

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique Et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الدكتور مولاي الطاهر، سعيدة

Université Moulay Tahar, Saida



N° d'ordre

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Science Naturelle et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

**En :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Biochimie

Thème:

---

**Sélection de composés bioactifs avec un potentiel anti-inflammatoire grâce à la technique de docking moléculaire**

---

**Présenté par :**

MOUSSAOUI Imene Nour EL Houda

**Soutenu le :** 26/06/2024

**Devant le juré composé de :**

**Président** Pr : ZIANI.K

**Examineur** Pr. : MOSTEFALA

**Rapporteur** Pr : SLIMANI.M

Année universitaire 2023-2024

# **Remerciements**

*Tous d'abord, je remercie le dieu le tout puissant, le miséricordieux, de ma avoir donné la force, la volonté et le courage durant mes années d'étude et surtout pendant la réalisation de ce modeste travail.*

*Je voudrais dans un premier temps remercier, mon directeur de mémoire M.SLIMANI, professeur de biologie à l'université de SAIDA, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à la réalisation de ce travail*

*Je tiens d'exprimer mes remerciements aux membres de jury qui ont accepté d'évalué mon travail*

*J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes années d'études.*

*J'exprime mes profondes gratitudees à ma famille pour leur encouragement, leur soutien et pour les sacrifices qu'ils ont enduré.*

*Finalement, Nos remerciements vont en fin à tous ceux qu'ont contribues de près ou de loin à la réalisation de ce modeste projet de fin d'étude.*



*Dédicace*

*To the greatest **dad** in the in the world **NOUREDDINE**, I hope you're proud of me, still now your angelic soul inspiring me, hail to your eyes sleeping in the heaven.*

*To the coolest **mother MOUSSAOUI N** for all her support and love that lead me to live this day.*

*To my pride my brothers and sisters **MUSTAPHA BACHIR HADJ HOUDA & KARIMA***

*To the little ones **NOUREDDINE ABDELRAHMANE KHADIJA** for the happiness you brought into my life.*

*To all my family and ones I love*

## **Résumé :**

La cyclooxygénase-2 (COX-2) est une enzyme clé impliquée dans le processus inflammatoire. Son inhibition constitue une cible thérapeutique majeure pour le développement d'agents anti-inflammatoires.

Les composés bioactifs d'origine végétale, en raison de leur diversité structurale et de leurs propriétés pharmacologiques potentielles, représentent une source prometteuse de nouveaux agents anti-inflammatoires.

L'étude de docking moléculaire réalisée a permis d'explorer les interactions entre les composés bioactifs flavonoïdes et non flavonoïdes dont la curcumine, Le resvératrol, La quercétine, Le kaempférol, l'apigénine, la chrysin, le gingerol, le galangin et la protéine COX-2 (code 3LN1, co cristallisé avec le celecoxib, un inhibiteur spécifique de la COX-2, en les comparant avec des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) bien connus (Nimésulide, acide acétyl salicylique et diclofenac). Les scores de liaison, les RMSD et les interactions avec les résidus d'acides aminés du site actif de la COX-2 ont été analysés pour chaque composé bioactif. Cette étude nous permettra de mieux comprendre la capacité de ces composés à moduler l'activité de la COX-2 et à potentiellement inhiber l'inflammation.

Les huit composés bioactifs testés présentent des modes d'interaction distincts avec la COX-2, impliquant des liaisons hydrogène et hydrophobes avec des acides aminés clés du site actif. Leur affinité de liaison varie, indiquant une diversité d'interactions.

Ces composés bioactifs partagent certaines similitudes de liaison avec le célécoxib, mais présentent également des interactions uniques. Cela suggère un mode d'action plus complexe et étendu, potentiellement avec une meilleure sélectivité. Tous les composés partagent des motifs structuraux communs avec les AINS, tels que des groupes phénoliques, hydroxyles et méthoxy, qui sont impliqués dans les interactions avec les résidus d'acides aminés du site actif.

Des études expérimentales approfondies sont nécessaires pour valider les résultats du docking moléculaire et évaluer l'efficacité anti-inflammatoire des composés bioactifs *in vitro* et *in vivo*.

**Mots clés :** acide acétyl salicylique, Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), apigénine, celecoxib, chrysin, Cyclooxygénase-2 (COX-2), diclofenac, Docking moléculaire, Flavonoïdes, gingerol, galangin, kaempférol, quercétine, resvératrol.

**Abstract:**

The cyclooxygenase-2 (COX-2) is a crucial enzyme involved in the inflammatory process. Its inhibition represents a major therapeutic target for the development of anti-inflammatory medicines.

Plant-derived bioactive compounds, due to their structural diversity and potential pharmacological properties, are a promising source of new anti-inflammatory medicines.

The molecular docking study conducted explored the interactions between bioactive compounds, both flavonoids and non-flavonoids, including curcumin, resveratrol, quercetin, kaempferol, apigenin, chrysin, gingerol, galangin, and the COX-2 protein (code 3LN1, co-crystallized with celecoxib, a specific COX-2 inhibitor), by comparing them with well-known non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as celecoxib, acetylsalicylic acid, and diclofenac. The binding scores, RMSD values, and interactions with the amino acid residues of the active site of COX-2 were analysed for each bioactive compound. This study will enable us to gain a better understanding of the ability of these compounds to modulate the activity of COX2 and potentially inhibit inflammation.

The eight bioactive compounds tested exhibit diverse mechanisms of interaction with COX-2, involving hydrogen and hydrophobic bonds with key amino acids in the active region. Their bonding affinity varies, indicating a diversity of interactions.

These bioactive compounds share certain binding similarities with celecoxib, but also exhibit distinct interactions. This suggests a more intricate and extensive mechanism of action, potentially with improved selectivity. All compounds share common structural features with NSAIDs, including as phenolic, hydroxyl, and methoxy groups, which are involved in interactions with amino acid residues at the active site.

Comprehensive experimental studies are necessary to validate the results of molecular docking and assess the anti-inflammatory efficacy of bioactive compounds in vitro and in vivo.

**Keywords:** acetyl salicylic acid, Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (AINS), apigenin, celecoxib, chrysin, Cyclooxygenase-2 (COX-2), diclofenac, Molecular docking, Flavonoids, gingerol, galangin, kaempferol, quercetin, resveratrol.

## ملخص:

السايكولووكسيجيناز (كوكس-2) إنزيم أساسي في عملية الالتهاب. تثبيطه يعتبر الهدف العلاجي لمعظم مضادات الالتهاب. المركبات الفعالة ذات المصدرة النباتي، و بسبب تنوعها التركيبي و تنوع خصائصها الصيدلانية الفعالة تمثل مصادر واعدة لمضادات التهاب جديدة.

دراسة الالتحام الجزيئي المجرى سمح بتقييم ارتباط بعض المركبات الفعالة منها الكوركومين، الراسفيراترول، الكارسيتين، الكامبفيرول، الابينين، الكريزين الجانجبرول، الجالونجاعم البروتين كوكس-2 (كود 3لن1 المبلورة مع السيليكوكسيب، مثبط خاص بالكوكس-2) مع مقارنتهم مع مضادات التهاب غير ستيرويدية معروفة (النيميسيليد، حمض الاسيتيل ساليسيليك، الديكلوفيناك)

تم تحليل كل من درجة الارتباط و جذر مربع متوسط الانحراف و رابطات مع بقايا الأحماض الأمينية للموقع الفعال للكوكس-2 لكل من المركبات الفعالة. هذه الدراسة سمحت بالفهم الجيد لمدى فعالية هذه المركبات في تعديل نشاط الكوكس-2 و بالتالي تثبيط الالتهاب

المركبات الفعالة الثمانية أظهرت أنماط ارتباط مختلفة مع الكوكس-2 منها الروابط الهيدروجينية، الكارهة للماء، أيونية مع أحماض أمينية مفتاحيه في الموقع الفعال اختلاف قابلية الارتباط يعبر عن اختلاف نوع الروابط

هذه المركبات الفعالة تتشارك مع السيليكوكسيب في بعض الارتباطات كما أنها تظهر ارتباطات جديدة و هذا يدل على نمط عمل معقد و واسع مع تخصص أفضل. المركبات الفعالة تتشارك في بعض العناصر التركيبية مع مضادات الالتهاب غير الستيرويدية كالفينول و الهيدروكسي و الميتوكسي التي تشارك في الروابط مع بقايا الأحماض الأمينية للموقع الفعال يلزم إجراء دراسات تجريبية معمقة لتأكيد نتائج الالتحام الجزيئي و تقييم فعالية المركبات الفعالة كمضادات حيوية في المخبر و في الجسم الحي

الكلمات المفتاحية : الفلافونويدات، إنزيمات الأكسدة الحلقية -2 الالتحام الجزيئي، الأدوية المضادة للالتهابات غير الستيرويدية (مضادات الالتهاب غير الستيرويدية)، السيليكوكسيب، حمض أسيتيل الساليسيليك، ديكلوفيناك، ريسفيراترول، كيرسيتين، كيمبفيرول، أابينين، كريسين، جينجبرول، جالانجين

## SOMMAIRE

Remerciement	I
Dédicace	II
Résumé	III
Abstract	IV
ملخص	V
Sommaire	VI
Liste des tableaux	VIII
Liste des figures	IX
Liste des abréviations	XI
Introduction	1

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE 1 : REACTION INFLAMMATOIRE

1 Réaction inflammatoire	5
1.1 Physiologie de l'inflammation	5
1.2 Mécanisme de l'inflammation	6
1.2.1 Phase vasculo-exsudative	6
1.2.2 Phase du granulome inflammatoire	6
1.2.3 Phase de détersion	6
1.2.4 Phase de cicatrisation	7
1.3 Médiateurs inflammatoires	8
2 La cyclooxygénase	10
2.1 Caractéristique et différence entre les iso-enzymes de la COX	11
2.1.1 Isoformes de la cyclooxygénase	12
Isoforme COX-1	12
Isoforme COX-2	13
2.2 Structure 3D de la COX-2	15
3 Inhibition de l'inflammation	16
3.1 Les anti-inflammatoire non-stéroïdiens	16
3.1.1 Sélectivité des inhibiteurs de la COX	17
Les inhibiteurs non sélectifs	17
Les inhibiteurs sélectifs COX-2	18
Caractéristiques structurales des COXIBS	19

### Chapitre 2 : ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES SUBSTANCE BIOACTIVE D'ORIGINE VEGETAL

1 Substance phénolique	22
1.1 Classification des Polyphénols	22
1.1.1 les acides phénoliques	22
L'acide hydroxycinnamique	22
L'acide hydroxybenzoïque	22
1.1.2 Les flavonoïdes	23
Structure chimique	23
Classification des flavonoïdes	24
1.1.3 Les tannins	25
les tanins hydrolysables	25
les tanins condensés	25
1.2 Activité anti-inflammatoire des composés phénoliques	26

## CHAPITRE 3 : DOCKING MOLECULAIRE

<b>1 Docking moléculaire</b>	<b>29</b>
<b>1.1 Principe de docking</b>	<b>29</b>
<b>1.2 Type de docking</b>	<b>30</b>
<b>1.3 Etapes de docking</b>	<b>31</b>
<b>1.3.1 Etape de docking</b>	<b>31</b>
<b>1.3.2 Etape de scoring</b>	<b>31</b>
<b>Les fonctions de scoring empiriques</b>	<b>31</b>
<b>Les fonctions basées sur la connaissance</b>	<b>31</b>
<b>Les fonctions de score basées sur les champs de force</b>	<b>32</b>
<b>1.4 Type d'interaction</b>	<b>32</b>
<b>1.4.1 Liaison hydrogène</b>	<b>32</b>
<b>1.4.2 Liaison hydrophobe</b>	<b>33</b>
<b>1.4.3 Interactions de Van der Waals</b>	<b>33</b>
<b>1.4.4 Interaction électrostatique</b>	<b>34</b>
<b>1.4.5 Interaction métal-ligand</b>	<b>35</b>
<b>1.4.6 Interaction aromatique impliquant des systèmes <math>\pi</math></b>	<b>36</b>
<b>1.5 Energie libre de liaison</b>	<b>36</b>
<b>1.6 Root mean square deviation (RMSD)</b>	<b>37</b>
<b>1.7 Choix des composés à tester</b>	<b>38</b>

## PARTIE PRATIQUE

### CHAPITRE 04 : MATERIELS ET METHODES

<b>1 Préparation des structures</b>	<b>41</b>
<b>1.1 Préparation de l'enzyme COX-2</b>	<b>41</b>
<b>1.2 Préparation des composés bioactifs</b>	<b>45</b>
<b>2 Docking moléculaire</b>	<b>57</b>
<b>3 Analyse des résultats de docking</b>	<b>57</b>
<b>4 Visualisation des interactions</b>	<b>57</b>

**RESULTATS  
DISSCUSSION  
CONCLUSION**



## **LISTE DES TABLEAU**

<b>Tableau 1 : Médiateurs inflammatoire</b>	<b>9</b>
<b>Tableau 2 : différence entre la COX-1 et COX-2</b>	<b>14</b>
<b>Tableau 3 : Sélectivité des inhibiteurs de COX</b>	<b>19</b>
<b>Tableau 4 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamique</b>	<b>22</b>
<b>Tableau 5 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïque</b>	<b>23</b>
<b>Tableau 6 : les principales classes des flavonoïdes</b>	<b>24</b>
<b>Tableau 7 : composition en acides aminées de la 3LN1</b>	<b>61</b>
<b>Tableau 8 : Résultats du docking en fonction de minime énergie et minime RMSD</b>	<b>65</b>
<b>Tableau 9 : types d'interactions des composés testés</b>	<b>67</b>
<b>Tableau 10 : les acides aminés impliqués dans l'interaction</b>	<b>72</b>

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Réaction inflammatoire	7
Figure 2 : Réparation des tissus	8
Figure 3 : Cascade de l'acide arachidonique	11
Figure 4 : Représentation du site actif de la COX-1	13
Figure 5 : Représentation du site actif de la COX-2	14
Figure 6 : Représentation 3D de la COX	15
Figure 7 : acide acétylsalicylique	17
Figure 8 : Acétylation du site des COX par l'aspirine	18
Figure 9 : Structure générale des COXIBS	19
Figure 10 : Exemple des Coxibs	20
Figure 11 : Structure du noyau phénol	22
Figure 12 : structure de base des flavonoïdes	23
Figure 13 : Structure générale de tanins hydrolysables	25
Figure 14 : Structure chimique de certains tanins condensés et leurs poids moléculaires	26
Figure 15 : Etapes de docking moléculaire	30
Figure 16 : Liaison d'hydrogène	33
Figure 17 : Interaction hydrophobe protéine-ligand	33
Figure 18 : Interaction de Van der waals	34
Figure 19 : Interaction électrostatique	35
Figure 20 : liaison de coordination ligand-ion métallique	35
Figure 21 : configuration des interactions aromatiques	36
Figure 22 : structure 3D du COX-2 complexé avec le célécoxib	42
Figure 23 : Séquence protéique brute en haut et après préparation en bas.	43
Figure 24 : la fonctionnalité connect and type	44
Figure 25 : Fixation du potentiel	44
Figure 26 : Site actif de la COX-2	45
Figure 27 : structure de l'acide acétylsalicylique	45
Figure 28 : structure du diclofénac	46
Figure 29 : structure du nimesulide	47
Figure 30 : structure de base des flavanoides	47
Figure 31 : structure de l'apigénine	48
Figure 32 : structure de chrysin	49
Figure 33 : structure du curcumine	50
Figure 34 : structure du galangin	51
Figure 35 : structure du gingérol	52
Figure 36 : structure de kaempferol	53
Figure 37 : structure du quercétine	54
Figure 38 : structure de resvératrol	55
Figure 39 : Préparation du ligand	56
Figure 40 : Base de données des composés à	56

<b>tester</b>	
<b>Figure 41 : fonctionnalité de docking</b>	<b>57</b>
<b>Figure 42 : visualisation des interactions</b>	<b>58</b>
<b>Figure 43 : les formes secondaires présent dans la 3LN1</b>	<b>60</b>
<b>Figure 44 : 3LN1 préparé par MOE</b>	<b>62</b>
<b>Figure 45 : Diagramme de Ramachandran de la 3LN1</b>	<b>63</b>
<b>Figure 46 : Types d'interactions entre la COX-2 et la célécoxib</b>	<b>65</b>
<b>Figure 47 : Les composés ayant les meilleures énergies d'affinités</b>	<b>66</b>
<b>Figure 48 : Les composé ayant meilleurs RMSD</b>	<b>67</b>
<b>Figure 49 : Amarrage du l'acide acétylsalicylique</b>	<b>68</b>
<b>Figure 50 : Amarrage du diclofenac</b>	<b>69</b>
<b>Figure 51 : Amarrage du diclofenac</b>	<b>69</b>
<b>Figure 52 : Amarrage de la nimesulide</b>	<b>69</b>
<b>Figure 53 : Amarrage de l'apigénine</b>	<b>69</b>
<b>Figure 54 : Amarrage de l'apigénine</b>	<b>69</b>
<b>Figure 55 : Amarrage de chryisine</b>	<b>70</b>
<b>Figure 56 : Amarrage de chryisine</b>	<b>70</b>
<b>Figure 57 : Amarrage de la curcumine</b>	<b>70</b>
<b>Figure 58 : Amarrage du galangin</b>	<b>71</b>
<b>Figure 59 : Amarrage du galangin</b>	<b>71</b>
<b>Figure 60 : Amarrage du gingerol</b>	<b>71</b>
<b>Figure 61 : Amarrage du gingerol</b>	<b>71</b>
<b>Figure 62 : amarrage de kaemférol</b>	<b>71</b>
<b>Figure 63 : amarrage de kaemférol</b>	<b>71</b>
<b>Figure 64 : amarrage de quercétine</b>	<b>72</b>
<b>Figure 65 : amarrage du resvératrol</b>	<b>72</b>
<b>Figure 66 : amarrage du resvératrol</b>	<b>72</b>

## **LISTE DES ABREVIATION**

AA : Acide Arachidonique.

AINS: Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.

COX: Cyclooxygénase.

DAMP: Damage Associated Molecular Patterns.

EGF: epidermal growth factor.

IC50: Inhibitory Concentration 50.

IL: Interleukine.

LT: Leucotriène.

MBD: Membrane Binding Domain.

MM : Mécanique Moléculaire.

MOE: Molecular Operating Environment

PAMP: Pathogen Associated Molecular Patterns.

PDB: Protein Data Bank.

PGE2: Prostaglandine E2.

PGG2: Prostaglandine G2

PGHS: Prostaglandin endoperoxide-H Synthase.

PN: Polynucléaires Neutrophiles

POX: Peroxydase.

R&D: Recherche & Développement.

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.

RMSD: Root Mean Square Deviation.

SMILE: Simplified Molecular Input Line Entry Specification.

TNF- $\alpha$ : Tumor Necrosis Factor alpha.

VDW: Van Der Waals.

## Introduction

L'inflammation est un processus physiologique complexe impliquant une cascade d'événements cellulaires et moléculaires visant à éliminer les agents nocifs et à réparer les tissus endommagés. Bien que l'inflammation soit un mécanisme de défense essentiel, une inflammation chronique non contrôlée peut entraîner des pathologies telles que l'arthrite, les maladies cardiovasculaires et le cancer (Fitz Gerald et al, 2004 ; Serhan et al. 2004 ; Bridoux, 2005 ; Beziere, 2015 ; MAUGEIN, 2015; Emeraux et al, 2019)

Les AINS regroupent les molécules inhibant la synthèse des prostanoïdes par une inhibition plus ou moins sélective de l'activité des cyclooxygénases. Il existe dans l'organisme deux types d'enzymes cyclooxygénases : COX-1 et COX-2.

