



**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE
ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR E
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABBES LAGHROUR
KHENCHELA**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de la Biologie**

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique

Filière: Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option: Biochimie Appliquée

Thème

**Optimisation de l'extraction des flavonoïdes à activité
anti-oxydante des galles de *Pistacia lentiscus*.**

Présenté par:

MAAFA Amira Nesrine et MEDARAGUE NAROU Kenza

Devant le jury:

Président: Dr.LEBBAL.S.Université Abbes Laghrou- Khenchela

Encadreur: Mr RAHAL .K MAA .Université Abbes Laghrou- Khenchela

Examineur: Dr.ZERAIB.A.Université Abbes Laghrou- Khenchela

Année universitaire: 2019-2020

Remerciment

En premier lieu, nous tenons à remercier ALLAH, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

Au terme de ce travail nous tenons à remercier en premier lieu

***Mr. RAHAL KHALID**, pour son aide précieuse, pour ses remarques pertinentes et surtout pour le temps qu'il nous a accordé et ceci malgré ses nombreuses charges.*

*Et nos familles : **Maafa & Medarague Harou** .*

Nous tenons à remercier les membres de jury qui ont bien voulu nous faire l'honneur de participer à ce jury.

Nous remercions également tous les enseignants du département de Biologie Moléculaire et Cellulaire.

Merci à tous ceux qui nous ont contribués de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Résumé

Résumé

La recherche en biologie ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter les données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "docking"). L'emploi initial du "docking" moléculaire a été de prédire et reproduire des complexes (protéine-ligand). Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type d'interaction. À chaque protéine cible de structure connue le docking se révèle être la clé dans le design de nouveaux ligands.

Notre travail consiste à étudier l'activité anti-oxydante des composés de l'huile essentielle des galles de *Pistacia lentiscus* par l'approche bioinformatique pour l'étude d'interaction protéines-ligands *in silico* de quatre protéines (Glycolate oxydase, Sarcosine oxydase, Tyrosine kinase et Peroxiredoxin 5).

Nos résultats montrent que le (2-Undécanone) a un effet anti-oxydant important par rapport aux autres composés de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* du au meilleur score qu'il présente avec les différents protéines.

Mot clés : Docking moléculaire, MOE, ligand, l'Huile Essentielle , *Pistacia lentiscus*, l'activité anti-oxydante, Glycolate oxydase, Sarcosine oxydase, Tyrosine kinase et Peroxiredoxin 5, 2-Undécanone.

Abstract

Abstract

Research in biology cannot currently do without computer tools to process the data produced and optimize its advances. One of these tools is molecular modeling and more specifically molecular stowage (more commonly known as "docking"). The initial use of molecular "docking" was to predict and reproduce protein-ligand complexes. Docking is the basis for molecular recognition and the type of interaction. With each target protein of known structure the docking proves to be the key in the design of new ligands.

Our work consists in studying the antioxidant activity of the hexes of *Pistacia lentiscus* galls were studied in vitro and by the bioinformatic approach for the study of protein-ligand interaction in silico of four proteins (Glycolate oxidase, Sarcosine oxidase, Tyrosine kinase and Peroxiredoxin 5).

Our results show that (2-Undecanone) has an important anti-oxidant effect compared to the other EO compounds of *Pistacia lentiscus* due to the better score it presents with the different proteins.

Keywords: Molecular docking, MOE, ligand, Essential Oil, *Pistacia lentiscus*, antioxidant activity, Glycolate oxidase, Sarcosine oxidase, Tyrosine kinase and Peroxiredoxin 5, 2-Undecanone.

فيما يخص الأبحاث البيولوجية لا يمكن القيام بها حالياً بدون استعمال أدوات الكمبيوتر لمعالجة النتائج المحصلة عليها وبالتالي تحسين هذه الأخيرة بواسطة تقنيات النمذجة الجزيئية وبالتدقيق الالتحام الجزيئيل عليها معروف بالمصطلح "الالتحام". الاستعمال الأولي للالتحام الجزيئي هو الاعتراف و الاستنساخ المركبات بروتين-مبطنات. الالتحام هو أساس الاعتراف الجزيئي ونوع من التفاعل لكل بروتين الهدف من هيكل معروف التحام يبرهن على أن تكون المفتاح في تصميم مادة تفاعل جديدة.

بحثنا يحتوي على دراسة نشاط مضادات الأكسدة للزيوت الأساسية لأورام نباتات الضرو التي تمت دراستها في المختبر ومن جهة أخرى أجريت دراسة تفاعل بروتينات - مبطنات من خلال النهج المعلوماتي الحيوي لأربعة بروتينات وظيفية (أوكسيدز غليكولات ، أوكسيدز ساركوزين ، تيروسين كيناز وبيروكسيدوكسين 5)

تظهر نتائجنا أن مادة التفاعل (2-Undecanone) لها تأثير مضاد للأكسدة قوي مقارنة بالمركبات الأخرى لزيوت الأساسية (العطرية) لأورام نباتات الضرو نظراً لدرجة الافضل من التكامل البنيوي التي يبرزها مع البروتينات الوظيفية

الكلمات المفتاحية: الالتحام الجزيئي, MOE, مادة التفاعل, زيت أساسي (عطري), نبات الضرو , نشاط مضاد للأكسدة , أوكسيدز غليكولات ، أوكسيدز ساركوزين، تيروسين كيناز وبيروكسيدوكسين 5)

Liste de figure

LISTE DE FIGURES

Figure 01 : <i>Pistacia Lentiscus</i> [Anacardiaceae], arbuste commun des maquis et garigues en Algérie.....	4
Figure 02 : Fleurs de <i>Pistacia Lentiscus</i> L	5
Figure 03 : Feuilles de <i>Pistacia Lentiscus</i> L.....	5
Figure 04 :Fruits de <i>Pistacia Lentiscus</i> L à différents stades de maturité.....	6
Figure 05 : Distribution géographique de genre <i>Pistacia</i> dans le monde.	6
Figure 06 : Aire de répartition de <i>Pistacia Lentiscus</i> L. autour du bassin Méditerranéen.....	7
Figure 07 : Principales classes de composés phénoliques et quelques exemples	10
Figure 08 :Squelette de base et nomenclature des flavonoïdes.	11
Figure 09 : Exemples de structures des principaux types de tanins	13
Figure 10 : Surface de Réponse.	20
Figure 11 : Plan composite pour deux facteurs.....	22
Figure 12 : Plan de Doehlert.	23
Figure 13 : Plan de Box- Behnken pour trois facteurs.....	24
Figure 14 : Exemple de plan non conventionnel.....	25
Figure 15 : La suite MOE sous Windows (Protéine)	30
Figure 16 : La suite MOE sous Windows (Ligand).....	31
Figure 17 : Page d'accueil de Protein Data Bank.	32
Figure 18 : Page d'accueil de PubChem.	32
Figure 19 : Peroxiredoxin 5 (code d'accès 1HD2).	34
Figure 20 : Glycolate oxidase (code d'accès 2RDU).....	34
Figure 21 : Sarcosine oxidase (code d'accès 1EL5).	35
Figure 22 : Tyrosine kinase (code d'accès 2HCK).....	35
Figure 23 : Schéma présentatrice le protocole de MOE (Molecular Operating Environment).....	37

Liste de figure

Figure 24 : Superposition de la géométrie des ligands obtenu par cristallographie (color en rose) et celle calculée par docking moléculaire avec MOE (coloré en bleu).....	40
Figure 25 : Le position des ligands co-cristallisés dans les 4 complexes.....	42
Figure 26 : Images de meilleures poses (conformations).	42
Figure 27 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B). avec FMN.	45
Figure 28 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone.....	46
Figure 29 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec FAD	46
Figure 30 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone.....	47
Figure 31 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec BEZ.	48
Figure 32 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone	48
Figure 33 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec QUE	49
Figure 34 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone	50
Figure 35 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec FMN.	51
Figure 36 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone.....	51
Figure 37 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec FAD.	52
Figure 38 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone	53

Liste de figure

Figure 39 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec BEZ.....	53
Figure 40 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone.....	55
Figure 41 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec QUE.....	55
Figure 42 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone.....	56
Figure 43 : Diagramme d'interaction du complexe 1 (Glycolate Oxidase + FMN).....	58
Figure 44 : Diagramme d'interaction du complexe 2 (Sarcosine Oxidase + FAD).....	59
Figure 45 : Diagramme d'interaction du complexe 3 (Peroxiredoxin 5+ BEZ)	59
Figure 46 : Diagramme d'interaction du complexe 4 (Tyrosine Kinase + QUE)	60
Figure 47 : Diagramme d'interaction ligand de de meilleur score (2-Undecanone) de Glycolate Oxidase.....	61
Figure 48 : Diagramme d'interaction ligand de meilleur score (2-Undecanone) de Sarcosine Oxidase.....	62
Figure 49 : Diagramme d'interaction ligand de meilleur score (2-Undecanone) de Peroxiredoxin 5.....	62
Figure 50 : Diagramme d'interaction ligand de meilleur score (2-Undecanone) deTyrosineKinase.....	63

Liste de tableaux

LISTE DETABLEAUX

Tableau 01. Classification botanique du <i>Pistacia Lentiscus</i> L.....	4
Tableau 02. Classification des flavonoïdes.....	11
Tableau 03. Activités biologiques et pharmacologiques de <i>Pistacia lentiscus</i>	16
Tableau 04. Données cristallographique pour les cinq protéines.....	33
Tableau 05. Les structures des composés et leurs codes téléchargé sur PubChem.....	36
Tableau 06. Valeur de RMSD avec leur score.....	39
Tableau 07. Le bilan énergétique des 4complexes (Kcal/mol).....	43
Tableau 08. Les liaisons d'interactions des 4 complexes.....	64

Liste des abréviations

LISTE DES ABREVIATIONS

Å : Ångström .

AGMI : Acide Gras Mono insaturé.

AGPI : Acide Gras Polyinsaturés.

AGS : Acide Gras Saturé.

BEZ :Benzoic Acid.

BR :Bromide Ion.

CCM : Chromatographie sur couche mince

FAD : Flavin-Adenine Dinuclotide.

FMN :Flavin Mononucleotide.

GC : Chromatographie en phase gazeuse

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

GLV :Glyoxylic Acid.

HE : Huile Essentiel

MOE: Molecular Operating Environment

MSR : Méthodologie des Surfaces de Réponse

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

P.L :*Pistacia lentiscus*.

PDB : Protein Data Bank

pH : potentiel hydrogène .

Liste des abréviations

PO4 : Phosphate Ion.

QUE: Quercitine.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RMSD: Root Mean Square Deviation.

Vit K1 : Vitamine K1.

Sommaire

REMERCIEMENT

Résumé

Liste de figure

Liste de tableau

Listes des abréviations

Sommaire

Introduction

générale.....Erreur ! Signet non défini.

Chapitre 1: généralités sur l'espèce *Pistacia Lentiscus*

1.Introduction.....Erreur ! Signet non défini.

2.Classification de la plante (*Pistacia Lentiscus*

L).....Erreur ! Signet non défini.

2.1. Aperçu sur la botanique de la plante *Pistacia*..Erreur ! Signet non défini.

2.2. Place dans la systématique.....Erreur ! Signet non défini.

2.3. Morphologie de *Pistacia Lentiscus* L.....Erreur ! Signet non défini.

2.3.1. Morphologie FloraleErreur ! Signet non défini.

2.3.2. Les feuillesErreur ! Signet non défini.

2.3.3. Graines (fruits).....Erreur ! Signet non défini.

3.Répartition géographique et exigences écologiques de *Pistacia Lentiscus*

L.....Erreur ! Signet non défini.

Chapitre 2: chimie des métabolites et activités biologiques

1.Introduction.....Erreur ! Signet non défini.

Sommaire

2.Chimie des métabolites de la plante *Pistacia*

***Lentiscus*.....Erreur ! Signet non défini.**

2.1. Les métabolites primaires.....Erreur ! Signet non défini.

2.1.1. Acides GrasErreur ! Signet non défini.

2.2. Les métabolites secondairesErreur ! Signet non défini.

2.2.1. Les terpénoïdesErreur ! Signet non défini.

a. Les monoterpènes (C10).....Erreur ! Signet non défini.

b. Les sesquiterpènes (C 15).....Erreur ! Signet non défini.

2.3. Les composés phénoliques.....Erreur ! Signet non défini.

2.3.1. Les flavonoïdes 11

2.3.2. Les tanninsErreur ! Signet non défini.

2.3.3. Les coumarinesErreur ! Signet non défini.

2.3.4. Les saponinesErreur ! Signet non défini.

3.Les huiles

essentielles.....Erreur ! Signet non défini.

4.Composition chimique d'huile essentielle des feuilles de *Pistacia*

***lentiscus*.....Er
reur ! Signet non défini.**

5.Utilisations

thérapeutiques.....Erreur ! Signet non défini.

6.Activités biologiques et

pharmacologiques.....Erreur ! Signet non défini.

Chapitre 3: la méthodologie des surfaces de réponse

Sommaire

1.Introduction.....Erreur ! Signet non défini.

2.La Méthodologie des Surfaces de

Réponse.....Erreur ! Signet non défini.

2.1. Les plans composites..... **Erreur ! Signet non défini.**

2.2. Les plans de Doehlert..... **Erreur ! Signet non défini.**

2.3. Les plans de Box-Behnken **Erreur ! Signet non défini.**

2.4. Les plans hybrides..... **Erreur ! Signet non défini.**

2.5. Les plans de Mozzo..... **Erreur ! Signet non défini.**

2.6. Les plans de Rechtschaffner pour le second degré **Erreur ! Signet non défini.**

2.7. Les plans de D-optimaux **Erreur ! Signet non défini.**

2.8. Les plans non conventionnels et leur éventuelle réparation **Erreur ! Signet non défini.**

Chapitre 4: le Docking moléculaire

1.Introduction

.....Erreur ! Signet non défini.

2.Le docking

moléculaire.....Erreur ! Signet non défini.

3.Les outils du docking

moléculaire.....Erreur ! Signet non défini.

3.1. Récepteur..... **Erreur ! Signet non défini.**

3.2. Ligand..... **Erreur ! Signet non défini.**

3.3. Les programmes **Erreur ! Signet non défini.**

Sommaire

4. Molecular Operating Environment (MOE “version 2014”

).....Erreur ! Signet non défini.

5. Applications de l'arrimage

moléculaire.....Erreur ! Signet non défini.

5.1. Optimisation des pistes **Erreur ! Signet non défini.**

5.2. Identification des cibles..... **Erreur ! Signet non défini.**

5.3. Interaction médicament-ADN..... **Erreur ! Signet non défini.**

Matériels et méthodes

1. Matériels et

méthodes.....Erreur ! Signet non défini.

1.1. Matériels..... **Erreur ! Signet non défini.**

1.1. 1. Microordinateur **Erreur ! Signet non défini.**

1.1.2. Programmes **Erreur ! Signet non défini.**

1.1.3. Banques de Données **Erreur ! Signet non défini.**

a. « PDB » (Protein Data Bank)..... **Erreur ! Signet non défini.**

b. « Pubchem »..... **Erreur ! Signet non défini.**

1.2. Méthodes **Erreur ! Signet non défini.**

1.2.1. Choix des protéines..... **Erreur ! Signet non défini.**

a. Téléchargements des protéines **Erreur ! Signet non défini.**

1.2.2. La démarche à suivre..... **Erreur ! Signet non défini.**

a. Préparation de la protéine **Erreur ! Signet non défini.**

b. Préparation la banque de donnée **Erreur ! Signet non défini.**

c. Docking moléculaire **Erreur ! Signet non défini.**

Résultats et discussions

Sommaire

1. Résultats

et discussions.....Erreur ! Signet non défini.
non défini.

1.1. La fiabilité du programme MOE Suite **Erreur ! Signet non défini.**

1.1.1. Calcul de la RMSD **Erreur ! Signet non défini.**

1.1.2. L'analyse visuelle **Erreur ! Signet non défini.**

1.1.3. Conclusion **Erreur ! Signet non défini.**

1.2. Résultats de docking moléculaire des composés HE *Pistacia Lentiscus*
vis-à-vis des cibles choix **Erreur ! Signet non défini.**

1.2.1. Etude des interactions « Protéine – Ligand co-cristalise » par MOE
Suite..... **Erreur ! Signet non défini.**

a. Discussion **Erreur ! Signet non défini.**

1.2.2. Les interactions Electrostatiques **Erreur ! Signet non défini.**

1.2.3. Les interactions Hydrophobe (Lipophilicité) 50

a. Discussion 56

1.2.4. Les acides aminés en interaction avec le ligand 58

1.2.5. Conclusion 64

1.3. Conclusion finale *in silico*..... 66

Conclusion Générale 73

la partie bibliographie

Introduction Générale

Introduction Générale

Dans les dernières décennies, l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde connaissent un regain d'intérêt. Cette utilisation demeure le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé, non seulement du fait qu'elle constitue un élément important du patrimoine culturel, mais aussi pour les raisons de moyens financiers limités (**EIYahiaoui et al., 2015**).

En Algérie les plantes médicinales sont utilisées de façon traditionnelle dans le traitement des pathologies inflammatoires. En effet, les métabolites secondaires des végétaux supérieurs sont une source intéressante de substances qui peuvent lutter contre le stress oxydant, tel est le cas des composés phénoliques (**Boukerouis et al., 2016**).

Les composés phénoliques sont des substances biologiques qui prennent une importance croissante, grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Récemment, de nombreuses études ont montré que ces composés sont des antioxydants naturels qui protègent contre les réactions des radicaux libres (**Duenas et al., 2009**). Ces derniers sont en mesure de donner des protons aux radicaux libres, et sont encore capables d'empêcher la formation des espèces réactives de l'oxygène. Ils présentent également un large éventail d'activités biologiques; qui peuvent être attribuées à leurs propriétés anti-oxydantes (**Osamuyimen et al., 2011**).

Notre présent travail s'inscrit dans le cadre de valorisation des plantes médicinales, dans notre pays très riche en flore. Il s'intéresse principalement à la recherche des antioxydants naturels de la plante médicinale : *Pistacia Lentiscus* de la famille des anacardiacees, communément connue comme le lentisque, et est un arbuste méditerranéen largement utilisé en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs pathologies telles que les troubles gastro-intestinaux, les infections de l'eczéma et des érythèmes, et les inflammations de la gorge. En outre, d'autres propriétés sont actuellement attribués à *P. lentiscus*, tels que la capacité anti-oxydante, l'action hépatoprotectrice, et les effets anti-inflammatoires. (**Zitouni et Yahiaoui, 2017**).

L'huile essentielle est le parfum des plantes aromatiques. Elle s'appelle aussi l'essence ou l'huile volatile qui est un produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (**Bruneton, 1999**).

Introduction Générale

L'huile essentielle du lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires (**Prichard, 2004**). Selon **Gardeli (2008)**, les huiles essentielles révèlent la présence de certaines activités antalgiques, antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiennes.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, qui a pour objectif de déterminer les composés de l'huile essentielle de lentisque dont on ne sait pas à quel composés on va attribuer l'activité anti-oxydante d'où la nécessité d'utiliser l'outil bioinformatique pour élucider un petit peu l'activité des différents composés.

Chapitre 1: Généralité sur l'espèce *Pistacia Lentiscus*

1. Introduction

En Algérie, les plantes ont une grande importance dans la médecine traditionnelle. Les remèdes utilisant les plantes, sont moins chères et sans effet indésirables (**Hallimi, 2004**). La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques. Le genre *Pistacia* est un genre particulier de la famille Anacardiaceae (**Arab et al., 2014**).

2. Classification de la plante (*Pistacia Lentiscus* L)

2.1. Aperçu sur la botanique de la plante *Pistacia*

Le *Pistacia Lentiscus* est une espèce appartenant à la famille des Anacardiaceae qui regroupe des plantes dicotylédones. La composition de cette famille en genres et espèces diffère selon les auteurs.

Les espèces les plus importantes dans le monde du genre *Pistacia* d'après (**Martini, 2003; Ibn Bitar, 1989; Ibn Sina, 1965**) sont:

- *Pistacia atlantica*
- *Pistacia chinensis*
- *Pistacia Lentiscus* L
- *Pistacia Palaestina* - térébinthe de Palestine
- *Pistacia terebinthus* L - *Pistacia Lentiscus* térébinthe
- *Pistacia Vera* L - *Pistacia Lentiscus* vrai (qui donne les pistaches)
- *Pistacia Vulgaris* - *Pistacia Lentiscus* Vulgaris

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (**Quezel et al., 1963**).

2.2. Place dans la systématique

D'après (**Quezel et Santa, 1963**) la position des lentisques dans la systématique du règne végétal est donnée par l'arbre phylogénique représenté dans le (**tableau N°01**).

Tableau 01. Classification botanique du *Pistacia Lentiscus* L (Cragg et al., 1997).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Dialypétales
Série	Diacifores
Ordre	Sapindale
Famille	Anacardiaceés
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Lentiscus</i>



Figure 01 : *Pistacia Lentiscus* [Anacardiaceae], arbuste commun des maquis et garigues en Algérie (Mitcheh ,1986).

2.3. Morphologie de *Pistacia Lentiscus* L

Se sont les feuilles, les fleurs, les fruits et les graines qui distinguent les différents genres des anacardiaceés.

2.3.1. Morphologie Florale

L'arbre de lentisque est dioïque, ses fleurs rougeâtres se rassemblent sous forme de grappes sortantes sous l'aisselle des feuilles (**Figure 02**). Les fleurs males femelles sont apétales et sont quinquennales en étamines pressées au fond du périanthe, elles sont tri-

Stomates. La floraison de lentisque s'étend du mois de Mars jusqu'au mois de Mai (Lemaistre ,1959).



Figure 02 : Fleurs de *Pistacia Lentiscus* L(Belhadj ,2000).

2.3.2. Les feuilles

Elles sont caduques et imparipennées, elles possèdent trois ou quatre sépales, elles sont caractérisées par un ovaire avec un style court à trois stigmates. Elles présentent des formes elliptiques, lisses, d'une verdure belle et luisante (Figure 03) (Onay *et al.*, 2000).

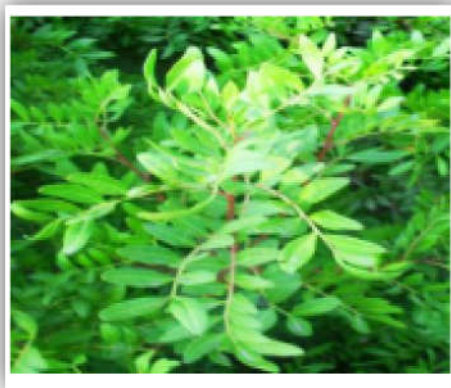


Figure 03 : Feuilles de *Pistacia Lentiscus* L(Salah ,2017).

2.3.3. Graines (fruits)

Les fruits de l'arbre de lentisque sont des drupes de petite taille d'environ cinq millimètres, globuleux qui renferment un seul noyau à une seule graine contenant une pulpe de bon goût et d'une odeur embaumée (Ait youssef ,2006),ils sont de couleur verte, au début, puis se transforment en rouge à mi-maturité et à la maturité ils sont noirâtres (Figure 04).



Figure 04 : Fruits de *Pistacia Lentiscus* L à différents stades de maturité (Ben Douissa ,2004).

3. Répartition géographique et exigences écologiques de *Pistacia Lentiscus* L

Les espèces de cette famille sont des arbres, des arbustes résistant à la chaleur, au froid et à la salinité puisqu'elles existent en abondance sur les bords de la mer méditerranée (Boullard ,2001). On les rencontre surtout dans les régions tropicales à subtropicales et dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord. Elles occupent une aire de distribution tropicale ou subtropicale, qui compte quatre régions phytogéographiques : méditerranéenne, irano touranienne, sino-japonaise et mexicaine (Figure 05) .

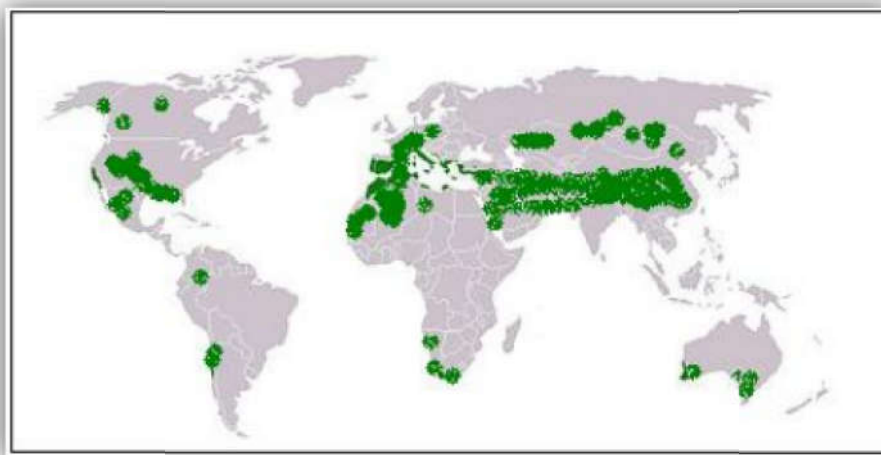


Figure 05 : Distribution géographique de genre *Pistacia* dans le monde (Seigue,1985 ; Zohary., 1952 ; Kokwaro et Gillett ,1980).

Pistacia Lentiscus Lest un arbrisseau qui préfère les sols siliceux et secs, il se développe aussi sur des sols calcaires. Ce genre paraît s'être étendu à l'origine aux régions forestières subtropicales de la zone méditerranéenne. Les espèces auraient subi plus tard une forte xerophitisation (**Figure 06**) (Seigue, 1985).

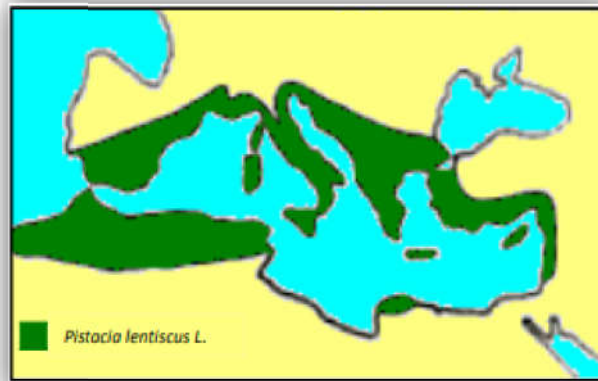


Figure 06 : Aire de répartition de *Pistacia Lentiscus* L. autour du bassin Méditerranéen.
(Seigue, 1985).



