Vol 157(1), p 281-287. Jan 2007.
- [4] : Sania Safdar Butt., Yasmin Badshah., Molecular Docking Using Chimera and Autodock Vina Software for Nonbioinformaticians. JMIR Bioinformatics Biotechnol . Vol 1(1), 2020.
- [5] : Trott O., Olson AJ., AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. J Comput Chem 30. Vol 31(2), p 455-461. Jan 2010
- [6] : Sania Safdar Butt., Yasmin Badshah., Molecular Docking Using Chimera and Autodock Vina Software for Nonbioinformaticians. JMIR Bioinformatics Biotechnol . Vol 1(1). 2020.
- [7] : Introduction to the Discovery Studio Visualizer [En ligne : http://www.adrianomartinelli.it/Fondamenti/Tutorial_0.pdf]
- [8] : L'essentiel a savoir sur une base de données [En ligne : <https://www.oracle.com/fr/database/definition-base-de-donnees.html>].
- [9] : Protein Data Bank [En ligne : https://www.wikiwand.com/fr/Protein_Data_Bank].
- [10] : Université libre de bruxelles. Bibliothèque et information scientifique [En ligne : <https://bib.ulb.be/fr/bibliotheques/bst/ressources-documentaires/pubchem>].
- [11] : The Comprehensive Repository of Validated and Curated Small Molecule Organic and Metal-organic Crystal Structures. [En ligne : <https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/software/csd/>].
- [12] : Jagadish Natesh., Priya Mondal., Culinary Spice Bioactives as Potential Therapeutics against SARS-CoV-2: Computational Investigation. Computers in Biology and Medicine.Vol (128). January 2021.
- [13] : Philipp Y. Maximov, Balkees Abderrahman., Endoxifen, 4-hydroxytamoxifen and an Estrogenic Derivative Modulate Estrogen Receptor Complex Mediated Apoptosis in Breast Cancer. Molecular Pharmacology Fast Forward. May 8, 2018.
- [14] : Jonah Cheung., Michael J. Rudolph., Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. Journal of Medicinal Chemistry. Vol 55, p 10282–10286, 2012.
- [15] : Eun Ju Jeong , Huimin Lin, Ming Hu., Disposition mechanisms of raloxifene in the human intestinal Caco-2 model. National Library of Medecine. Vol 310(1), p 376-85, Jul 2004.
- [16] : Meriem Nait Chabane , Abraham Al Ahmad., Quercetin andnaringenin transport across human intestinal Caco-2 cells. National Library of Medecine. Vol 61(11), p 1473-83, Nov 2009.

CHAPITRE III APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

- [17] : Kevser Kandemir., Merve Tomas., Recent advances on the improvement of quercetin bioavailability. *Trends in Food Science & Technology*. Vol 119, p 192-200, January 2022.
- [18] : Zhongjian Chen., Meijuan Tu., The exposure of luteolin is much lower than that of apigenin in oral administration of Flos Chrysanthemi extract to rats. *National Library of Medicine*. Vol 27(1), p 162-8, 2012.
- [19] : Maria Shulman ., Merav Cohen., Enhancement of naringenin bioavailability by complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *National Library of Medicine*. Vol 6(4), 6 Apr 2011.
- [20] : Mohsin Kazi., Abdullah Alhajri., Enhancing Oral Bioavailability of Apigenin Using a Bioactive Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (Bio-SNEDDS): In Vitro, In Vivo and Stability Evaluations. *National Library of Medicine*. Vol 12(8), Aug 2020.
- [21] : DrugBank. Raloxifene. [En ligne : <https://go.drugbank.com/drugs/DB00481>]. Consulté le 25 mai 2023.
- [22] : Charlotte Bakker., Jasper van der Aart ., Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of Gln-1062, a prodrug of galantamine. *ALZHEIMER'S ASSOCIATION*. 13 October 2020.
- [23] : Hui Liu., Lei Yang ., The selective estrogen receptor modulator raloxifene inhibits cardiac delayed rectifier potassium currents and voltage-gated sodium current without QTc interval prolongation. *National Library of Medicine*. Vol 62(5), p 384-90, Nov 2010.
- [24] : Sabine U Vorrink., Yitian Zhou., Prediction of Drug-Induced Hepatotoxicity Using Long- Term Stable Primary Hepatic 3D Spheroid Cultures in Chemically Defined Conditions. *Toxicological Sciences*. Vol 163, p 655–665, June 2018.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce mémoire consiste à étudier *in silico* par docking moléculaire la possibilité d'inhibition des métabolites secondaires présents dans les plantes *Prunus persica* et *Rubus ulmefolius* et prédiction de leur affinités pour les cibles thérapeutiques de la pathologie de cancer du sein et la maladie d'Alzheimer.