La cyclooxygénase (COX) est une enzyme endogène qui catalyse la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines et thromboxanes .L'enzyme existe sous au moins deux isoformes, COX-1 et COX-2. Bien que les deux isoformes catalysent la même transformation biochimique, les deux isoformes sont soumises à une régulation d'expression différente (Vane et al, 1998 ; Chandrasekharan et al, 2002 ; Scheen, 2004; Bridoux, 2005; Kuwatani et al, 2006; Brogden et al, 2007 ; Beziere, 2015 ; Maugein, 2015 ; Emeraux et al, 2019)

La COX-1 est une enzyme constitutive et est responsable de l'apport de prostaglandines qui maintiennent l'intégrité de la muqueuse gastrique et assurent une homéostasie vasculaire adéquate, tandis que la COX-2 est une enzyme inductible et n'est exprimée qu'après un stimulus inflammatoire (Vane et al, 1998 ; Chandrasekharan et al, 2002 ; Scheen, 2004; Bridoux, 2005; Kuwatani et al, 2006; Brogden et al, 2007 ; Beziere, 2015 ; Maugein, 2015 ; Emeraux et al, 2019)

La fonction de la COX-2 est de synthétiser des prostaglandines pour l'induction de l'inflammation et de la douleur. Cette découverte a conduit au développement d'inhibiteurs sélectifs de la COX-2 qui constituent une classe de composés ayant une bonne activité anti-inflammatoire. (Vane et al, 1998 ; Chandrasekharan et al, 2002 ; Scheen, 2004; Bridoux, 2005; Kuwatani et al, 2006; Brogden et al, 2007)

L'utilisation des plantes comme moyen thérapeutique est apparu il y a des milliers d'années et celles-ci ont longtemps été l'une des principales sources de fabrication des remèdes. Cependant, l'intérêt des bienfaits des plantes sur la santé humaine n'a cessé de croître au cours du temps grâce notamment aux avancées scientifiques qui ont conduit progressivement à des technologies permettant d'objectiver les vertus des plantes médicinales (Baumann et al, 2000; Middleton et al, 2000; Bravo, 2011; D'Mello et al, 2011 ;Maugein, 2015 ; Emeraux et al, 2019)

Les flavonoïdes sont une sous-classe de polyphénols et constituent le plus grand groupe de composés phénoliques présents dans de nombreux fruits, légumes, herbes et épices, ainsi que dans le thé,. Ils se caractérisent par leur structure chimique particulière, qui comprend un noyau de flavane (ou de flavonol) et des groupes fonctionnels spécifiques. Ils interviennent dans la protection contre les agressions extérieures (stress oxydatif, rayons UV, herbivores), la

croissance, la reproduction et la pigmentation (Baumann et al, 2000; Middleton et al, 2000; Bravo, 2011; D’Mello et al, 2011 ;Maugein, 2015 ; Emeraux et al, 2019)

Au-delà de leur importance pour les plantes, les flavonoïdes suscitent un intérêt grandissant dans le domaine de la recherche pharmaceutique en raison de leurs propriétés biologiques potentiellement bénéfiques pour la santé humaine. De nombreuses études ont mis en lumière leurs effets antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreux, cardioprotecteurs et neuroprotecteurs. Ainsi, les flavonoïdes constituent une source de molécules d’origine naturelle avec un potentiel thérapeutique qui reste amplement à explorer. Leur mécanisme d'action sur la cyclooxygénase-2 (COX-2) est particulièrement intéressant dans le contexte de l'inflammation et des maladies inflammatoires (Baumann et al, 2000; Middleton et al, 2000; D’Mello et al, 2011 ;Maugein, 2015 ; Rayar, 2017 ; Emeraux et al, 2019)

Dans cette étude bibliographique, nous explorerons différents axes de recherche liés aux processeurs d'inflammation, en mettant l'accent sur plusieurs aspects clés. Premièrement, nous examinerons les enzymes COX1 et COX2, qui jouent un rôle central dans la cascade inflammatoire en catalysant la synthèse de prostaglandines. Une attention particulière sera portée à la COX2 sur le plan caractéristique structural et la composition du site actif.

Ensuite, nous aborderons les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), une classe de médicaments largement utilisée pour soulager l'inflammation et la douleur. Nous présenterons une classification des AINS ainsi qu'un aperçu de leurs mécanismes d’action.

Par la suite, nous explorerons les substances bioactives d'origine végétale possédant un potentiel anti-inflammatoire. Cette approche naturelle offre une alternative intéressante aux traitements conventionnels et suscite un intérêt croissant dans la recherche pharmaceutique.

Enfin, nous entrerons dans la partie pratique de notre étude, où nous utiliserons des techniques de docking moléculaire pour évaluer l'interaction entre certaines substances bioactives et la COX2. Cette approche nous permettra de mieux comprendre la capacité de ces composés à moduler l'activité de la COX2 et à potentiellement inhiber l'inflammation.

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHAPITRE 1 : REACTION INFLAMMATOIRE**



# 1 Réaction inflammatoire

Toute agression ou lésion tissulaire quelle que soit sa cause (infectieuse, physique, ou chimique) produit une réaction inflammatoire. Les tissus lésés et/ou les micro-organismes vont activer la réponse inflammatoire via des signaux de danger. (Zeghal et Sahnoun, 2013 ; Collège des Enseignants d'Immunologie, 2018)

La réaction inflammatoire correspond à un processus bénéfique dont le but est d'éliminer les agents pathogènes et de réparer les lésions tissulaires.

L'inflammation est initié par des médiateurs circulent dans le foyer lésé. Ces médiateurs sont responsables d'une série de modifications physiologiques traduit cliniquement par les signes cardinaux de l'inflammation : rougeur, chaleur, œdème, douleur. (Lacavé-Lapalun, 2013 ; Collège des Enseignants d'Immunologie, 2018)

## 1.1 Physiologie de l'inflammation

L'inflammation permet aux leucocytes et aux molécules plasmatiques d'accéder au foyer infectieux ou au site de la lésion tissulaire.

Ce processus fait intervenir nombreux médiateurs circulants issus des cellules immunitaires et des cellules tissulaires environnantes participent à l'initiation, la pérennisation puis la régulation de la réponse inflammatoire et de l'immunité innée. (Male et al, 2007 ; Collège des Enseignants d'Immunologie, 2018).

L'inflammation peut être divisée en trois grandes phases :

**Phase vasculaire :** immédiate, caractérisée par des modifications de la microcirculation locale. Consistant en une vasodilatation artériolaire, capillaire, veinulaire, prolongée. Provoquée par des médiateurs chimiques Puis une augmentation de la perméabilité vasculaire facilitant une extravasation de plasma détermine un œdème interstitiel. (Danowski, 1991 ; Weill et batteux, 2003)

**Phase cellulaire :** consécutive à la mobilisation de nombreuses cellules. Cette mobilisation cellulaire va permettre l'élimination des micro-organismes pathogène et des tissus lésés. Débute par un afflux de polynucléaires neutrophiles qui vont adhérer aux parois vasculaires en regard de la zone inflammatoire, puis traverser ces parois et migrer vers le foyer inflammatoire. Arrivés au contact de l'inflammation, ces globules blancs vont phagocyter les micro-organismes ou autres. Cette arrivée des polynucléaires est due à la libération des médiateurs chimiques de l'inflammation produits lors de la première. (Danowski, 1991 ; Weill et batteux, 2003)

**Phase de résolution et de cicatrisation :** la restauration des tissus induite par l'action des macrophages qui, ayant nettoyé le foyer inflammatoire, vont faire cesser l'action des

médiateurs chimiques de l'inflammation. Le tissu fibreux de remplacement sera la séquelle de la réaction inflammatoire (Danowski, 1991 ; Weili et batteux, 2003)

## **1.2 Mécanisme de l'inflammation**

### **1.2.1 Phase vasculo-exsudative :**

L'entrée de microorganisme ou/et la lésion tissulaire déclenchent la sécrétion des signaux de danger (microorganismes, produits de dégradation tissulaire, cytokines pro-inflammatoires...) vont activer les cellules résidentes des tissus, notamment les mastocytes et les macrophages. Ceux-ci vont sécréter des substances (histamine, Facteur de Nécrose Tumorale alpha (TNF $\alpha$ )...) qui vont activer les cellules endothéliales à exprimer des molécules d'adhérence, augmenter la perméabilité vasculaire et provoquer une vasodilatation. ( Collège des Enseignants d'Immunologie, 2018). La dilatation et l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins au cours de l'inflammation entraînent une augmentation du flux sanguin local et une fuite de liquide, et expliquent la chaleur, la rougeur et l'enflure.(Fig.1) (Janeway et al, 2001)

### **1.2.2 Phase du granulome inflammatoire :**

La libération de facteurs chimiotactiques et l'expression de molécules d'adhésion permettent le recrutement et la migration de différents types de cellules immunitaire au sein du foyer inflammatoire. (Chavant et al, 2020)

Les principaux facteurs chimio-attractants sont des dérivés des protéines bactériennes, des facteurs lipidiques, les anaphylatoxines issues du complément et enfin, des chimiokines. Les leucocytes accèdent au foyer infectieux par vague successive dont les neutrophiles sont les premières lignées arrivent au site d'inflammation suivi des phagocytes mononucléaires et les cellules T auxiliaires. Le phénomène d'adhérence des leucocytes avec l'épithélium ce fait sur 3 étapes : ralentissement, déclenchement, et fixation suivi de leurs migrations, le processus complet appelé diapédèse. (Fig.1)(Male et al, 2007 ; Collège des Enseignants d'Immunologie, 2018).

### **1.2.3 Phase de détersion :**

Au niveau des tissus infectés, les polynucléaires neutrophile (PN) peuvent éliminer de nombreux pathogènes par phagocytose. (Fig.1) Cette phagocytose peut être directe ou indirecte après polonisation par des anticorps et des protéines du complément. (Weili et batteux, 2003) Après l'ingestion les PN empruntent un des mécanismes majeurs conduisant à l'élimination de l'agent pathogène phagocyté ; la production d'anions superoxyde qui est la source pour d'autres formes réactives de l'oxygène (l'explosion oxydative).(Gougerot-Pocidalo et al, 2002).

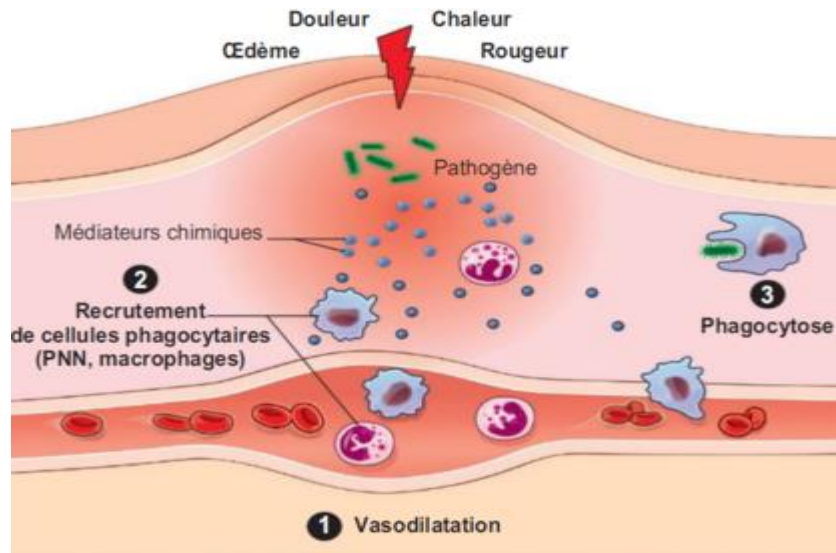


Figure 1 : Réaction inflammatoire<sup>1</sup>

### 1.2.4 Phase de cicatrisation :

Une fois l'agression maîtrisée, la réaction inflammatoire est arrêtée. Les macrophages vont sécréter des cytokines permettant la réparation du tissu par les fibroblastes (collagènes) et par les cellules endothéliales (néoangiogenèse). (Fig.2) Des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 vont progressivement remplacer les médiateurs inflammatoires et inhiber leur sécrétion et leur action. Une fois que les cellules immunitaires ne sont plus requises sur le site inflammatoire, elles vont quitter le tissu ou bien mourir, par perte de signaux de survie ou par apoptose. (Noack et Kolopp-Sarda, 2018)

<sup>1</sup><https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/item-185-reaction-inflammatoire-aspects-biologiques-et-cliniques-conduite-a-tenir-743279255>

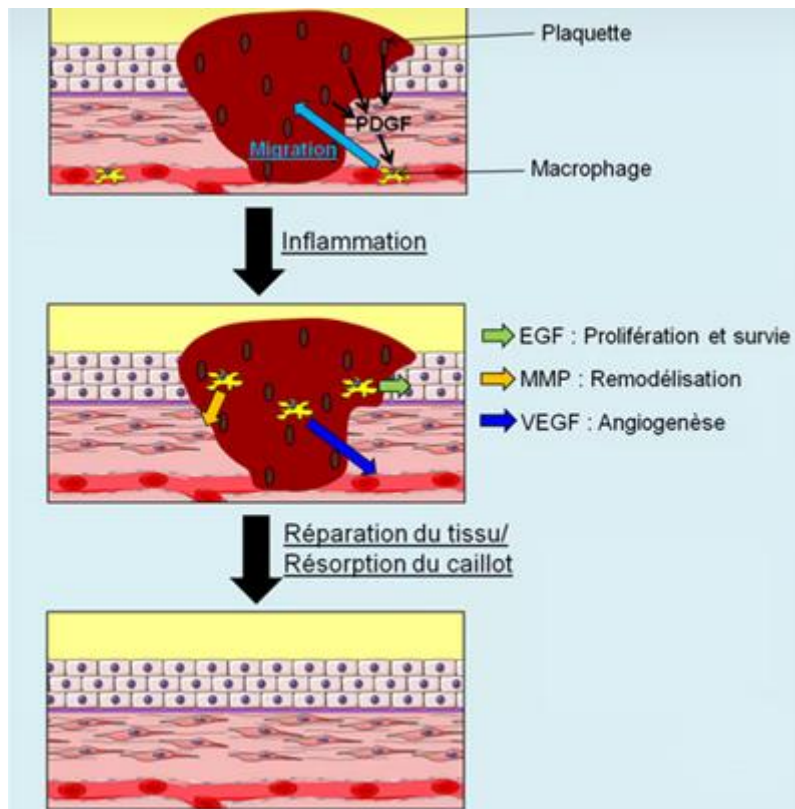


Figure 2 : Réparation des tissus<sup>2</sup>

### 1.3 Médiateurs inflammatoires :

La réaction inflammatoire est complexe et implique une multitude de médiateurs dont certains sont pro-inflammatoire et d'autres anti-inflammatoire. Les médiateurs de l'inflammation peuvent être classés en deux catégories :

- **Les médiateurs plasmatiques** sont libérés dans le sang et se propagent à travers les tissus. Ils comprennent les protéines du complément, les facteurs de la coagulation, les cytokines et les prostaglandines.
- **Les médiateurs cellulaires** sont libérés par les cellules immunitaires et les tissus endommagés. Ils comprennent l'histamine, la sérotonine, les leucotriènes, les prostaglandines et les cytokines.

Les principaux médiateurs de l'inflammation sont :

- **Les cytokines** : des protéines qui sont libérées par les cellules immunitaires. Elles jouent un rôle important dans la communication entre les cellules immunitaires. Les cytokines pro-inflammatoires stimulent l'inflammation, tandis que les cytokines anti-inflammatoires inhibent l'inflammation
- **Les prostaglandines** sont des lipides qui sont produits par les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Elles jouent un rôle dans la douleur, la fièvre et la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité capillaire.

<sup>2</sup><https://quizlet.com/fr-fr/fiches-de-memorisation/item-185-reaction-inflammatoire-aspects-biologiques-et-cliniques-conduite-a-tenir-743279255>

- **Les leucotriènes:** des lipides qui sont libérés par les mastocytes et les neutrophiles. Ils provoquent la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins et la migration des leucocytes. Ils jouent un rôle important dans la migration des leucocytes vers le site de l'inflammation.
- **L'histamine** est une amine qui est produite par les mastocytes et des basophiles. Les mastocytes activés par la reconnaissance de Motif moléculaire associé aux dégâts (DAMP) ou de Motif moléculaire associé aux pathogènes (PAMP) ou par les anaphylatoxines C3a et C5a, libèrent l'histamine stockée dans leurs granules dans le milieu extracellulaire. Elle joue un rôle important dans la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité capillaire. L'histamine augmente la perméabilité vasculaire et permet la contraction des muscles lisses localement. Elle agit aussi au niveau de système nerveux et provoque la sensation de douleur

Les médiateurs de l'inflammation peuvent être produits de manière endogène par les cellules de l'organisme, ou de manière exogène par des agents pathogènes ou des substances chimiques.

Les médiateurs de l'inflammation jouent un rôle important dans la réponse immunitaire de l'organisme contre les infections. Ils permettent de recruter les cellules immunitaires au site de l'inflammation, de détruire les agents pathogènes et de réparer les lésions tissulaires.

Cependant, les médiateurs de l'inflammation peuvent également être à l'origine de dommages tissulaires, notamment dans le cas de maladies inflammatoires chroniques. (Nathan, 2006 ; AbMedzhitov, 2010 ; Simon, 2022). Le tableau 1 énumère les principaux médiateurs pro-inflammatoires.

**Tableau 1 : Médiateurs inflammatoire (Roitt, 1990 ; Bensaid et al, 1993 ; Henrotin et al, 2001 ; Male et al, 2007 ; Manicone et McGuire, 2008 ; Zerneck et Weber, 2010 ; Collège des Enseignants d'Immunologie, 2018)**

classe	médiateur	Origine principale	Rôles
cytokine	IL-1	Macrophages, monocytes, fibroblastes, cellules épithéliales et endothéliales	-Induit l'expression de cyclooxygénase 2 et de l'oxyde nitrique synthase -Stimule l'expression de molécule d'adhésion par les cellules endothéliales. -Augmente la production des cytokines pro-inflammatoires. -Stimule la libération des chimiokine
	IL-6	Macrophages, cellules endothéliales	-Induit l'expression de diverses protéines responsables de l'inflammation. -Prolifération et la différenciation des cellules.

			-Provoque l'induction de protéines de la phase aiguë par les hépatocytes.
	TNF- $\alpha$	Macrophage, lymphocyte T	-Prolifération cellulaire -Augmente la production de prostaglandine E2, Oxyde nitrique, Platelet-Activating Factor. -Stimule la production de métalloprotéase
	IL-8	Mastocytes, cellules endothéliales, monocytes, lymphocytes	-Migration des polynucléaires neutrophiles et des monocytes
<b>Facteurs de coagulation</b>	-Facteur tissulaire, Facteur Xa, Thrombine	Cellules endothéliales, macrophages, plasma	-Augmentation de la perméabilité vasculaire. -Chimiotactisme des neutrophiles et des macrophages
<b>Médiateurs lipidique</b>	Prostanoïdes : Prostaglandines, Prostacycline, thromboxane A2	La voie de cyclooxygénase des mastocytes	-Nociception -Modulation de diamètre des vaisseaux entre constriction et dilatation. -Agrégation et anti-agrégation plaquettaire.
	Leucotriène : LTE4, LTB4	La voie de lipooxygénase des mastocytes	-Augmente la perméabilité vasculaire. -Possèdent des propriétés chimiotactique pour les éosinophiles et les neutrophiles. -Stimule les lymphocytes T à sécréter des cytokines.
	Platelet Activating Factor	Acétyl-transférase des basophiles, neutrophiles, macrophages.	-Stimule l'agrégation plaquettaire. -Augmente la perméabilité vasculaire. -Active les leucocytes.

## 2 La cyclooxygénase :

La cyclooxygénase (COX) (EC 1.14.99.1), également désignée la prostaglandine H-synthétase (PGHS) est un système enzymatique qui regroupe deux activités distinctes :

- Une activité dioxygénasique (COX), responsable de l'oxydation de l'acide arachidonique (AA), 20:4( $\Delta^{5,8,11,14}$ ) ou 20:4(n-6) en prostaglandine G2 (PGG2). La réaction de la cyclooxygénase commence par l'abstraction de l'hydrogène de l'arachidonate pour donner un

radical arachidonyle Ceci est suivi par des ajouts séquentiels d'oxygène en C-11 et C-15 pour donner du PGG<sub>2</sub>

- Une activité peroxydasique (POX) intervenant dans la réduction du 15-l'hydroperoxyde PGG<sub>2</sub> en dérivé hydroxylé PGH<sub>2</sub>.(figure. 3) (Nuhriche, 2015).