Chapitre 2:
Chimie des métabolites
et les activités biologiques

1. Introduction

Les végétaux sont de véritables usines capables de produire de nombreux métabolites qui présentent une grande diversité de structures chimiques en fonction de leur nature biochimique et de leur origine biosynthétique. Ils interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. Avec leurs diversités remarquables, les métabolites constituent une richesse largement exploitée dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Parmi ces métabolites, on cite essentiellement les métabolites primaires et secondaires. (Djedaia, 2017).

2. Chimie des métabolites de la plante *Pistacia Lentiscus*

2.1. Les métabolites primaires

Le métabolisme primaire regroupe toutes les voies de synthèse de composés indispensables à la croissance et au développement de la plante. Les métabolites primaires qui en proviennent ont donc un rôle clé et bien établi chez tous les végétaux (acides aminés et protéines, acides gras, sucres et polysaccharides...).

2.1.1. Acides Gras

La classe la plus importante des acide gras dans l'huile de *Pistacia Lentiscus* est représentée par les acides gras mono insaturés (AGMI), suivie par les AG saturée (AGS) et polyinsaturés (AGPI) .

Le principal AG de l'huile de lentisque est de l'acide oléique (C18: 1) ; Cet AG est réputé pour son rôle dans la préservation des maladies cardiovasculaires et de sa valeur nutritive (Bougherara, 2015).

2.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme des végétaux. Ils y jouent des rôles très importants, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Les produits des métabolismes secondaires sont très nombreux, plus de 200.000 structures ont été identifiées. Ils sont d'une variété structurale extraordinaire mais en faible quantité. Plusieurs composés, particulièrement les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpènes, les vitamines, les lignines..., appartenant aux métabolites secondaires sont considérés comme composés physiologiquement actifs. (Djedaia, 2017).

On distingue classiquement quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les plantes : les composés phénoliques, les saponines, les alcaloïdes et composés azotés et les composés terpéniques.

Chez l'espèce *Pistacia Lentiscus* les métabolites secondaires les plus connues sont les terpénoïdes, les stérols, les composés phénoliques et leurs dérivés.

2.2.1. Les terpénoïdes

a. Les monoterpènes (C10)

Dans le cas des hydrocarbures, les composés mono terpéniques correspondent le plus souvent à la formule brute $C_{10}H_{16}$. Ils peuvent être acycliques (myrcène), monocycliques (limonène) ou bicycliques (camphène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (Molyneux, 2004).

b. Les sesquiterpènes (C 15)

Dont les variations structurales sont de même nature que les monoterpènes, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents. L'allongement de la chaîne farnésyldiphosphate (FPP) accroît le nombre des cyclisations possibles, d'où la très grande variété des structures connues (Bruneton, 1999). Il est estimé qu'il y a plus de 1000 structures des monoterpènes et 3000 sesquiterpènes ((Molyneux, 2004).

2.3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Baueret *al.*, 2001).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette, ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, ... etc.) (Antoniet *al.*, 1999).

Il existe dans les végétaux des milliers de composés phénoliques différents. Ces composés regroupent un ensemble de plus de 8000 molécules. Ces composés sont divisés en une dizaine de classes chimiques, selon leur nombre de cycle phénol ainsi que les éléments de structure qui lient leurs anneaux les uns aux autres. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins (Collin *et al.*, 2011).

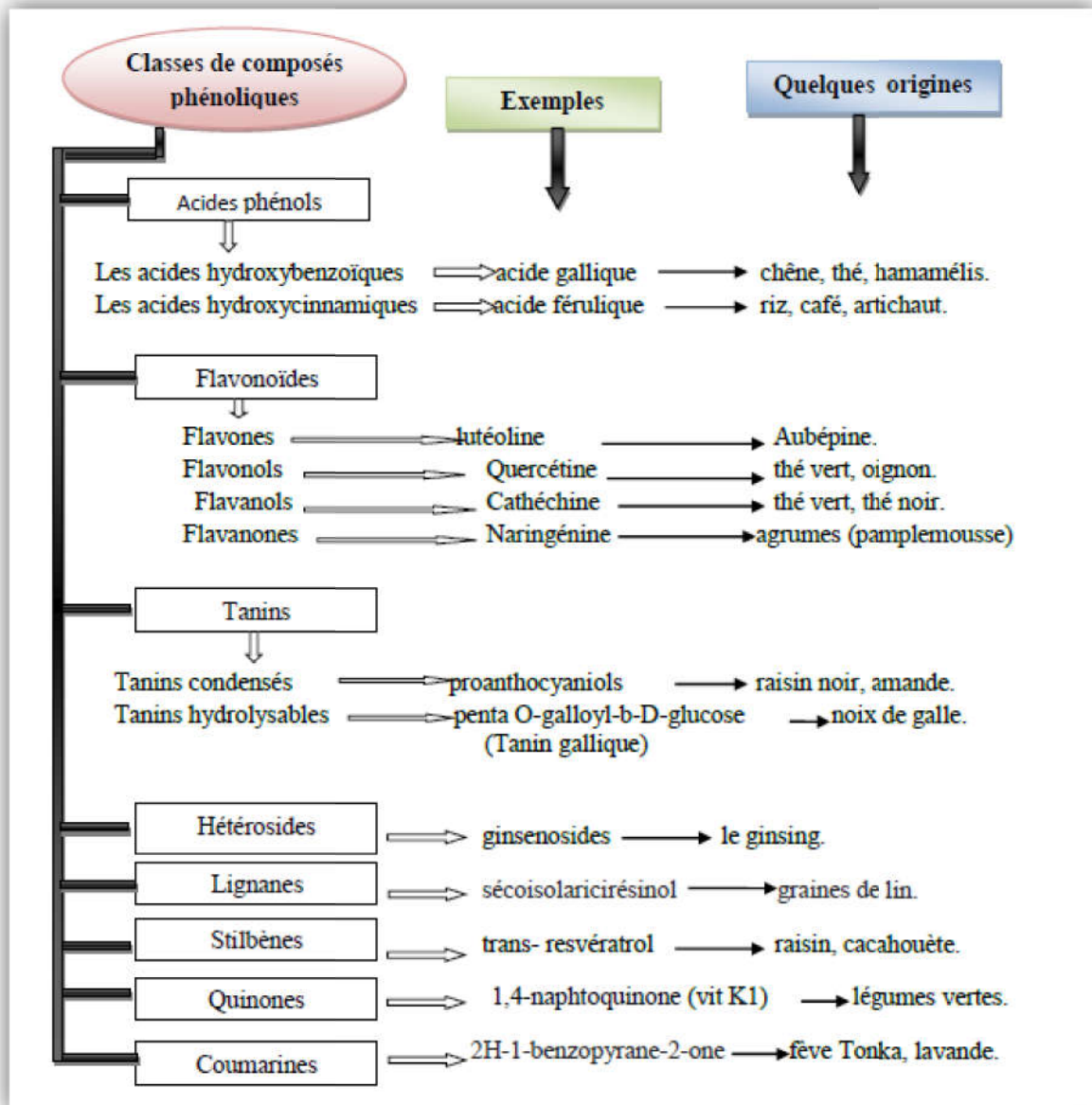


Figure 07 : Principales classes de composés phénoliques et quelques exemples (Bruneton,1999 ; Macheix *et al.*, 2005 ; Watson *et al.*, 2014).

2.3.1. Les flavonoïdes

Cette famille est considérée parmi les ensembles des composés phénoliques les plus variés et les plus répandus. La structure de base des flavonoïdes est représentée par la **figure 08**. Elle renferme deux noyaux et un cycle hétérogène portant de l'oxygène (cycle pyrimidique) (**Bruneton, 1999**).

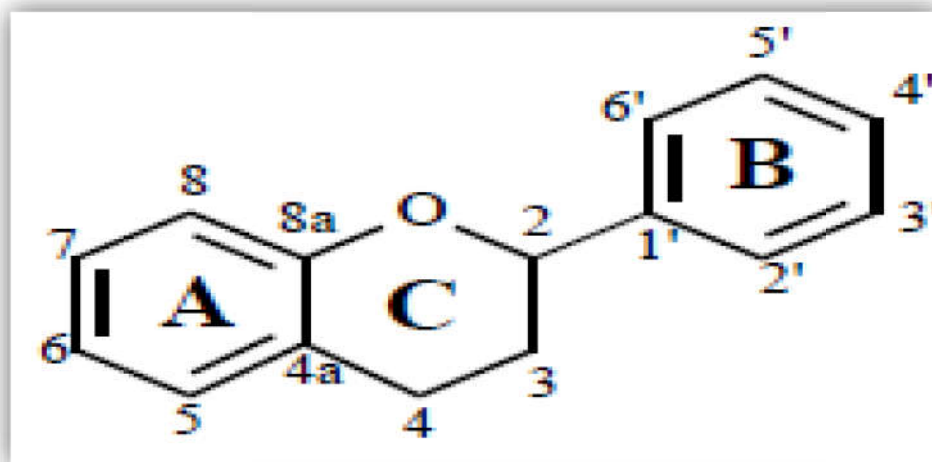
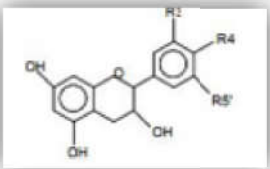
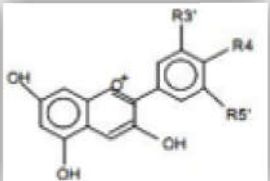
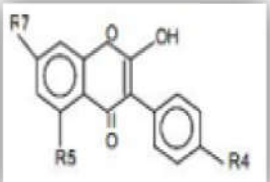


Figure 08 : Squelette de base et nomenclature des flavonoïdes(**Hanasaki *et al.*, 1993**).

A partir du degré d'oxydation ou de réduction de la partie hétérogène, il est possible de faire répartir les flavonoïdes en six classes phénoliques : flavanols, flavanones, flavones, anthocyanes et isoflavonoïdes (**Tableau N °2**)(**De Rijke *et al.*, 2006**).

Tableau 2.Classification des flavonoïdes (**Yao *et al.* 2004**).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples	Propriété
Flavones		H	OH	H	Apigénine	-Antioxydants naturels - Anticancéreuses
		OH	OH	H	Lutéonine	
		OH	OCH ₃	H	Déosmétine	
Flavanols		H	OH	H	Kaempférol	-Antihistaminique, antiinflammatoire et antioxydante. -Isorhamnétine: propriétés antioxydante
		OH	OH	H	Quercétine	
		OH	OH	OH	Myrecétine	

Flavanols		OH	OH	H	Catéchine	Antihistaminique, antiinflammatoire et antioxydante
Flavanones		H	OH	H	Naringénine	-Neutralisation des radicaux libres. -Amélioration de l'absorption de la vitamine C. -la prévention des cancers de la peau.
		OH	OH	H	Eriodictyol	
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine	- La lutte contre le vieillissement cellulaire en améliorant l'élasticité et la densité de la peau - Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes. - Antiseptiques urinaires.
		OH	OH	H	Cyanidine	
		OH	OH	OH	Delphénidine	
Isoflavones		R5	R7	R4'		-Phytoestrogéniques -Source de phytoestrogènes.
		OH	OH	OH	Genisteine	
		H	O-GLU	OH	Daidzeine	

2.3.2. Les tannins

Le terme de tanin désigne des composés phénoliques ayant la capacité de précipiter les protéines (Atkinson *et al.*, 1922). Les tanins sont des composés polyphénoliques très répandus dans le monde végétal. Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 dalton qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Haslam, 1996 ; Cowan, 1999). On distingue deux groupes de tanins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

- Les tanins hydrolysables.
- Les tanins condensés

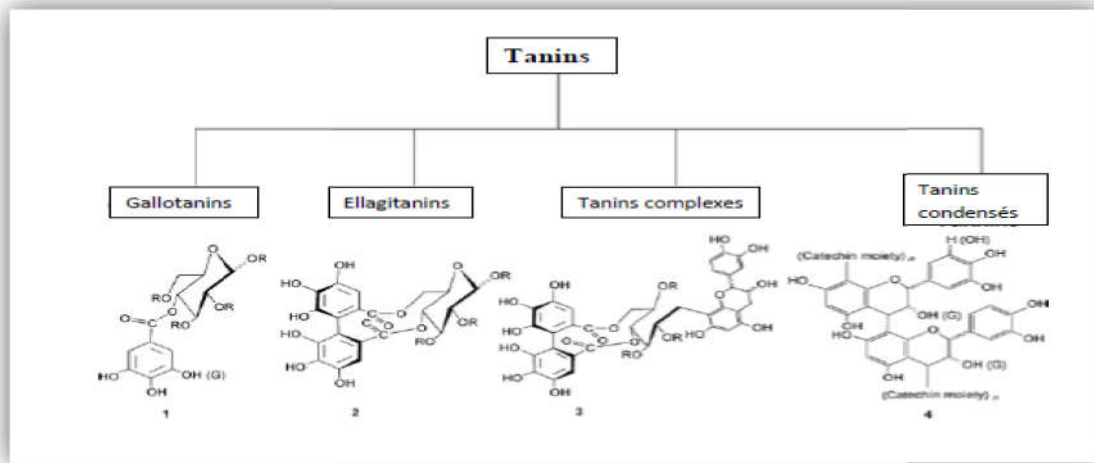


Figure 09 : Exemples de structures des principaux types de tanins (Khanbabaee et van Reeb, 2001).

2.3.3. Les coumarines

La coumarine est une matière cristalline sans couleur, d'odeur embaumée semblable à l'odeur de l'herbe récemment coupée. La coumarine et les fleurs de *Mililotus* (renfermant la coumarine sous forme de glucoside) sont utilisées comme saveur d'arôme gouteux dans l'industrie de quelques types de tabac, elle trouve également une grande importance dans l'industrie de parfums (Mpondo *et al.*, 2015).

2.3.4. Les saponines

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives. La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques. Les saponosides peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine: saponosides à génine stéroïdiques et saponosides à génine terpeniques (Bruneton, 1999).

3. Les huiles essentielles

L'huile essentielle est un extrait végétal provenant des plantes dites: aromatiques qui contiennent donc dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces, ou racines, un grand nombre de molécules aromatiques, qui constituent le ou les principes essentiels des plantes. Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus au moins fluides, voire rétinolides très odorantes, volatiles, souvent colorées : du jaune pâle au rouge foncé voir brun, en passant par le vert émeraude ou encore le bleu. Elles sont plus légères que l'eau (densité de l'ordre de : 0,750 à 0,990) (Bardeau, 2009).

Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau (Bardeau, 2009). Ce sont des métabolites secondaires, la plante utilise l'huile pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Mohammedi, 2006).

Les principaux constituants des huiles essentielles sont des terpènes (aliphatiques, acycliques, aromatiques...), des substances grasses, (intimement associées aux fonctions biologiques des organismes vivants) et plusieurs corps oxygénés aux propriétés chimiques diverses (alcools, aldéhydes, cétones, phénols, esters, acides organiques, coumarines, etc.).

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant plusieurs conditions: l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de récolte, le séchage, l'état sanitaire, la flore adventice..... (Mohammedi, 2006; Bardeau, 2009).

4. Composition chimique d'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus*

L'analyse chimique par chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation des parties séchées des feuilles de *P. lentiscus*. La composition chimique des feuilles de *Pistacia Lentiscus* est caractérisée par la présence des polyphénols (Romani et al., 2002), glycosides, flavanols comme la quercétine, myricétine, luteoline ainsi que l'isoflavone genisteine (Romani et al., 2002; Vaya et Mahmood, 2006).

Elles contiennent 6 à 7% du gallotannins de faible poids moléculaire, à savoir l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-O-di- et 3, 4,5-O-trigalloyl (Romani *et al.*, 2002).

Une étude phytochimique réalisé par (Kivçak *et al.*, 2005) sur l'huile des feuilles de *Pistacia Lentiscus* a permis d'identifier quantitativement le α -tocophérol par l'utilisation de la méthode TLC-DC également appelée chromatographie sur couche mince (CCM).

5. Utilisations thérapeutiques

L'huile des fruits de *Pistacia Lentiscus* est utilisée pour son intérêt médicinal, conseillée pour les diabétiques, pour le traitement des douleurs d'estomac et en cas de circoncision (Hmimza, 2004).

En plus, elle est utilisée comme un remède d'application locale externe sous forme d'onguent pour soigner les brûlures (Bensegueni *et al.*, 2007) ou les douleurs dorsales (Bellakhdar, 1997).

La médecine traditionnelle algérienne utilise surtout cette l'huile grasse dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes.

L'huile de *Pistacia Lentiscus* est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Ces usages sont surtout répandus à l'Est du pays; dans cette région elle est aussi utilisée comme huile alimentaire. (Iserin, 2001 ; Baudoux, 2003).

6. Activités biologiques et pharmacologiques

De nombreuses études pharmacologiques ont rapporté que les molécules contenues dans les différentes parties (feuilles, fruits, partie aérienne) de cette plante ont de multiples activités biologiques à savoir : anti-oxydante, antimicrobienne, antifongique, anti-inflammatoire, anticancéreuse, etc.,

Ci-dessous (tableau N° 03) récapitulatif.

Tableau 03. Activités biologiques et pharmacologiques de *Pistacia lentiscus*.

<i>Pistacia lentiscus</i>	Activités biologiques	Partie utilisée	Métabolites/ Extraits	Références	
	anti-oxydante	Fruits		Acide digallique	Bhourri <i>et al.</i>, 2010
				Extrait hydro-alcoolique	Remila <i>et al.</i>, 2015
		Feuilles		Huile essentielle	Barra <i>et al.</i>, 2007
				Fractions aqueuses du chloroforme et d'hexane	Atmani <i>et al.</i>, 2009
	Antimicrobienne et antivirale	Feuilles		Huile essentielle	Djenane <i>et al.</i>, 2011
				Extrait méthanoïque	Chrysaavgi <i>et al.</i>, 2008
		Fruits		Huile végétale	Mezni <i>et al.</i>, 2015
				Extrait phénolique	Mezni <i>et al.</i>, 2015
	Mastic liquide		Extrait aqueux de mastic	Sakagami <i>et al.</i>, 2009	
	Antifongique	Feuilles		Huile essentielle	Ismail <i>et al.</i>, 2013
	Antiinflammatoire	Feuilles		Extraits aqueux, chloroforme, éthyleacétate et méthanol	Dellai <i>et al.</i>, 2013
			Fruits		Huile végétale
					Extrait hydro-alcoolique

<i>Pistacia lentiscus</i>			Huile végétale	Al-said et al.,2009
	Antidiabétique	Fruits	Huile végétale	Djerrou et al., 2011
			Extrait éthanolique, fractions aqueuse et organique	Mehenni et al., 2016
		Feuilles	Extrait éthanolique, fractions aqueuse et organique	Mehenni et al., 2016
	Anticancéreuse	Feuilles	Extrait hydro-alcoolique	Remila et al., 2015
	Hépatoprotectrice	Feuilles	Extrait éthanoïque, fractions aqueuse et organique	Mehenni et al., 2016
	Anticholinestérasique	Feuilles	Extrait aqueux	Benamar et al., 2010
	Insecticide	Feuilles	Huile essentielle	Bachrouch et al.,2010
	Anti-ulcère	Fruits	Huile végétale	Naouar et al., 2016
	Antimutagène	Feuilles	Huile essentielle	Ben Douissa et al., 2005
			Extrait aqueux	Hayder et al., 2005
Extrait enrichi en flavonoïdes			Hayder et al., 2005	



Chapitre 3: La méthodologie des surfaces de réponse

1. Introduction

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. **(Goupy Jacques, 2001)**. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, y , et des variables, x_i . Il faut penser aux plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type :

$$y = f(x_i)$$

Avec les plans d'expériences on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse **(Box George et al., 2005)**.

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle d'espace expérimental et celle de modélisation mathématique des grandeurs étudiées.

Nous allons maintenant appliquer les notions et les propriétés que nous venons de décrire aux plans d'expériences les plus classiques. Nous verrons successivement les plans suivants :

- Plans factoriels complets à deux niveaux.
- Plans factoriels fractionnaires à deux niveaux.
- Autres plans à deux niveaux.
 - Les plans de Koshal
 - Les plans de Rechtschaffner
 - Les plans de Plackett et Burmann
 - Les tables de Taguchi
 - Les plans sursaturés
- Plans à plusieurs niveaux.
 - Plans complets à trois niveaux
 - Carrés latins
 - Carrés gréco-latins
 - Carrés de Youden
 - Plans à niveaux mixtes
- Plans pour surfaces de réponse.
- Plans de mélanges.
- Plans booléens.

- Plans optimaux.
- Plans pour simulations numériques.

2. La Méthodologie des Surfaces de Réponse

L'optimisation de procédé cherche à trouver l'ensemble des conditions de fonctionnement pour les variables du procédé qui ont comme conséquence la meilleure performance du processus. La Méthodologie des Surfaces de Réponse (MSR), (Byeng *et al.*, 2003 ; Gau *et al.*, 2001 ; Noordin *et al.*, 2003 ; Onur *et al.*, 2003), est une collection de stratégies expérimentales de méthodes mathématiques et statistiques qui permet à un expérimentateur de choisir la meilleure des combinaisons des niveaux des paramètres qui optimise un processus. La MSR est une approche d'optimisation développée au début des années 50 par Box et Wilson (Box et Wilson, 1951). De nombreux chercheurs ont contribué à enrichir cette méthode (Cornell, 1990 ; Quesada *et al.*, 2004 ; Montgomery, 2004), et elle a été introduite en Europe vers les années 1988 – 1990.

L'objectif d'une telle méthodologie est de :

- ✓ Déterminer les conditions de fonctionnement optimales pour un système ou un processus,
- ✓ Déterminer une région de l'espace des facteurs dans laquelle des caractéristiques de fonctionnement (les réponses) sont satisfaites,
- ✓ Modéliser et analyser un processus pour lequel la réponse est influencée par plusieurs variables,
- ✓ Etablir un rapport (équation de la surface de réponse) entre la réponse et les variables indépendantes qui est dans la plupart des cas inconnu.

Cette technique, issue des techniques de plans d'expériences, vise à déterminer d'une façon quantitative les variations de la fonction réponse vis-à-vis des facteurs d'influence significative d'un certain processus ou système. A l'origine, la MSR a été développée pour modéliser des réponses expérimentales (Box *et al.*, 1987 ; Goupy, 1999), puis, pour modéliser des expériences numériques (peu développé) vers les années 1995. Mais à cause d'un développement rapide du marché et d'une concurrence importante, ces dernières années les chercheurs ont commencé à utiliser de plus en plus les expériences numériques (Allen *et al.*, 2000 ; Bursztyna et Steinberg, 2006 ; Koehler *et al.*, 1996 ; Sacks, 1989 ; Trosset *et al.*, 2003) pour une bonne et simple raison : c'est bien moins cher par rapport aux expérimentations réelles.

La MSR est basée sur une relation d'approximation entre la réponse mesurée y et n variables aléatoires (les facteurs étudiés) en utilisant les données observées d'un processus ou d'un système. La réponse est généralement obtenue par des essais réels ou des simulations numériques. Dans la plupart des cas, la fonction " y " qui est une approximation de la réponse mesurée y , est un modèle polynomial du premier ou deuxième degré. Généralement le modèle est donné par :

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^p \beta_j x_j + \sum_{j=1}^p \beta_{jj} x_j^2 + \sum_{i<j}^p \beta_{ij} x_i x_j$$

Ce modèle est appelé surface de réponse (**Figure 10**) et il est très classique pour décrire des phénomènes physiques. Afin de prévoir plus exactement la réponse, un modèle de second ordre est utilisé pour chercher le caractère non linéaire du phénomène étudié. De même la fonction " y " d'approximation, peut-etre écrite sous la forme matricielle comme suit :

$$y = X \cdot \beta + \varepsilon$$

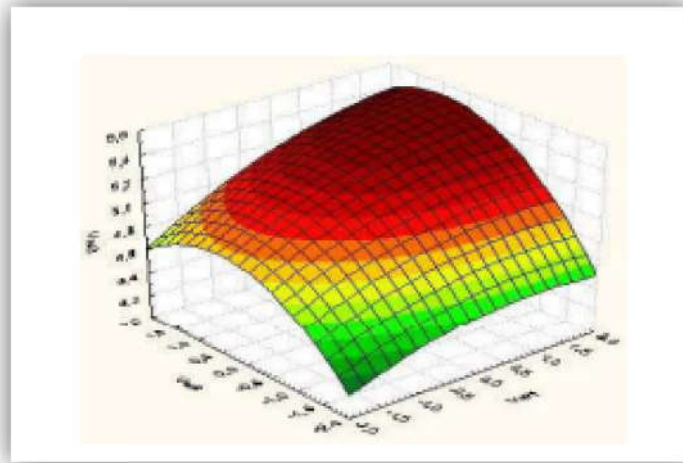


Figure 10 : Surface de Réponse (Goupy,1999) .

Dans la relation ci-dessus X est la matrice de calcul des effets ou la matrice d'expériences, le vecteur β est le vecteur des coefficients du modèle qui contient seulement les coefficients du modèle qui ne sont pas connus, mais qui sont déterminés généralement en minimisant la somme des carrés des résidus ε

Les plans du second degré ou plans pour surfaces de réponse (Goupy,1999) permettent d'établir des modèles mathématiques du second degré. Ils sont utilisés pour les variables continues. Pour deux facteurs, on a

$$y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_{12} x_1 x_2 + a_{11} x_1^2 + a_{22} x_2^2 + e$$

Ces plans sont utiles à chaque fois que l'on se trouve près d'un maximum ou d'un minimum. La théorie développée au cours de la première partie de cet article s'applique à ces plans. A la fin des essais, on a un système d'équations dont les coefficients sont obtenus grâce à la relation

$$\hat{a} = (X'X)^{-1} X'y$$

Il existe plusieurs types de plans du second degré dont les principaux sont décrits ci-dessous.