Les 17 molécules identifiées dans les extraits des feuilles des plantes médicinales *Prunus persica* et *Rubus ulmefolius* ont été examinées par l'inhibition des récepteurs d'œstrogène alpha (ER α) et l'acétylcholinestérase (AChE) qui sont des enzymes impliquées à la maladie du cancer du sein et à la maladie d'Alzheimer respectivement.

En premier lieu, nous avons étudié la capacité d'inhibition des 17 ligands avec le programme Autodock Vina pour l'obtention de meilleures conformations des complexes ligand-protéine avec les meilleures affinités. Les résultats obtenus montrent que les composés ellagic acid et kaempferol sont les meilleurs inhibiteurs du récepteur d'œstrogène alpha avec une énergie de -8.8 Kca/mol. Ces composés sont meilleurs que le médicament raloxifene.

D'autre part, les meilleurs composés inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont apigenin avec une énergie de -10.8 Kcal /mol, kaempferol -10.7 Kcal /mol et Isoquercitroside -10.6 Kcal /mol. Tandis que, le composé de référence galanthamine à une affinité de -10.6 kcal/mol.

Ensuite, l'analyse des propriétés ADMET de la pharmacocinétique indique que les composés testés présente un profil pharmacocinétique et toxicologique acceptable et par la suite ils sont prédits comme des composés-candidat capable de traiter la maladie du cancer du sein et la maladie d'Alzheimer.

Finalement, les perspectives futures de ce travail sont:

- ✓ Le docking moléculaire des métabolites secondaire issus dans différentes plantes médicinales, pour évaluation des capacités anticancéreuse et anti-Alzheimer à l'aide des approches de la modélisation moléculaire.
- ✓ Nous envisageons d'approfondir l'étude par l'utilisation de la dynamique moléculaire pour mieux comprendre les propriétés chimiques ou biologiques des complexes protéines-ligand et l'interaction des systèmes moléculaires.

الملخص

في هذا العمل نركز على دراسة في السيليكو لمثبطات جديدة لسرطان الثدي ومرض الزهايمر باستخدام مقتطفات من أوراق *Prunus persica* و *Rubus ulmefolius* لقد درسنا مستقبلات الاستروجين الفا و الاستيل كولينستراز كهدف علاجي لمرض لسرطان الثدي و الزهايمر استخدمنا نهج الالتحام الجزيئي بسلسلة تحتوي على 17 جزيئاً من مستخلصات نبات الخوخ و التوت اظهرت هذه الدراسة ان مركبات ايلاجيك أسيد و كايمفيرول هي افضل مثبطات لمستقبلات الاستروجين الفا ويمكن استخدامها كأدوية سرطان. تعتبر مركبات لأبيجينين و كايمفيرول من افضل مثبطات لاستيل كولينستريز و يمكن استخدامها كأدوية لمرض الزهايمر. الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي، مرض الزهايمر، الخوخ، التوت، الالتحام الجزيئي

Résumé

L'objectif principal de ce travail, est l'évaluation *in silico* de l'activité anticancéreuse et anti-Alzheimer en utilisant les extraits des feuilles de *Prunus persica* et *Rubus ulmefolius*.

- Nous avons étudié les ER α comme cible thérapeutique du cancer du sein et l'AChE comme cible thérapeutique de la maladie d'Alzheimer.
- Nous avons étudié le docking moléculaire d'une série de 17 molécules identifiés dans les extraits des deux plantes *Prunus persica* et *Rubus ulmefolius*.
- L'évaluation de l'activité anticancéreuse montre que le ellagic acid et kaempferol sont les meilleurs inhibiteurs d'ER α et peuvent être utilisés comme des médicaments du cancer du sein.
- les composés apigenin et kaempferol sont les meilleurs inhibiteurs de l'AChE et peuvent être utilisés comme des médicaments de la maladie d'Alzheimer.

Mots clés : Cancer du sein, la maladie d'Alzheimer, ER α , l'AChE, *Prunus persica*, *Rubus ulmefolius*, docking moléculaire.

Abstract

The main purpose of this work is the *in silico* evaluation of the anti-cancer and anti-Alzheimer activities using the extracts of the leaves of *Prunus persica* and *Rubus ulmefolius*.

- We studied ER α as a therapeutic target for breast cancer and AChE as a therapeutic target for Alzheimer's disease.
- We studied the molecular docking of a series of 17 molecules identified in the extracts of the two plants *Prunus persica* and *Rubus ulmefolius*.
- Evaluation of the anticancer activity shows that ellagic acid and kaempferol are the best ER α inhibitors and can be used as breast cancer drugs.
- The compounds apigenin and kaempferol are the best AChE inhibitors and can be used as drugs for Alzheimer's disease.

Keywords: breast cancer, Alzheimer's disease, ER α , AChE, *Prunus persica*, *Rubus ulmifolius*, molecular docking.