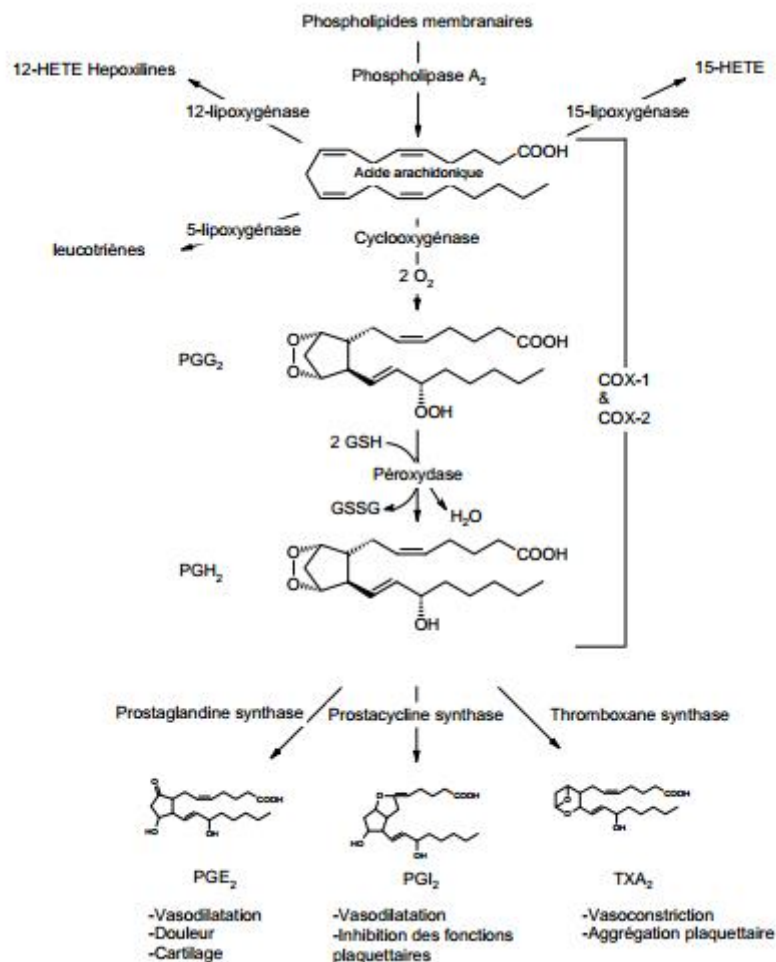


Figure 3 : Cascade de l'acide arachidonique <sup>3</sup>

## 2.1 Caractéristique et différence entre les iso-enzymes de la COX :

La COX existe sous deux isoformes: la COX-1 (forme «constitutive»), exprimée dans la plupart des tissus en tant qu'enzyme physiologique, (Wirth et al, 2006). Et la COX-2, inductible, apparaît rapidement en grande quantité dans diverses situations pathologiques, souvent inflammatoires, et dans de nombreux types de cellules. (Bakhle, 2001)

<sup>3</sup> [Arrault.A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma these de doctorat en modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Université d'orleans. France. 2007. 190p](#)

### 2.1.1 Isoformes de la cyclooxygénase

Les COX-1 et COX-2 ont une homologie de 60%. L'inhibition d'une COX par rapport à une autre peut se faire grâce à la présence de différences structurales entre les deux sites catalytiques de ces COX. Les structures tridimensionnelles des deux récepteurs enzymatiques ont été établies par radiocristallographie et sont connues depuis 1994 (COX-1) et 1996 (COX-2). Il existe une très grande analogie dans les séquences d'acides aminés des deux isoenzymes : les différences ne portent que sur quelques résidus seulement, 17 acides aminés de l'extrémité N-terminale de COX-1 sont absents chez la COX-2 et la COX-2 présente 18 acides aminés sur l'extrémité C-terminale qui ne se retrouvent pas dans la COX-1 (Gallois, 2001 ;Nuhriche, 2015)

Il existe deux principales isoformes de cyclooxygénase :(Nuhriche, 2015)

#### a) Isoforme COX-1 :

C'est l'isoforme constitutive, présente dans la plupart des tissus de l'organisme. Elle est impliquée dans la production de PGs à fonctions protectrices au niveau vasculaire (plaquettes sanguines, cellules endothéliales), au niveau de l'estomac et au niveau rénal.

La structure tridimensionnelle de la COX-1 a été établie au début des années 1990 par étude radiocristallographique (PICOT et al, 1994). Le domaine catalytique est constitué d'un long canal hydrophobe relativement étroit (dimensions :  $25 \times 8 \text{ \AA}$ )

Divers amino-acides participent au fonctionnement de l'enzyme, soit par effet électronique, soit par effet stérique :

- L'Arginine 120, située à l'entrée du site actif, possède une chaîne latérale porteuse d'une fonction guanidine, facilement protonable. La charge cationique joue un rôle clé dans l'ancrage du substrat naturel de l'enzyme (interaction électrostatique avec le groupement carboxylate de l'acide arachidonique).
- La Tyrosine 385, située à l'autre extrémité du site, participe à l'activité cyclooxygénase en provoquant l'arrachement stéréospécifique de l'atome d'hydrogène en position 13 de l'AA.
- La Sérine 530, au niveau de la partie centrale du site actif, intervient par sa chaîne latérale à fonction alcool. Ce résidu polaire impose une certaine courbure à la molécule d'AA, nécessaire à l'action de l'enzyme sur son substrat.
- L'Isoleucine 523 est responsable d'un effet stérique en raison de sa chaîne latérale isobutyle. Ce motif ramifié génère une zone d'étranglement dans la partie centrale du site catalytique de la COX-1. (Fig.4)(Nuhriche, 2015)



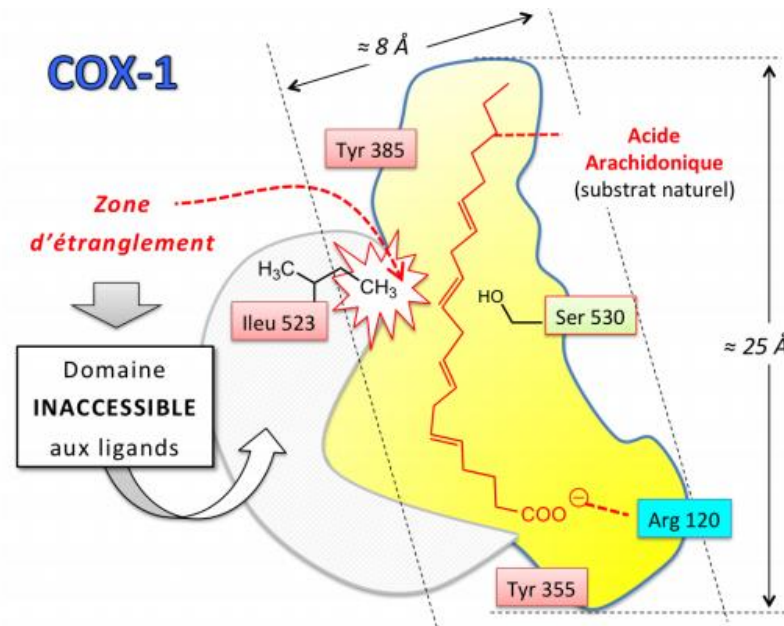


Figure 4 : Représentation du site actif de la COX-1<sup>4</sup>

### b) Isoforme COX-2 :

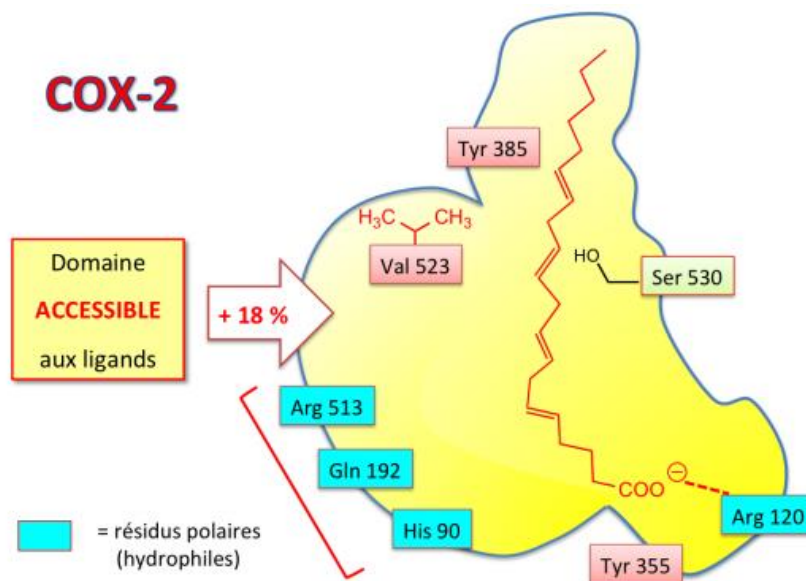
Elle est principalement induite lors des phénomènes inflammatoires. Toutefois, la COX-2 est aussi exprimée constitutivement par certains tissus tels que le rein et le cerveau.

La structure 3D de la COX-2, déterminée en 1996 par LUONG et coll., a permis de constater une grande similitude entre les deux isoformes : il existe environ 60 % d'homologie dans les séquences peptidiques.

Les amino-acides essentiels à la fixation du substrat (Arg120) ou à la réaction d'oxygénation (Tyr385) sont également retrouvés dans la COX-2. Toutefois, des remplacements ponctuels de certains résidus vont entraîner des modifications d'ordre stérique au niveau du site enzymatique :

- Le site actif COX-2 est dépourvu de l'isoleucine 523 et possède à la place une valine dont le groupement isopropyle est plus petit par rapport à l'isobutyle. La perte d'un groupe CH<sub>3</sub> permet de diminuer l'encombrement stérique : il se crée un passage vers une poche latérale qui devient alors accessible à des molécules relativement volumineuses. Cette poche latérale se distingue par certains résidus à caractère polaire : Arginine (Arg), Glutamine (Gln), Histidine (His) (Fig.5)(Nuhriche, 2015)

<sup>4</sup> Nuhrich.A, (2015). Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). UFR des sciences pharmaceutiques, université de Bordeaux



**Figure 5 : Représentation du site actif de la COX-2<sup>5</sup>**

La caractérisation structurale des COXs a montré qu'en dépit de leurs différences génétiques, elles possèdent les mêmes propriétés catalytiques vis-à-vis de son substrat. En revanche sur le plan pharmacologique, ce type de modification va permettre d'avoir une affinité différente pour les inhibiteurs de la COX et surtout un design efficace de nouvelles molécules plus sélectives de telle ou telle iso-enzyme. (Boukerche, 2013)

Le tableau suivant cite quelques différences autres que le site actif.

**Tableau 2 : différence entre la COX-1 et COX-2 (Chandrasekharan et Simmons, 2004 ; Boukerche, 2013)**

Caractéristiques	COX 1	COX 2
Découverte	1971	1991
Expression	Constitutive	inductive
Promoteur	Sans boîte TATA	Boîte TATA
Nombre d'acide aminé	576	604
Site actif	316Å	393Å
Homologie	60%	
Fonction	-Protection de la muqueuse gastrique -Equilibre de l'hémostase primaire -préservation de flux sanguin rénal	- Inflammation. - Accouchement et ovulation
Tissus	-System gastro-intestinale -Plaquettes sanguines -Rein	Constitutive : -Cerveau -Prostate -Rein Inductive : - Tous les tissus enflammés

<sup>5</sup> Nuhrich, A. (2015). Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). UFR des sciences pharmaceutiques, université de Bordeaux

## 2.2 Structure 3D de la COX-2

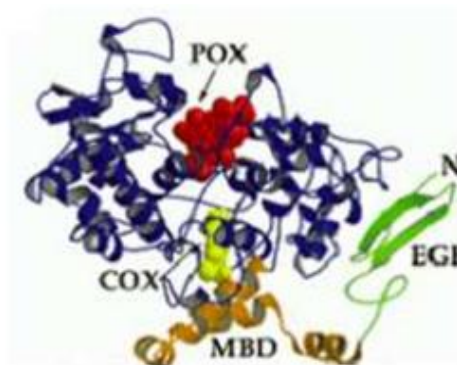
La COX 2, l'isoforme inductible est un polypeptide de 604 acides aminés et de poids moléculaire de 70KDa. Et se trouve dans la membrane de l'enveloppe nucléaire. (Hla et Neilson, 1992 ; Morita et al 1995). Cet enzyme organisée en homodimères et présentent trois sous-domaines.

- Un domaine N-terminal « Epidermal Growth Factor like »
- Un motif en hélice de liaison à la membrane
- Un domaine catalytique en C-terminal représentant environ 80% de la protéine (Kurumbail et al, 2001)

Un domaine EGF-like N-terminal, un domaine hélicoïdal de liaison à la membrane (MBD) composé de 4 hélices  $\alpha$  (A-D) situé près des couches lipidiques, et un très grand domaine globulaire à l'extrémité C-terminale Ce dernier domaine est le plus important puisqu'il contient les sites actifs COX et POX. Ces deux sites sont localisés sur des côtés opposés du domaine catalytique. Le domaine catalytique se présente sous la forme d'un long tunnel hydrophobe dont l'entrée se situe à proximité du domaine de liaison à la membrane. Un noyau hème présent dans un site voisin totalement indépendant du site de cyclooxygénation, est également indispensable à l'activité peroxydase. (Fig.6)(Smith et al, 1996 ; Vane et Botting, 1998; Blobaum et Marnett, 2007)

Il existe deux acides aminés essentiels à l'activité de cyclooxygénation sur l'acide arachidonique :

- 385Tyr : situé au sommet du canal, il initie la réaction enzymatique et sert de passerelle vers le site de peroxidation, il est le principal intervenant de la réaction d'oxydation.
- 120Arg : son groupement guanidine intervient dans une liaison électrostatique avec la fonction acide de l'AA (ou de certains inhibiteurs de type anti-inflammatoires non-stéroïdiens) en entrée de tunnel et assure la bonne position du ligand, cet acide aminé étant « le » plus important pour l'activité de COX et le docking des AINS. (Garavito et DeWitt, 1999)



**Figure 6 : Représentation 3D de la COX<sup>6</sup>**

<sup>6</sup> Rayar.A.M. In silico drug design et chimie médicinale: développement de nouvelles molécules coumariniques, sélectives de la cyclooxygénase-2. Thèse de doctorat en Médecine humaine et pathologie. Conservatoire national des arts et métiers. France. 2017. 378 p

### **3 Inhibition de l'inflammation :**

La thérapie anti-inflammatoire est destinée à contrôler l'excès de réaction aspécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique. Les inhibiteurs de l'inflammation appartiennent à des classes chimiques très variées et agissent de façon purement symptomatique puisque le cours de la maladie n'est pas arrêté en général. (Muster, 2005)

En raison que l'inflammation est causée par la libération de produits chimiques par les tissus et les cellules migrantes. La thérapie provient d'études portant sur des antagonistes compétitifs de leurs récepteurs et des inhibiteurs de leur synthèse. (Vane et Botting, 1987).

Les produits de la cascade de l'acide arachidonique sont considérés comme des médiateurs de la réponse inflammatoire et l'inhibition de leur biosynthèse peut être atteinte à différents niveaux par les médicaments anti-inflammatoires. (Ganström, 1984)

Parmi les médicaments anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires stéroïdiens ou glucocorticoïdes, les anti-inflammatoires non-stéroïdiens sélectifs et non sélectifs. (**Muster, 2005**)

#### **3.1 Les anti-inflammatoire non-stéroïdiens :**

Les anti-inflammatoire non-stéroïdiens (AINS) sont une classe médicamenteuse avec un effet antalgique, antipyrétique et antiagrégant plaquettaire. de structure non stéroïdienne capable d'atteindre une configuration planaire contenant un noyau aromatique. (Malaise, 1996 ; Muster, 2005 ; Pillon, 2014).

La majorité des AINS inhibent de manière non sélective la COX 1 et 2 en bloquant l'accès de l'acide arachidonique au site actif des cyclooxygénases (COX). (Inhibition compétitif). (Vane, 1971 ; Blain et al, 2000), ou ils disposent dans le site actif COX en passant d'abord à la base du MBD puis traversent un long tunnel hydrophobique pour atteindre l'intérieur du domaine catalytique où est localisé le site actif COX. (Rayar, 2017) La plupart des AINS inhibent de manière non sélective la COX-1 et la COX-2. (Wirth et al, 2006).

Les AINS sont classés selon la composition chimique en 4 familles : les acides carboxyliques, les acides énolique, les sulfoanilides et les non acides. (Malaise, 1996).

Les AINS ont 3 mécanismes d'inhibition :

- Inhibition irréversible par acétylation du site actif de la COX.
- Inhibition réversible rapide dont le complexe est rapidement dissociable.
- Inhibition réversible lente ou le complexe est lentement dissociable. (Nuhriche, 2015)

### 3.1.1 Sélectivité des inhibiteurs de la COX :

La sélectivité d'une molécule envers une COX est définie par le calcul du ratio de son IC50 sur COX-1 et de son IC50 sur COX-2, l'IC50 évaluant la concentration de la molécule nécessaire pour réduire de 50% la production de PGs (Kam et See, 2001)

La puissance d'un inhibiteur de COX-2 se caractérise par un fort ratio d'IC50<sub>(COX-1)</sub> / IC50<sub>(COX-2)</sub>, une activité anti-inflammatoire conséquente, très peu d'effets indésirables, et donc une meilleure tolérance.

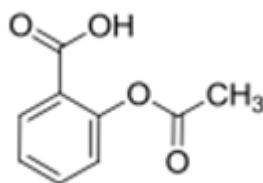
$IC50_{(COX-1)} / IC50_{(COX-2)} > 1 \Rightarrow$  inhibition préférentielle de COX-2

$IC50_{(COX-1)} / IC50_{(COX-2)} < 1 \Rightarrow$  inhibition préférentielle de COX-1

$IC50_{(COX-2)} / IC50_{(COX-1)} = 1 \Rightarrow$  inhibition non sélective. (Rayar, 2017)

#### a Les inhibiteurs non sélectifs

Ces AINS inhibent à la fois la COX-1 et la COX-2. L'aspirine, l'ibuprofène et le naproxène sont tous des inhibiteurs non sélectifs de la COX. En inhibant la COX-1, ces AINS peuvent augmenter le risque de saignements gastriques et de problèmes rénaux. L'aspirine qui inhibe irréversiblement les deux isoformes de COX par acétylation possède une activité antiagrégante plaquettaire engendré par l'inhibition sélective et irréversible de la COX-1 des plaquettes. Le thromboxane A2 synthétisé par la COX-1 n'était plus produit. (Fig.7) (Grandin, 2013)

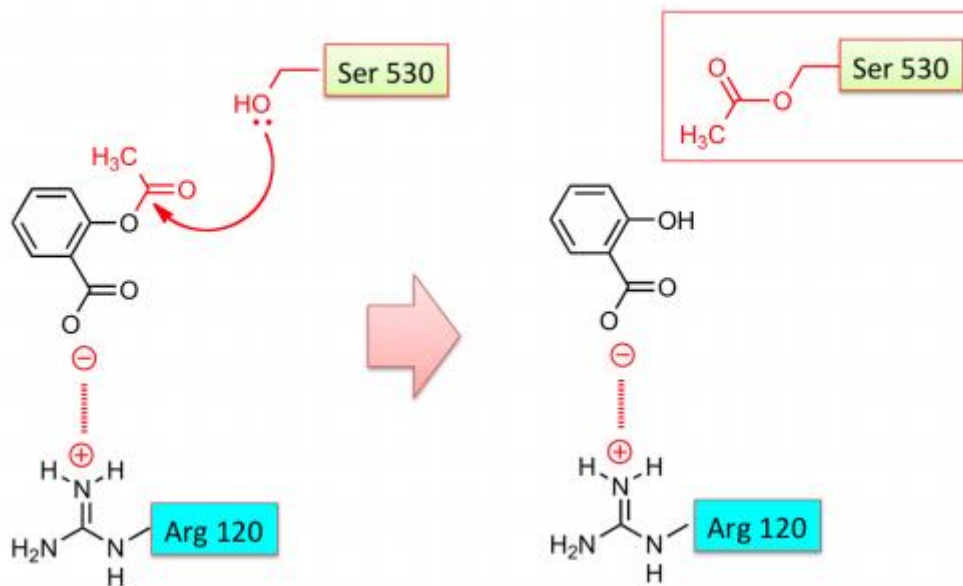


**Figure 7 : acide acétylsalicylique<sup>7</sup>**

L'aspirine se comporte comme un donneur de groupement acétyle à l'égard d'un résidu sérine (Ser 530) du site actif des deux isoformes. Le blocage de la Ser 530 par acétylation est un mécanisme irréversible. L'aspirine est un inhibiteur mixte (COX-1 et COX-2). Toutefois, son affinité pour la COX-1 est environ 100 fois supérieure à celle observée pour la COX-2. (Fig.8) (Nuhrich, 2015)

---

<sup>7</sup> Nuhrich.A, (2015). Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). UFR des sciences pharmaceutiques, université de Bordeaux.