2.1. Les plans composites

Un plan composite est constitué de trois parties :

- a) Un plan factoriel dont les facteurs prennent deux niveaux.
- b) Au moins un point expérimental situé au centre du domaine d'étude.
- c) Des points axiaux. Ces points expérimentaux sont situés sur les axes de chacun des facteurs.

La **Figure 11** représente un plan composite pour deux facteurs. Les points A, B, C et D sont les points expérimentaux d'un plan²². Le point E est le point central. Ce point peut avoir été répliqué une ou plusieurs fois. Les points F, G, H et I sont les points axiaux. Ces quatre derniers points forment ce que l'on appelle le plan en étoile. On réalise 9 essais et 6 coefficients doivent être déterminés. Il faut donc résoudre un système de 9 équations à 6 inconnues.

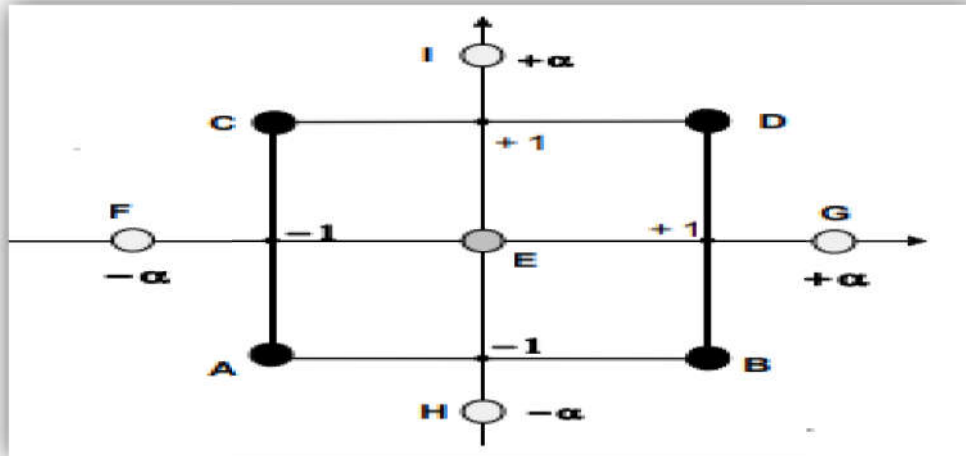


Figure 11 : Plan composite pour deux facteurs (Goupy,1995).

Les coordonnées des points en étoile dépendent du critère d'optimalité choisi. En général, on retient le critère de presque orthogonalité ou le critère d'iso variance par rotation. Les plans composites prennent facilement la suite d'un premier plan factoriel dont les résultats sont insuffisamment expliqués par un modèle du premier degré. Il suffit d'effectuer les expériences correspondant aux points en étoile et de faire les calculs sur l'ensemble de toutes les expériences. Les plans composites sont parfaitement adaptés à une acquisition progressive des résultats.

2.2. Les plans de Doehlert

La caractéristique principale des plans de Doehlert(Doehlert,1970) est d'avoir une répartition uniforme des points expérimentaux dans l'espace expérimental. La **Figure12** donne la disposition de ces points pour un plan à deux facteurs (essais 1 à 7). Tous les points sont à la même distance du centre du domaine d'étude et sont situés sur le cercle trigonométrique. Ils forment un hexagone régulier.

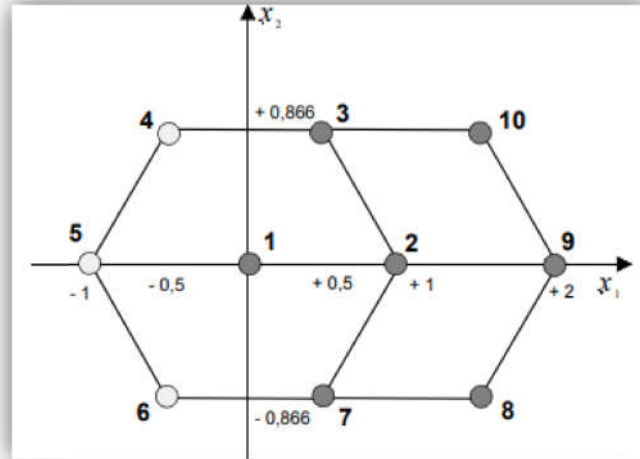


Figure 12 : Plan de Doehlert (Doehlert,1970).

Les points 1 à 7 illustrent un premier plan de Doehlert. Les trois points 8, 9 et 10 illustrent les expériences supplémentaires. Les points 2, 7, 8, 9, 10, 3 et 1 illustrent un deuxième plan de Doehlert.(Doehlert,1970).

Si l'expérimentateur désire explorer le domaine expérimental, il peut facilement ajouter des points d'expériences supplémentaires et retrouver une disposition identique à celle de départ. La Figure 18 montre qu'avec trois points d'expériences supplémentaires (essais 8, 9 et 10), on peut obtenir un nouveau plan de Doehlert (essais 2, 7, 8, 9, 10, 3 et 1). Ce type de plans existe pour un nombre quelconque de facteurs.

2.3. Les plans de Box-Behnken

Les points expérimentaux sont au milieu des arêtes de chacun des côtés du cube (Figure13). Ce plan comporte douze essais auxquels on peut ajouter un (ou plusieurs) point central. La matrice du Tableau 14 indique ces douze essais accompagnés d'un seul point central. Dans la pratique on réalise souvent 3 ou 4 points au centre. Les plans de Box-Behnken (Box et Behnken, 1960)répondent à un critère d'optimisation particulier : l'erreur de prévision des réponses est la même pour tous les points d'une sphère (ou une hyper sphère) centrée à l'origine du domaine expérimental. C'est le critère d'iso variance par rotation. Le plus connu des plans de Box-Behnken est celui qui permet d'étudier trois facteurs.

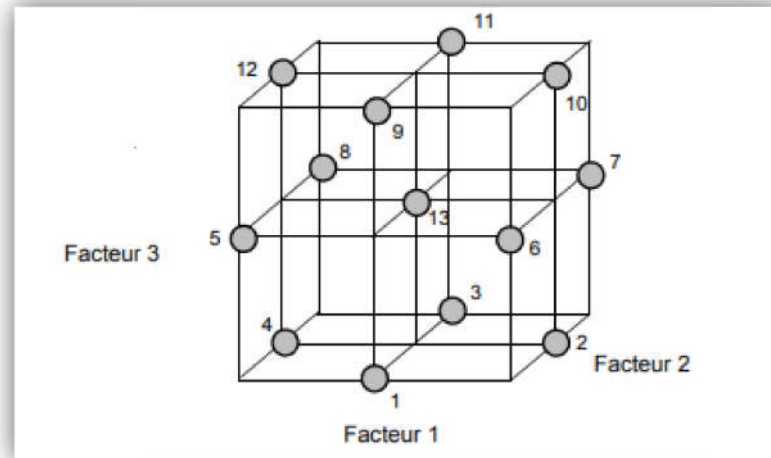


Figure 13 : Plan de Box- Behnken pour trois facteurs (**Box etBehnken, 1960**).

2.4. Les plans hybrides

Les plans hybrides ont été mis au point par Roquemore(**Roquemorek, 1976**). Leur objectif est d'essayer d'approcher deux critères d'optimalité, celui d'orthogonalité et celui d'iso variance par rotation. L'orthogonalité garantie la meilleure précision possible sur les coefficients du modèle et l'iso variance par rotation conduit à des erreurs de prévisions identiques à une même distance du centre du domaine. Si l'expérimentateur recherche ces deux propriétés, il doit penser à utiliser un plan hybride.

2.5. Les plans de Mozzo

Les plans de Mozzo(**Mozzo Gil, 1990**)présentent deux avantages : Ils sont séquentiels et le nombre de niveaux d'étude est restreint. On peut commencer par étudier deux facteurs en trois essais. Puis, si l'on désire étudier un troisième facteur, il suffit de réaliser trois essais supplémentaires. Douze essais permettent d'étudier quatre facteurs. Les plans de Mozzo ne permettent pas tous d'établir un modèle du second degré. Il faut alors avoir recours aux plans quadratiques gigognes de Mozzo.

2.6. Les plans de Rechtschaffner pour le second degré

Les plans de Rechtschaffner permettant d'établir un modèle du second degré sont des plans saturés. S'il y a k facteurs, il faut effectuer un nombre, n, d'essais égal à

$$n = \frac{1}{2} (2 + 3k + k^2)$$

La construction de ces plans est indiquée dans l'article original (**Rechtschaffner,1967**)

2.7. Les plans de D-optimaux

Les contraintes expérimentales ne permettent pas toujours d'être dans les conditions idéales des plans d'expériences précédemment décrits. Par exemple, les réglages de l'appareil ne permettent pas d'atteindre les niveaux préconisés par la théorie ou des combinaisons de niveaux peuvent se révéler dangereuses : réaction explosive pour les chimistes, concentration toxique pour les médecins, etc. Dans cette situation, il est extrêmement commode d'utiliser les plans D-optimaux. Le choix de l'emplacement des points expérimentaux nécessite alors un logiciel de plans d'expériences. Il suffit de préciser le nombre d'expériences que l'on désire effectuer et le modèle a priori. Le logiciel calcule alors, grâce à un algorithme d'échange, le plan le mieux adapté à l'étude.

2.8. Les plans non conventionnels et leur éventuelle réparation

Il peut arriver que l'on soit en possession d'une série de résultats expérimentaux qui n'ont pas été obtenus selon un plan d'expériences. Dans ce cas, il a été montré (Goupy,1995) que l'on peut utiliser ces résultats moyennant certaines précautions. Si la position des essais ne s'éloigne pas trop des plans classiques, les erreurs sur les coefficients du modèle sont faibles et les réponses prédites sont, dans la plupart des cas, tout à fait acceptables.

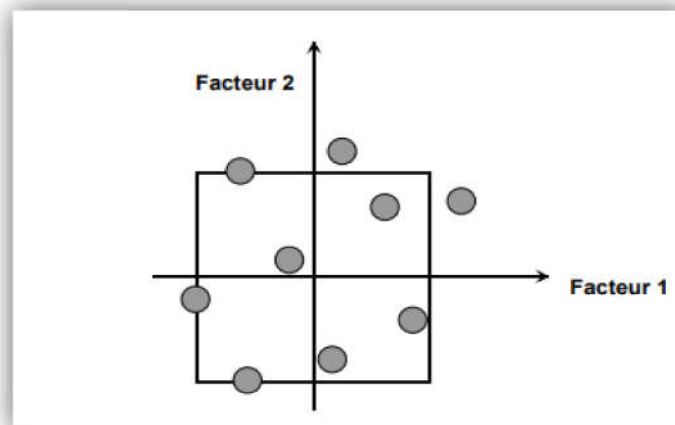


Figure 14 : Exemple de plan non conventionnel(Goupy,1995).

Si la position des essais s'éloigne des plans classiques, les erreurs sur les coefficients peuvent être importantes et on ne pourra pas utiliser le modèle pour faire des prévisions. Dans ce dernier cas il est possible de réparer l'expérimentation en faisant de nouveaux essais bien placés par rapport à ceux qui avaient été déjà réalisés. Les calculs nécessaires au choix de ces nouveaux points sont prévus dans les bons logiciels de plans d'expériences.

Chapitre 4: Le Docking Moléculaire

1. Introduction

L'action d'une molécule dans une protéine est gouvernée par des principes de reconnaissance mutuelle entre la molécule et sa cible. C'est dans ce contexte que s'inscrit le docking moléculaire. Il s'agit d'un ensemble de méthodes algorithmiques et géométriques permettant la prédiction *in silico* de la conformation (position et orientation relative) la plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur (**Krid,2013**). Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand). Le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » (**Boukli-Hacene,2016**).

2. Le docking moléculaire

Le docking comprend essentiellement deux étapes :

- ❖ La première (**le docking**) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables. Bien que pouvant être faite manuellement, cette étape est le plus souvent exécutée de manière automatisée à l'aide d'algorithmes de docking, ce qui améliore la vitesse et la précision des simulations.
- ❖ La deuxième (**scoring**) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente. Cette tâche est accomplie par des outils informatiques nommées fonctions de score. Celles-ci évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques pour la stabilisation du complexe protéine-ligand, et ordonnent ensuite ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables (**Warren et al.,2006 ; Helperin,2002**).

Dans ces dernières décennies, la conception de molécules d'intérêt thérapeutique a bénéficié des progrès issus de diverses disciplines scientifiques telles que la biologie, la pharmacologie et l'informatique. En effet, avec le développement de l'outil informatique, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (assemblage ou arrimage moléculaire) a rapidement investi dans le domaine de la recherche en biologie pour y devenir un outil incontournable (**Beautrait,2008 ; El Hadj Said,2016**).

3. Les outils du docking moléculaire

3.1. Récepteur

La disponibilité de la structure des protéines est l'un des éléments essentiels à considérer avant de réaliser un docking (Syrakis *et al.*, 2010). En général, les sources d'information de ces structures proviennent majoritairement de la cristallographie aux rayons X et de la RMN. Cette technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures accessibles gratuitement appelée «Protein Data Bank» (PDB). En mars 2018, plus de 117 000 structures protéiques ont été résolues et injectées dans la PDB grâce à la cristallographie aux rayons X. La RMN fournit, quant à elle, environ 11 000 structures, contre seulement 1500 dans le cas de la microscopie électronique (1). Lorsque la structure 3D d'une protéine n'a pas encore été résolue expérimentalement, des méthodes de prédiction par homologie de séquence peuvent être mises en œuvre (Nathalie, 2014).

3.2. Ligand

Pour obtenir la structure chimique tridimensionnelle d'un ligand, il existe deux méthodes : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimio thèques ou espaces chimique. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et sauvegarder dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire (Mokrani, 2012).

3.3. Les programmes

Le docking est une approche permettant de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et leur cible. Il se déroule en deux étapes distinctes: La première étape consiste à placer et à positionner le ligand dans son site d'interaction. La seconde étape consiste, quant à elle, à évaluer les poses du ligand générées lors de la première étape pour ne retenir que la ou les meilleures. Les algorithmes utilisés pour ces deux étapes diffèrent en fonction du programme de docking utilisé (François, 2015).

4. Molecular Operating Environment (MOE “version 2014”)

Molecular Operating Environment (MOE) est un package, c'est-à-dire un ensemble de plusieurs logiciels destinés à la découverte et à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. Celui-ci permet d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir les

meilleures conformations de ces molécules. Il permet également de docker plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. MOE présente une forme de docking flexible dans lequel le récepteur et le ligand change de conformation et s'adaptent à l'environnement. Il est également possible de représenter l'enzyme et son ligand Co-cristallisateur. (Ayachi, 2017).

5. Applications de l'arrimage moléculaire

L'arrimage moléculaire permet de démontrer la faisabilité de toute réaction biochimique telle qu'elle est réalisée avant la partie expérimentale de toute investigation. Dans certains domaines, l'arrimage moléculaire a révolutionné les résultats. En particulier, l'interaction entre de petites molécules (ligand) et une protéine cible (qui peut être une enzyme) peut permettre de prédire l'activation ou l'inhibition d'une enzyme. Ce type d'information peut fournir une matière première pour la conception rationnelle d'un médicament. Certaines des principales applications de l'arrimage moléculaire sont décrites ci-dessous :

5.1. Optimisation des pistes

L'arrimage moléculaire permet de prédire une orientation optimisée du ligand sur sa cible. Il peut prédire différents modes de liaison du ligand dans le sillon de la molécule cible. Cela peut être utilisé pour développer des médicaments candidats plus puissants, plus sélectifs et plus efficaces (Shoichet *et al.*, 2002 ; Gschwend *et al.*, 1996).

5.2. Identification des cibles

L'arrimage combiné à la fonction de notation peut être utilisé pour évaluer de grandes bases de données afin de trouver *in silico* un puissant candidat médicament, qui peut cibler la molécule d'intérêt. (Ferreira, 2015).

5.3. Interaction médicament-ADN

L'arrimage moléculaire joue un rôle prépondérant dans la prédiction initiale des propriétés de liaison du médicament à l'acide nucléique. Cette information permet d'établir la corrélation entre la structure moléculaire du médicament et sa cytotoxicité. Dans cette optique, les chimistes médicaux s'efforcent constamment d'élucider le mécanisme anticancéreux sous-jacent des médicaments au niveau moléculaire en étudiant le mode d'interaction entre l'acide nucléique et les médicaments (Agarwal *et al.*, 2014 ; Mehrotra *et al.*, 2013) en présence de cuivre. Les chimistes médicaux font des observations *in silico* où leur principale conclusion est de prédire si le composé/médicament interagit avec la

protéine/ADN. Si le programme d'amarrage prédit ladite interaction, alors les procédures expérimentales sont mises à disposition pour découvrir le mode de liaison réel du complexe. Cela conduit à la mise au point d'un nouveau médicament anticancéreux. En outre, ces connaissances permettraient de détecter les modifications structurelles d'un médicament qui pourraient entraîner une liaison spécifique de la séquence/structure à sa cible (**Holt *et al* .,2008**).

la partie in Silico

Matériels et Méthodes

1. Matériels et méthodes

L'objectif essentiel de ce travail consiste à étudier les interactions entre deux molécules : un récepteur et un ligand par docking moléculaire afin d'élucider qu'elles sont les molécules (composées des HE) les plus actives.

1.1. Matériels

1.1.1. Microordinateur

Nous avons utilisé un microordinateur ayant une mémoire vive de 4 Go de processeur Intel(R) Core (TM) i3-7020U CPU@ 2.30GHz et de carte graphique NVIDIA GEFORCE. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7.

1.1.2. Programmes

Dans cette étude, plusieurs programmes ont été utilisés pour réaliser la partie pratique :

- Le package « **MOE** » (Molecular Operating Environment), version 2014.0901 a été utilisé dans notre étude. MOE est un ensemble de plusieurs applications (suite package) destinés à la découverte et à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. Celui-ci permet d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit.

Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir les meilleures conformations et positions de ces molécules. Il permet également d'arrimer plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive.

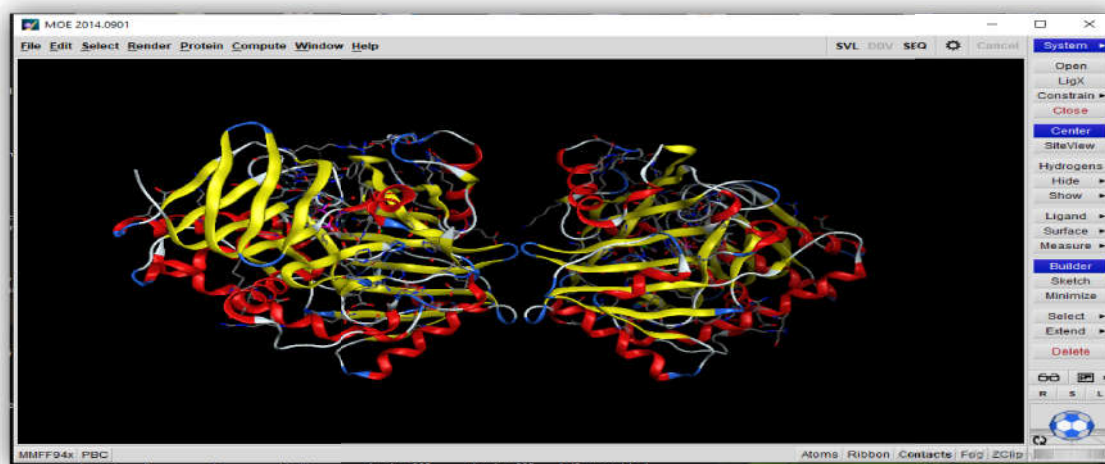


Figure 15 :La suite MOE sous Windows(Protéine).

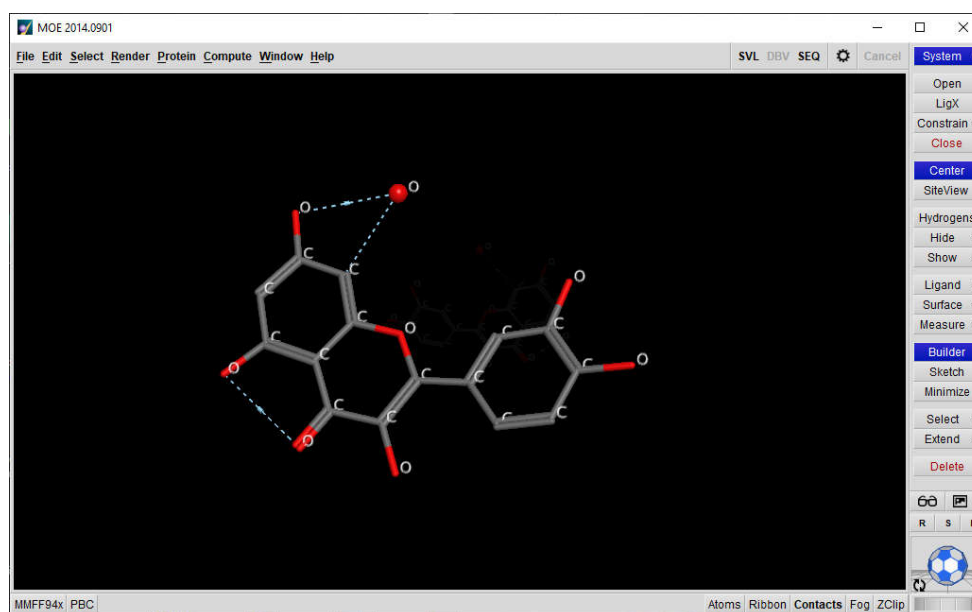


Figure 16 : La suite MOE sous Windows(Ligand).

1.1.3. Banques de Données

« PDB » (Protein Data Bank)

La banque de données sur les protéines (PDB) a été créée comme la première ressource de données numériques en libre accès dans le domaine de la biologie et de la médecine. Elle est aujourd'hui une ressource mondiale de premier plan pour les données expérimentales essentielles à la découverte scientifique avec 168095 entrées en Aout 2020.

Grâce à un portail d'information sur Internet et à des archives de données téléchargeables, la PDB donne accès à des données de structure en 3D pour les grandes molécules biologiques (protéines, ADN et ARN). Ce sont les molécules de la vie, que l'on trouve dans tous les organismes de la planète.

La connaissance de la structure 3D d'une macromolécule biologique est essentielle pour comprendre son rôle dans la santé et les maladies humaines et animales, sa fonction dans les plantes et la production alimentaire et énergétique, et son importance pour d'autres sujets liés à la prospérité et à la durabilité mondiales.

Le RCSB PDB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics PDB) gère le centre de données américain pour les archives mondiales PDB, et met les données PDB gratuitement à la disposition de tous les consommateurs de données sans limitation d'utilisation.

Matériels et Méthodes

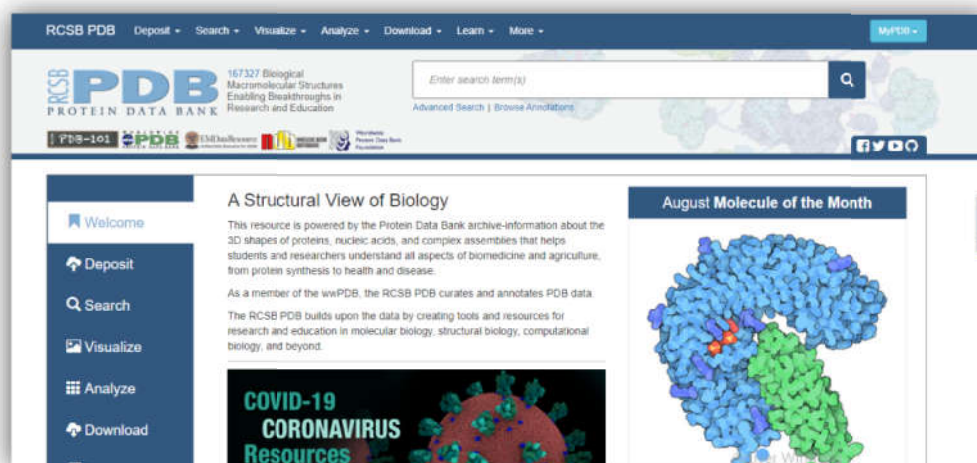


Figure 17 : Page d'accueil de Protein Data Bank.

c. « Pubchem »

C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (le National Center for Biotechnology Information). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles.

La PubChem est gratuitement accessible par Internet « <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> »(3) .

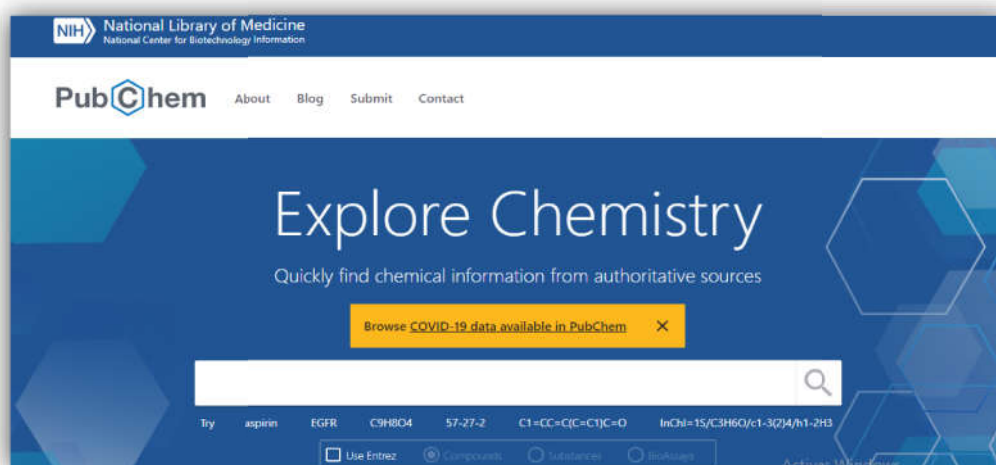


Figure 18 : Page d'accueil de PubChem.

Matériels et Méthodes

1.2. Méthodes

1.2.1. Choix des protéines

Le choix de différentes protéines que nous avons étudiées selon

- La meilleure résolution inférieure de 2 Å.
- La présence d'un ligand.

a. Téléchargements des protéines

Tableau 4. Les données cristallographique pour les cinq protéines.

Code PDB	Classification	Résolution	Chaîne	Ligand	
1HD2 Peroxiredoxin 5	<u>ANTIOXIDANT ENZYME</u>	1.50 Å	A	<u>BEZ</u> BENZOIC ACID C ₇ H ₆ O ₂ WPYMKLBDIGX BTP- UHFFFAOYSA-N	<u>BR</u> BROMIDE ION Br. CPELXLSAUQ HCOX- UHFFFAOYSA-M
2RDU Glycolate oxidase	<u>OXIDOREDUCTASE</u>	1.65 Å	A	<u>FMN</u> FLAVIN MONONUCLEOTIDE C ₁₇ H ₂₁ N ₄ O ₉ P FVTCRASADXX NN- SCRDCRAPSA-N	<u>GLV</u> GLYOXYLIC ACID C ₂ H ₂ O ₃ HHLFWLYXY JOTON- UHFFFAOYSA-N
1EL5 Sarcosine oxidase	<u>OXIDOREDUCTASE</u>	1.80 Å	A, B	<u>FAD</u> FLAVIN-ADENINE DINUCLEOTIDE C ₂₇ H ₃₃ N ₉ O ₁₅ P ₂ VWWQXMAJTJZ DQX- UYBVJOGSSA-N	<u>PO4</u> PHOSPHATE ION O ₄ P NBIIXXVUZA FLBC- UHFFFAOYSA-K
2HCK Tyrosine kinase	<u>TRANSFERASE</u>	3.00 Å	A, B	<u>QUE</u> 3,5,7,3',4'-PENTAHYDROXYFLAVONE C ₁₅ H ₁₀ O ₇ REFJWTPEDVJJI Y-UHFFFAOYSA-N	<u>CA</u> CALCIUM ION Ca BHPQYMZQT OCNFJ- UHFFFAOYSA-N

1.2.2. La démarche à suivre

a. Préparation de la protéine

- Les protéines Sarcosine Oxidase (**1EL5**), Tyrosine kinase (**HCK1**), Glycolate oxidase (**2RDU**) et Peroxiredoxin 5 (**1HD2**) ont été téléchargé à partir de la base de données PDB «Protein Data Bank » (<https://www.rcsb.org/>) (2).
- Détermination du site actif de chaque protéine par SiteFinder suite implantée dans MOE.
- Simplification des protéines en éliminant les molécules d'eau, les ligands de Co-cristallisés, les chaines en double, les métaux et les cofacteurs qui n'interviennent pas dans le site actif de la protéine, nous permet d'accélérer et d'obtenir un modèle simplifié de l'enzyme.

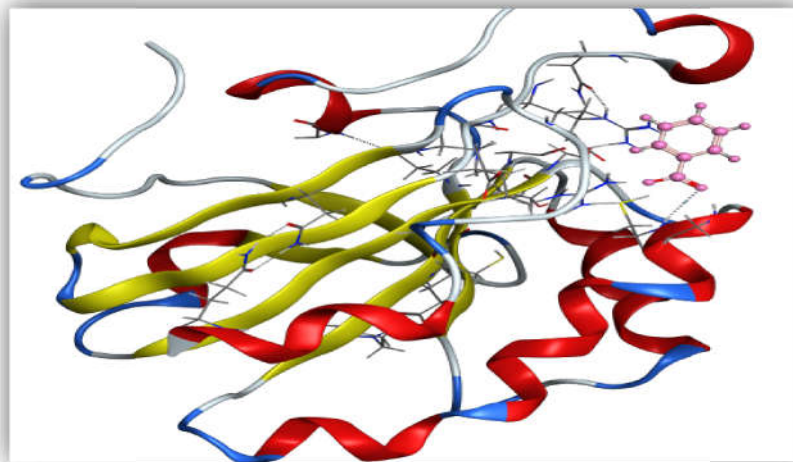


Figure 19. Peroxiredoxin 5 (code d'accès 1HD2).

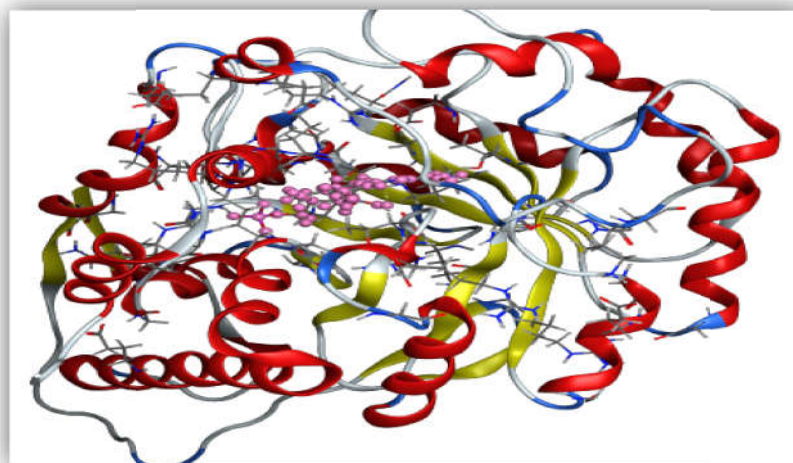


Figure 20. Glycolate oxidase (code d'accès 2RDU).

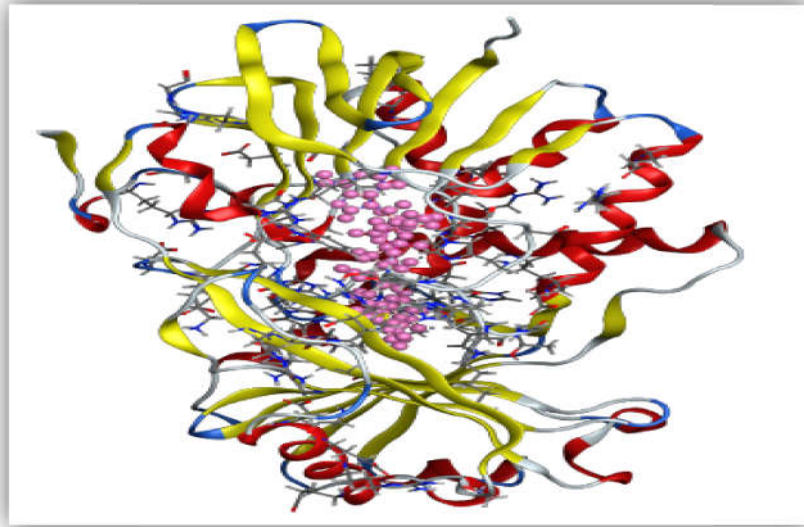


Figure 21.Sarcosine oxidase (code d'accès 1EL5).

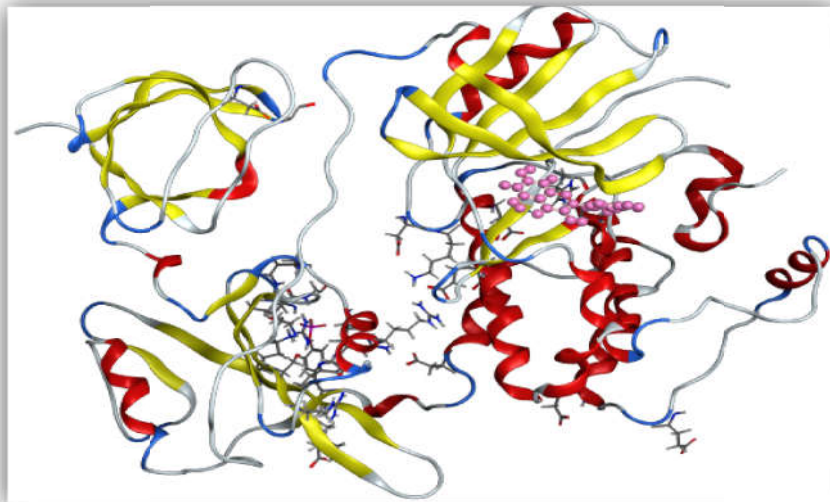


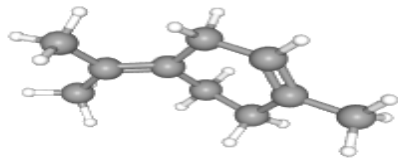
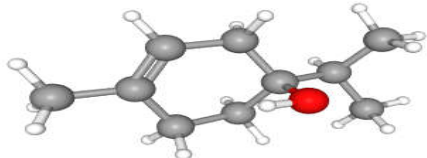
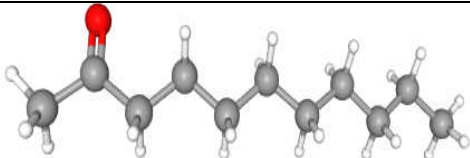

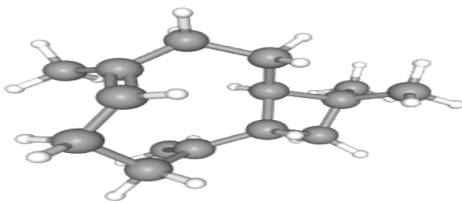
Figure 22.Tyrosine kinase (code d'accès 2HCK).

Matériels et Méthodes

b. Préparation la banque de donnée

Les composés sont obtenues d'après p articles « (Amara *et al.*, 2019 ; Khiari *et al.*,2018)» et télécharger sur le site PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)(3).

Tableau 05. Les structures des composés et leurs codes téléchargé sur PubChem.

Ligand	CID	Structure	Formule moléculaire	Synonymes	Poids moléculaire
α -terpinolene	11463		<u>C₁₀H₁₆</u>	TERPINOLENE 586-62-9 Isoterpinene Terpinolen alpha-Terpinolene	136.23 g/mol
Terpinen-4-ol	11230		<u>C₁₀H₁₈O</u>	Terpinen-4-ol 4Carvomente ol 562-74-3 4-Terpineol 1-Terpinen-4-ol	154.25 g/mol
2-Undecanone	8163		<u>C₁₁H₂₂O</u>	2-Undecanone Undecan-2-one Methyl nonyl ketone 112-12-9 2-Hendecanone	170.29 g/mol
3-Cyclohexen-1-ol	11468		<u>C₁₀H₁₈O</u>	1-Terpineol p-Menth-3-en-1-ol 586-82-3 3-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- 1-Terpinenol	154.25 g/mol
Caryophyllene	52815 15		<u>C₁₅H₂₄</u>	BETA-CARYOPHYLLENE Caryophyllene (-)-trans-Caryophyllene 87-44-5 (-)-beta-caryophyllene	204.35 g/mol

c. Docking moléculaire

L'étude de l'interaction entre le site actif de la protéine et le substrat pour former un complexe stable est réalisée à l'aide du logiciel MOE. Les étapes sont résumées dans la **figure 23**.

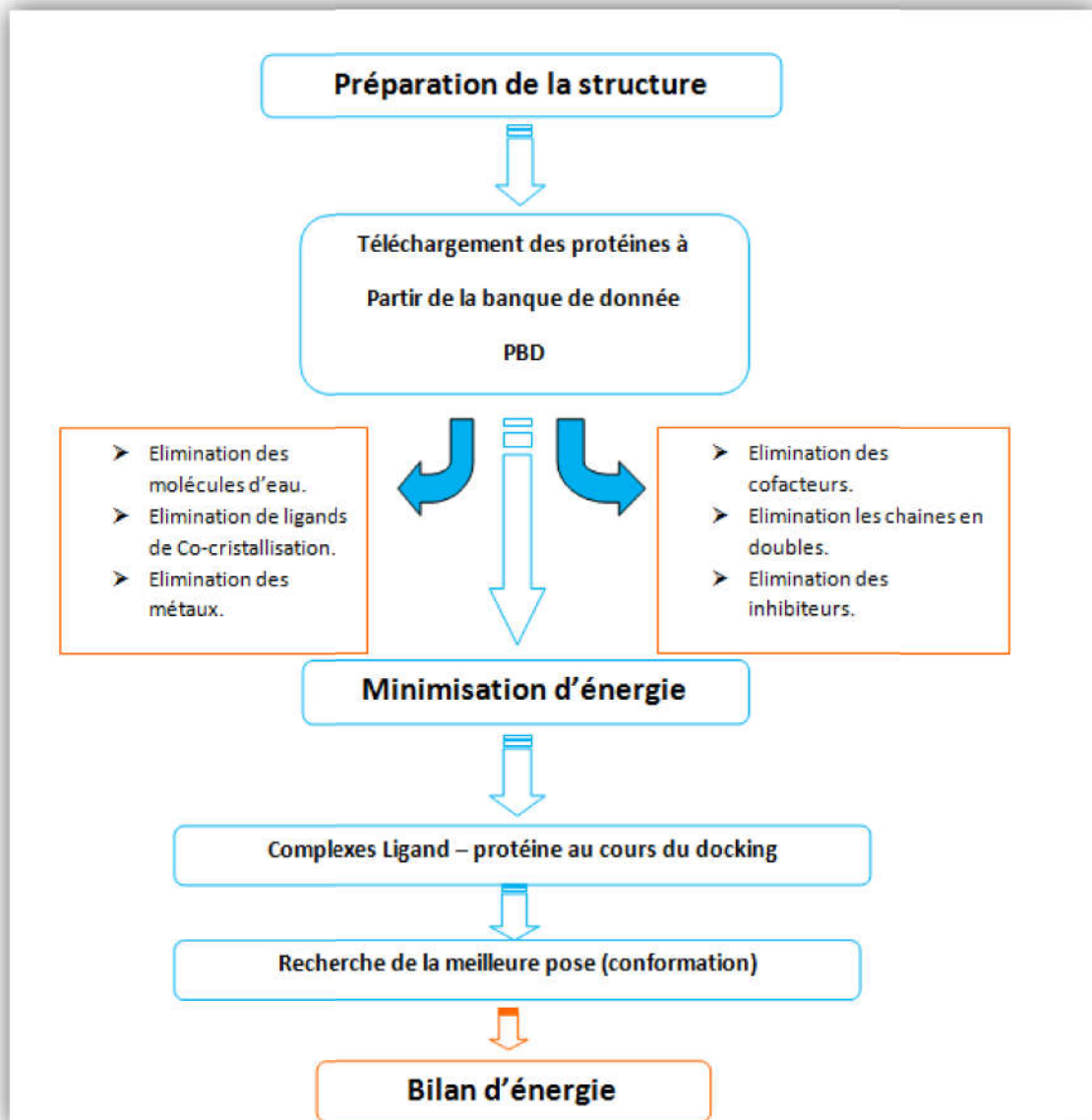


Figure 23 : Schéma présentatrice le protocole de MOE (Molecular Operating Environment).

Résultats et Discussions

Résultats et discussions

1. Résultats et discussions

1.1. La fiabilité du programme MOE Suite

Avant d'aborder l'étude de l'interaction entre protéine et ligand par divers composés (banque de données des huiles essentielles de *Pistacia Lentiscus L.*), nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du programme MOE Suite utilisé. Pour cela, nous avons procédé au docking du ligand Co-cristallisé et calculé la déviation de la pose générée après docking et la pose du ligand Co-cristallisé (RMSD : Root Mean Square Deviation).

1.1.1. Calcul de la RMSD

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur. La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root mean square derivation) de la position du ligand calculée par le logiciel par rapport au ligand de référence existant au niveau de la PDB. La prédiction est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms.

Dans notre cas les valeurs de RMSD entre ligand Co-cristallisé et ligand arrimé ont été calculées par l'application Super-imposition implantée dans Schrödinger Suite. Les résultats du calcul de RMSD obtenus dans notre cas sont présentés dans le **tableau N°06**.

Tableau 6. Valeur de RMSD avec leur score.

Protéine	Code PDB	Ligand	Score	RMSD(Å)	RMSDmax(Å)
	2RDU	FMN	-15.6858	0.6730	1.62
Glycolate oxidase	1EL5	FAD	-18.9860	1.3693	0.4
Peroxiredoxin 5	1HD2	BEZ	-3.8480	0.6355	0.7
Tyrosine kinase	2HCK	QUE	-5.5164	1.5279	1.20

Le tableau montre que les différentes valeurs du RMSD sont conformes aux résultats de **ChikhietBensegueni(2008),Gabbet al (1997)** qui démontrent que tout programme de docking n'est performant que lorsque le RMSD est inférieur ou égale à 2 Å.

Résultats et discussions

1.1.2. L'analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape essentielle pour confirmer les résultats du calcul de RMSD. Elle permet de déterminer si un ligand simulé se superpose avec le ligand Co-cristallisé.

La visualisation des résultats du docking moléculaire réalisée avec les quarts protéines de (**la figure 24**) montre que les modèles des ligands simulés par MOE sont correctement placés dans le site actif de chaque protéine. Ils présentent des conformations spatiales parfaitement superposables à celles déterminées expérimentalement par cristallographie qu'on retrouve dans la PDB.

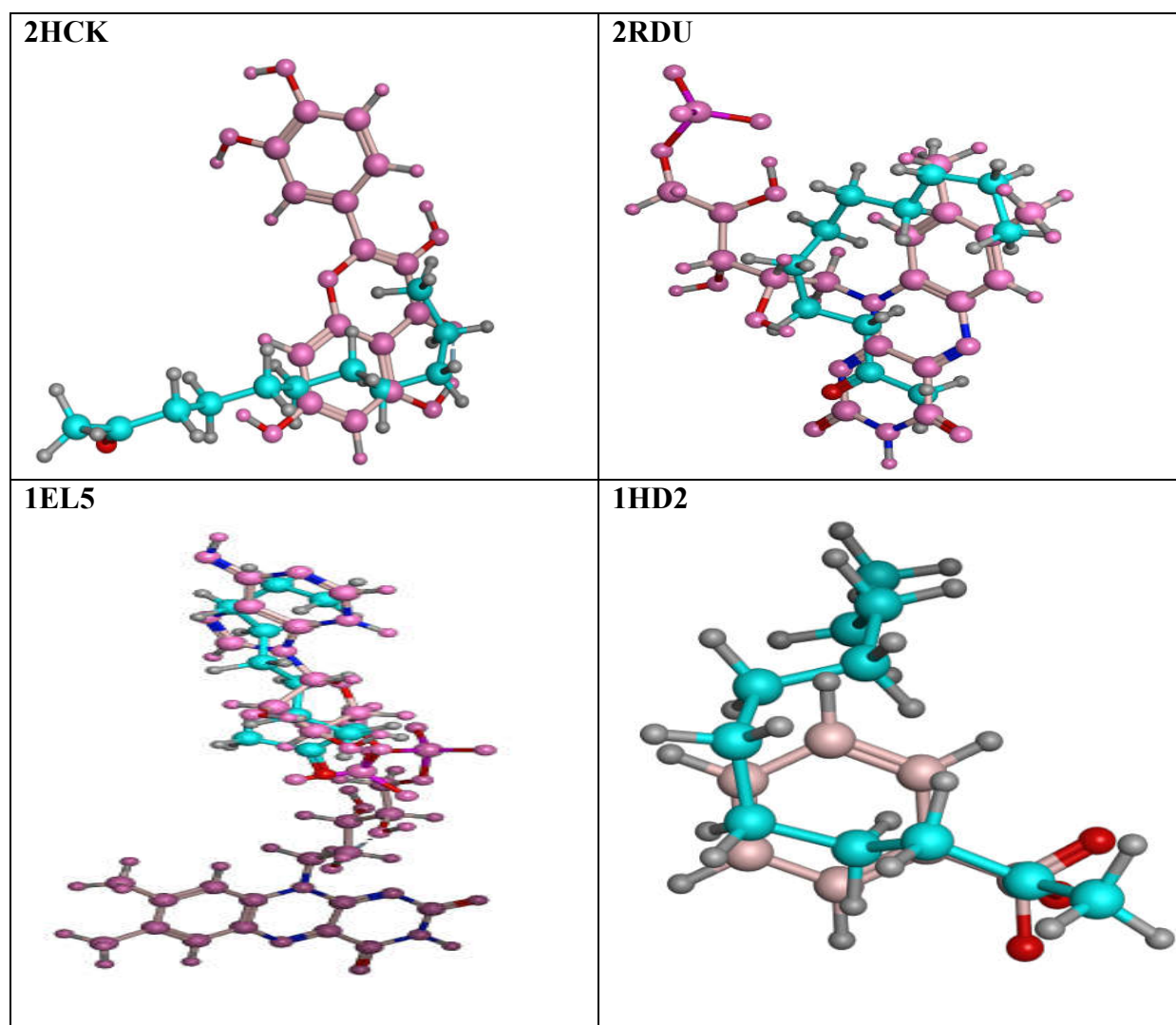


Figure 24 : Superposition de la géométrie des ligands obtenu par cristallographie (coloré en **rose**) et celle calculée par docking moléculaire avec MOE (coloré en **bleu**).

Résultats et discussions

1.1.3. Conclusion

A la lumière des résultats obtenus avec le calcul de RMSD et l'analyse visuelle, nous pouvons conclure que le programme MOE est hautement performant qu'on peut l'utiliser sans trop risque d'erreurs, pour générer par simulation *insilico* des complexes.

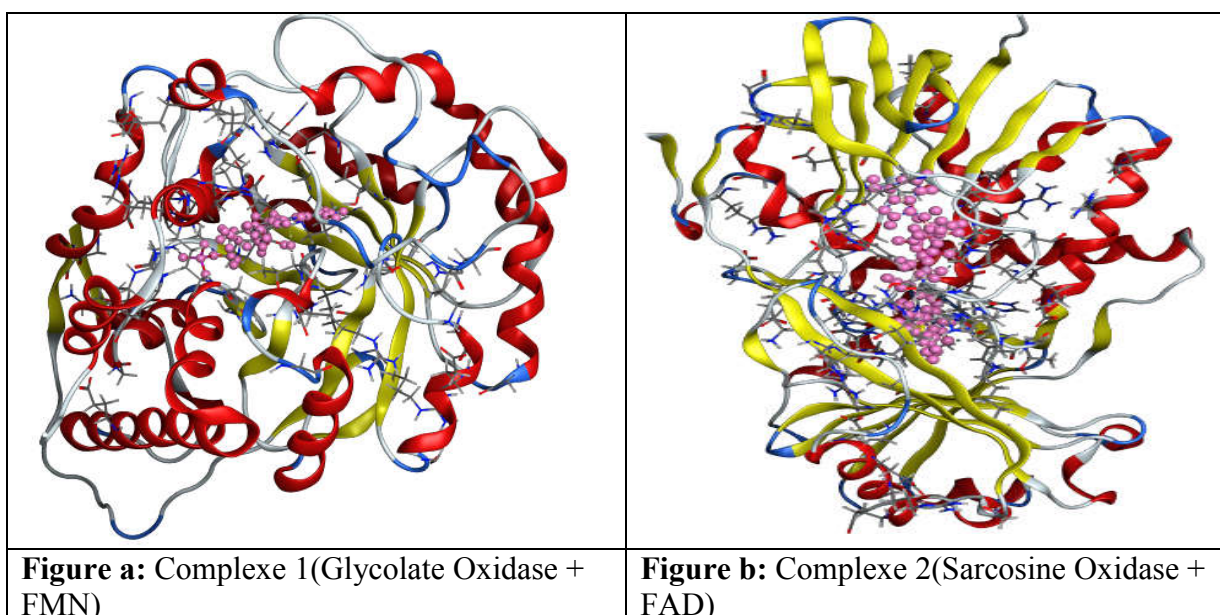
1.2. Résultats de docking moléculaire des composés HE *Pistacia Lentiscus* vis-à-vis des cibles choix

1.2.1. Etude des interactions « Protéine – Ligand Co-cristallisé » par MOE Suite

Le docking moléculaire permet de positionner les ligands au sein du site actif du récepteur des différentes enzymes.

Le complexe ligand- récepteur formé, adoptera la conformation la plus stable, engendrant un niveau énergétique le plus faible. La recherche de la conformation la plus favorable entre de ligand (flexible) et le récepteur (rigide). Pour chaque ligand, un certain nombre de conformations appelées poses.

Notre démarche consiste d'abord d'étudier l'interaction entre protéines – ligands. A l'aide du programme MOE Suite, nous avons relevé le meilleur score c'est-à-dire celui qui a l'énergie la plus basse correspond aux meilleures interactions entre le ligand et le site actif de l'enzyme. Les résultats sont regroupés dans le **tableau N° 07**.



Résultats et discussions

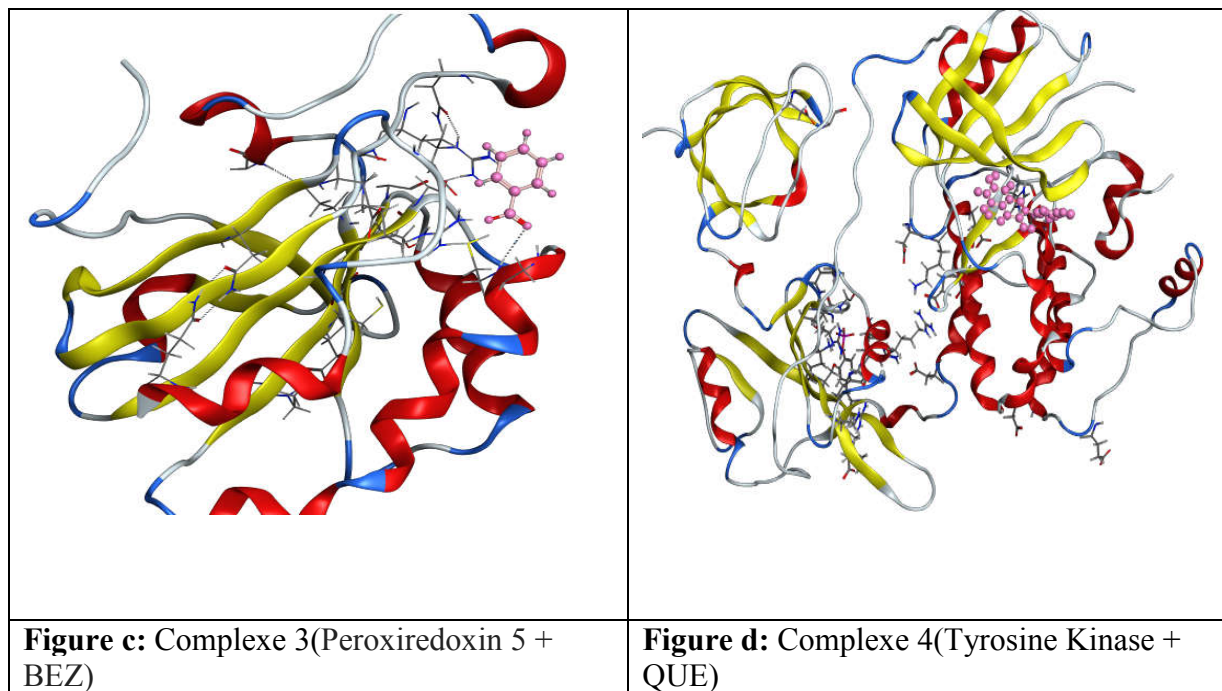


Figure 25 : Le position des ligands co-cristallisés dans les 4 complexes.