**Figure 8 : Acétylation du site des COX par l'aspirine<sup>8</sup>**

D'autres molécules ont par la suite été développées: l'indométacine, l'ibuprofène ou le sulindac .Cependant, ces inhibiteurs non sélectifs provoquent des lésions gastriques et également des problèmes rénaux dus à l'inhibition de la production basale de PG relayée parla COX-1.(Riendeauet al, 2001)

### **b Les inhibiteurs sélectifs COX-2 :**

Les prostanoides produits par la COX-1 semblent jouer un rôle physiologique (protection de la muqueuse gastrique, agrégation plaquettaire, homéostasie vasculaire, maintien de l'équilibre hydrosodé) tandis que ceux produits par la COX-2 semblent intervenir principalement dans la réponse inflammatoire. (Blain et al, 2000)

Ces AINS inhibent principalement la COX-2. Le célécoxib est un exemple. Les inhibiteurs sélectifs de la COX-2 sont moins susceptibles de provoquer des saignements gastriques et des problèmes rénaux que les inhibiteurs non sélectifs de la COX. Cependant, ils peuvent augmenter le risque de crise cardiaque et d'accident vasculaire cérébral. (Mizuno et al, 1997; Penning et al, 1997 ; Nuhrich, 2015)

Des produits plus spécifiques comme le NS-398 ou encore le SC-58125 ont été développés. Comme le meloxicam, les tests cliniques montrent des effets secondaires réduits (Tableau.3) (Mizuno et al, 1997; Penning et al, 1997)

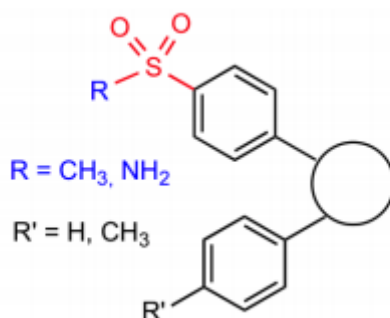
**Tableau 3 : Sélectivité des inhibiteurs de COX (Gallois, 2001)**

Type de drogue	IC50 COX-1 (µM)	IC50 COX-2 (µM)
<b>Inhibiteur non sélectifs (AINS)</b>		
Piroxicam	0.0005	0.3
Aspirine	1.67	278
Indométacine	0.028	1.68
Ibuprofène	3	3.5
<b>Inhibiteur sélectifs COX-2</b>		
Méloxicam	4.8	0.43
Nimesulide	9.2	0.52
SC58125	38.7	0.27
NS398	16.8	0.10
L-745, 337	369	1.5
Célécoxib	15	0.04

Les inhibiteurs sélectifs de la COX-2 ce sont des molécules généralement volumineuses qui bloquent de façon sélective la COX-2.comme par exemple les COXIBS

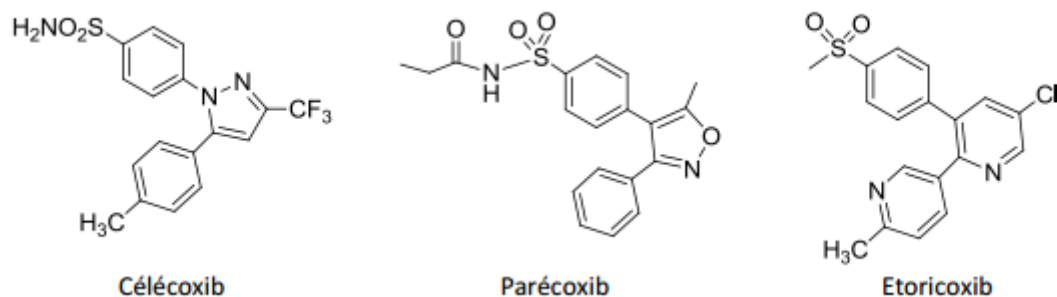
### Caractéristiques structurales des COXIBS :

Les « COXIBS » présentent une très haute sélectivité anti-COX-2 leur permet de réduire considérablement la toxicité gastro-intestinale comparativement aux AINS classiques : en épargnant la COX-1, les COXIBS préservent notamment la production de PGE2cytoprotectrice.(Fig.9) (Nuhriche, 2015)



**Figure 9 : Structure générale des COXIBS<sup>9</sup>**

<sup>9</sup>Nuhrich.A, (2015). Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). UFR des sciences pharmaceutiques, université de Bordeaux.



**Figure 10 : Exemple des Coxibs<sup>10</sup>**

La différence essentielle par rapport aux AINS classiques est l'absence de groupement acide carboxylique. Plusieurs paramètres structuraux doivent être réunis afin d'obtenir une sélectivité COX-2 :

- Motif cyclique central : Il s'agit d'un hétérocycle dont la taille optimale semble être un cycle à 5 sommets.
- Présence de 2 noyaux benzéniques vicinaux : La proximité des deux noyaux aromatiques implique un fort gêne stérique entre ces 2 groupements, incompatible avec la planéité de la molécule. Les cycles aromatiques sont sensiblement perpendiculaires, ce qui génère un important volume moléculaire. Ces composés sont bien adaptés à la taille importante du site actif COX-2 et ne peuvent pas accéder au site actif de la COX-1, plus petit.
- Présence d'un groupement sulfone : Le rôle du groupe SO<sub>2</sub> dans les interactions avec certains résidus polaires du site actif de la COX-2 (Nuhriche, 2015)

<sup>10</sup> Grandin.M. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, utilisation et conseils dans la pratique officinale quotidienne. Document étayé par une analyse d'ordonnances d'une pharmacie rurale. Thèse de doctorat en pharmacie. Université angers. France. 2013. 115 p.



**CHAPITRE 2 : ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES  
SUBSTANCE BIOACTIVE D'ORIGINE VEGETAL**

## 1 Substance phénolique :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig.11), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Boizote et Charpentier, 2006 ; Achat, 2013)

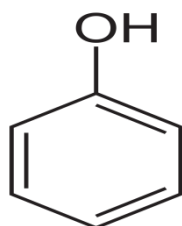


Figure 11 : Structure du noyau phénol <sup>11</sup>

### 1.1 Classification des Polyphénols :

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. de ce fait trois grandes classe sont distinguée : (Achat, 2013)

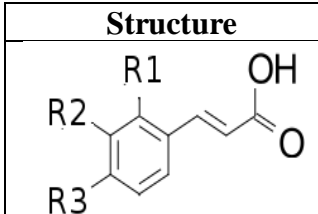
#### 1.1.1 les acides phénoliques :

Les acides phénoliques constituent la classe majeure des composés phénoliques. Ce sont les composés non flavonoïdes (ne possèdent pas de squelette flavone) et ils ont une origine commune qui est l'acide aminé aromatique ; la phénylalanine. On distingue deux sous classes des acides phénoliques : (Rejeb, 2008)

#### a L'acide hydroxycinnamique :

Ils possèdent une structure de base (C6-C3), dont dérivent également l'acide cinnamique .Ils sont généralement combinés à d'autres molécules de la plante comme les protéines, la cellulose, ou sous forme d'esters avec le glucose. (Rejeb, 2008). Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique les plus répandus sont illustrés dans le tableau 4

Tableau 4 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamique (Achat, 2013)

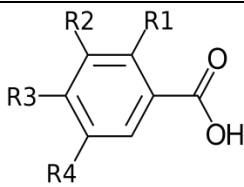
Structure	R1	R2	R3	Acide phénolique
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide férulique
	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide sinapique

<sup>11</sup> <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/8b/Phenol2.svg/640px-Phenol2.svg.png>

## b L'acide hydroxybenzoïque :

Se sont les dérivés de l'acide benzoïque (figure5). Ce groupe présente une structure commune pour tous ces dérivés en (C6-C1). Ces acides sont particulièrement bien représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes. La variation de formes de ces acides est due à l'hydroxylation et à la méthylation du cycle aromatique. Ces acides se trouvent généralement sous forme de glucoside. (Rejeb, 2008). Le tableau 5 énumère les principaux dérivés de l'acide hydroxybenzoïque :

**Tableau 5 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïque (Achat, 2013)**

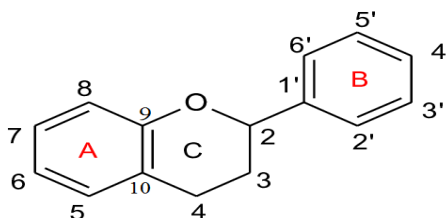
Structure	R1	R2	R3	R4	Acide phénolique
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique

### 1.1.2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ils sont surtout abondant dans certain familles des plantes telle que : polygonacées, rutacées, légumineuse, ombelliféracées. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires. Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, citons par exemple les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. (Benzahi, 2001 ; Marfak, 2003 ; Ghedira, 2005)

#### Structure chimique :

Les flavonoïdes rassemblent une très large gamme de composés formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones ayant une structure commune en C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane. (Fig.12) (Ngene et al, 2015)



**Figure 12 : structure de base des flavonoïdes <sup>12</sup>**

<sup>12</sup> Miramont.C. Appréciation des tanins, de la couleur et de l'astringence des raisins, moûts et vins par technologies analytiques IRTF et UV-visible couplées à l'analyse de régression multivariée. Thèse de doctorat en œnologie. Université de bordeaux, France. 2021. 281p.

## Classification des flavonoïdes :

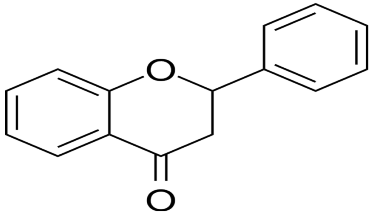
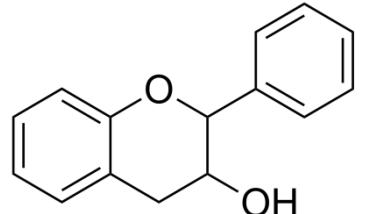
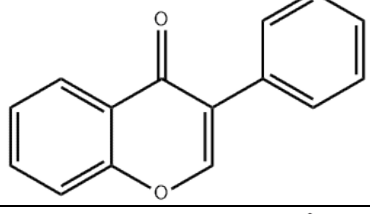
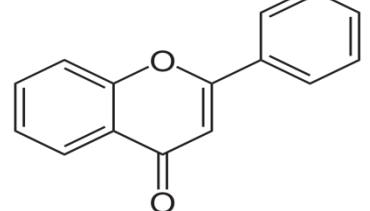
Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, et les flavanones. Les variations de structure de composés se fait par rapport à leur structure moléculaire. Elle se fait en fonction de :

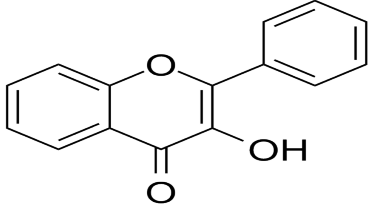
- La position de la liaison entre les cycles B et C ;
- Le degré de saturation du cycle C ;
- Le degré d'oxydation et d'hydroxylation de l'hétérocycle central C.

(Achat, 2013)

Les principales classes des flavonoïdes sont représentées dans le tableau 6

**Tableau 6 : les principales classes des flavonoïdes (Narayana et al, 2001)**

Classe	Structure	3	5	7	2'	3'	4'	5'	exemple
Flavanones		H	OH	OH	H	OH	OH	H	Naringinine
		H	OH	OH	H	OH	OH	H	Eriodictyol
Flavan-3-ols		OH	OH	OH	H	OH	OH	H	Catéchine
Isoflavones		/	OH	OH	H	H	OH	H	Génistéine
Flavones		H	OH	OH	H	H	OH	H	Apigénine
		H	OH	OH	H	H	H	H	Baicaléine

Flavonols		OH	OH	OH	H	OH	OH	OH	Myricétine
-----------	---	----	----	----	---	----	----	----	------------

### 1.1.3 Les tannins :

Les tanins sont des substances naturelles polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, ayant en commun la propriété de précipiter les protéines. Ils forment une vaste famille de molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés. Du point de vue de la composition chimique, on distingue deux catégories de tanins. (Rira, 2019)

#### les tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont constitués de molécules phénoliques simples. Ce sont des esters d'acide gallique et de ses dimères et de monosaccharides, le plus souvent le glucose. (Fig.13). Comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes (tannase) (Rira, 2019)

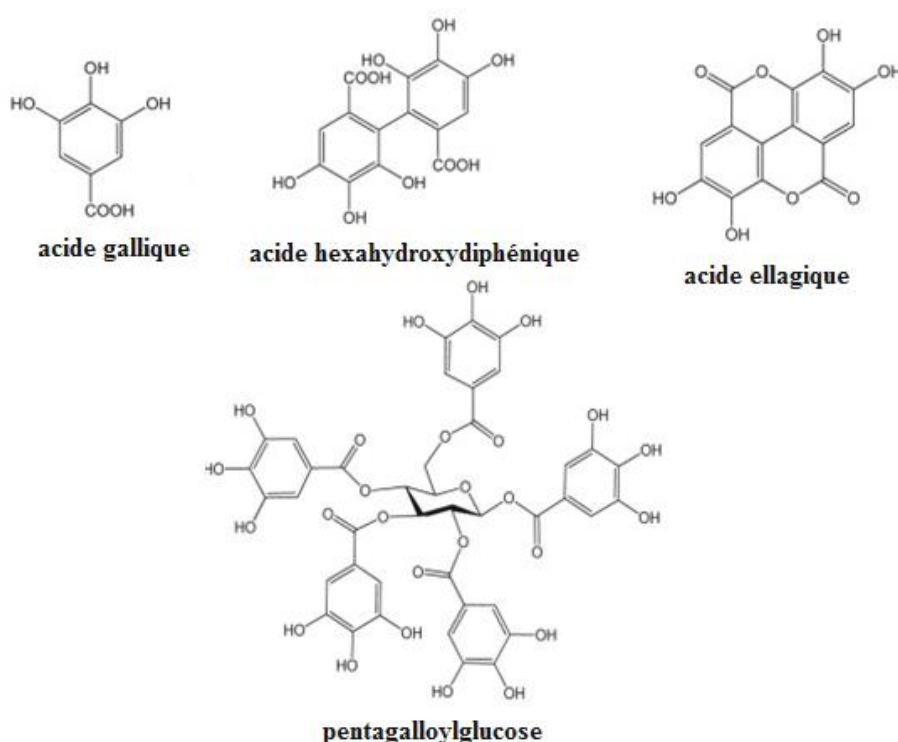
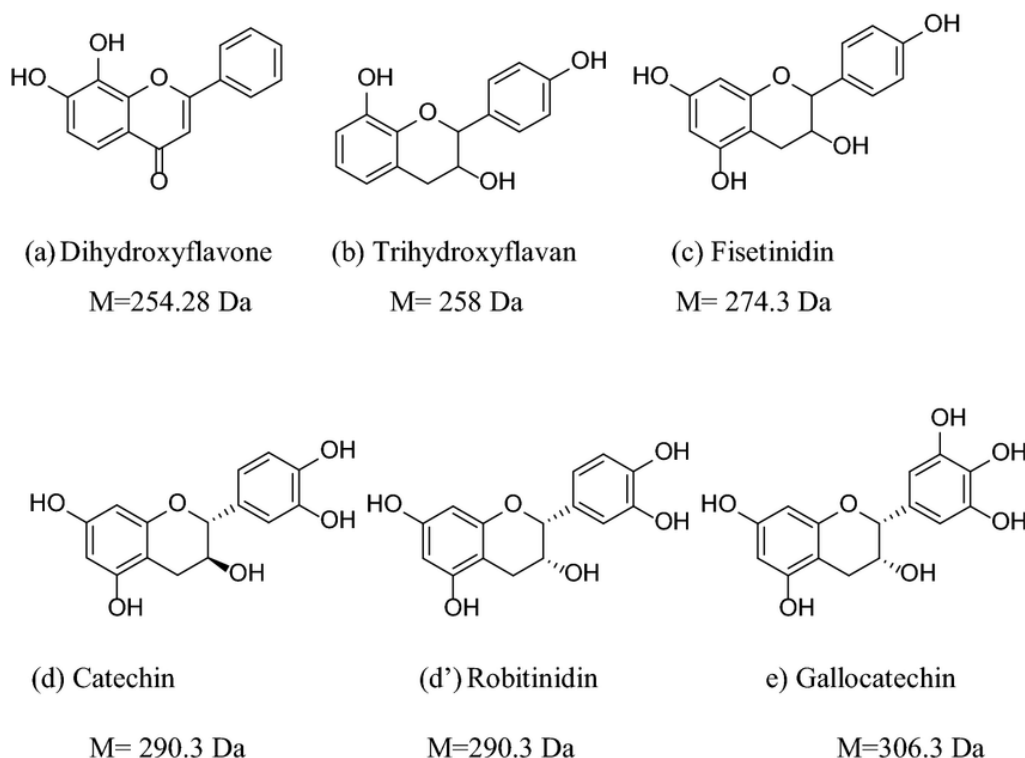


Figure 13 : Structure générale de tanins hydrolysables <sup>13</sup>

<sup>13</sup> <https://ars.els-cdn.com/content/image/3-s2.0-B9780128039618500063-f06-01-9780128039618.jpg>

## les tanins condensés :

Les tanins condensés sont des composés non hydrolysables ayant un poids moléculaire plus élevé, issus de la polymérisation d'unités flavan-3-ols en dimères, oligomères (2-10 monomères) et polymères (>10 monomères), qui sont hydroxylés en position 3. Cette condensation leur confère une structure voisine à celle des flavonoïdes. La variation structurale des tanins condensés est due aux différentes unités, aux positions, orientations et types des liaisons inter-flavonoïdes. (Fig.14) (Rira, 2019)



**Figure 14 : Structure chimique de certains tanins condensés et leurs poids moléculaires**

14

## 1.2 Activité anti-inflammatoire des composés phénoliques :

Les flavonoïdes constituent la principale catégorie de composés d'origine végétale présentant une activité inhibitrice sur la COX et certains d'entre eux sont des inhibiteurs spécifiques de la COX-2. (Vaya et al, 2010).

L'activité inhibitrice sur la COX-2 de flavonoïdes, appartenant à la catégorie des flavanones, flavones, flavonols ou isoflavones et dont la structure comporte des fonctions hydroxyles. Ces flavonoïdes se lient avec les acides aminés du site actif de la COX-2, via des interactions ioniques, et de manière comparable aux inhibiteurs synthétiques de cette enzyme. (Gueye, 2013)

<sup>14</sup><https://www.researchgate.net/publication/341662428/figure/fig3/AS:960042404675597@1605903354405/Chemical-structure-of-some-condensed-tannins.png>

L'étude des relations structure-activité indique qu'une double liaison C-2=C-3 et une fonction carbonyle à la position 4 des flavonoïdes sont des éléments structuraux très favorables à leurs activités inhibitrices sur la COX-2 et sur la production de PGE2. (Gueye, 2013).

Cependant, les flavanones, sans la double liaison C-2=C-3, se sont révélées plus actives que les flavonols sur la production de PGE2 (Takano-Ishikawa et al, 2006)

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. A faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement. Plusieurs études démontrent que ces composés posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire. L'héspéridine, administrée par voie sous-cutanée, présente une activité anti-inflammatoire significative chez le rat dans l'œdème (Galati et al, 1994 ; Ghedira, 2005)

Les flavonoïdes peuvent supprimer l'activité de transcription de la COX-2 par l'inhibition de la phosphorylation de signal de voies de transduction. Structuellement, le nombre de groupes hydroxyle sur le cycle B peut être liée à la conformation moléculaire qui influe sur les interactions entre les flavonoïdes et les enzymes telles que la tyrosine kinase et de la protéine kinase C qui sont impliquées dans l'activité de transcription de la COX-2. (Milane 2004 ; Kim et al, 2004 ; Athamena, 2009)

## **CHAPITRE 3 : DOCKING MOLECULAIRE**



Les méthodes de modélisation in silico ont été développées pour diminuer le coût et le temps considérable nécessaires au processus de recherche de développement (R&D) d'un nouveau médicament, et d'éliminer, par le biais de filtres, les molécules inactives, toxiques, ou présentant des effets indésirables. Les progrès réalisés dans le domaine de la cristallographie aux rayons X et de la résonance magnétique nucléaire (RMN) ont permis la résolution tridimensionnelle de nombreuses structures de protéines. Ces méthodes expérimentales ont toutefois chacune leurs limitations en termes d'interaction entre les molécules. Le docking est une approche informatique représentant une alternative complémentaire à ces méthodes expérimentales. (Mahdjoub, 2010 ; Rayar, 2017 ; Chevrollier, 2019)

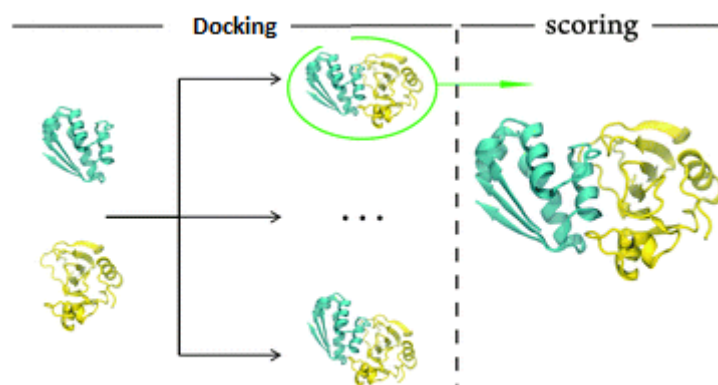
## **1 Docking moléculaire :**

Le docking moléculaire connu aussi sous le nom « amarrage moléculaire » fait partie des méthodes de modélisation. Cette technique utilise les mêmes principes que les autres méthodes de modélisation, sauf qu'elle a la particularité de combiner deux molécules ou plus en même temps. Cette propriété fait du docking l'une des plus importantes méthodes de modélisation moléculaire. Le rôle principal de cette technique est étudié puis prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure de récepteur (protéine). (Bouchagra, 2018)

### **1.1 Principe de docking :**

Le docking est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'un ligand vers une protéine lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable de manière à minimiser l'énergie libre du système global. Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring. (Fig.11)

- 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'interactions les plus favorables.
- 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. (Schulz-Gasch et Stahl, 2004 ; Akli et al, 2022)



**Figure 15 : Etapes de docking moléculaire<sup>15</sup>**

## 1.2 Type de docking :

Les méthodes de docking peuvent être classées en trois catégories selon la prise en compte de la flexibilité du ligand et de la protéine.