L'ensemble des molécules a été modélisé à l'aide du logiciel MOE (Molecular Operating Environment). Chaque modèle a été relaxé en énergie afin de trouver sa conformation énergétique la plus stable.

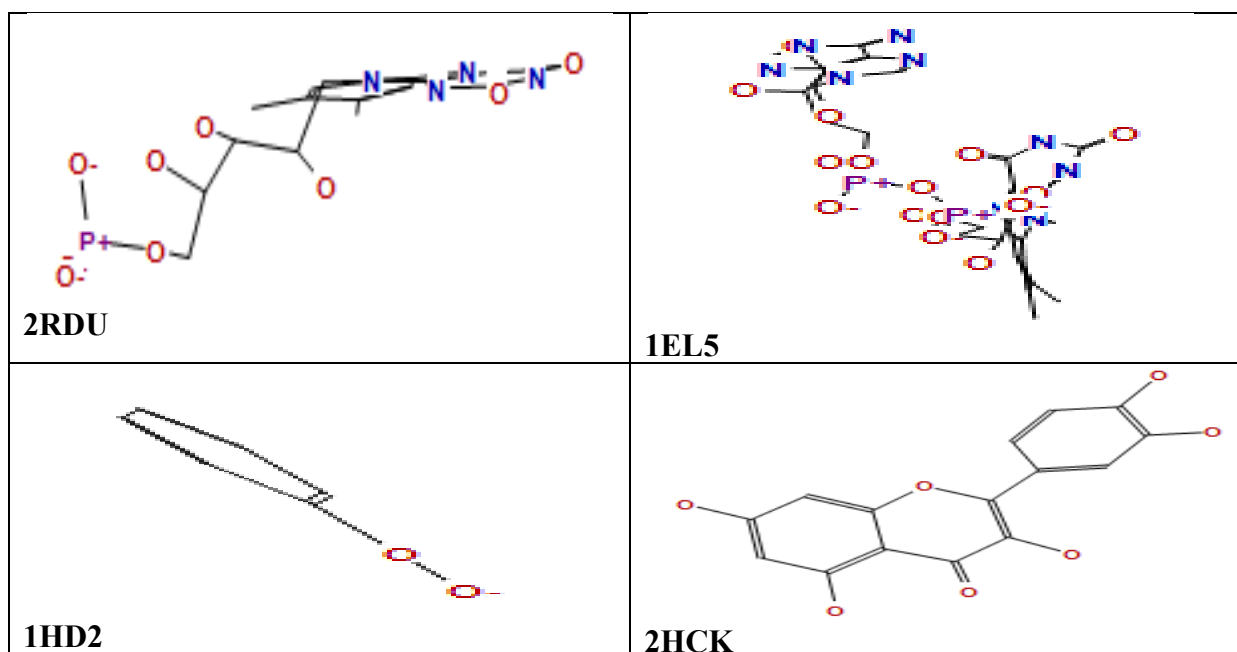


Figure 26 : Images de meilleures poses (conformations).

Résultats et discussions

Tableau 7. Le bilan énergétique des 4 complexes (Kcal/mol).

Molécules	S	Rmsd_Refine	E_Conf	E_place	E_Scor1	E_refine	E_Scor2
Complexe 1	- 7.1680	1.3182	3.5638	-48.8423	-10.7465	-12.8922	-7.1680
Complexe 2	- 8.2039	1.6530	3.4196	-45.9335	-8.8979	-17.1499	-8.2039
Complexe 3	- 4.3568	1.2082	0.3801	-58.4973	-6.9977	-13.6222	-4.3568
Complexe 4	- 5.9316	0.8608	1.4507	-53.3853	-7.5534	-12.3600	-5.9316

Le tableau précédent montre le bilan énergétique des meilleures poses. En raison de la similarité seulement les résultats ont été extraits et publiés.

- **S**: le score final ; c'est le score de la dernière étape.
- **Rmsd_refine** : l'écart quadratique moyen entre la pose avant de raffinement et de la pose après raffinement.
- **E_conf** : l'énergie du conformère.
- **E_place** : score de la phase de placement.
- **E_scor1** : score de l'étape de la première notation,
- **E_refine** : score de l'étape de raffinement et nombre de conformations générées par Ligand (2-Undecanone).
- **E_scor2** : score de l'étape de la deuxième notation.

a. Discussion

Le bilan énergétique des 4 complexes est représenté dans le **tableau N°7**. Il est à noter que les ligands interagissent avec les protéines.

Sur la base des résultats d'amarrage :

- Le complexe 1 présente 26 poses avec le meilleur score celui du numéro 1 (énergie la plus faible -7.1680 Kcal/mol).
- Le complexe 2 présente 25 poses avec le meilleur score celui du numéro 1 (énergie la plus faible -8.2039 Kcal/mol).
- Le complexe 3 présente 21 poses avec le meilleur score celui du numéro 1 (énergie la plus faible -4.3568 Kcal/mol).

Résultats et discussions

- Le complexe 4 présente 24 poses avec le meilleur score celui du numéro 1 (énergie la plus faible -5.9316 Kcal/mol).

Ces résultats montrent que l'orientation des ligands joue un rôle très important pour le positionnement des ligands dans le site actif de l'enzyme, on peut conclure que l'introduction de groupes volumineux provoque un réarrangement de la conformation à l'intérieur de la cavité du site actif, ce qui sera probablement la complémentarité et par conséquent l'activité.

Les résultats suivants ont révélé que le complexe 2 a l'énergie la plus faible (-8.2039Kcal/mol) est plus actif que le complexe 1 (-7.1680Kcal/mol), plus actif que le complexe 4 (-5.9316 Kcal/mol), plus actif que le complexe 3 (-4.3568 Kcal/mol).

La procédure de docking permet de générer une liste de complexes représentant les modes d'association favorables entre le ligand et le récepteur macromoléculaire. L'étape suivante consiste à évaluer ces complexes, afin de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire au mieux le mode d'association réel. L'association entre protéines et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques : les interactions hydrophobes, les interactions électrostatiques et les interactions hydrogènes.

Résultats et discussions

1.2.2. Les interactions Electrostatiques

Certains acides aminés peuvent être chargés positivement ou négativement, ce qui donne lieu à des phénomènes électrostatiques qui favorisent la formation d'un complexe protéique spécifique (figure N°27, 28,29....., 34). Ces interactions électrostatiques agissent à "longues" distances entre des groupes d'atomes électriquement chargés. Lorsqu'elles concernent les interactions de type dipôle / dipôle permanent d'une part et les ponts salins d'autre part.

Ces derniers, correspondent aux interactions entre régions chargées déterminées par les lois de l'électrostatique. A pH physiologique, les résidus chargés positivement (couleur **bleu**), les résidus chargés négativement (couleur **rouge**) et les résidus neutres (couleur blanc).

✚ Complexe 01 : GLYCOLATE OXIDASE

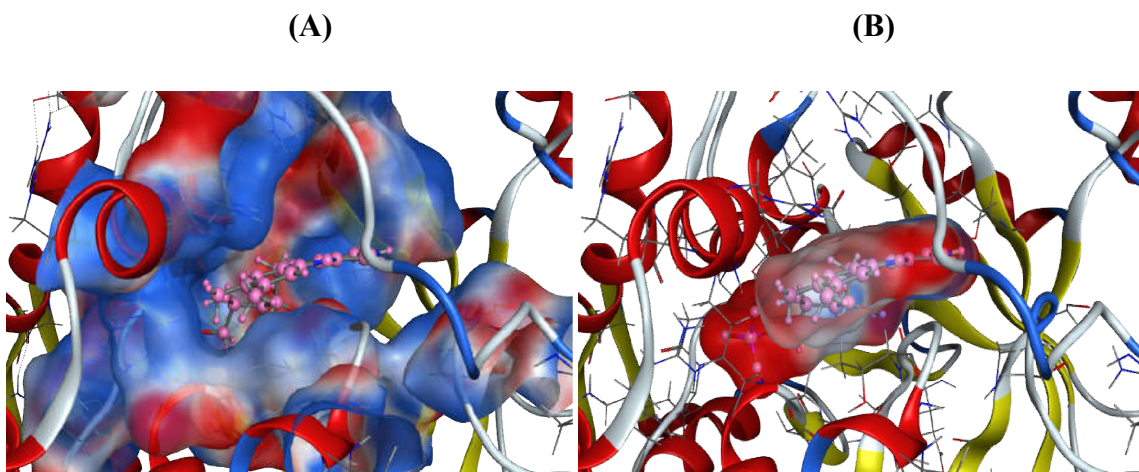


Figure 27 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B). avec FMN.

La **figure 27** montre que le récepteur de la GLYCOLATE OXIDASE et leur ligand (FMN) dans le champs électrostatique ; ont observent la plupart des régions de récepteur en **bleu** chargées **positivement** par contre la plupart des régions de ligand en **rouge** chargées **négativement**, donc la partie de récepteur chargée positivement, est attirée aux atomes chargés négativement (ligand).

Résultats et discussions

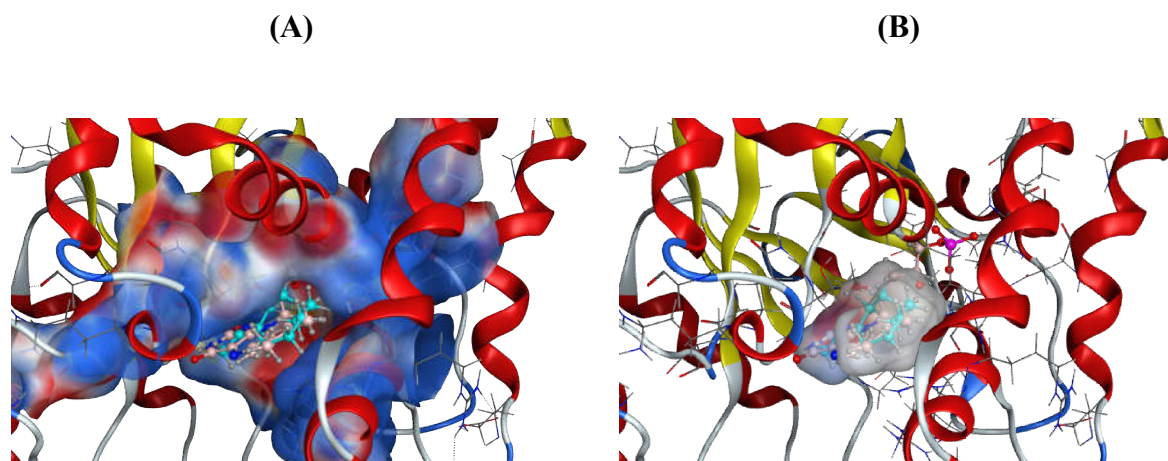


Figure 28 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec **2-Undecanone**.

La **figure 28** montre que le récepteur de la GLYCOLATE OXIDASE et le ligand (**2-Undecanone**) dans le champ électrostatique ; on observe la plupart des régions de récepteur en **bleu** chargées **positivement** par contre la plupart des régions de ligand en blanc donc elles possèdent des atomes neutres .

✚ Complexe 02 : SARCOSINE OXIDASE

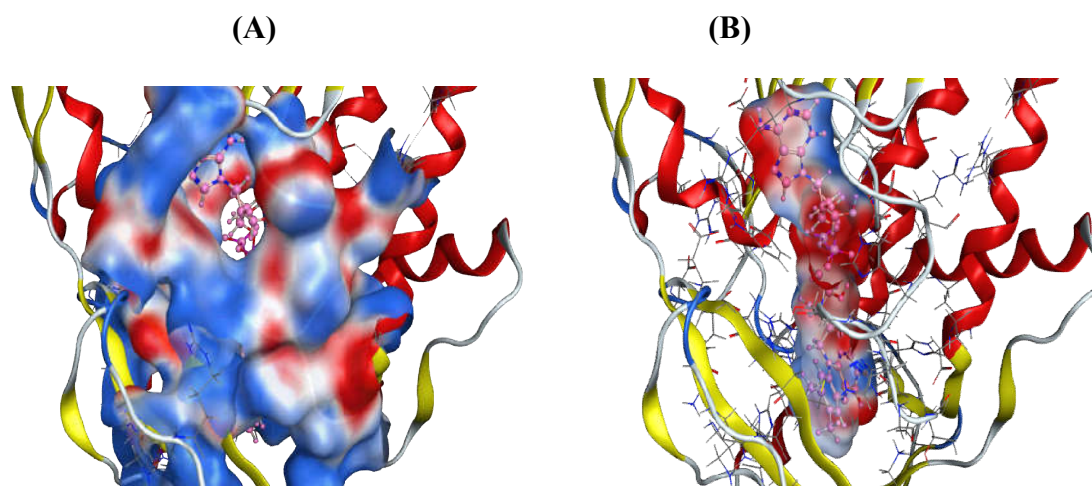


Figure 29 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec **FAD**.

La **figure 29** montre que le récepteur de la SARCOSINE OXIDASE et leur ligand (FAD) dans le champ électrostatique ; on observe la plupart des régions de récepteur en **bleu** chargées **positivement** par contre la plupart des régions de ligand en **rouge**

Résultats et discussions

chargées **négativement**, donc la partie de récepteur chargée **positivement**, est attirée aux atomes chargés **négativement** (ligand).

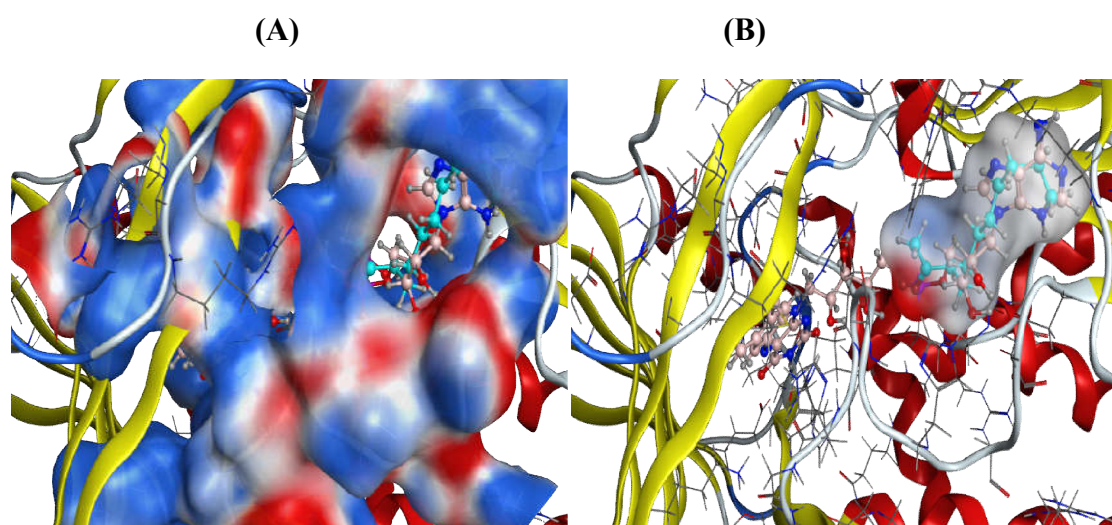


Figure 30 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec **2-Undécanone**.

La **figure 30** montre que le récepteur de la SARCOSINE OXIDASE et le ligand (**2-Undécanone**) dans le champ électrostatique ; on observe la plupart des régions de récepteur en **bleu** donc chargées **positivement** par contre la plupart des régions de ligand en **blanc** donc elles possèdent des atomes neutres .

Résultats et discussions

Complexe 04 : PEREXIREDOXINE 5

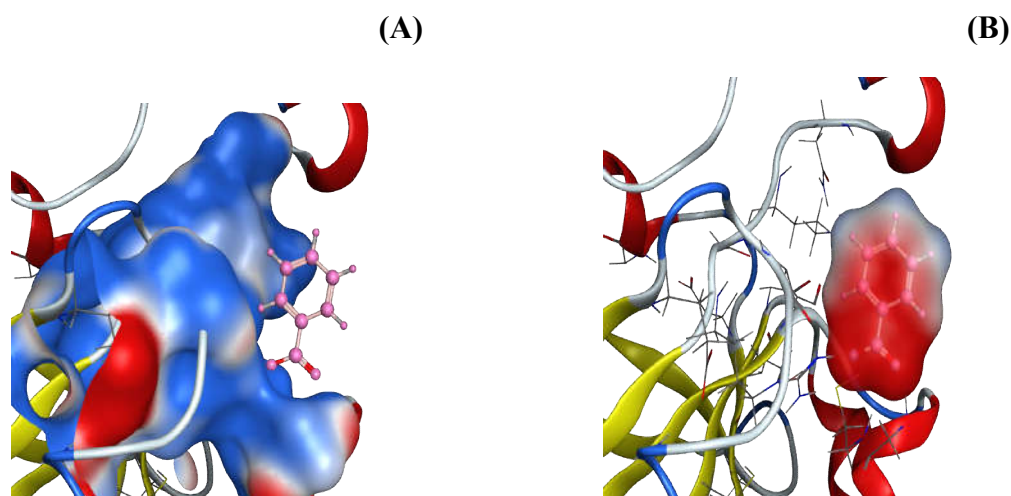


Figure 31 :Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec **BEZ**.

La **figure 31** montre que le récepteur de la PEREXIREDOXINE5 et leur ligand (**BEZ**) dans le champ électrostatique ; ont observent des régions dans le récepteur en **bleu** c'est-à-dire possèdent des atomes chargés **positivement** et des régions en **blanc** c'est-à-dire possèdent des atomes neutre, par contre le ligand la plupart des régions en **rouge** c'est-à-dire possèdent des atomes chargés **négativement**

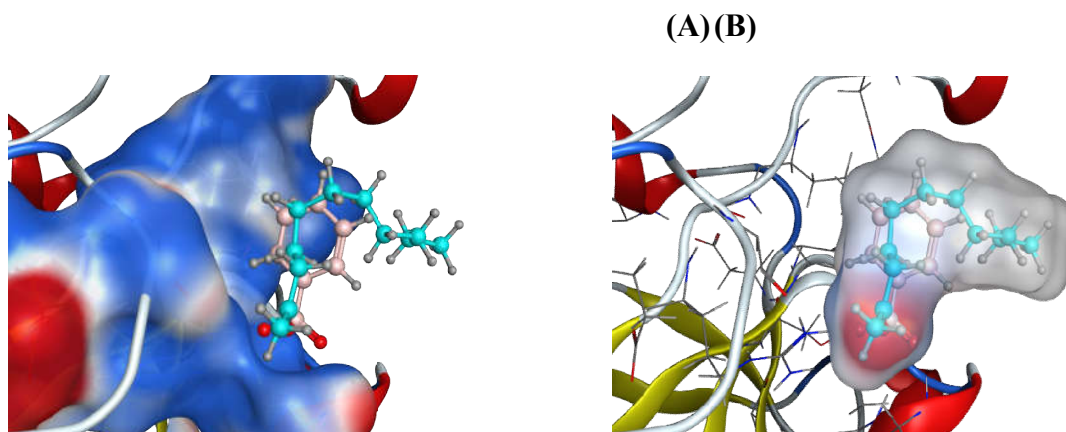


Figure 32.Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec **2-Undecanone** .

La **figure 32** montre que le récepteur de la PEREXIREDOXINE 5 et ligand (**2-Undecanone**) dans le champ électrostatique ; ont observent des régions dans le récepteur en **bleu** c'est-à-dire possèdent des atomes chargés **positivement**, des régions en **blanc** c'est-à-dire possèdent des atomes neutre, et des régions en **rouge** c'est-à-dire possèdent des atomes chargée

Résultats et discussions

négativement par contre le ligand la plupart des régions en blanc c'est-à-dire possèdent des atomes neutre.

Complexe 04 : TYROSINE KINASE

(A)(B)

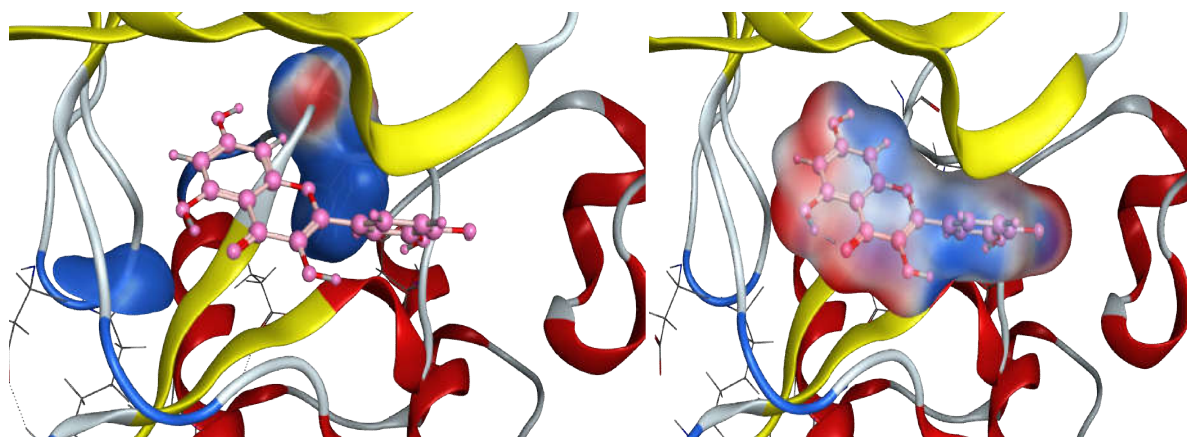


Figure 33 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec **QUE**.

La **figure 33** montre que le récepteur de la TYROSINE KINASE et leur ligand (**QUE**) dans le champ électrostatique ; ont observé des régions dans le récepteur en **bleu** c'est-à-dire possèdent des atomes chargés **positivement** et des régions en **rouge** c'est-à-dire possèdent des atomes chargés **négativement** , par contre le ligand la plupart des régions en **bleu** c'est-à-dire possèdent des atomes chargés **positivement** et certains régions en **rouge** donc possèdent des atomes chargés **négativement** c'est-à-dire sont des atomes .

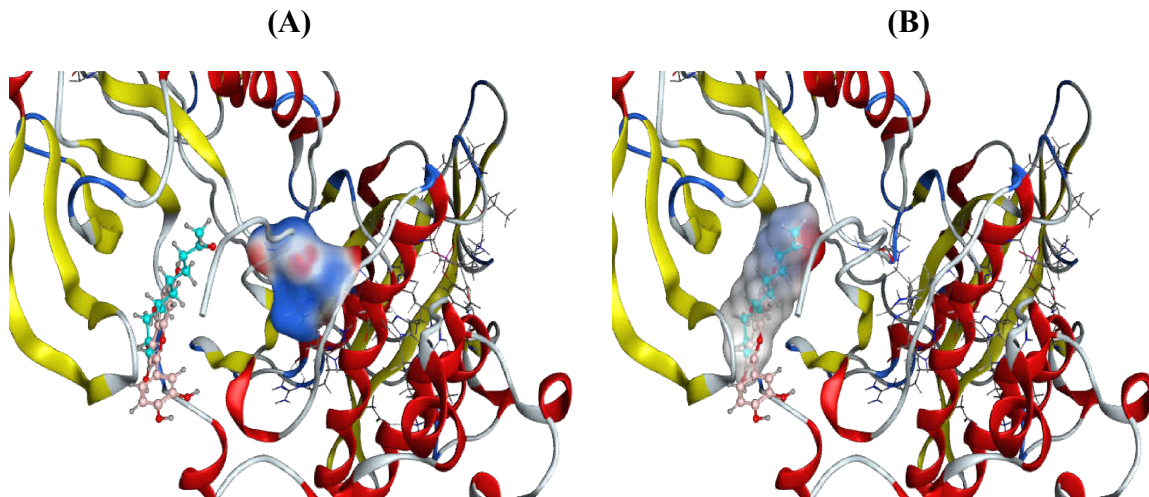


Figure 34 : Représentation graphique en mode surface des interactions électrostatiques du site actif (A) et du ligand (B) avec **2-Undecanone**.

La **figure 34** montre que le récepteur de la TYROSINE KINASE et le ligand (**2-Undecanone**) dans le champ électrostatique ; ont observent des régions dans le récepteur en **bleu** c'est-à-dire possède des atomes chargés **positivement**, des régions en **rouge** c'est-à-dire possède des atomes chargés **néativement**, par contre le ligand la plupart des régions en blanc c'est-à-dire possède des atomes neutre.