### 1.2.1 Docking rigide

Au cours du docking rigide, la protéine et le ligand sont tous deux traités comme entièrement rigides. Ainsi, seuls les degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand relativement au récepteur sont explorés. Cette simplification s'apparente à considérer un modèle de liaison de type " clé- serrure " où ni le ligand ni le récepteur ne subissent de réarrangements conformation suite à leur interaction.(Akli et al, 2022)

### 1.2.2 Docking semi-flexible

Dans le docking semi-flexible, le ligand est flexible et la protéine est rigide, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand s'ajoute aux explorations translationnelles et rotationnelles. Ce type de docking repose sur l'hypothèse que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand. (Akli et al, 2022)

### 1.2.3 Docking flexible

Le docking flexible considère à la fois la flexibilité du ligand et du récepteur. Les degrés de liberté conformationnels de ce dernier peuvent être limités à certaines chaînes latérales ou bien considérés également des mouvements plus larges impliquant par exemple les différents arrangements possibles entre domaines d'une protéine. Ce type de docking représente une approche plus réaliste en considérant des modèles de liaison du ligand au récepteur de type ajustement induit et/ou la sélection conformationnelle. En revanche, l'exploration de l'ensemble des degrés de liberté du ligand et du récepteur implique des difficultés importantes liées au temps de calculs nécessaires pour exploiter le docking flexible efficacement. Les approches de docking semi-flexible ou flexible sont plus généralement appliquées à la modélisation d'interaction entre protéines et ligand. (Akli et al, 2022)

<sup>15</sup><https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/cp/c4cp04688a>

## **1.3 Etapes de docking :**

### **1.3.1 Etape de docking :**

Etape d'exploration de l'espace des configurations pour générer et évaluer un grand nombre de liaisons potentielles. Il existe trois méthodes d'exploration conformationnelle : systématique, stochastique et déterministe. Les résultats du docking consistent en différentes poses du ligand dans le site d'interaction, ces poses correspondant à plusieurs conformations favorables que le ligand peut adopter. (Bessadok, 2011)

### **1.3.2 Etape de scoring :**

Scoring permettent d'évaluer l'énergie de liaison du complexe formé 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. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant : (Arrault, 2007 ; Bessadok, 2011)

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} + \Delta G_{\text{Protéine}}$$

Les fonctions de score sont basées sur le modèle qui inclue toutes les propriétés physico-chimiques de l'interaction protéine-ligand et les convertit en termes calculables pour trouver la constante d'affinité du complexe protéine-ligand. Elles doivent classer les différentes configurations ou ligands les uns par rapport aux autres. Elles doivent, aussi, nous donner un aperçu du mode de fixation du ligand au récepteur. (Chikhi, 2007)

Les fonctions de scoring peuvent être classées dans trois grandes catégories : les fonctions empiriques et les fonctions basées sur la connaissance («knowledge-based»), fonctions de score basées sur les champs de force. (Rayar, 2017)

#### **Les fonctions de scoring empiriques :**

Les fonctions de score empiriques estiment l'affinité de liaison  $\Delta G$  entre un couple protéine-ligand sur la base d'un ensemble de descripteurs énergétiques  $\Delta G_i$ , chacun étant pondérés par un coefficient  $W_i$  :

$$\Delta G = \sum W_i \times \Delta G_i$$

Les descripteurs regroupent les liaisons hydrogène, les interactions ioniques, la surface de contact ligand-protéine et les contributions entropiques. Les coefficients associés à chacun des termes énergétiques sont déterminés par des analyses de régressions linéaires. Ces fonctions de score empiriques estiment donc une affinité de liaison à partir d'un formalisme bien simple et plus rapides en raison de la faible complexité des termes (descripteur) à évaluer. (Chikhi, 2007 ; Chevrollier, 2019)

#### **Les fonctions basées sur la connaissance :**

Ou « knowledge-based » ont pour but de reproduire les données expérimentales en utilisant des structures de complexes ligand- protéine. Des analyses statistiques permettent de déterminer la fréquence et la distribution des paires d'atomes entre le ligand et la protéine et ainsi de définir des potentiels d'interaction. Ces fonctions sont simples et rapides en temps de calcul. Cependant, leurs inconvénients, par rapport aux méthodes empiriques, sont leur dépendance sur la qualité et la variété des données expérimentales. (Rayar, 2017)

### **Les fonctions de score basées sur les champs de force :**

En mécanique moléculaire (MM), un champ de force correspond à un ensemble de paramètres et de fonctions permettant de définir un système et de décrire son paysage d'énergie potentielle. Les paramètres inclus classiquement la masse des atomes, leur charge, leur rayon de van der Waals ainsi que différentes valeurs de référence correspondant à des longueurs de liaisons inter-atomiques et d'angles plans et dièdres

En règle générale, les fonctions de score basées sur les champs de force simplifient l'équation  $E_{MM}$  et se concentrent uniquement sur les interactions de Van der Waals et électrostatiques (Rayar, 2017 ;Chevrollier, 2019)

$$\Delta G = E_{vdw} + E_{elec}$$

### **1.4 Type d'interaction :**

Le fonctionnement des systèmes biologiques est basé sur de remarquables mécanismes d'assemblage et de reconnaissance impliquant des interactions moléculaires non-covalentes de faible énergie. L'interaction spécifique s'établit de façon souvent réversible avec d'autres partenaires de choix. Le problème qui se pose pendant l'ancrage du ligand au sein de la protéine (docking) est la prédiction de la conformation et l'orientation du ligand relative au site actif de la protéine cible. À chaque protéine cible de structure connue le docking se révèle être la clé dans le design de nouveaux médicaments. De nombreux type d'interaction non covalente, ont été mis en évidence dans les complexes protéine- ligand.(Bouchagra, 2018)

#### **1.4.1Liaison hydrogène :**

La liaison hydrogène est une liaison chimique non covalente de type dipôle-dipôle entre deux molécules ou entre deux groupements d'une molécule. Elle consiste essentiellement dans l'interaction entre deux molécules dont l'une possède un atome donneur d'électrons (O, N, F) et l'autre possède un atome H accepteur d'électrons (OH, NH<sub>2</sub>). Ce type de liaison résulte d'un transfert partiel d'un électron célibataire sur le groupement H. Elle agit, dans les systèmes biologiques, à très courte distance (0,9 à 2,8 Å). Cette liaison jouent un rôle crucial dans le repliement protéique, les changements conformationnelle et la reconnaissance protéine/ ligand, elles affectent les propriétés physico- chimiques des molécules notamment la perméabilité membranaire et la solubilité qui sont des éléments importants pour le développement d'un nouveau médicament. Cette liaison est illustrée ci-dessous(Fig.12) (Lalout, 2016 ; Bouchagra, 2018 ; Akli et al, 2022)

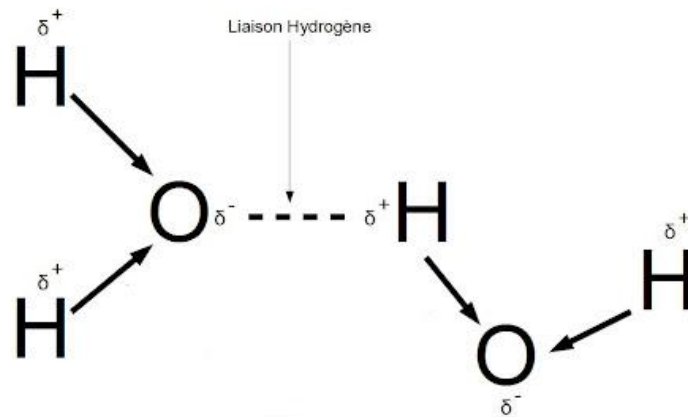


Figure 16 : Liaison d'hydrogène <sup>16</sup>

### 1.4.2 Liaison hydrophobe :

Les acides aminés dont le radical est hydrophobe et apolaire ont la capacité d'empêcher la formation des liaisons hydrogène entre les molécules d'eau. Ils forment des zones hydrophobes où les molécules d'eau ne peuvent former aucune liaison avec les radicaux d'acides aminés et les molécules d'eau se réorganisent alors autour des substances hydrophobes. Pour cette raison, les régions non polaires sont souvent enfouies à l'intérieur des molécules. Cet effet a d'importantes répercussions sur la conformation et la stabilité des molécules. Elle est à l'origine du processus de repliement des protéines par exemple, ou encore de l'auto- assemblage de biomolécules. Les liaisons hydrophobes possèdent une énergie de l'ordre de 7 kcal/mol.(Fig.13)(Renver, 2010 ; Akli et al, 2022)

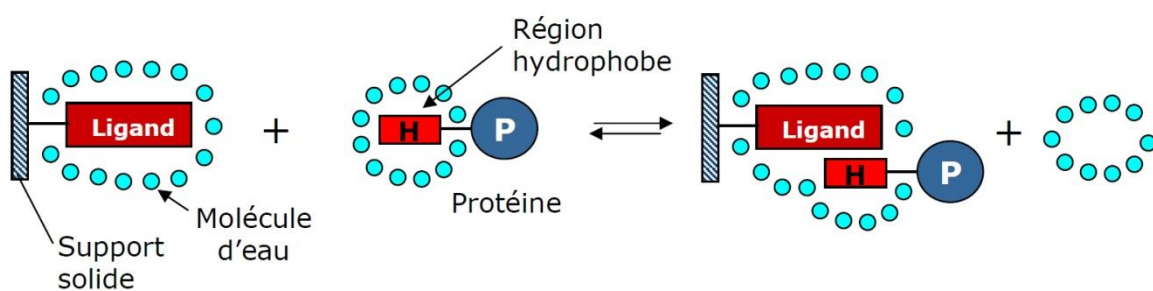


Figure 17 : Interaction hydrophobe protéine-ligand <sup>17</sup>

<sup>16</sup><http://tpe.effet.lotus.free.fr/dossiers/liaisons-h.html>

<sup>17</sup>[https://blog\\_fr.interchim.com/analyse-purification-proteines-hic-separation-molecules-hydrophobicite/](https://blog_fr.interchim.com/analyse-purification-proteines-hic-separation-molecules-hydrophobicite/)

### 1.4.3 Interactions de Van der Waals :

Également nommées interactions de London ou forces de dispersion. Elles résultent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive pour des distances de 3 à 4 Å, et sont très importantes en pratique à cause de leur très grand nombre, les interactions de vdw sont essentiellement responsables de la complémentarité stérique lors d'un phénomène de liaison (Fig.14) (Akli et al, 2022).

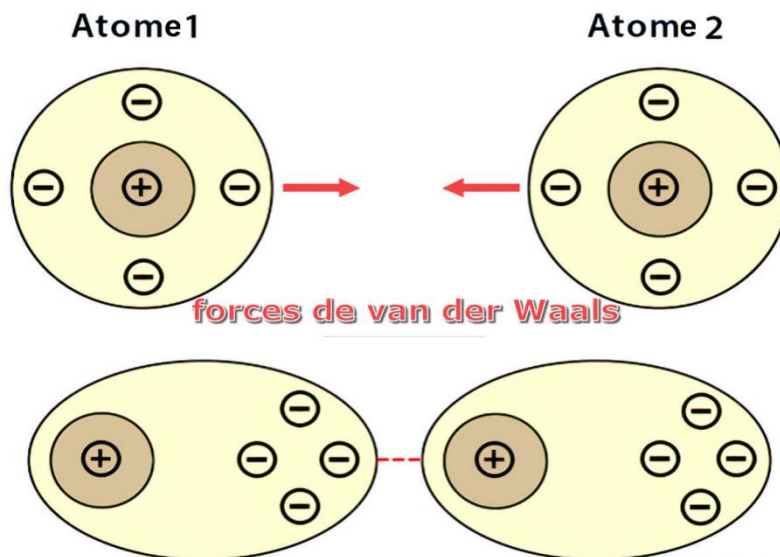


Figure 18 : Intérction de Van der waals<sup>18</sup>

### 1.4.4 Interaction électrostatique :

Ces interactions résultent d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes de charges opposées. Dans le cadre d'une interaction entre deux charges, l'énergie associée à cette interaction est inversement proportionnelle à la distance qui les sépare. par conséquent, l'énergie décroît lentement lorsque la distance augmente, impliquant une composante énergétique favorable même à longue distance et par conséquent une reconnaissance protéine-ligand renforcée dans des gammes de distance plus loin. (Fig.15) Cette distance peut atteindre 10Å l'énergie électrostatique est calculée selon le terme de Coulomb

$$F = K \frac{|q_1 q_2|}{r^2}$$

Les interactions électrostatiques sont des interactions fortes pouvant aller de 40 à 500 Kj/mol. (Desaphy, 2013)

<sup>18</sup><https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/10287/force-de-van-der-waals>

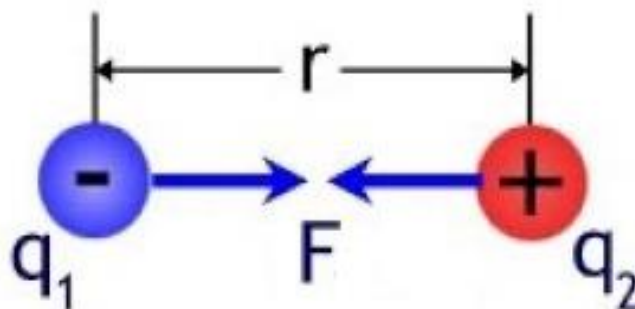


Figure 19 : Interaction électrostatique <sup>19</sup>

#### 1.4.5 Interaction métal-ligand :

Les groupements chimiques possédant un doublet d'électrons non appariés peuvent former une liaison de coordination avec un cation métallique, dès lors qu'un site de coordination est libre au niveau de cet ion. Les métaux sont souvent présents dans les sites de liaison des protéines et peuvent jouer un rôle crucial dans le processus catalytique. Les principaux ions métalliques rencontrés sont le zinc, fer, le calcium, le magnésium, le cuivre et le manganèse. Les métaux peuvent coordonner un nombre variable d'atome de ligand. L'atome zinc par exemple se coordonne avec un nombre d'atomes assez variés allant de moins de 4 jusqu'à 6 atomes. (Fig.16) Ce nombre variable de coordination dépend alors de l'encombrement autour du métal et du rayon de van der Waals de ce dernier. La distance d'une liaison de coordination est dépendante des groupements chimiques impliqués, et notamment du métal. En pratique, une distance empirique maximale variant de 2,6 Å à 2,8 Å. (Hoffer, 2013 ; Desaphy, 2013)

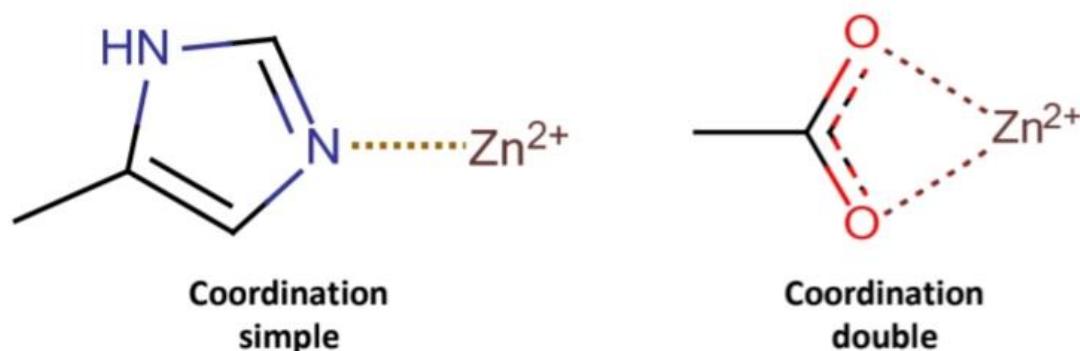


Figure 20 : liaison de coordination ligand-ion métallique <sup>20</sup>

<sup>19</sup> [https://fr.wikipedia.org/wiki/Loi\\_de\\_Coulomb\\_%28%C3%A9lectrostatique%29](https://fr.wikipedia.org/wiki/Loi_de_Coulomb_%28%C3%A9lectrostatique%29)

<sup>20</sup> Hoffer.L Développement et validation du logiciel S4MPLE: application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design. Thèse de doctorat en chimoinformatique. Université de Strasbourg, France. 2013. 165p.

### 1.4.6 Interaction aromatique impliquent des systèmes $\pi$ :

Ces interactions impliquent les cycles aromatiques sont très souvent présents dans les macromolécules biologiques et dans les ligands organiques. Il existe différents types de positionnement entre deux cycles aromatiques (Fig.17) :

- La forme en T où un cycle se positionne perpendiculairement au plan et dans l'axe du centre du second.
- La position parallèle où les deux cycles sont coplanaires.
- Le parallèle déplacé, équivalent au parallèle mais avec un décalage de l'un des deux cycles.
- le chevron où les plans des deux cycles ne sont ni parallèles ni perpendiculaires.

L'orientation choisie par deux cycles aromatiques est dépendante du contexte structural du ligand comme de la protéine, impliquant un effet conformationnel des deux parties et de leurs substituant.(Hoffer, 2013 ; Desaphy, 2013)

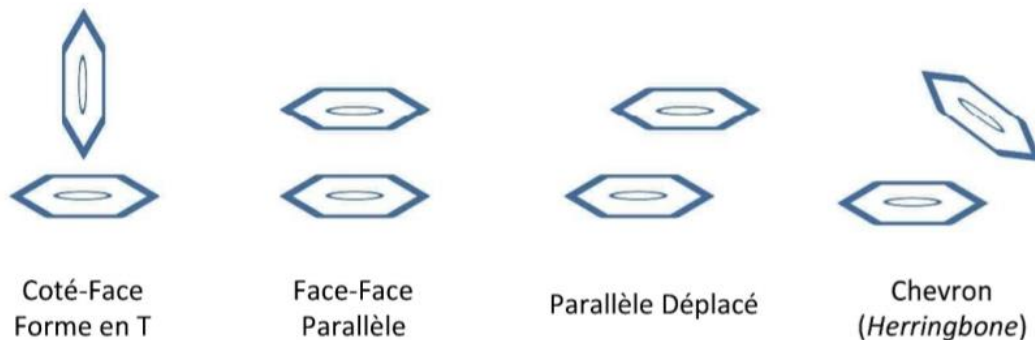


Figure 21 : configuration des interactions aromatiques<sup>21</sup>

### 1.5 Energie libre de liaison :

La stabilité de liaison est déterminée par l'amplitude du  $\Delta G$ . L'association protéine-ligand a lieu quand la variation d'énergie libre ( $\Delta G$ ) du système soit négative lorsqu'il atteint l'état d'équilibre à pression et température constante.

Le calcul de l'énergie libre repose généralement sur l'estimation des différences de l'énergie libre relative entre deux états.