1.2.3. Les interactions Hydrophobe (Lipophilicité)

Afin de rendre compte plus finement des interactions protéine-Ligands, d'autres critères fondés sur l'énergétique peuvent être pris en compte :

L'effet hydrophobe : plusieurs acides aminés hydrophobes (formant un "patch" hydrophobe, couleur verte) et aussi certaines acides aminés hydrophiles (formant un "patch" hydrophiles, couleur violette exemple les (**figures 35,36 ,37 42**) en contact à l'interface "complémentarité hydrophobe" entraînent une interaction stabilisante pour beaucoup de complexes

Résultats et discussions

✚ Complexe 01: GLYCOLATE OXIDASDE

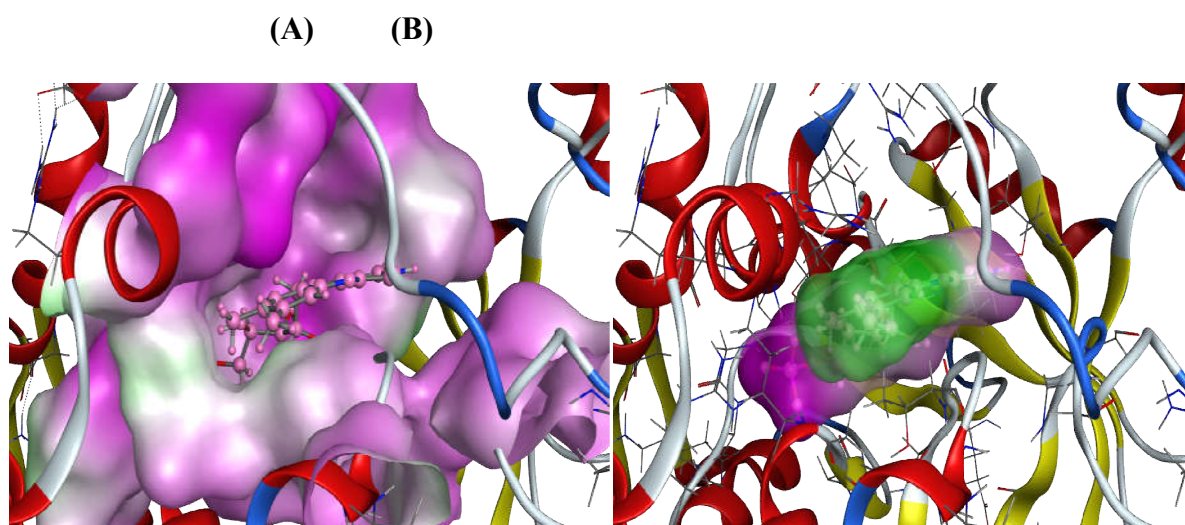


Figure 35 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec FMN.

La **figure 35** montre que le récepteur de la GLYCOLTE OXIDASE et leur ligand (FMN) dans le "patch Hydrophobe" et "patch" Hydrophile ont observé la plupart des régions de récepteur sont de couleur **violette** c'est-à-dire possède des **atomes hydrophiles** par contre la plupart des régions de ligand sont de couleur **violette** et **verte** c'est-à-dire possède des **atomes hydrophiles** et **hydrophobes (lipophiles)** à la fois.

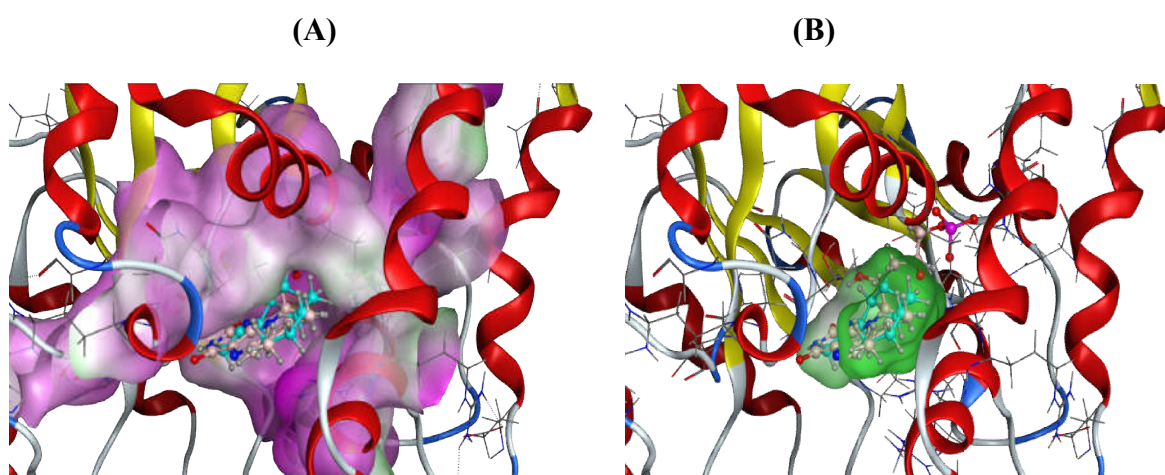


Figure 36 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec **2-Undecanone**.

Résultats et discussions

La **figure 36** montre que le récepteur de la GLYCOLTE OXIDASE et ligand 2-Undecanone dans le "patch Hydrophobe" et "patch Hydrophile" ont observent la plupart des régions de récepteur sont de couleur **violette** c'est-à-dire possède **des atomes hydrophiles** par contre la plupart des régions de ligand sont de couleur **verte** c'est-à-dire possède des **atomes hydrophobes (lipophiles)**.

✚ Complexe 02 : SARCOSINE OXIDASE

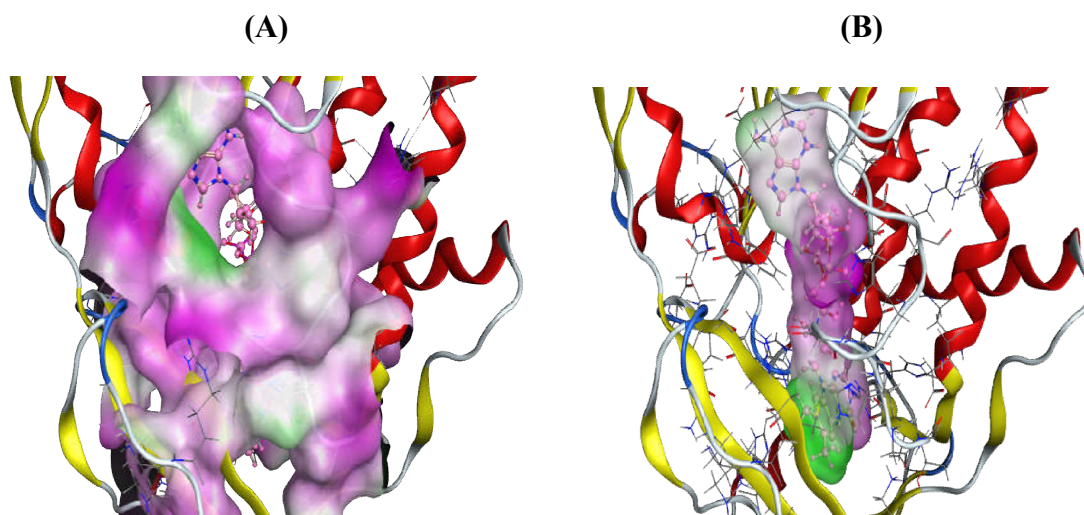


Figure 37 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec **FAD**.

La **figure 37** montre que le récepteur de la SARCOSINE OXIDASE et leur ligand (FAD) dans le "patch Hydrophobe" et "patch Hydrophile " ont observent la plupart des régions de récepteur sont de couleur **violette** c'est-à-dire possède des **atomes hydrophiles** par contre la plupart des régions de ligand sont de couleur **violette** et **verte** c'est-à-dire possède des **atomes hydrophile** et **lipophile (hydrophobe)** à la fois.

Résultats et discussions

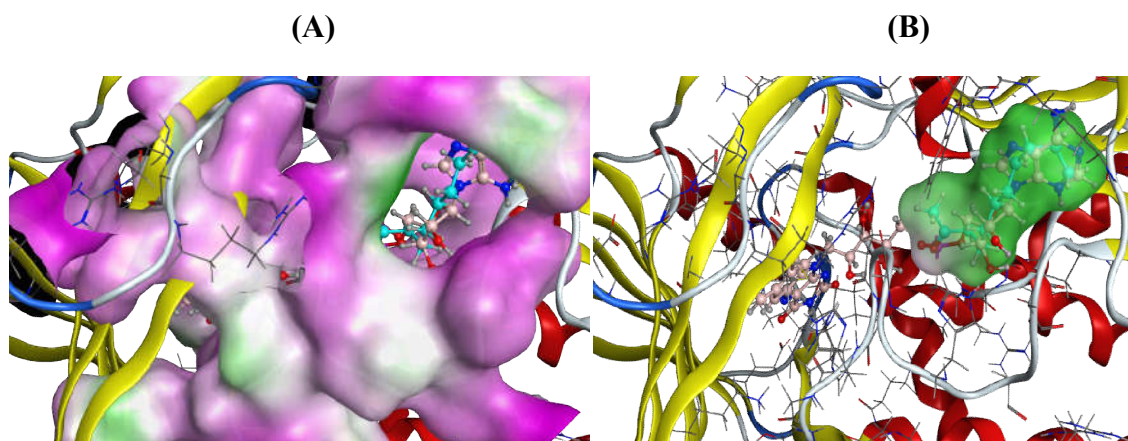


Figure 38 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec **2-Undecanone**.

La **figure 38** montre que le récepteur de la SARCOSINE OXIDASE et le ligand (**2-Undecanone**) dans le "patch Hydrophobe" et "patch Hydrophile" ont observent la plupart des régions de récepteur sont de couleur **violette** c'est-à-dire possède des **atomes hydrophiles** et certains régions de couleur **verte** c'est-à-dire possède des **atomes lipophiles** par contre la plupart des régions de ligand sont de couleur **verte** c'est-à-dire possède des **atomes lipophiles** (**hydrophobes**).

✚ Complexe 03 : PEREXIREDOXINE 5

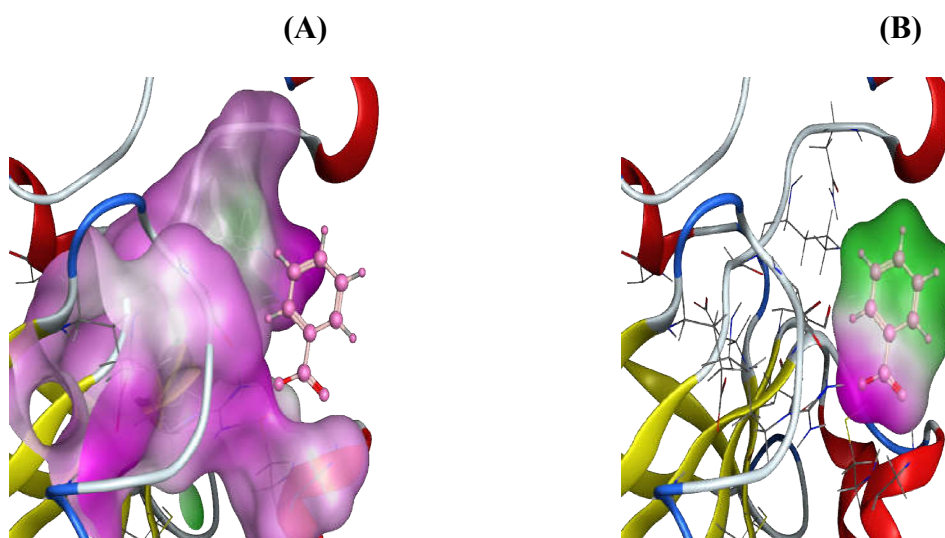


Figure 39 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec **BEZ**.

La **figure 39** montre que le récepteur de la PEREXIREDOXINE 5 et leur ligand (**BEZ**) dans le "patch Hydrophobe" et "patch Hydrophile" ; ont observent la plupart des régions de

Résultats et discussions

récepteur sont de couleur verte c'est-à-dire possède des atomes lipophiles et certains régions de couleur violette c'est-à-dire possède des atomes hydrophiles par contre la plupart des régions de ligand sont de couleur verte c'est-à-dire possède des atomes lipophiles (hydrophobes) et certains régions de couleur violette donc possèdent des atomes lipophiles.

Résultats et discussions

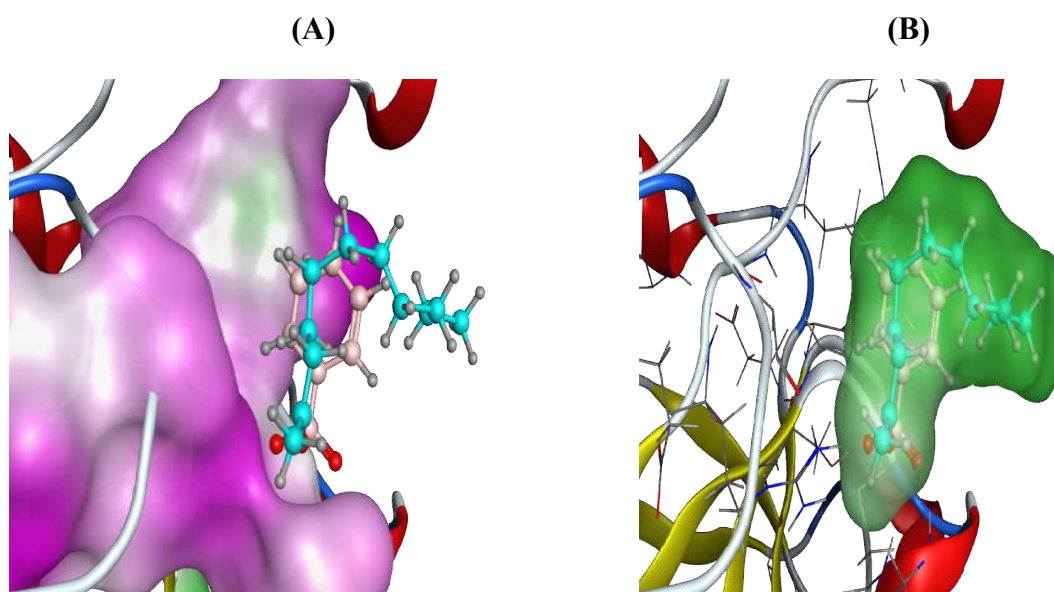


Figure 40 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec **2-Undecanone**.

La **figure 40** montre que le récepteur de la PEREXIREDOXINE 5 et le ligand (**2-Undecanone**) dans le "patch Hydrophobe" et "patch Hydrophile" ; on observe que la plupart des régions de récepteur sont de couleur **verte** c'est-à-dire possèdent des **atomes lipophiles** et certaines régions de couleur **violette** c'est-à-dire possèdent des **atomes hydrophiles** par contre la plupart des régions de ligand sont de couleur **verte** c'est-à-dire possèdent des **atomes lipophile (hydrophobe)**.

✚ Complexe 04 : TYROSINE KINASE

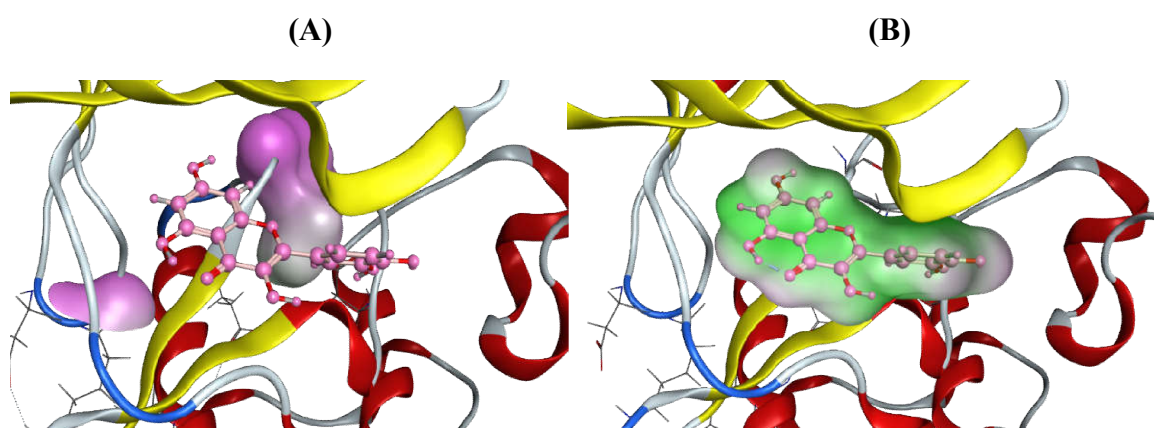


Figure 41 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec **QUE**.

Résultats et discussions

La **figure 41** montre que le récepteur de la TYROSINE KINASE et leur ligand (QUE) dans le "patch Hydrophobe" et "patch Hydrophile" ont observent la plupart des régions de récepteur sont de couleur violette c'est-à-dire possède des atomes hydrophiles, par contre la plupart des régions de ligand sont de couleur verte c'est-à-dire possède des atomes lipophiles (hydrophobes) et certains régions de couleur violette donc possèdent des atomes lipophiles.

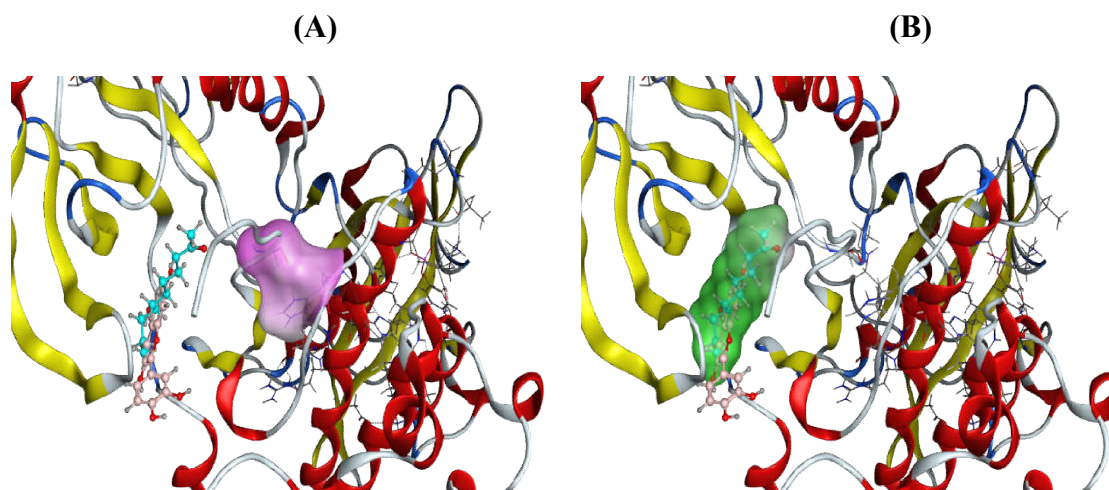


Figure 42 : Représentation graphique en mode surface des interactions hydrophobes du site actif (A) et du ligand (B) avec 2-Undecanone.

La **figure 42** montre que le récepteur de la TYROSINE KINASE et le ligand (2-Undecanone) dans le "patch Hydrophobe" et "patch Hydrophile" ; ont observent la plupart des régions de récepteur sont de couleur violette c'est-à-dire possède des atomes hydrophiles, par contre la plupart des régions de ligand sont de couleur verte c'est-à-dire possède des atomes lipophiles (hydrophobes).

a. Discussion

De ce fait, des méthodes approximatives ont été développées pour distinguer (évaluer et classifier) les complexes parmi ceux générés par une procédure de docking : les fonctions de score. (Jain, 2006). (Le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées. (Warrem,2006).

- **Complexe 01 : GLYCOLATE OXIDASE**

Dans les interactions électrostatiques ; on observe la plupart des atomes de (2-Undecanone) possède des charges différentes que le ligand (FMN) de la protéine

Résultats et discussions

GLYCOLATE OXIDASE et d'autre côté pour les interactions hydrophobes on observe la plupart des atomes situent dans différents pôles chez (**2-Undecanone**) et le ligand (**FMN**).

Les résultats suivants ont révélé que le **2-Undecanone** avec l'énergie la plus faible (-7.1680Kcal/mol) est moins actif que le ligand (**FMN**) (-15.6858 Kcal/mol).

- **Complexe 02 : SARCOSINE OXIDASE**

Dans les interactions électrostatiques ; on observe que la plupart des atomes de (**2-Undecanone**) possède des charges différentes que le ligand (**FAD**) de la protéine SARCOSINE OXIDASE et d'autre côté pour les interactions hydrophobes on observe la plupart des atomes se situent dans différents pôles chez le (**2-Undecanone**) et le ligand (**FAD**).

Les résultats suivants ont révélé que le **2-Undecanone** avec l'énergie la plus faible (-8.2039 Kcal/mol) est moins actif que le ligand (**FAD**) (-18.6860 Kcal/mol) .

- **Complexe 03 : PEREXIREDOXINE 5**

Dans les interactions électrostatiques ; on observent la plupart des atomes de (**2-Undecanone**) possède des charges différentes que le ligand (**BEZ**) de la protéine PEREXIREDOXINE 5 et d'autre côté pour les interactions hydrophobes on observe la plupart des atomes situent dans différents pôles chez le (**2-Undecanone**) et le ligand (**BEZ**).

Les résultats suivants ont révélé que le **2-Undecanone** avec l'énergie la plus faible (-4.3568 Kcal/mol) est moins actif que le ligand (**BEZ**)(-5.5164 Kcal/mol).

- **Complexe 04 : TYROSINE KINASE**

Dans les interactions électrostatiques ; on observe la plupart des atomes de (**2-Undecanone**) possède des charge différentes que le ligand (**QUE**) de la protéine TYROSINE KINASE et d'autre côté pour les interactions hydrophobes on observe la plupart des atomes situent dans différents pôles chez le (**2-Undecanone**) et le ligand (**QUE**).

Les résultats suivants ont révélé que le **2-Undecanone** avec l'énergie la plus faible (-5.9316Kcal/mol) est plus actif que le ligand (**QUE**) (-3.8480Kcal/mol).

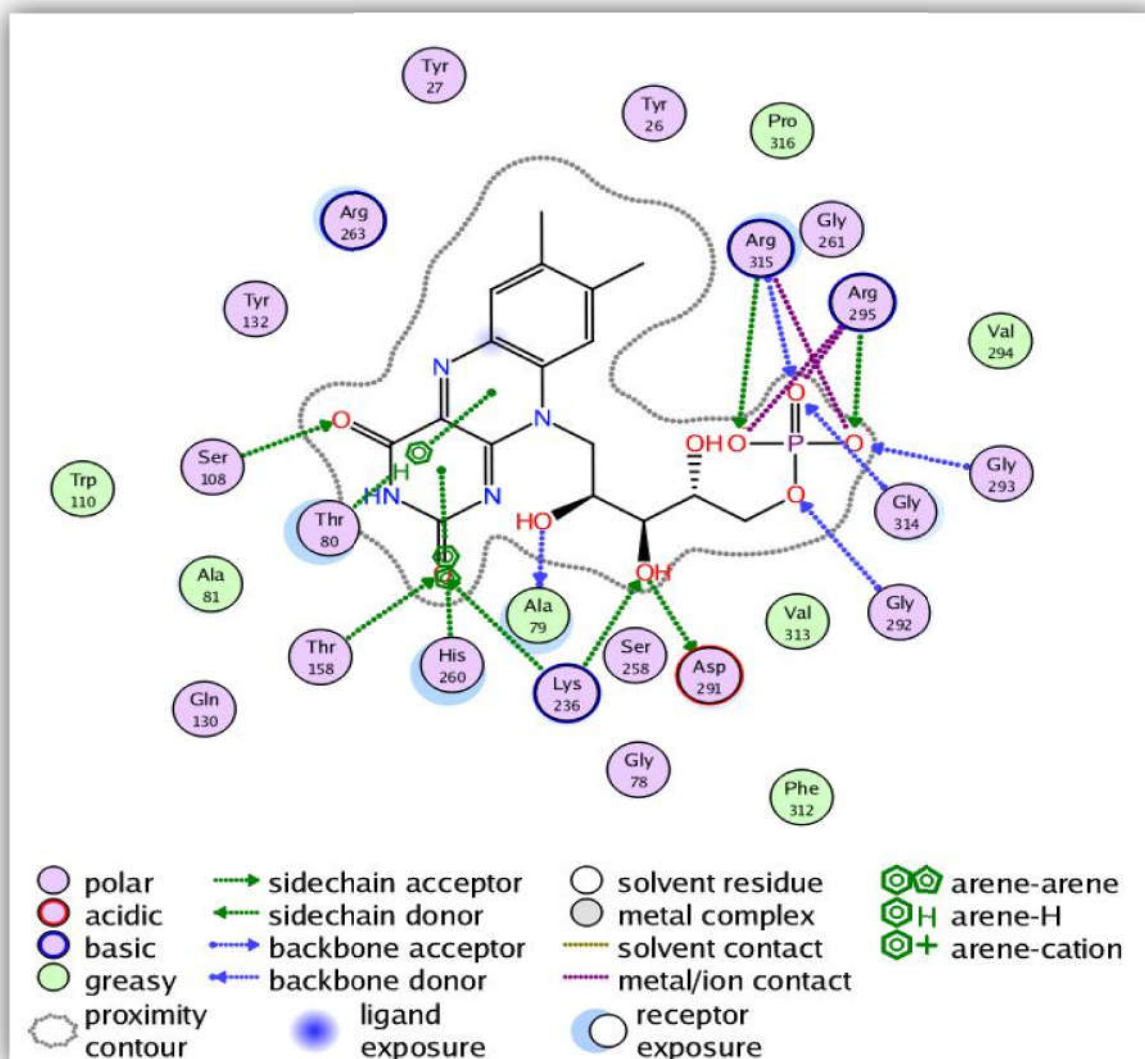
Résultats et discussions

1.2.4. Les acides aminés en interaction avec le ligand

Le ligand est disposé et rendu à l'aide d'une version améliorée de la représentation 3D de disposition, et les résidus de protéines sont disposés autour d'elle afin d'indiquer des liens de proximité spatiale.

Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1 Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1 Å et 3.55 Å sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3.55 Å sont faibles.

La force d'une liaison hydrogène peut varier largement, mais la plupart des liaisons hydrogène dans les interactions d'une liaison hydrogène dépend d'un fort accepteur de liaison hydrogène et d'un donneur de l'hydrogène.