On calcule l'énergie libre de connexion finale en utilisant les formules suivantes:

$$\Delta G = \Delta G_0 + RT \ln K_a$$

Les conformations du complexe sont ordonnées selon leurs énergies libres ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) croissantes par la fonction de score formulées à partir de l'équation suivante :

<sup>21</sup> Desaphy.J. L'analyse structurale de complexes protéine/ligand et ses applications en chémogénomique. Thèse de doctorat en chémoinformatique. Université de Strasbourg, France. 2013. 198p.



$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta G_{\text{VDW}} + \Delta G_{\text{Hydrophobique}} + \Delta G_{\text{Liaison hydrogène}} + \Delta G_{\text{Déformation}} + \Delta G_0$$

Dont :

vdw: interaction de van der Waals

$\Delta G_0$  : constante qui exprime la perte d'entropie due à la déformation du complexe

C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant:

$$\Delta G = -RT \ln K_{\text{eq}} = \Delta G_{\text{Complexe}} - \Delta G_{\text{Ligand}} - \Delta G_{\text{Proteine}}$$

Dont La constante d'équilibre  $K_{\text{eq}}$  (affinité de liaison), qui est le rapport de  $K_A$  ( $K_{\text{on}}$ ), constante d'association du complexe, sur  $K_D$  ( $K_{\text{off}}$ ), constante de dissociation, et T: température absolue. d'où :

$K > 1$  et  $\Delta G_0 < 0$  : équilibre en faveur de [P-L]

$K < 1$  et  $\Delta G_0 > 0$  : équilibre en faveur de [P] et [L]

$K = 1$  et  $\Delta G_0 = 0$  : [P-L] = [P][L]

Le  $\Delta G$  peut aussi être exprimé par la contribution de l'enthalpie et de l'entropie à la stabilité du complexe par la relation suivante :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Dont :

$\Delta H$  : enthalpie (Energie d'interaction)

$\Delta S$  : entropiques(désordre).

### 1.6 Root mean square deviation (RMSD) :

Le RMSD ou écart quadratique moyen est une mesure de distance exprimant la différence de conformation et de position entre une pose et une molécule de référence.

Pour deux conformations i et j, présentant toutes deux N particules de coordonnées position  $r^i$  et position  $r^j$ , le RMSD est donné : (André, 2012 ; Delort, 2018 ; Chevrollier, 2019)

$$RMSD_{i-j} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N (r_i - r_j)^2}$$

Le RMSD est exprimé en angströms (Å), et désigne la moyenne de la déviation de chacun des atomes du ligand (ligand docké) par rapport à ceux de la molécule d'origine (ligand de référence).

Un RMSD élevé indique que les deux structures sont très différentes, tandis qu'un RMSD faible indique que les deux structures sont très similaires.

La prédiction est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms Plus la valeur de déviation quadratique moyenne se rapproche de 0, plus la conformation prédite par le logiciel se superpose avec celle de référence. (Vieth et al, 1998 ; Grosdidier, 2007 ; Chikhi et Bensegueni, 2008).

### **1.7 Choix des composés à tester :**

Les règles établies par Lipinski (Lipinski et al, 1997) représentent un élément fondamental de la chimie médicinale moderne. Lipinski et ses collègues ont étudié la biodisponibilité orale d'un ensemble de 2245 composés qui leurs ont permis d'établir des règles empiriques prédictives de la perméabilité et de la biodisponibilité.

Les composés sont plus susceptibles d'avoir une mauvaise absorption ou perméabilité s'ils ont :

Un poids moléculaire supérieur à 500 Da.

Plus de 5 donneurs de liaisons hydrogènes.

Plus de 10 accepteurs de liaisons hydrogènes.

Un coefficient de partage (Log(P)) supérieur à 5. (L'Exact, 2023)

# **PARTIE PRATIQUE**

## **CHAPITRE 04 : MATERIEL METHODE**

Ce travail de recherche vise à utiliser le docking moléculaire pour identifier, parmi huit composés bioactifs d'origine végétale appartenant à différents groupes de flavonoïdes, celui qui présente la meilleure affinité pour la cyclooxygénase 2 (COX-2) du Composé 3LN1 complexé avec la célécoxib inhibiteur spécifique de la COX-2

Dans le but de caractériser les interactions moléculaires au niveau atomique et de sélectionner les ligands les plus performants, une étude de docking moléculaire a été effectuée en employant le logiciel MOE 2014. Le docking moléculaire, permet de prédire la position et l'orientation optimales des ligands dans le site actif des récepteurs cibles. Il permet d'évaluer les interactions ligand-récepteur y compris les interactions hydrophobes, les liaisons hydrogène, et les interactions électrostatiques aidant à comprendre les mécanismes de liaison, avec des scores d'énergie de liaison pour estimer l'affinité. Les étapes principales de la procédure du docking moléculaire comporte la préparation des structures des composés bioactifs et de la protéine cible,

**1 Préparation des structures:** MOE permet de préparer les structures des protéines et des ligands pour le docking moléculaire, en incluant la minimisation d'énergie, l'ajout d'hydrogènes et la détection des poches de liaison.

## 1.1 Préparation de l'enzyme COX-2 :

### 1) Structure et description de la protéine :

Dans cette étude, nous avons utilisé la structure cristalline de la COX-2 complexée avec le célécoxib, un inhibiteur spécifique de la COX-2, pour effectuer une étude de docking moléculaire afin d'identifier de nouveaux inhibiteurs potentiels de cette enzyme. Le célécoxib a été utilisé comme référence pour comparer l'affinité de liaison des nouveaux ligands potentiels. Pour cela, nous avons utilisé la structure de protéines co-cristallisées avec un inhibiteur spécifique de la COX-2 (**Code : 3LN1**) L'enzyme existe sous forme tétramère dans le cristal, disponible dans la PDB (Protein Data Bank).

#### **Structure of celecoxib bound at the COX-2 active site**

**Code:** 3LN1

#### **Structure du célécoxib lié au site actif de la COX-2**

**PDB DOI:** <https://doi.org/10.2210/pdb3LN1/pdb>

**Classification:** OXYDOREDUCTASE

**Organisme(s) :** Mus musculus

**Système d'expression :** Spodoptera frugiperda

**Mutation(s) :** Non

**Déposé :** 2010-02-01 **Sortie :** 2010-10-27

**Auteurs de la déposition :** Kiefer, JR, Kurumbail, RG, Stallings, WC, Pawlitz, JL

**Aperçu des données expérimentales :**

**Méthode :** DIFFRACTION DES RAYONS X

**Résolution :** 2,40 Å

**Valeur R libre :** 0,264

**Travail de valeur R :** 0,232

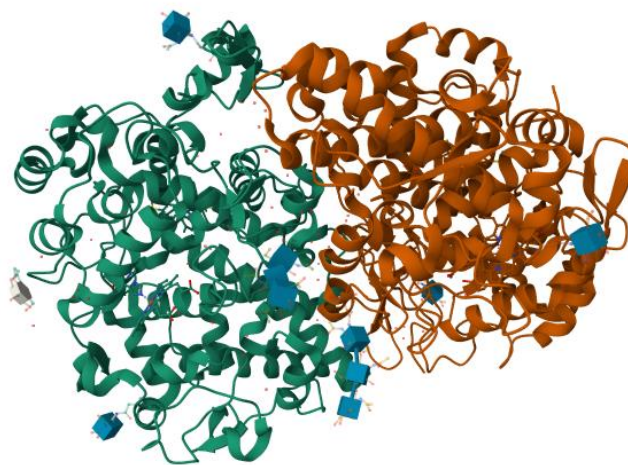
**Valeur R observée :** 0,235

**Source :** Wang, JL , Limburg, D. , Graneto, MJ , Springer, J. , Hamper, JR , Liao, S. , Pawlitz, JL , Kurumbail, RG , Maziasz, T. , Talley, JJ , Kiefer, JR , Carter, J. (2010) Bioorg Med Chem Lett 20 : 7159-7163

Le facteur R : est une grandeur indicatrice de l'écart entre les facteurs de structures observés et ceux calculés. Sa valeur est comprise entre 0 et 1 (plus elle est proche de 0, plus la prédiction est juste) (Liebschner, 2010)

La résolution : La résolution de la protéine est une des données reflétant la qualité des structures ayant permis de construire le modèle cristallographique. Généralement, une résolution proche de 1 Å permet de distinguer tous les atomes y compris les hydrogènes. Une résolution de l'ordre de 6 Å permet seulement de distinguer les structures de types hélice ou de feuillet beta par exemple (Boutin et al, 2016)

Selon la littérature, une structure cristallographique, assez précise et bien définie est une structure dont la valeur du facteur R est voisine 0,2 et qui est d'une résolution inférieure ou égale à 2 Å (Podjarny, et al 2001)



**Figure 22: structure 3D du COX-2 complexé avec le célécoxib**

### 1.1.1 Préparation de la protéine :

- Importation de la 3LN1 dans le logiciel MOE.
- Conservation de la chaîne A de la protéine complexé avec le célécoxib et élimination des autres chaînes

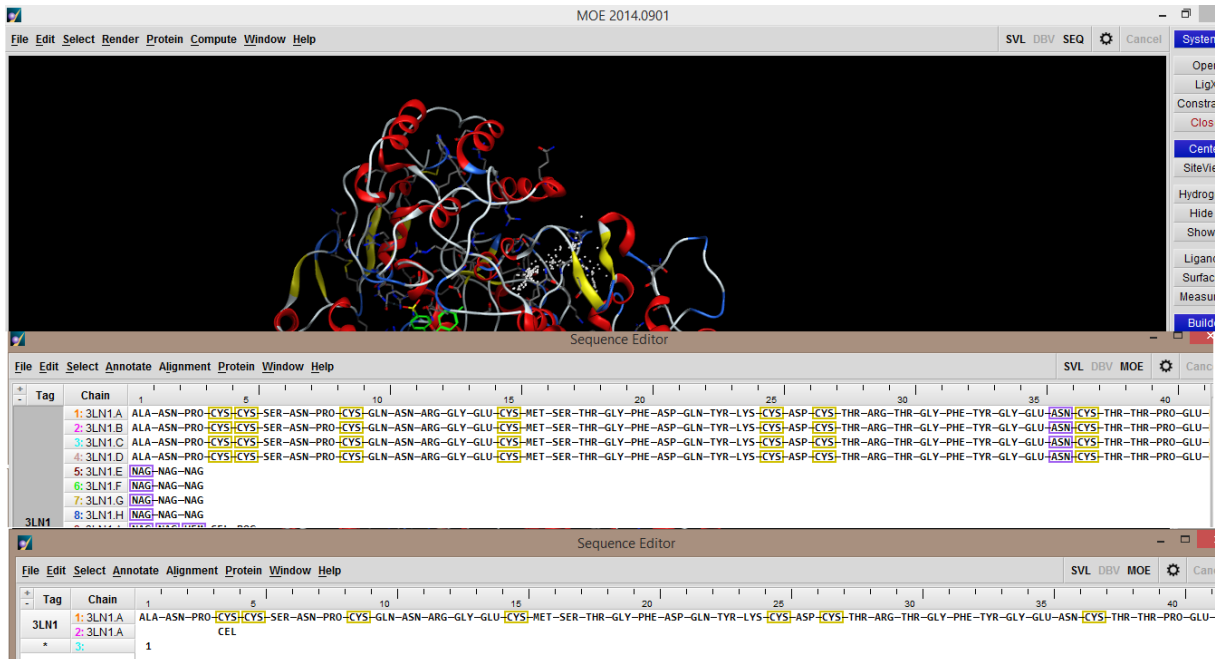
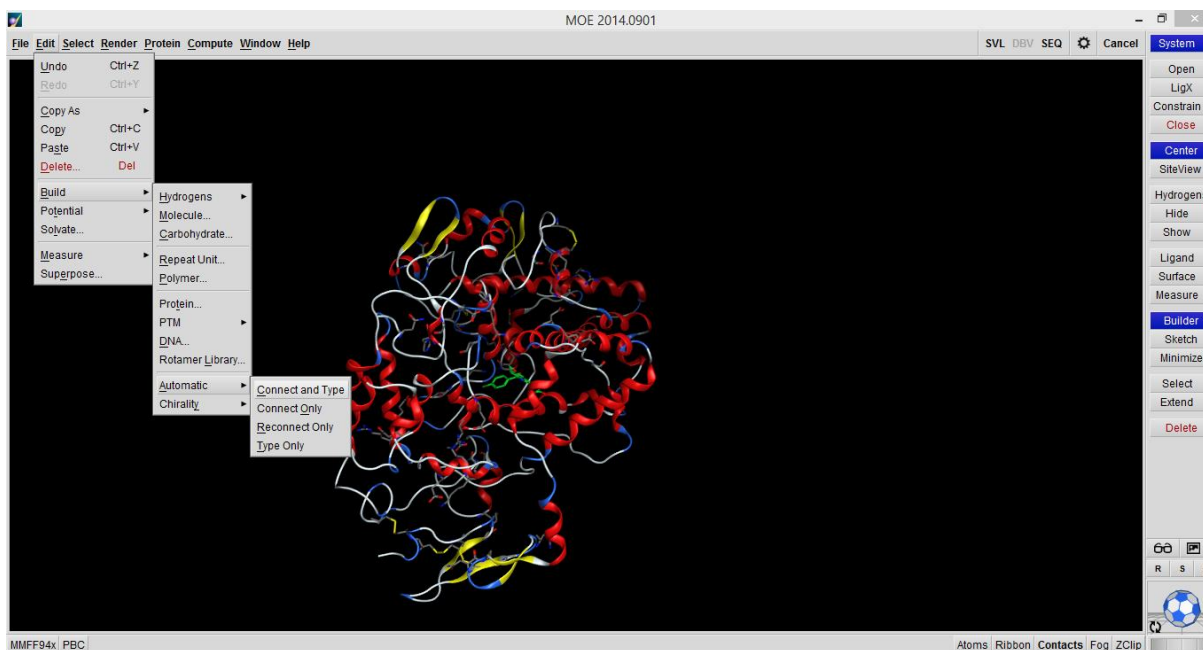


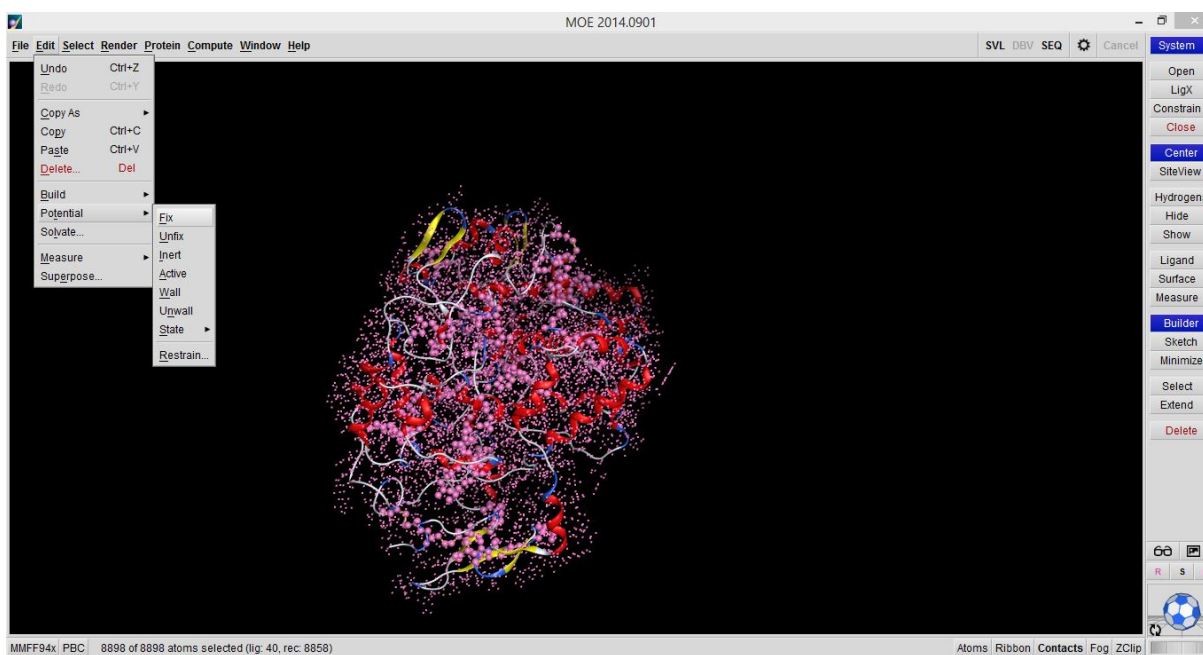
Figure 23 : Séquence protéique brute en haut et après préparation en bas.

- L'étape de protonate 3D
- Grace à la fonctionnalité « Compute Connected and Type » permet de détecter et de réparer les liaisons covalentes manquantes et les atomes non attribués dans une structure de protéine 3D



**Figure 24 : la fonctionnalité connect and type**

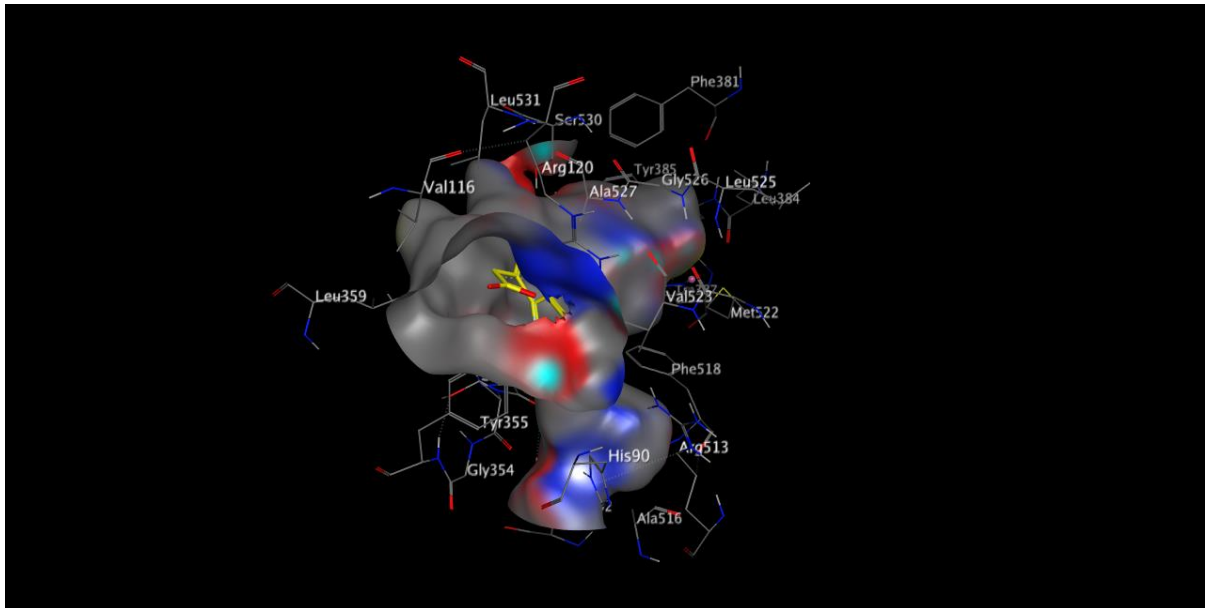
- Fixation du potentiel.



**Figure 25 : Fixation du potentiel**

- Détermination et isolation du site.





**Figure 26 : Site actif de la COX-2**

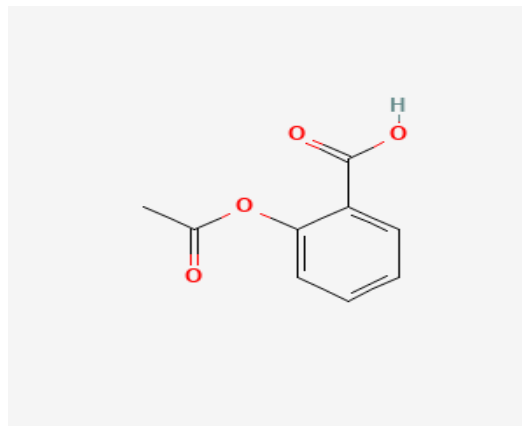
## 1.2 Préparation des composés bioactifs :

### 1) Structure et description des composés :

#### **Aspirine :**

Également connu sous le nom d'aspirine, l'acide acétylsalicylique (AAS) est un médicament couramment utilisé pour traiter la douleur et la fièvre dues à diverses causes. L'acide acétylsalicylique a des effets à la fois anti-inflammatoires et antipyrétiques. Ce médicament inhibe également l'agrégation plaquettaire

Structure :



**Figure 27 : structure de l'acide acétylsalicylique**

Nom IUPAC : Acide 2-acétyloxybenzoïque, Formule moléculaire :  $C_9H_8O_4$ , Masse moléculaire : 180,16 g/mole, LogP : 1.2

L'acide acétylsalicylique fait partie de la classe des acides benzoïques qui est l'acide salicylique dans lequel l'hydrogène attaché au groupe hydroxy phénolique a été remplacé par un groupe acétoxy.