Résultats et discussions

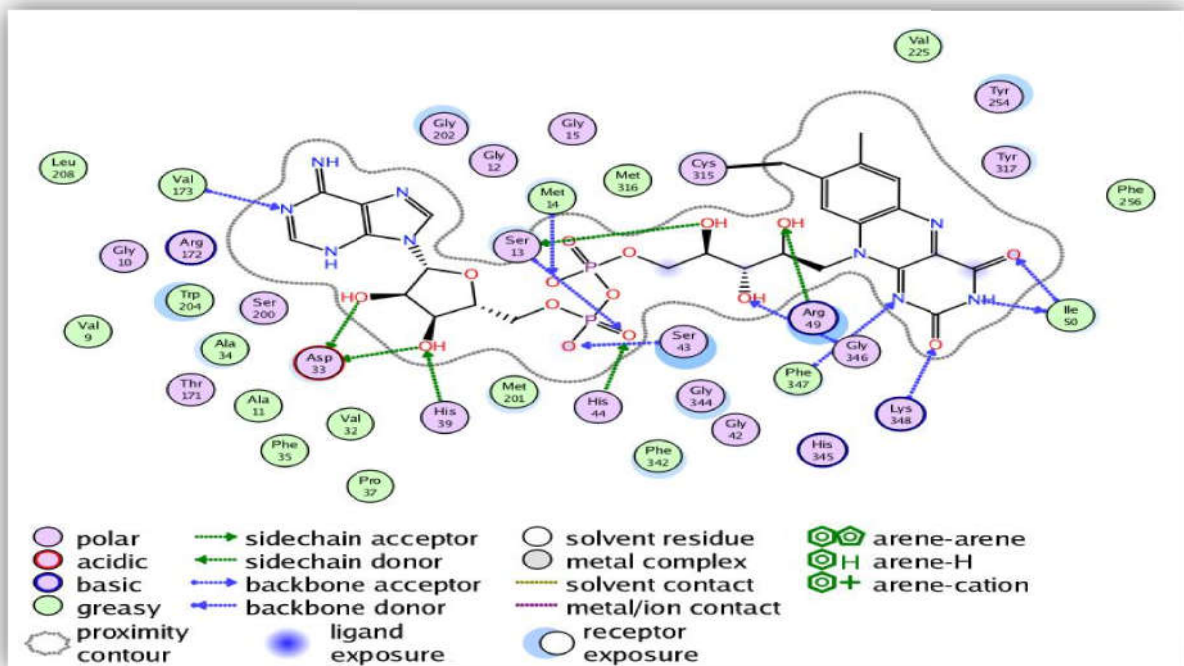


Figure 44 : Diagramme d'interaction du complexe 2 (Sarcosine Oxidase + FAD).

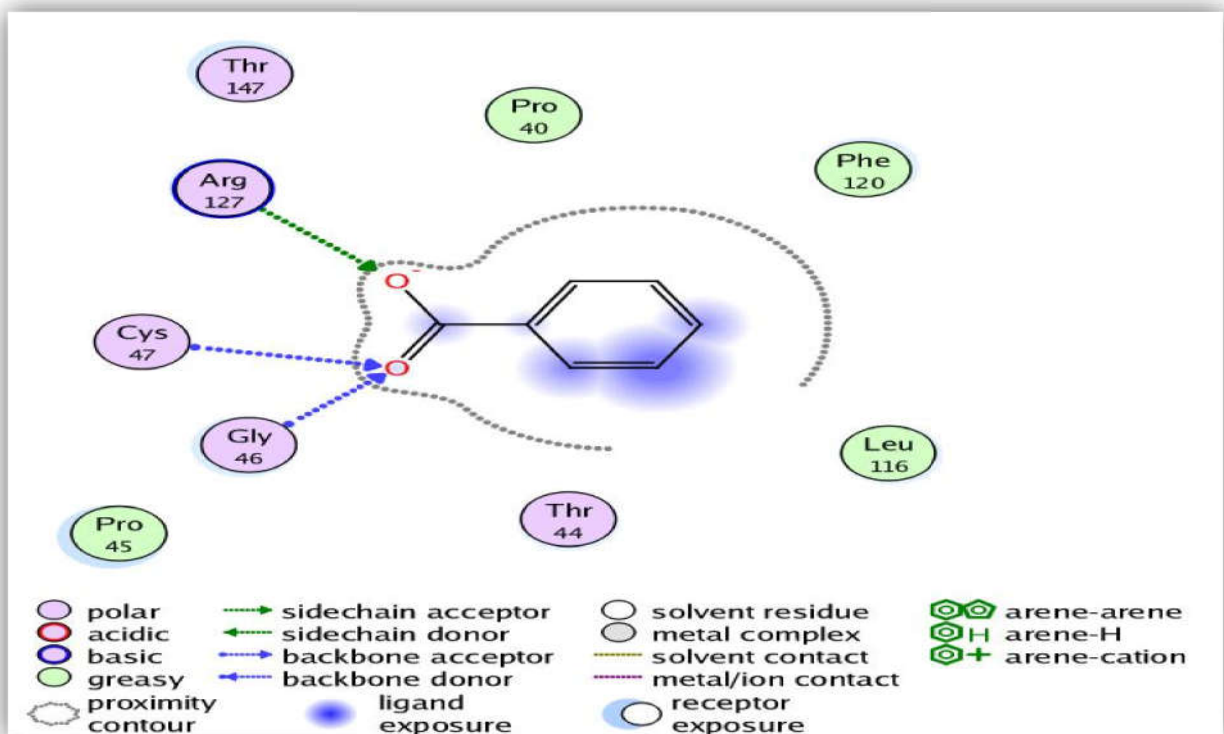


Figure 45 : Diagramme d'interaction du complexe 3 (Peroxiredoxin 5+ BEZ).

Résultats et discussions

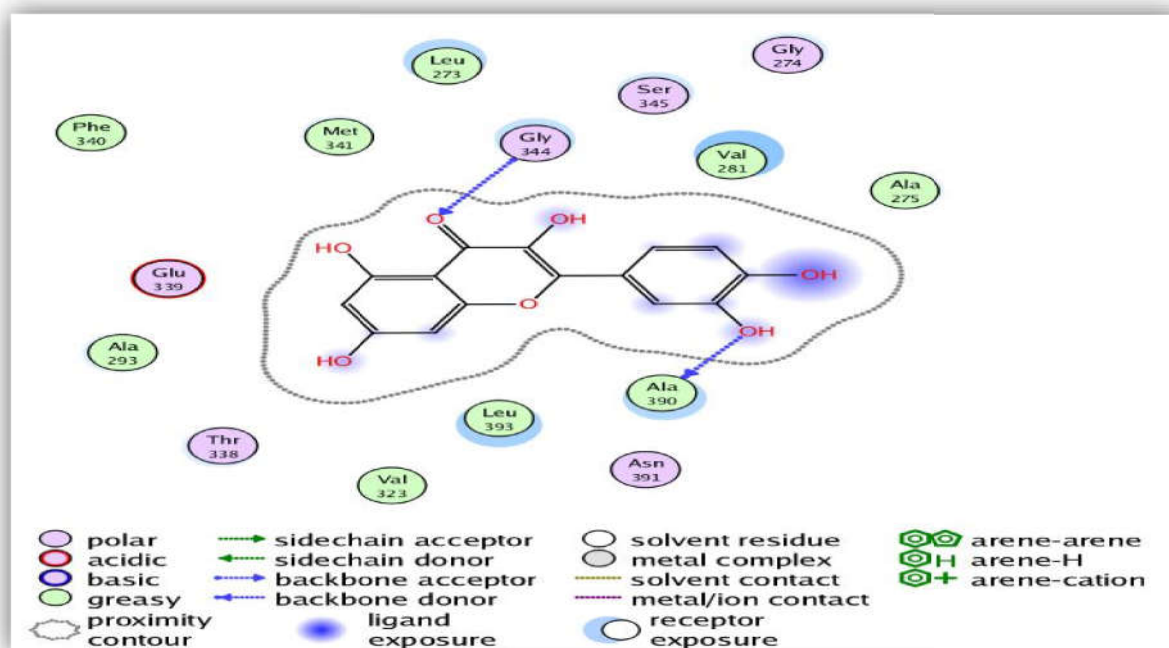


Figure 46 : Diagramme d'interaction du complexe 4 (Tyrosine Kinase + QUE).

Il ressort qu'après l'examen des différents diagrammes révèlent l'existence de plusieurs interactions responsable de l'affinité entre enzyme-substrat, et par suite les stabilités relatives.

- Le complexe 1 : FMN a des interactions avec les résidus : ALA79 ,ASP291,THR158,LYS236,GLY292,GLY314,ARG315,ARG315,GLY293,ARG295, ARG295,ARG295 ,ARG295,ARG315,ARG315,ARG295 ,ARG295,ARG315,THR80,HIS260 et les distances de 2.49 Å, 2.36Å, 2.80Å, 2.78Å, 2.63Å, 3.09 Å, 3.03 Å, 2.51 Å, 2.41 Å, 2.28 Å, 2.35 Å, 2.34 Å, 3.63 Å,3.90 Å, 3.98 Å, 2.28 Å, 2.28 Å, 2.35 Å, 3.34 Å, 2.3.88 Å, 4.18Å, 3.99 Å respectivement (pour le 4^{ème}, 17^{ème}, 18^{ème}, 19^{ème}, 11^{ème}, interactions fortes, pour le 3^{ème}, 5^{ème}, 6^{ème}, 7^{ème}, 8^{ème}, 14^{ème}, 15^{ème}, 16^{ème}, 20^{ème}, 21^{ème}, 22^{ème} interactions moyennes, et pour le 1^{er}, 1^{er}, 9^{ème}, 10^{ème}, 12^{ème}, 13^{ème} interactions faibles) ce qui suggère que FMN peut inhiber l'enzyme Glycolate Oxidase et la présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du FMN et les résidus précédents .

- Le complexe 2 : FAD a des interactions avec les résidus : ASP33,ASP33,ILE50,SER13,SER13,SER13,HIS44,SER43,HIS39 ,VAL173,PHE347,LYS34 8,IL50,AQRG49 ,GLY346,MET14 et les distances de 2.52 Å, 2.45 Å, 2.68 Å, 2.51 Å, 2.42 Å, 2.93 Å, 2.63 Å, 2.75 Å, 2.75 Å, 3.25 Å, 2.83 Å, 2.68 Å, 2.85 Å, 3.14 Å, 2.65 Å, respectivement (pour le 3^{ème}, 7^{ème}, 8^{ème}, 9^{ème}, 10^{ème}, 12^{ème}, 14^{ème}, 16^{ème}, interactions fortes, et pour le 1^{er}, 4^{ème}, 5^{ème}, 11^{ème}, 13^{ème}, 15^{ème}, interactions moyennes et pour le 6^{ème}, 2^{ème},

Résultats et discussions

interactions faibles) ce qui suggère que FAD peut inhiber l'enzyme Sarcosine Oxidase et la présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du FAD et les résidus précédents.

- Le complexe 3 : 1HD2 a une interaction avec les résidus : ARG127, GLY46, CYS47, ARG127, ARG127, et les distances de 2.28 Å, 2.40 Å, 3.53 Å, 3.29 Å, 2.28 Å, respectivement (pour le 5^{er} interaction forte et pour le 3^{ème}, 4^{ème} interaction moyenne et pour le 1^{er}, 1^{er}) ce qui suggère que 1HD2 peut inhiber l'enzyme Peroxiredoxin 5 et la présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du 1HD2 et les résidus précédents.

- Le complexe 4 : 1HCK a deux interactions avec les résidus ALA390, GLY 344, avec une distance de 2.36Å et 3.40 Å (interactions faibles) ce qui suggère que 1HCK peut inhiber l'enzyme Tyrosine Kinase et et la présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du 1HCK et les résidus ALA 390 et GLY344.

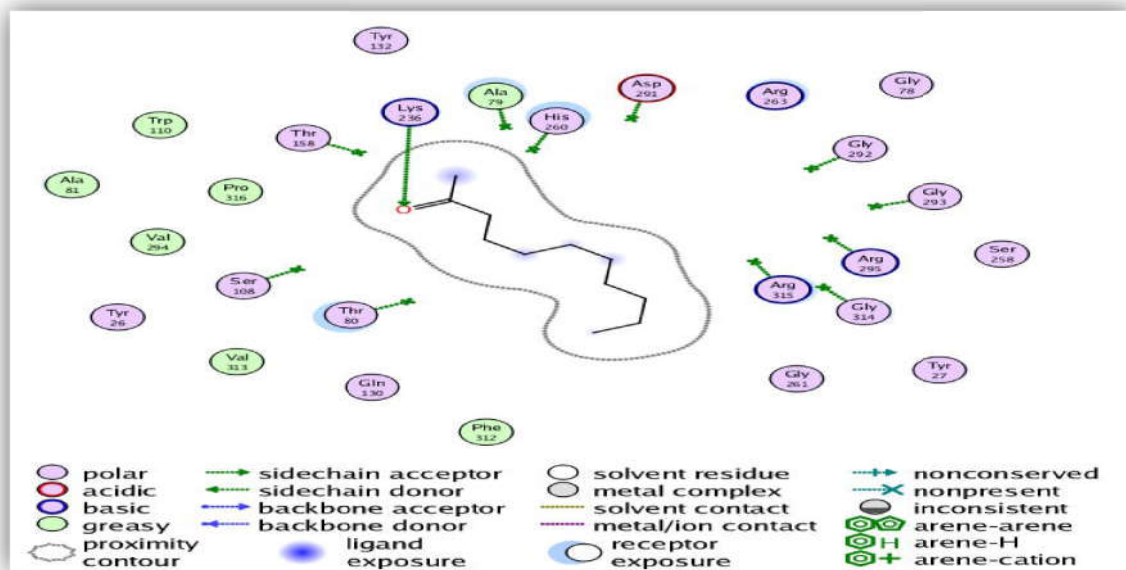


Figure 47 : Diagramme d'interaction ligand de de meilleur score (2-Undecanone) de Glycolate Oxidase.

Résultats et discussions

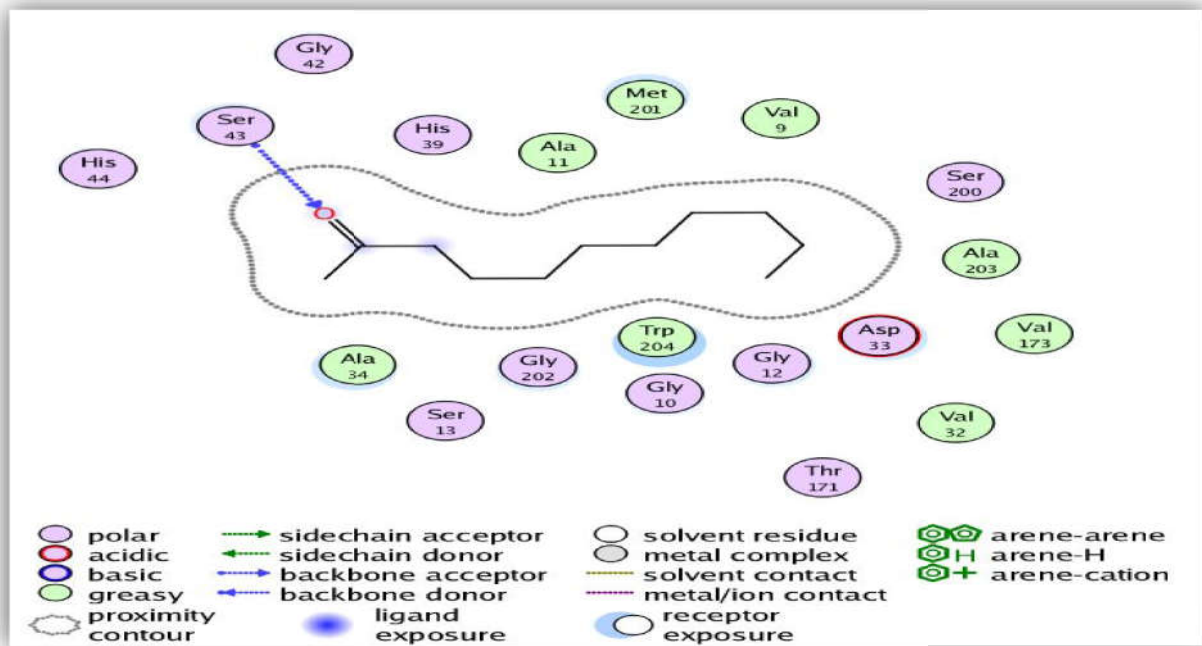


Figure 48 : Diagramme d'interaction ligand de meilleur score (2-Undecanone) de Sarcosine Oxidase.

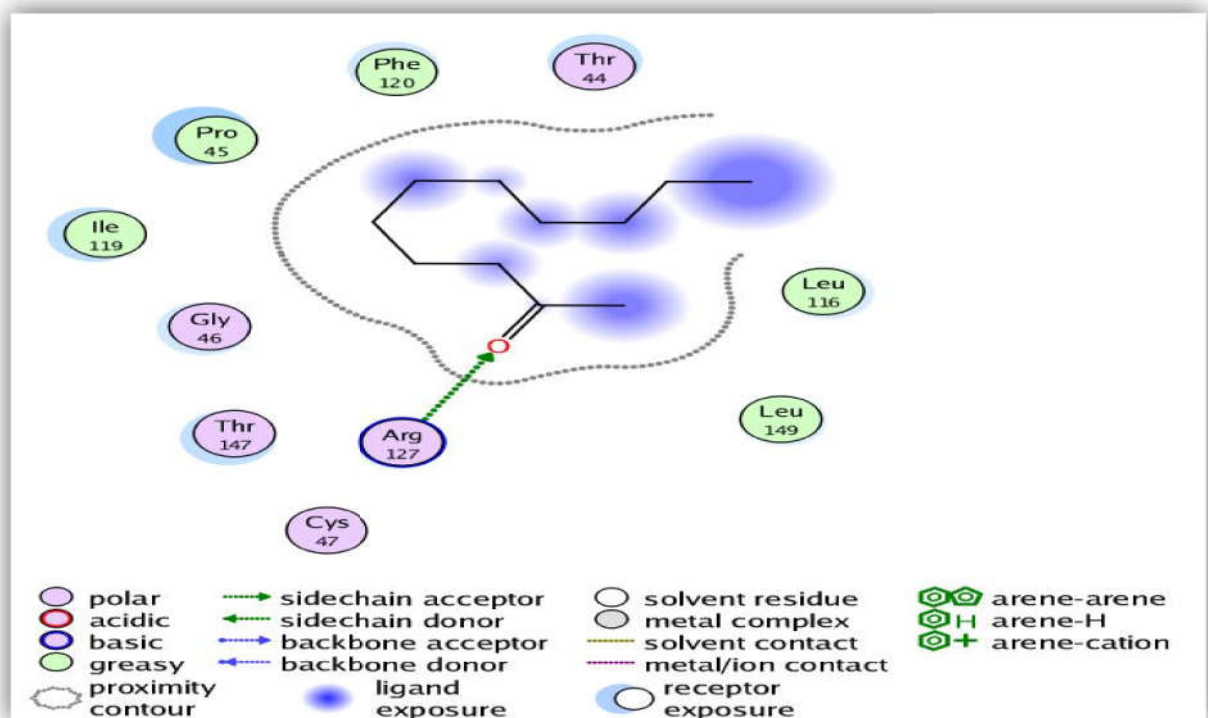


Figure 49 : Diagramme d'interaction ligand de meilleur score (2-Undecanone) de Peroxiredoxin 5

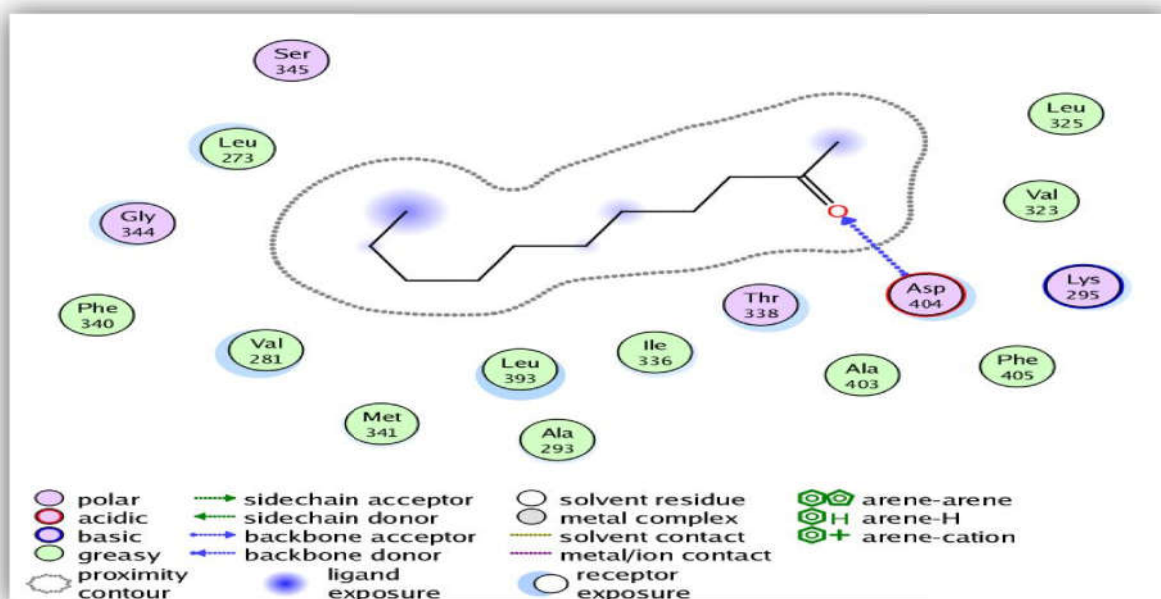


Figure 50 : Diagramme d'interaction ligand de meilleur score (**2-Undecanone**) de Tyrosine Kinase.

Le docking moléculaire avec MOE du composé 1 au sein du site actif de la protéine Glycolate Oxidase donne l'un des meilleurs scores (-7.1680 Kcal/mol). Néanmoins, ce composé « **2-Undecanone** » forme une liaison hydrogène avec le résidu Lys 236 avec une distance de 3.09 Å lors de son interaction avec le site actif (**Figure 33**) au profit des nombreuses interactions hydrophiles et lipophiles avec les résidus qui stabilisent le complexe ce qui suggère que le « **2-Undecanone** » peut inhiber l'enzyme (**Glycolate Oxidase**) interférer avec le résidu Lys236.(**Voir tableau N°08**).

Lecomplexe 2 se présente comme un meilleur score égal (-8.2039 Kcal/mol) ces résultats sont en accord avec le composé « **2-Undecanone** » forme une liaison hydrogène avec le résidu Ser 43 avec une distance de 3.39 Å lors de son interaction avec le site actif ce qui suggère que le« **2-Undecanone** » peut inhiber l'enzyme (**Sarcosine Oxidase**). interférer avec le résidu Ser 43.(**Figure 34**)

Résultats et discussions

D'un côté

- Complexe 3 : forme une liaison hydrogène avec le résidu Arg 127 avec une distance de 2.28 Å lors de son interaction avec un meilleur score (-4.3568 Kcal/mol) ce qui suggère que le « **2-Undecanone** » inhibe l'enzyme (**peroxiredoxine 5**) interférer avec le résidu Arg 127. (**Figure 35**).
- Complexe 4 : forme une liaison hydrogène avec le résidu Asp 404 avec une distance de 2.97 Å lors de son interaction avec un meilleur score (-5.9316 Kcal/mol). Ce qui suggère que le « **2-Undecanone** » inhibe l'enzyme (**Tyrosine Kinase**) interférer avec le résidu Asp 404. (**Figure 36**).

1.2.5. Conclusion

Les résultats obtenus lors du docking ont montré que :

- Le complexe 1 présente une énergie de score (-15.6858 Kcal/mol) avec le ligand Co-cristallisé plus faible que l'énergie du composé «**2-Undecanone** » (-7.1680 kcal/mol).

- Le complexe 2 présente une énergie de score (-18.9860 kcal/mol) avec le ligand Co-cristallisé plus faible que l'énergie du composé «**2-Undecanone** » (-8.2039 Kcal/mol) .

- Le complexe 3 présente une énergie de score (-4.3568 Kcal/mol) avec le « **2-Undecanone** » plus faible que l'énergie du ligand Co-cristallisé (-3.8480 Kcal/mol) .

- Le complexe 4 présente une énergie de score (-5.9316 Kcal/mol) avec le ligand « **2-Undecanone** » plus faible que l'énergie du ligand Co-cristallisé (-5.5164 Kcal/mol) .

Les résultats obtenus à l'aide de logiciels MOE suite révèle qu'il existe des différentes interactions c'est-à-dire il existe une affinité entre les deux molécules (protéine-ligand) donc le « **2-Undecanone** » peut être probablement un bon inhibiteur pour les enzymes (Glycolate Oxidase, Sarcosine Oxidase , Peroxiredoxin 5 et Tyrosine Kinase).

Tableau 8. Les liaisons d'interactions des 4 complexes.

Protéine	Ligand	Meilleur score
Glycolate oxidase (2RDU)	Résidus d'interaction :	Résidus d'interaction :
	(Hydrophile)	(Hydrophile)
	Lys 236, Ala 79, Asp 291, Thr 158, Lys 236, Ser 108, Gly 292, Gly 314, Arg 315, Gly 293, Arg 295, Thr 80, His 260.	Ala 79, Asp 291, Thr 158, Lys 236, Ser 108, Gly 292, Gly 314, Arg 315, Gly 293, Arg 295, Thr 80, His 260.
	(Lipophile)	(Lipophile)

Résultats et discussions

	Ala 79	Ala 79
	Interaction Hydrogène:	Interaction Hydrogène:
	Ser 108, Thr 80, Thr 158, His 260, Asp 291, Gly 292, Arg 295, Arg 315, Gly 314, Gly 293.	Lys 236
	Interaction Arene :	Interaction Arene:
	Thr 80, His 260, Lys 236, Thr 158	/

Sarcosine oxidase (1EL5)	Résidus d'interaction : (Hydrophile) :	Résidus d'interaction : (Hidrophile) :
	Asp 33, Ser 13, His 44, Ser 43, His 39, Lys 348, Arg 49, Gly 346.	Ser 43
	(Lipophile):	(Lipophile):
	Ile 50, Val 173, Phe 347, Met 14	/
	Interaction Hydrogène:	Interaction Hydrogène:
	Asp 33, His 39, His 44, Ser 13, Arg 49, Ile 50.	Ser 43

Peroxi redoxin 5 (1HD2)	Résidus d'interaction: (Hydrophile)	Résidus d'interaction: (Hydrophile)
	Gly 46, Arg 127, Cys 47.	Gly 46, Arg 127, Cys 47
	(Lipophile)	(Lipophile)
	/	/
	Interaction Hydrogène:	Interaction Hydrogène:
		Arg 127

Tyrosine kinase (2HCK)	Résidus d'interaction : (Hydrophile)	Résidus d'interaction : (Hydrophile)
	Gly 344	Asp 404
	(Lipophile)	(Lipophile)
	Ala 390	/
	Interaction Hydrogène:	Interaction Hydrogène:
	Ala 290	Asp 404

Résultats et discussions

1.1. Conclusion finale *in silico*

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu:

- L'affinité entre deux molécules.
- Les distances entre les acides amines du site actif de l'enzyme et les atomes du ligand.
- L'énergie d'interaction.

La flexibilité des molécules biologiques résulte de la haute dimensionnalité des systèmes, mais aussi de l'intervention d'un grand nombre d'interactions faibles (liaison hydrogène, effet hydrophobe, ...). Il est connu qu'elle fait partie intégrante de la dynamique des macromolécules et de leur bon fonctionnement. La négligence de ce paramètre dans les calculs introduit à des erreurs, il convient donc de déterminer la flexibilité intrinsèque d'une molécule mais aussi de pouvoir l'introduire, au moins partiellement, dans une procédure de docking (**Carlson, 2000 ; Carlson, 2002.6 ; Carlson, 2002.8; Teague, 2003**).

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée (**Grosdidier, 2007**).

D'après les résultats obtenus le calcul de l'énergie de « docking suite score » a été effectué pour former les complexes et identifier les interactions existantes, enfin nous constatons que le complexe 02 (SARCOSINE OXIDASE) possède une énergie la plus basse avec le ligand Co-cristallisé (**FAD**) (**-18.9860 kcal/mol**), par la suite un meilleur score avec le **2-Undécanone** (**-8.2039 kcal/mol**) par rapport aux autres complexes.

La **2-Undécanone** est une cétone, également connue sous le nom de méthyl nonyl cétone (MNK). Elle est soluble dans l'éthanol, le benzène, le chloroforme et l'acétone, mais sa large chaîne carbonée la rend insoluble dans l'eau. Comme la plupart des méthylcétones, la 2-Undécanone subit une réaction halo forme lorsqu'elle est en présence d'une base. Par exemple, la réaction entre la **2-Undécanone** et l'hypochlorite de sodium produit du décanoate de sodium, du chloroforme et de l'hydroxyde de sodium. La **2-Undécanone**, également connue sous le nom de méthyl-nonylcétone et IBI-246, est un liquide organique huileux fabriqué

Résultats et discussions

synthétiquement, mais qui peut également être extrait du pétrole de la rue (*Ruta graveolens*). On le trouve à l'état naturel dans les bananes, les clous de girofle, le gingembre, la goyave, les fraises et les tomates sauvages. La **2-Undecanone** est utilisée dans les industries de la parfumerie et des arômes, mais en raison de sa forte odeur, elle est surtout utilisée comme insectifuge ou répulsif pour les animaux. En général, on trouve des concentrations de 1 à 2 % de **2-Undecanone** dans les répulsifs pour chiens et chats sous forme de liquide, d'aérosol ou de gel. (Yannai, 2004).

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Dans notre présent travail, l'étude s'est portée sur l'évaluation de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles du *Pistacia lentiscus*.

Nous avons essayé d'étudier, au point de vue énergétique, les interactions et élucider des mécanismes d'interactions (protéine/ligand), En se basant sur l'étude théorique par le biais de l'outil informatique, on a essayé d'expliquer quels sont les composés des HE des galles de P.L les plus actifs, et déterminer le mode d'interaction entre les protéines : Glycolate oxidase, Sarcosine oxidase, Tyrosine kinase et Peroxiredoxin 5 avec une série de cinq ligands qui sont : α -terpinolene , Terpinen-4-ol, 2-Undecanone , 3-Cyclohexen-1-ol et Caryophyllene.

Le calcul des scores des complexes(protéine/ligand). Pour chaque ligand nous a permis de mettre en évidence le mode d'interaction le plus favorable. Les résultats obtenus montrent que pour la majorité des ligands les interactions sont du type hydrogène ou ionique est les valeurs des scores calculées montre que le meilleur ligand est (**2-Undecanone**) qui présente une énergie de **(-8.2039 Kcal/mol)** avec Sarcosine oxidase(**1EL5**), de **(-7.1680 Kcal/mol)** avec Glycolate oxidase(**2RDU**), de **(-5.9316 Kcal/mol)** avec Tyrosine kinase(**2HCK**) et de **(-4.3568 Kcal/mol)** avec Peroxiredoxin 5(**1HD2**).

Par conséquent, la grande affinité du (**2-Undecanone**) pour les différentes protéines est justifié par le fait qu'il lui correspond des scores plus faible comparés avec celui du α -terpinolene, Terpinen-4-ol, 3-Cyclohexen-1-ol et Caryophyllene c'est-à-dire la formation la moins énergétique et la plus facile du complexe (protéine/ligand) et ce qui explique que le (**2-Undecanone**) est le responsable de l'activité anti-oxydante .

Enfin, le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Agarwal S, Jangir DK, Mehrotra R, Lohani N, Rajeswari M ,2014.** A Structural Insight into Major Groove Directed Binding of Nitrosourea Derivative Nimustine with DNA: A Spectroscopic Study. *PLoS ONE* 9: 104-115.10.
- Aït youssef M, 2006.** Plantes médicinales de cabylie. Paris, p 260-263.
- Allen T, 2000** Low-cost response surface methods applied to the design of plastic fasteners,. *Quality Engineering*, Volume 12,, tome 12, No. 4, :pages 583–591.
- Alma, M.H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F. T., Yilmaz, N. 2004.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish Pistachio (*Pistacia vera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.52: 3911-3914,
- Al-Said, M. S., Ageel, A. M., Parmar, N. S., Tariq, M. 1986.** Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 15: 271-278.
- AMARA N, BENRIMA A, ANBA C, BELKHIR H, 2019.** ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DE L’HUILE ESSENTIELLE DES FRUITS DU PISTACHIER LENTISQUE (*PISTACIA LENTISCUS* L.) 1669-1676.
- Amhamdi, H., Aouinti, F., Jean Paul Wathelet, J.P., Elbachiri, Ali, 2009.** Chemical Composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from eastern Morocco. *Records of Natural Products*. 3:90- 95. *Amyri*. p. 145-146.
- Anton, R et Wichtel, M, 1999.** Plantes thérapeutiques: traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. 3^{ème} édition, Ed. Françaises. Strasbourg.
- Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K ,2014.** Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phénolic compounds of pistacia lentiscus L. *Journal of Fundam Appl. Sci*. 6 (1), 77-9.
- Atkinson, E., Hazleton, 1922.** E. O. A Qualitative Tannin Test. *Biochemical Journal*, vol. 16, pp. 516-527.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D,2011.** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*.112: 303-309.
- Ayachi H., 2017** Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire: Cas du diabète de type 2 .Thèse de doctorat en sciences. UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID – TLEMCEN.
- Bachrouch O , Mediouni Ben Jemâa J, Aidi Waness W , Taloud T , Marzouk B.M , 2010.** Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored. Prod. Res.* 46: 242-247.
- Bardeau F, 2009.** Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Edit.Fernand Lanore, 315p.
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., Angioni, A, 2007.** Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 7093-7098.
- Baudoux, D, 2003.** L’aromathérapie : Se soigner par les Huiles Essentielles. Edition
- Bauer, Bauer, K.,D.Garbe, and H.Surburg, 2001.** Common Fragrance and Flavour Materials, Preparation, Properties and Uses. Ed.Wiley-Weinheim.

Références Bibliographiques

Beautrait A, 2008. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Nancy I : Université Henri Poincaré. France. 217p.

Belhadj S, 2000. Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation, Centre Universitaire de Djelfa, Algérie, p 108.

Bellakhdar, J, 1997. Pharmacopée traditionnelle marocaine. Ibis Press, Paris P.764.

Ben Douissa F, 2004. Etude Chimique et Biologique de *Pistacia lentiscus*. AbeBooks.fr, pp.330-331.

Ben Khedir S , Mzid M , Bardaa S , Moalla D , Sahnoun Z , Rebai, T ,2016. In vivo evaluation of the anti-inflammatory effect of *Pistacia lentiscus* fruit oil and its effects on oxidative stress. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Médecine : 1-12.

Benamar H , Rached W , Derdour A , Marouf A, 2010. Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. Journal of Biological Sciences. 10: 1-9.

Bensegueni A, 2007. -Les onguents traditionnels dans le traitement des plaies et des brûlures. Thèse d'Etat en sciences vétérinaires. Université Mentouri. Constantine. p. 21-22

Bhourri, W., Derbel, S., Skandrani, I., Boubaker, J., Bouhlel, I., B-Sghaier M., Kilani, S., Mariotte A.M., Dijoux-Franca M.G., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L. 2010. Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. Toxicology in Vitro. 24: 509-515.

Bougherara Merzougui I.2015. Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia Lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Thèse de doctorat. faculté des sciences département de biochimie.

Boukerouis D, Atmani D et Atmani D, 2016. Caractérisation de l'activité antioxydante des extraits de *Pistacia lentiscus* et *fraxinus angustifolia* in Substances Naturelles et Innovations Thérapeutiques.

Boukli-Hacene F, 2016. Etude de l'interaction de quelques sels de métaux avec les sucres en solution aqueuse par modélisation moléculaire. Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée. Tlemcen : Université Abou BekrBelkaid. Algérie. 104 p.

Boullard B, 2001. Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. De Boeck Secondary.

Box G. et Draper N.R, 1987. Empirical model building and response surfaces.

Box G.E.P. and Behnkend D.W,1960. Some new three level designs for the study of quantitative variables. Technometrics, vol. 2, 1960, 455 - 475.

Box G.E.P. et Wilson K.B, 1951. On the experimental design for attainment of optimum conditions. Journal of the Royal Statistical Society,, tome Series B 13, :pages 1-45.

Box George.E. P, Hunter William G, Hunter J, 2005 . Stuart «Statistics for Experimenters» deuxième édition. John Wiley and Sons. New-York. 633 pages.

Bruneton, J,1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^e, e édition. Paris: Editions médicales internationales, éditions Toc & Doc Lavoisier, 120p.

Bursztyna D.,SteinbergD. M., 2006. Comparison of designs for computer experiments. Journal of S.

Byeng D. et Youn K.a.K, 2003. A new response surface methodology for reliability-based design optimization. Computers and Structures.

Carlson H.A, 2002. Mc Common J.A. Accommodating protein flexibility in

Références Bibliographiques

- Carlson H.A, 2002.** Protein flexibility and drug design: how to hit a moving target.
- Carlson H.A, 2002.** Protein flexibility is an important component of structure-based
Centre national de la recherche scientifique. PubChem.
- Chikhi A, Bensegueni A ,2008.** Comparative Study of the Efficiency of Three computational drug design. *Pharmacology*57, 213-218. *Curr. Op.Chem. Biol*, 6, 447-452.
- Chryssavgi, G., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., Michael, K. 2008.**Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*. 107: 1120-1130.
- Collin S et Crouzet J, 2011.** Pol phénols et procédés. Tec & Doc éditions. France.
- Cornell J, 1990.** How to Apply Response Surface Methodology, tome vol. 8.
- Cowan, M.M, 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical and Microbiological Research*, vol. 12, pp. 564- 582
- Cragg G.M, Newman D.J., & Snader K.M, 1997.** Natural products in drug discovery and development. *Journal of natural products*, 60(1), 52-60.
- De Rijke E., Out P., Niessen W.M., Ariese F., Gooijer C., & Udo A.T,2006.** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112(1), 31-63. des Sciences, Tétouan, Maroc, 100 pp.
- Dellai A , Souissi H., Borgi W, Bouraoui A , Chouchane N. 2013.** Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Industrial crops and products*. 49: 879 -882.
- Dhifi W., Jelali N., & E. Chaabani, 2013.** -Chemical composition of Lentisk (*Pistacia*
- Djedaia ,S. 2017.**Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus* L.).Thèse de Doctorat : Chimie Analytique et Physique. Université Badji Mokhtar-ANNABA, 174p.
- Djenane, D., Yangüela, J., Montañés, L., Djerbal, M., Roncalés, P, 2011.**Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control*. 22: 1046 -1053.
- Djerrou, Z., Hamdi-Pacha, Y., Belkhiri, A. M., Djaalab, H., Riachi, F., Serakta, M., Boukeloua, A., Maameri, Z., 2011.**Evaluation of *Pistacia lentiscus* fatty oil effects on glycemic index, liver functions and kidney functions on New Zealand rabbits. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med*. 8, 214-219.
- Doehlert David H,1970.** Uniform Shell Design .*Appl. Stat.* n°19, p 231. *drug Discov*, 2, 527-541drug discovery. *Curr. Pharm*, 8, 1571-1578.
- Duenas, M., Hernandez, T., Estrella, I., and Fernandez, D,2009.** Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food chemistry*, vol. 117, pp. 599-607
- El Hadj Said K, 2016.** Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Mémoire de Master en Chimie Organique, Université de Tlemcen. Algérie. 50 p.
- El Yahyaoui, O., Ait ouaaziz, N., Sammama1, A., Kerrouri, S., Bouabid, B., Lrhorfi1, L.A.,Zidane, L., Bengueddour, R,2015.**Etude ethnobotanique: Plantes médicinales

Références Bibliographiques

commercialisées à laprovince de Laâyoune; identification et utilisation. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol .12, pp. 533-541.

Emna Chaabani,2019. Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des dif- férentes parties de Pistacia lentiscus.. Autre [q-bio.OT]. Université d'Avignon; Université de Carthage (Tunisie).essentielle et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes, pp. 4-5.

Ferreira LG, dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD ,2015. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules* 20: 13384-13421.

François M,2015. Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques. Thèse de doctorat de l'université : chimie. Paris sud : Université Paris SUD. 117 p.

G.L. Warren, C. Webster Andrews, A.M. Capelli, B. Clark, J. LaLonde, M.H. Lambert, M. Lindvall, N. Nevins, S.F. Semus, S. Senger, G. Tedesco, I.D. Wall, J.M. Woolven, C.E. Peishoff, M.S. Head, 2006. A criti calassessment of docking programs and scoring functions. *Journal of Medicinal Chemistry* 49, 5912-5931;

Gabb H.A, JacksonRichard M, SternbergMichael J.E, 1997. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. **Journal of microbial biology, Vol272,1**, 106-120

Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Theodosis, T,2008. Essentiel oil composition of pistacialentiscus L. And Myrtuscommunis L.: Evaluation of antioxydant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107:1120-1130.

Gau J.T. et Kinzel G.L,2001. An experimental investigation of the influence of the bauschinger effect on springback predictions. *Journal of Materials Processing Technology*, tome 108 :pages 369 – 375.

Goupy J ,1995.Plans d'expériences non conventionnels. Théorie et applications (ou comment sauver un plan raté) . Analisis. 23 152-158.

Goupy J ,1999. Plans d'expériences pour surfaces de réponse . Dunod. Paris. 409 pages.

Goupy J, 2001. «Introduction aux Plans d'expériences». Dunod. Paris. 303 pages.

Grosdidier A, 2007. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la Protein-Ligand Docking Program. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*; **1**: 161-165. ET Vieth M., Hirst J. D., Kolinski A., Brooks C. L. Assessing energy functions for flexible Docking. *Journal of Computational Chemistry*. 1998; **19**: 1612-recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble

Gschwend DA, Good AC, Kuntz ID ,1996. Molecular docking towards drugdiscovery. *J Mol Recognit* 9: 175-186

Hallimi A , 2004. les plantes médicinales en Algérie .Ed. Berti, Algérie.

Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S, 1993. The correlation between active Oxygens

Haslam, E, 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of Natural Products*, vol. 59, pp. 205- 215.

Hayder N , Ammar R.B , Abdelwahed A., Kilani, Soumaya , Mahmoud, Amor , Ben Chibani, J, Mariotte A. M, Ghedira K, Dijoux-Franca M.G., Chekir-Ghedira L, 2005.Antibacterial and antimutagenic activity of extracts and essential oil from (Tunisian) *Pistacia lentiscus*. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 87: 567-573.

Références Bibliographiques

Hmimsa Y,2004. -L'agrobiodiversité dans les agrosystèmes traditionnels de montagnes: Cas du Rif marocain. Mémoire de troisième cycle. Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté

Holt PA, Chaires JB, Trent JO ,2008. Molecular docking of intercalators and groove-binders to nucleic acids using Autodock and Surflex. *J Chem Inf Model* 48: 1602-1615.

Helperin,I. B. Ma, H. Wolfson, R. Nussinov,2002.Principles of dockings: an overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *PROTEINS: Structure, function and Bioinformatic* 47, 409-443.

Ibn Bitar, 1989. Les médicaments, explication du livre Diaciko Didos. La maison du Magreb islamique. Beyrouth.

Ibn Sina, 1965. La guérison. Comité générale des affaires des imprimeries elOumaouia. Egypte.

Iserin, P, 2001. Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins. 2^{ème} édition Ed Larousse/VUEF. p13-16, 250, 291-296

Jain. A, 2006. Scoring functions for protein-ligand docking. *Current Protein and Peptide Science* 7, 407-420.

Khanbabaee, K., Van Reeb, K, 2001. Tannins: Classification and Definition. *Natural Products Reports*, vol. 18, pp. 641-649.

Khiari M,b, Kechrid Z, Klibet F, Elfeki A,Shaarani Md.

Sharifudind,Krishnaiah Dudukub,2018. NiO nanoparticles induce cytotoxicity mediated through ROS generation and impairing the antioxidant defense in the human lung epithelial cells(A549):Preventive effect of Pistacia lentiscus essential oil .480-488.

Kokwaro J.O,1986.Anacardiaceae. In: Poihili, R.M. (Editor). *Flora of Tropical East Africa*. Rotterdam (Netherlands). p 59.

Krid Y, 2013. Conception in silico de nouveaux flavonols inhibant potentiellement l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine pour le traitement de l'hypertension artérielle. Mémoire de Master en Biochimie Moléculaire et Santé, Université des Frères Mentouri, Constantine. Algérie. 51 p.

Lemaistre J,1959. Le Pistachier (Etude Bibliographique). *Fruits* 14, 57 – 77.

lentiscus L.) seed oil. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 8(16):1395-1400.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C,2005. Les composés phénoliques des végétaux. Unmagistère, Univ. Tlemcen, 105p

Martini N.D,2003. The isolation and characterisation of antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (Burch.) Sond (Doctoral dissertation).

Mehenni C , Atmani-Kilani D , Dumarçay S , Perrin D , Gérardin, P., Atmani D ,2016. Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*. 24: 653-669.

Mehrotra R, Jangir DK, Agarwal S, Ray B, Singh P, et al.,2013. Interaction studies of anticancer drug lomustine with calf thymus DNA using surface enhanced Raman spectroscopy. *MAPAN* 28: 273-277

Références Bibliographiques

- Merzougui,I,2015.** Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia Lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. (Thèse de doctorat).
- Mezni, F., Aouadhi, C., Khouja, M. L., Khaldi, A., Maaroufi, A. 2015.** In vitro antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oil and phenolic extract. *Natural Product Research*. 29: 565-570.
- Mitcheh A, 1986** .Tous les Arbres de nos Forêts, édition Bordas, p 319.
- Mohammedi Z ,2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles
- Mokrani H, Boucherit A, Chikhi A , Bensegueni A, Merzoug K, Hioual S.,2013.**L'amarrage moléculaire : une nouvelle approche pour lutter contre le développement de la tuberculose. *Rev. microbiol. ind.san et environn.* vol 7, p : 133-149.
Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Group, Montreal, Quebec, Canada10, 2012
- Molyneux, P, 2004.**The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity, *Song Klama Karin J.Sci. Technol*, 26 (2): 211-219.
- Montgomery D.C,2004.** Design and analysis of experiments .51–270.
- Mozz Gilo,1990.**Plan quadratique Gigogne. *Revue de statistique appliquée*, vol. 38 (3), p.23-34.
- Mpondo E.M., Yinyang J., & Dibong S.D. 2015.**Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 85(1), 7804-7823.
- Naouar M S , Zouiten Mekki L , Charfi L, Boubaker J, Filali A, 2016.** Preventive and curative effect of *Pistacia lentiscus* oil in experimental colitis. *Biomed. Pharmacother.* 83, 577-583.
- Nathalie L, 2014.** Méthode de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat d'université : bioinformatique. Paris : Université Paris-Sud. France. 314 p.
- Noordin M, Venkatesh V,2003.** Application of response surface methodology in describing the performance of coated carbide tools when turning aisi 1045 steel. *Journal of Materials Processing Technology*.
- Onay A & Jeffree C.E, 2000.** Somatic Embryogenesis in Pistachio (*Pistacia Vera* L.). In *Somatic embryogenesis in woody plants* (pp. 361-390). Springer Netherlands.
- Onur K. et Necip D,2003.**Joint optimization of mean and standard deviation using response surface methods. *Journal of Quality Technology*, tome 35, n o 3.
- Osamuyimen, O. I., Isoken, H. I., Vincent, N. C., Olohirere, E. U., Sunday, O. O., Emmanuel,E. O., Anthony, I. O., Etinosa, O. I, 2011,** Polyphenolic contents and antioxidant potential of stembark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *International Journal of Molecular Science*, vol. 12, pp. 2958-2971.
- Prichard A J N ,2004.** The use of essential oils to treat snoring. *Phytotherapy Research*, 18,696-699. Psomiadou, E et TsimidProtein Data Bank (PDB). Biological Macromolecular Resource.
- Quesada G.M., Del-Castillo E., Peterson J.J., 2004.** A bayesian approach for multiple response surface optimisation in the presence of noise variables,. *Journal of applied statistics*, tome 31, no 3 :pages 2

Références Bibliographiques

- Quezel P.S, 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).
- Rechtschaffner R. L, 1967.** Saturated Fractions of 2n and 3 Factorial Designs. *Technometrics*, vol. 9. 569-575.
- Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J.L., Azib, L., Richard, T., Atmani, D, 2015.** Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*. 7: 274-286.
- Romani A., Pinelli P , Galardi C , Mulinacci N , Tattini M , 2002.** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia Lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*. 13: 79-86.
- Roquemorek. G, 1976.** Hybrid Designs for Quadratic Response Surfaces. *Technometrics*, vol. 18, n°4. 419-423.
- Sacks J.e.a,1989.** Design and analysis of computer experiments. *Statistical Science*, tome 4, No. 4 :pages 409–435.
- Sakagami, H., Kishino, K., Kobayashi, M., Hashimoto, K., Iida, S., Shimetani, A., Nakamura, Y., Takahashi, K., Ikarashi, T., Fukamachi, H., Satoh, K., Nakashima, H., Shimizu, T., Takeda, K., Watanabe, S., Nakamura, W, 2009.** Selective antibacterial and apoptosis-modulating activities of mastic. *In Vivo*. 23: 215-224.
- Salah D, 2017.** Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus* L), thèses de doctorat 8 .
- Salah Djedaia,2017.** ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE ET CARACTÉRISATION DU FRUIT DE LA PLANTE LENTISQUE (*Pistacia Lentiscus* L.). Thèse de Doctorat : chimie Analytique et Physique. UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-ANNABA, 174p.scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med*. 16: 845-850.
- Seigue A, 1985.** La Forêt Circum méditerranéenne et ses Problèmes, Maisonneuve & Larose, pp 22- 27, pp 137 – 139.
- Shoichet BK, McGovern SL, Wei B, Irwin JJ, 2002.** Lead discovery using molecular docking. *Curr Opin Chem Biol* 6: 439-446.
- Spyrakakis F., Cozzini P., Kellogg G. E, 2010.** Docking and Scoring in Drug Discovery. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 48: 601–684.
- Teague S.J, 2003.** Implications of protein flexibility for drug discovery. *Nature rev. Université Joseph Fourier. France*. 90p.
- Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Bourgou, S., Hajlaoui, H., Abdelly, C, 2010.** Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food. Sci. Tech*. 43: 632-639.
- Trosset M, Alexandrov N, 2003.** New methods for robust design using computer simulation. *Proceedings of the Section on Physical and Engineering Sciences, American Statistical Association*.
- Vaya, J , Mahmood S. 2006.** Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia Lentiscus* L.). *Biofactors*, 28: 169-175.
- Warrem g. L.,C. Webster Andrews, Anna-Maria Capelli, Brian Clarke, Judith LaLonde, Millard H. Lambert, Mika Lindvall, Neysa Nevins, Simon F. Semus, Stefan Senger, Giovanna Tedesco, Ian D. Wall, James M. Woolven, Catherine E.**

Références Bibliographiques

Peishoff, and Martha S. Head, 2006. A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. *J. Med. Chem*, vol 49, 20, 5912–5931

Watson, R.R., V.R., Preedy, Zibadi. S,2014. Polyphenols in human health and disease. *Academic Press is an imprint of Elsevier*, vol.1, pp.201.

Yannai S,2004.Dictionnaire des composés alimentaires avec CD-ROM: Additifs, arômes et ingrédients. Boca Raton: Chapman & Hall / CRC

Yao G., Craven M., Drinkwater N., Bradfield CA, 2004 .Interaction networks in yeast define and enumerate the signaling steps of the vertebrate aryl hydrocarbon receptor. *PLoS Biol* ; 2(3):E65.

Zitouni ;Yahiaoui,2017. Profil polyphénolique et activité antioxydante de deux plantes médicinales Pistacia lentiscus. L et Gymnocarpos decander. Forsk.Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie. UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEN.

Zohary M,1952. A monographical study of the genus Pistacia. *Palestine Journal of Botany Jerusalem Ser* 5: 187-228.

Sites Web :

(1). <https://www.rcsb.org/stats/summary>. Consulté le : [23-06-2020].

(2). https://www.rcsb.org/pdb/static.do?p=general_information/about_pdb/index.html/.

Consulté le [04-08-2020].

(3) . <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le [04-08-2020].