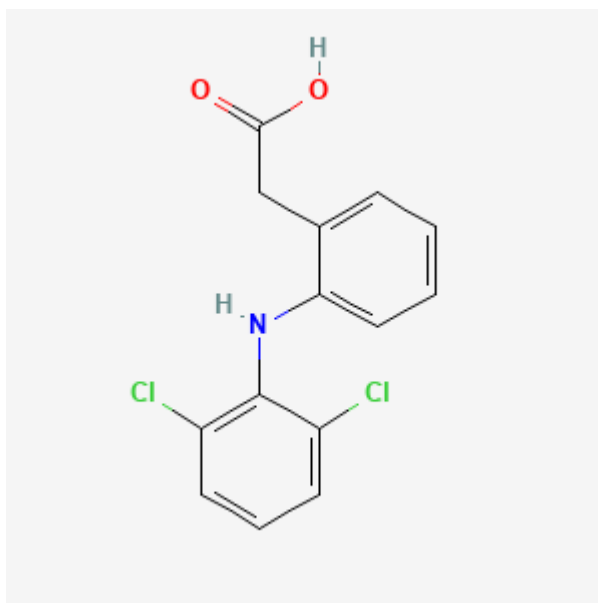
Groupement fonctionnels :

Noyau benzène lié a un groupement carboxylique pour formé l'acide benzoïque  
Attaché a un groupement acétoxy.

### Diclofénac :

Le diclofénac est un anti-inflammatoire non stéroïdien. Le mécanisme d'action du diclofénac est celui d'un inhibiteur de la cyclooxygénase. L'effet physiologique du diclofénac se traduit par une diminution de la production de prostaglandines

Structure :



**Figure 28 : structure du diclofénac**

Nom IUPAC : Acide 2-[2-(2,6-dichloroanilino)phényl]acétique, Formule moléculaire :  $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$ , Masse moléculaire : 296.1 g/mol, LogP : 4.4

Le diclofénac est un acide monocarboxylique constitué d'acide phénylacétique ayant un groupe (2,6-dichlorophényl)amino en position 2.

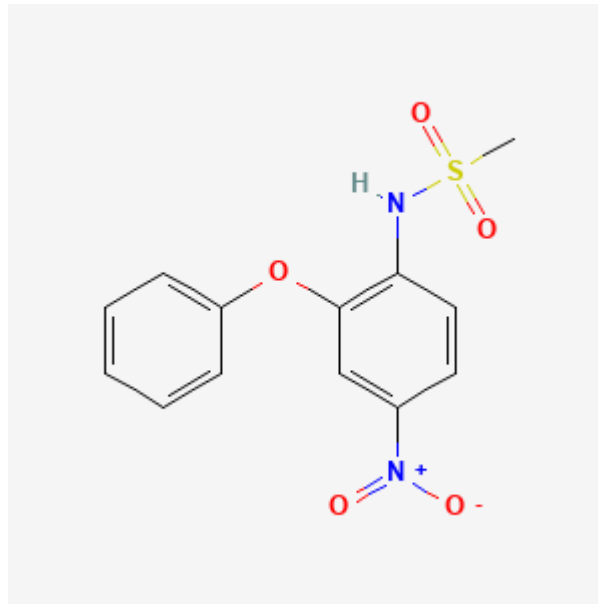
Groupements fonctionnels :

Méthylbenzène lié a un groupement carboxylique intercalé d'un autre noyau benzène substitué par deux chlore par une fonction amine.

### Nimesulide :

Le nimésulide est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) relativement sélectif pour la COX-2 et doté de propriétés analgésiques et antipyrétiques. Ses indications agréées sont le traitement des douleurs aiguës

Structure :



**Figure 29 : structure du nimesulide**

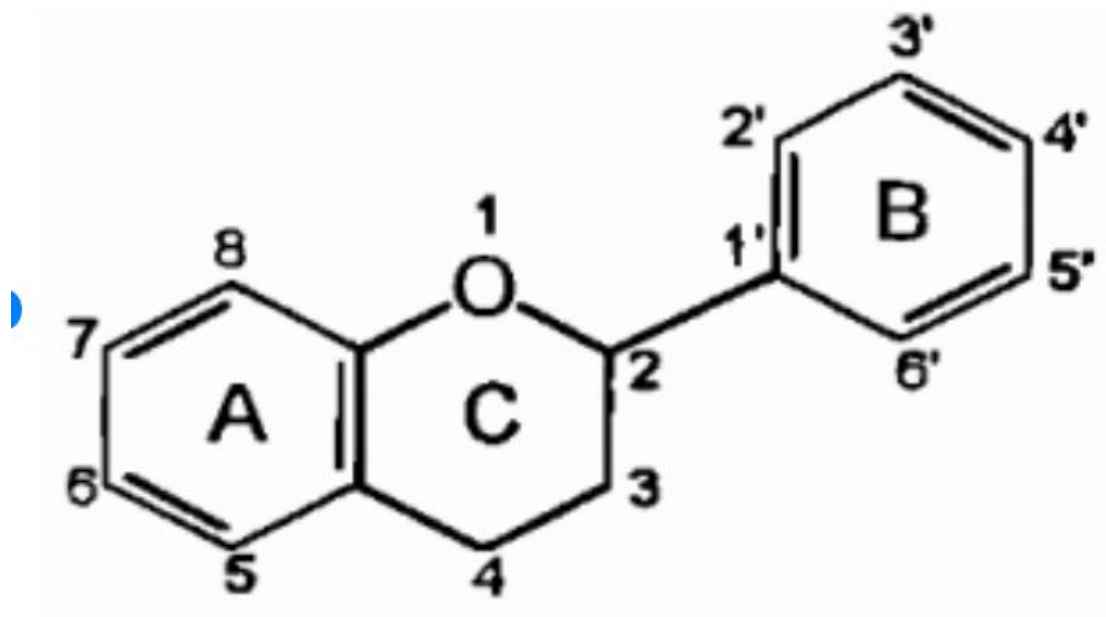
Nom IUPAC : N -(4-nitro-2-phénoxyphényl) méthanesulfonamide, Masse moléculaire : 308,31 g/mole, Formule moléculaire : C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S, LogP : 2.6

Le nimesulide est un éther aromatique ayant un phényle et un 2-méthylsulfonamido-5-nitrophényle comme deux groupes aryle.

Groupements fonctionnels :

Deux noyaux benzène intercalé par un atome d'oxygène le noyau A substitué par un groupe nitro et un méthanesulfonamide

Les flavonoïdes appartiennent à la grande famille des polyphénols. Les flavonoïdes sont constitués d'un même élément structural de base formé par deux cycles benzéniques (cycles A et B), reliés par une chaîne linéaire à trois carbones qui forme un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Figure 1).



**Figure 30 : structure de base des flavanoides**

Les variations de structure au sein d'une même classe de composés se fait par rapport à leur structure moléculaire. Elle se fait en fonction de :

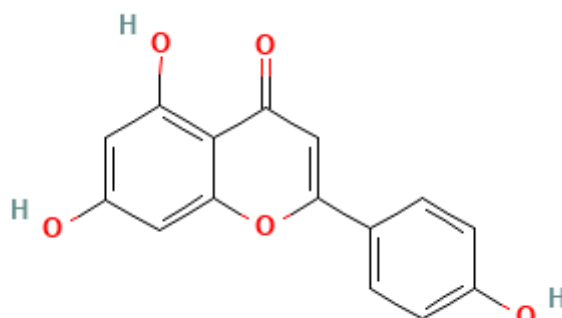
- La position de la liaison entre les cycles B et C ;
- Le degré de saturation du cycle C ;
- Le degré d'oxydation et d'hydroxylation de l'hétérocycle central C.

### Structure et description des composés :

#### Apigénine :

Ce flavone est abondant dans les agrumes, les légumes verts et certains fruits. Sa structure phénolique présente des similitudes avec celle de l'ibuprofène.

Structure :



**Figure 31 : structure de l'apigénine**

Nom IUPAC: 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one, Formule moléculaire : C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>, Masse moléculaire : 270,24 g/mole, LogP : 1.7

L'apigénine comprenant deux cycles aromatiques A et B reliés par un cycle pyrane C. Elle possède des groupes hydroxyle (-OH) sur les positions 4', 5 et 7 de l'anneau B, ce qui contribue à ses propriétés biologiques.

Groupes fonctionnels :

L'anneau A possède des groupes hydroxyles en position 5 et 7.

L'anneau B présente un groupe hydroxyle en position 4'.

Hétérocycle pyrane: L'anneau central C est un hétérocycle de type pyrane (un cycle à six membres contenant un atome d'oxygène).

Les groupes hydroxyles (-OH) en positions 4', 5 et 7 confèrent à l'apigénine ses propriétés antioxydantes et sa capacité à interagir avec diverses protéines et enzymes dans le corps. Ces

groupes hydroxyles jouent un rôle crucial dans la capacité de l'apigénine à neutraliser les radicaux libres.

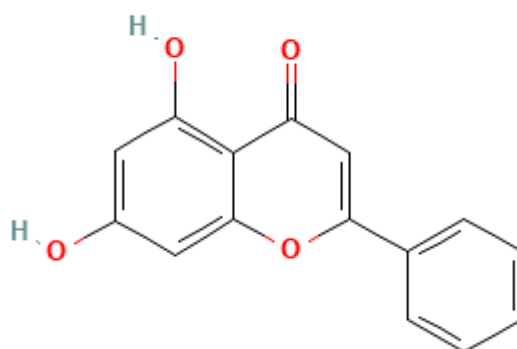
Planarité:

La structure de l'apigénine est relativement plane, ce qui facilite ses interactions avec d'autres biomolécules. Cette planéité contribue également à son insertion dans des structures biologiques comme les membranes cellulaires et les sites de liaison enzymatiques.

### **Chrysin :**

Flavone naturel trouvé dans certains fruits, légumes, champignons et notamment dans la passiflore (*Passiflora caerulea*) et le miel.

Structure :



**Figure 32 : structure de chrysin**

Nom IUPAC: 5,7-dihydroxy-2-phenylchromen-4-one, Formule chimique: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>. Masse moléculaire: 254.24g/mol, logP: 2.1.

Un noyau central de flavone, constitué de deux anneaux benzéniques (A et B) fusionnés avec un hétérocycle pyrone (C).

Groupes fonctionnels :

L'anneau A possède des groupes hydroxyles en position 5 et 7.

L'anneau B est un simple phényl substitué en position 2 du cycle pyrone.

L'anneau central C est un hétérocycle de type pyrone (un cycle à six membres contenant un atome d'oxygène avec une fonction cétone en position 4).

Les groupes hydroxyles (-OH) en positions 5 et 7 sur l'anneau A sont essentiels pour les propriétés antioxydantes de la chrysin. Ces groupes hydroxyles permettent la neutralisation des radicaux libres et contribuent à d'autres interactions biochimiques.

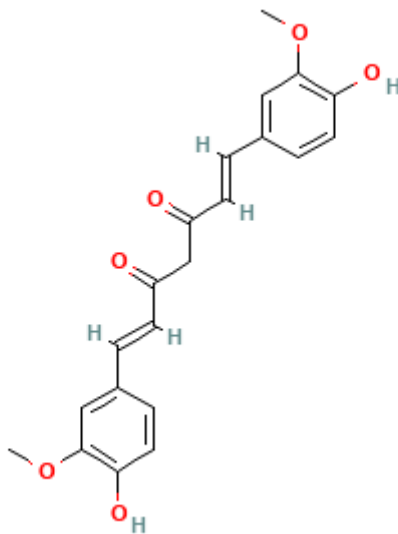
Planarité :

La structure de la chryisine est relativement plane, facilitant ses interactions avec diverses biomolécules, telles que les protéines et les enzymes.

**Curcumine :**

La curcumine est un polyphénol appartenant à la sous-classe des curcuminoïdes présent dans le curcuma, une épice jaune vif couramment utilisée dans la cuisine.

Structure :



**Figure 33 : structure du curcumine**

Nom IUPAC 1,7-bis (4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione, Formule chimique :  $C_{21}H_{20}O_6$ , Masse moléculaire: 368.4g/mol, logP(o/w) : 3.2.

La curcumine contient des groupes méthoxy (-OCH<sub>3</sub>) et hydroxyle (-OH) attachés aux anneaux aromatiques, ainsi que des groupes cétone (C=O) sur la chaîne centrale. La curcumine est relativement hydrophobe, ce qui limite sa solubilité dans l'eau mais favorise sa solubilité dans les graisses et les solvants organiques.

Groupes fonctionnels :

Deux anneaux benzéniques identiques, chacun substitué par un groupe hydroxyle (-OH) en position 4 et un groupe méthoxy (-OCH<sub>3</sub>) en position 3.

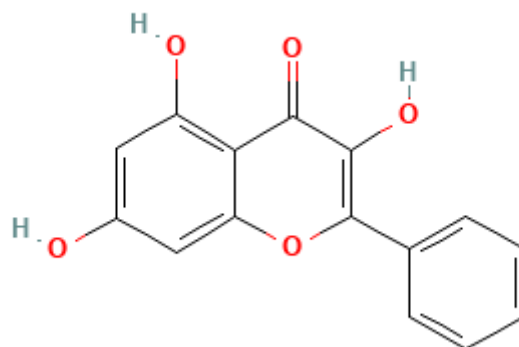
Chaîne linéaire conjuguée reliés les deux anneaux benzéniques, comportant deux doubles liaisons (diène) et deux groupes cétone (dione) en positions 3 et 5. La structure conjuguée de la curcumine (alternance de simples et doubles liaisons) permet une délocalisation des électrons sur toute la molécule, ce qui est crucial pour ses propriétés chimiques et biologiques. Ce système conjugué contribue également à l'absorption de la lumière dans la région visible, donnant à la curcumine sa couleur jaune intense.

Les groupes hydroxyles et méthoxyles sur les anneaux aryles contribuent aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de la curcumine.

### **Galangin :**

Une Flavonol souvent trouvé dans le miel et dans certaines plantes comme le galanga (*Alpiniaofficinarum*) et dans le propolis.

Structure :



**Figure 34 : sturcture du galangin**

Nom IUPAC : 3, 5,7-trihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one, Formule chimique :  $C_{15}H_{10}O_5$ , Masse moléculaire: 270.24g/mol, logP: 2.3.

Le galangin possède une structure flavonol de base, comprenant deux cycles aromatiques A et B reliés par un cycle pyrane C.

Groupes fonctionnels :

L'anneau A possède des groupes hydroxyles en position 5 et 7.

L'anneau B est un phényl substitué en position 2 du cycle pyrone.

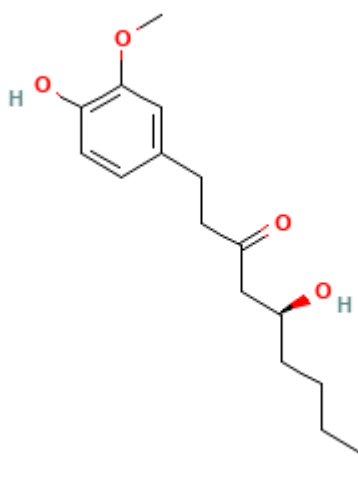
L'anneau central C est un hétérocycle de type pyrone (un cycle à six membres contenant un atome d'oxygène avec une fonction cétone en position 4).

Groupes hydroxyles (-OH) en positions 3, 5 et 7 sur l'anneau A et le cycle pyrone. Ces groupes hydroxyles sont importants pour ses propriétés antioxydantes et ses interactions avec d'autres molécules biologiques.

### **Gingérol :**

Le principal composé bioactif du gingembre (*Zingiber officinale*) qui lui confère ses propriétés médicinales et sa saveur piquante. Appartenant à la famille des shogaols, avec une structure de phénylpropanoïde. Le gingerol est relativement hydrophobe en raison de sa longue chaîne alkyle, ce qui influence sa solubilité et son absorption dans le corps.

Structure :



**Figure 35 : structure du gingérol**

Nom IUPAC : (5S)-5-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)décane-3-one, Formule chimique : C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>, Masse moléculaire: 294.4g/mol, logP(o/w) : 2.5.

Le gingérol présente une structure aliphatique avec un noyau phénolique et des chaînes latérales hydrocarbonées, notamment une chaîne carbonée en forme de chaîne principale avec des groupes hydroxyle.

Groupes fonctionnels :

Un anneau benzénique substitué par un groupe hydroxyle (-OH) en position 4 et un groupe méthoxy (-OCH<sub>3</sub>) en position 3, ce qui est caractéristique des composés phénoliques.

Une longue chaîne alkyle à dix atomes de carbone (décane) est attachée à l'anneau benzénique.

Un groupe hydroxyle (-OH) est présent sur le carbone 5 de la chaîne alkyle.

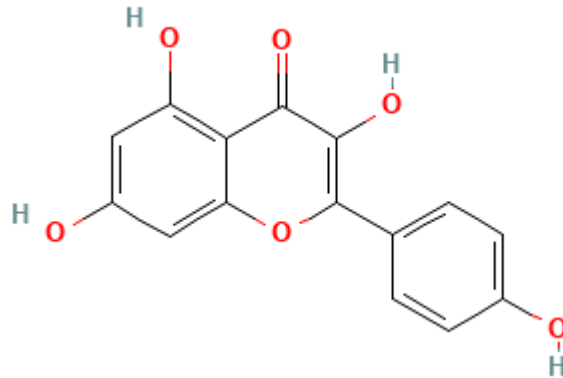
Un groupe cétone (C=O) est situé sur le carbone 3 de la chaîne alkyle.

**Kaempferol :**

Un flavone présent dans de nombreuses plantes, fruits, légumes et certaines boissons comme le thé.



Structure :



**Figure 36 : structure de kaempferol**

Nom IUPAC est 3, 5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphényl)-4H-1-benzopyran-4-one, Formule chimique : C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>, Masse moléculaire: 286.24g/mol, logP(o/w) : 1.9

Flavonoïde, caractérisé par un squelette hétérocyclique de 2-phényl-3-chromenone substitué en 3, 5 et 7.

Groupes fonctionnels :

L'anneau A possède des groupes hydroxyles en position 5 et 7

L'anneau B est un phényl substitué en position 2 de l'anneau pyrone et présente un groupe hydroxyle en position 4.

L'anneau central C est un hétérocycle de type pyrone (un cycle à six membres contenant un atome d'oxygène et une cétone en position 4).

Quatre groupes hydroxyles (-OH) en positions 3, 5, 7 et 4'. Ces groupes sont essentiels pour ses propriétés antioxydantes, permettant de neutraliser les radicaux libres.

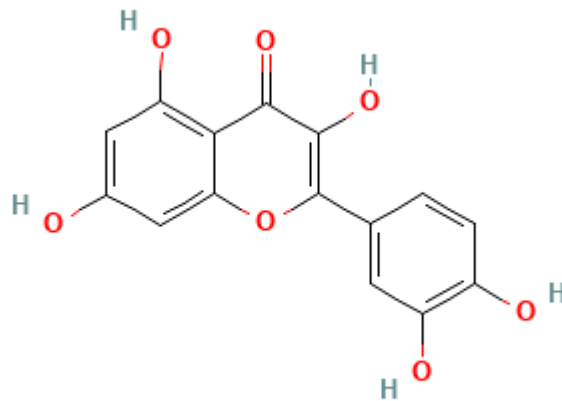
Planarité:

La structure du kaempférol est relativement plane, ce qui facilite ses interactions avec diverses biomolécules, telles que les protéines et les enzymes.

**Quercétine :**

La quercétine est un flavonoïde naturellement présent dans de nombreux fruits, légumes, feuilles et grains.

Structure :



**Figure 37 : structure du quercétine**

Nom IUPAC est 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one, Formule chimique : C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>. Masse moléculaire: 302.23g/mol, log P(o/w) : 1.5.

Flavonol ayant un noyau de flavone avec trois groupes hydroxyle (-OH) et un groupe cétone (carbonyle) en position.

Groupes fonctionnels :

L'anneau A présente trois groupes hydroxyles (-OH) en position 5, 7 et 3'.

L'anneau B possède deux groupes hydroxyles en position 3' et 4'.

L'anneau central C est un hétérocycle de type pyrane (un cycle à six membres contenant un atome d'oxygène).

Les groupes hydroxyles confèrent à la quercétine ses propriétés antioxydantes en permettant la neutralisation des radicaux libres. Les positions des groupes hydroxyles sont essentielles pour les interactions biologiques et l'activité antioxydante.

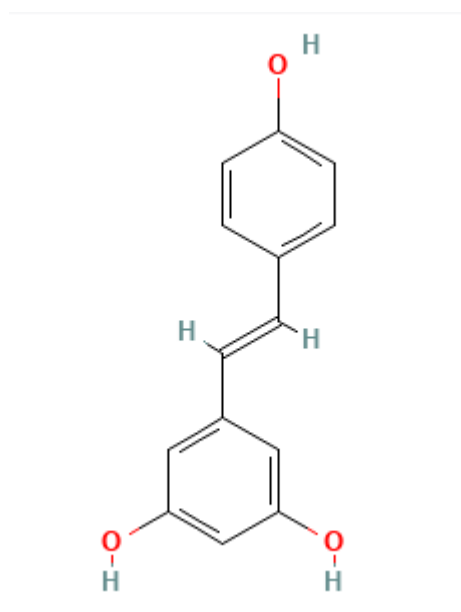
Planarité:

La structure de la quercétine est relativement plane, ce qui facilite ses interactions avec d'autres molécules, telles que les protéines et les acides nucléiques.

**Resvératrol :**

Un composé polyphénolique appartenant à la classe des stilbènes. On le trouve principalement dans la peau des raisins rouges, les cacahuètes, les bleuets et certaines autres plantes.

Structure :



**Figure 38 : structure de resvératrol**

nom IUPAC est 5-[(E)-2-(4-hydroxyphényl)éthényl]benzène-1,3-diol, Formule chimique :  $C_{14}H_{12}O_3$ , Masse moléculaire: 228.24g/mol,  $\log P(o/w)$  : 3.1

Le resvératrol présente une structure de base de stilbène, composée de deux unités phénoliques reliées par une double liaison éthylénique.

Groupes Fonctionnels :

L'anneau A possède deux groupes hydroxyles (-OH) en position 3 et 5.

L'anneau B présente un groupe hydroxyle en position 4.

Double liaison éthylénique : Le resvératrol existe principalement sous deux isomères : la forme trans (E) et la forme cis (Z), la forme trans étant la plus stable et la plus courante dans la nature.

Trois groupes hydroxyles (-OH) qui confèrent à la molécule ses propriétés antioxydantes en neutralisant les radicaux libres. Ces groupes hydroxyles sont également impliqués dans les interactions biochimiques du resvératrol avec diverses enzymes et protéines.

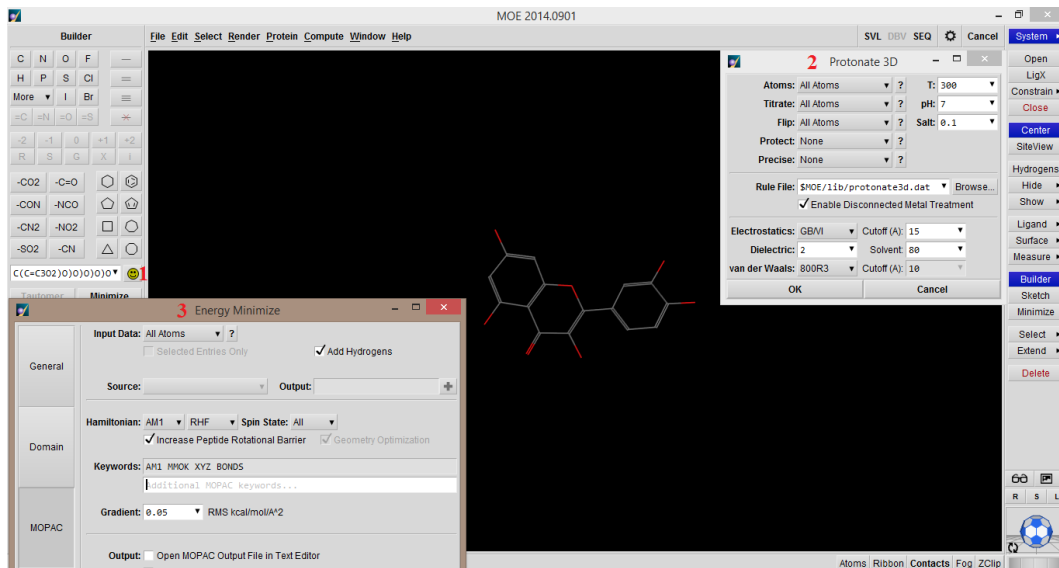
Planarité:

La structure du resvératrol est relativement plane, ce qui facilite son insertion dans des membranes cellulaires et ses interactions avec d'autres molécules biologiques.

### 1.2.1 Préparation des composés :

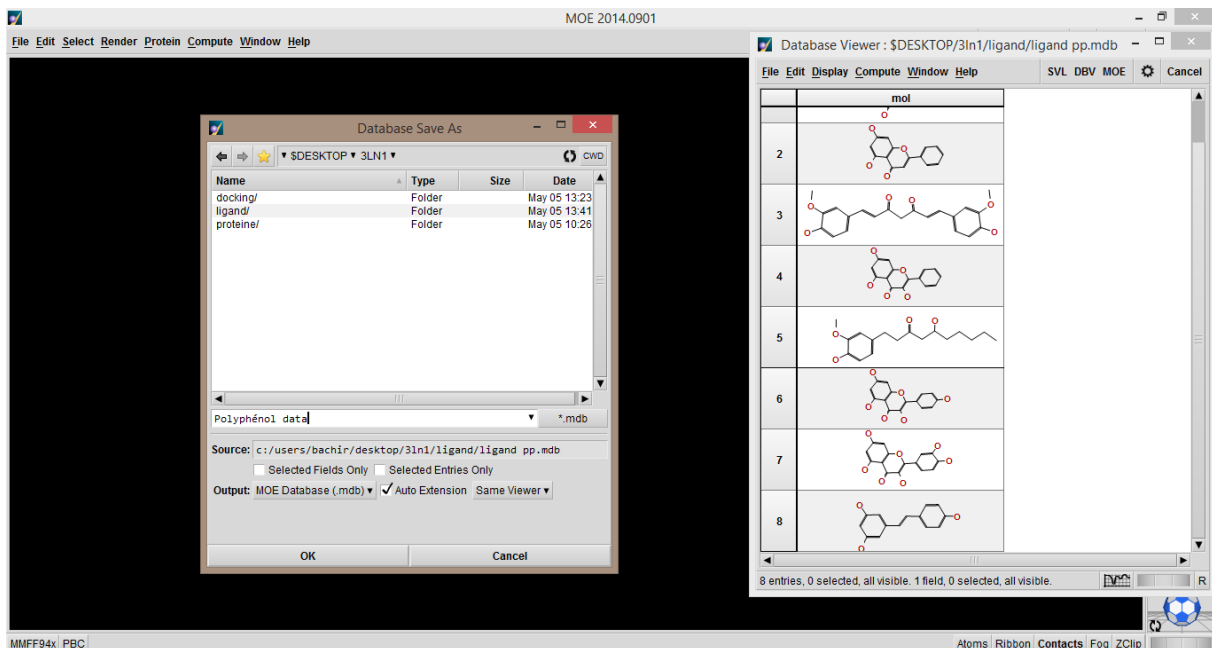
- Importation des SMILE des composés à tester dans MOE.

- L'étape de protonate 3D : de prédire avec précision l'emplacement des atomes d'hydrogène dans les structures macromoléculaires à partir des coordonnées 3D.
- Minimisation d'énergie avec MOPAC: Le rôle de la minimisation est essentiellement de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts intra atomiques. Celle-ci pouvant correspondre à un minimum énergétique global ou simplement local.



**Figure 39 : Préparation du ligand**

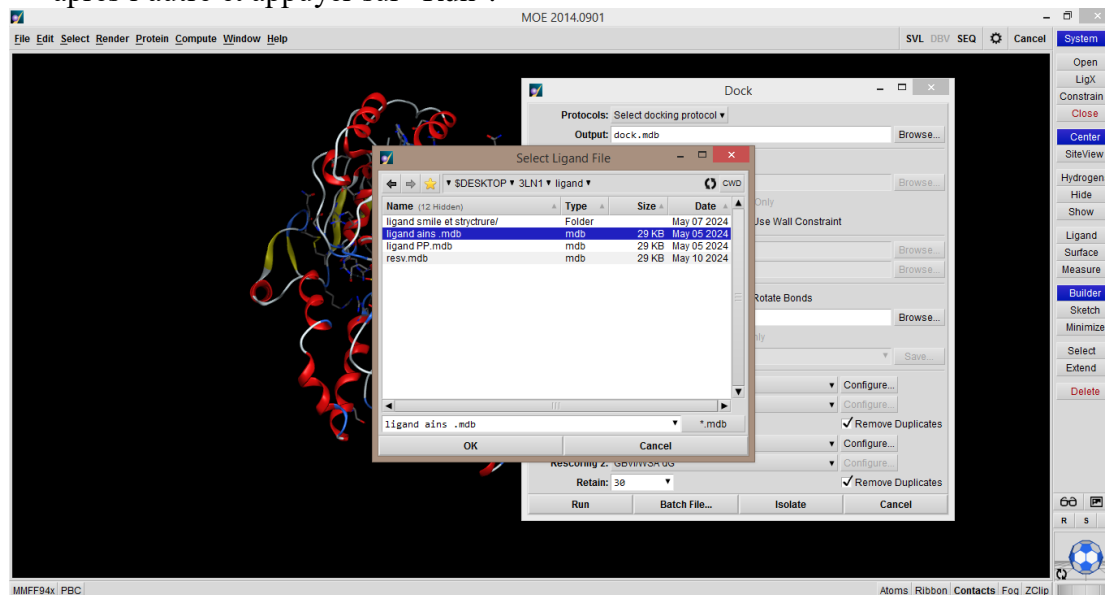
- Les structures importer doit être regroupé et sauvegardé sous forme de bases de données MDB ; une pour les AINS et l'autre pour les polyphénols



**Figure 40 : Base de données des composés à tester**

**2 Docking moléculaire:** MOE propose différentes méthodes de docking moléculaire, permet d'évaluer le score ou l'affinité de liaison avec les sites actifs de la COX-2 (3LN1) et le RMSD pour mesurer l'écart par rapport à les molécules de référence

- Dans la fonctionnalité "Dock" on importe les deux bases de données des ligands une après l'autre et appuyer sur "Run".



**Figure 41 : fonctionnalité de docking**

- Une fois que le temps de la recherche des poses s'écoule le résultat apparaitre automatiquement

**3 Analyse des résultats de docking:** MOE permet d'analyser les résultats de docking moléculaire et d'identifier les poses de ligands les plus favorables.

**4 Visualisation des interactions:** MOE permet de visualiser les interactions entre les protéines et les ligands, en incluant les liaisons hydrogène, les liaisons hydrophobes et les interactions de Van der Waals.

- Pour visualiser les interactions on importe le ligand voulu par "browse".
- Sur "compute" on choisi ligand interaction.
- Dans "receptor" on sélectionne "receptor atoms" et dans "ligand" on sélectionne "browser atoms".
- Sur le "diagram option" on désélectionne les interactions avec le solvant.
- Finalement on appuie sur "apply".

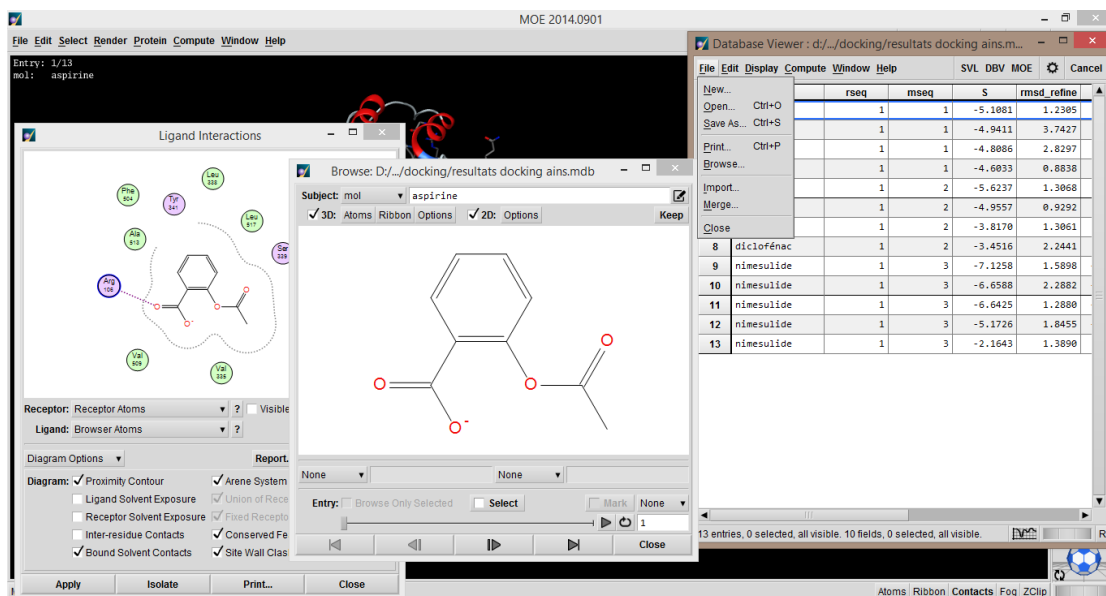


Figure 42 : visualisation des interactions

## **CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION**

## Protéine :

### Structure primaire de la 3LN1 :

La séquence primaire de la COX-2 3LN1 a été déterminée par MOE

N terminal

```
MLFRAVLLCAALGLSQAANPCCSNPCQNRGECMSTGFDQYKCDCTRTGFYGENCTT  
PEFLTRIKLLLKPTPNTVHYILTHFKGVWNIVNNIPFLRSLIMKYVLTSRSLIDSPTTY  
NVHYGYKSWFAFSNLSYYTRALPPVADDCPTPMGVKGNKELPDSKEVLEKVLRRR  
FIPDPQGSNMMFAFFAQHFTHQFFKTDHDKRGPGFTRGLGHGVDLNHIYGETLDRQHK  
LRLFKDGLKYQVIGGEVYPPTVKDTQVEMIIYPPHIPENLQFAVGQEVFGLVPGLMM  
YATIWLREHNRVCDILKQEHPEWGDEQLFQTSRLILIGETIKIVIEDYVQHLSGYHFKL  
KFDPELLFNQQFQYQNRIASEFNTLYHWHPLLPDTFNIEDQEYSFKQFLYNNSSILLEHG  
LTQFVESFTRQIAGRVAGGRNVPIAVQAVAKASIDQSREMKYQSLNEYRKRFSCLKPY  
TSFEELTGEKEMAAELKALYSDIDVMELYPALLVEKPRPDAIFGETMVELGAPFSLKG  
LMGNPICSPQYWKPSTFGGEVGFKIINTASIQSLICNNVKGCPFTSFNVQDPQPTKTATI  
NASASHSRLDDINPTVLIKRRSTEL C terminal.
```

La COX-2 3LN1 est composé de 604 Aa, avec méthionine (Met) comme extrémité N terminale et Leucine (Leu) comme C terminale.

### Structure secondaire :

L'encombrement stérique des acides aminés et les angles des liaisons (Fig.30) font que l'enchaînement n'est pas linéaire, mais présente un certain nombre de replis. Les trois formes principales de structure secondaire sont : l'hélice  $\alpha$ , le feuillet plissé  $\beta$  parallèle et antiparallèle, et le coude.

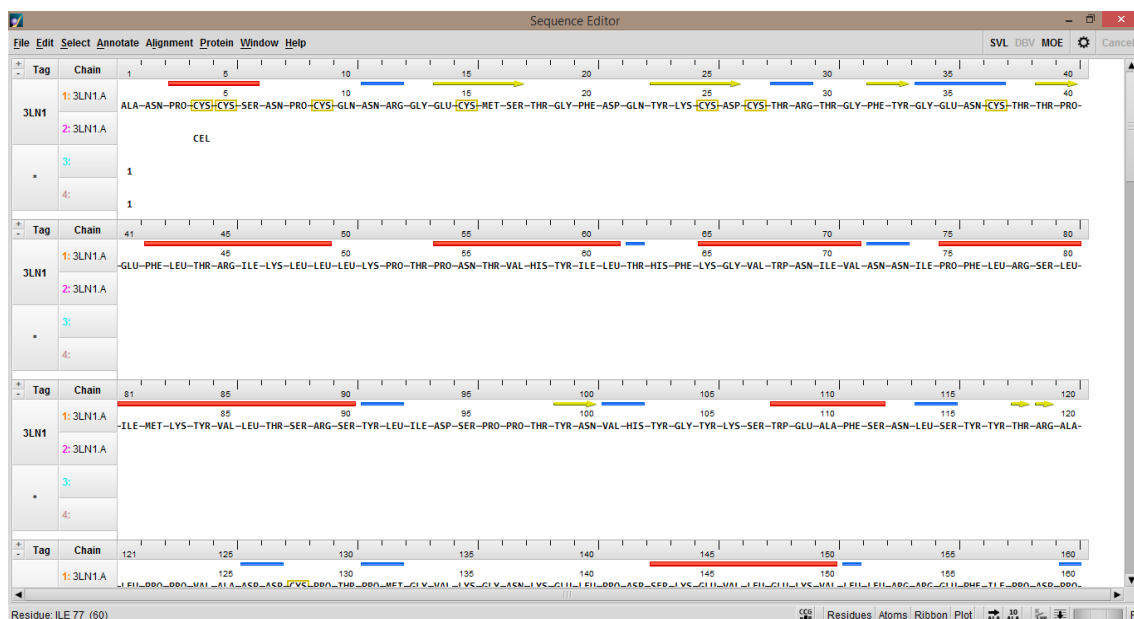


Figure 43 : les formes secondaires présentes dans la 3LN1 ; Rouge : Hélice  $\alpha$ , Vert : feuillet  $\beta$ , Bleu : coude



Le tableau 7 présent la composition en acides aminées des 4 formes de structure secondaire présent dans la 3LN1 :

**Tableau 7 : composition en acides aminées de la 3LN1**

<b>Protéine</b>	<b>Hélice <math>\alpha</math></b>	<b>feuillet <math>\beta</math> antiparallèle</b>	<b>feuillet <math>\beta</math> parallèle</b>	<b>coude</b>
3LN1	Pro20-Ser23	Glu31-Ser34	Thr135	Asn28-Arg29
	Phe59-Leu66	Tyr40-Asp43		Thr45-Arg46
	Pro71-Leu78	Phe49-Tyr50		Gly51-Cys54
	Lys82-Val88	Thr56-Pro57		Thr79
	Pro92-Ser107	Tyr116-Asn117		Asn89-Asn90
	Trp125-Ser129	Arg136		Tyr108-Leu109
	Ser160-Val167	Gln241-Ile243		Val118-His119
	Met182-Thr192	Glu246-Tyr248		Leu131Ser132
	Asn217-Tyr220	Phe381-Ile383		Asp143-Asp144
	Leu224-Leu230	Gln386-Tyr388		Pro148-Met149
	Val252-Thr255			Leu168
	Phe278-Leu280			Pro177-Gln178
	Pro282-Glu205			His193-Phe195
	Asp311-Glu332			His200-Arg202
	Tyr334-Ser339			Pro204-Gly205
	Pro349-Leu352			Leu210-Gly211
	Ser365-Leu370			Asp235-Gly236
	His374-Leu376			Gly244-Gly245
	Phe390-Phe393			Pro263-His264
	Ser398-Arg414			Glu267-Leu269
	Ile428-Val430			Glu276-Val277
	Gln431-Glu443			Pro307-Glu308
	Leu449-Arg455			Asp333
	Phe464-Thr468			Gly340
	Glu472-Tyr481			Phe353-Asn354
	Ile484-Val486			Tyr371
	Leu489-Val495			Glu384-Asp385
	Glu506-Met521			Leu394-Tyr395
	Pro524-Lys526			Met444-Lys445
	Pro533-Phe536			Phe456-Ser457
Glu539-Thr547			Pro500-Asp501	
Ile550-Asn557			Gly522	
			Pro528-Tyr530	
			Gly537	
			Lys579-Gly580	

La figure 45 montre la structure de la protéine 3LN1 préparée pour le docking à l'aide du logiciel MOE



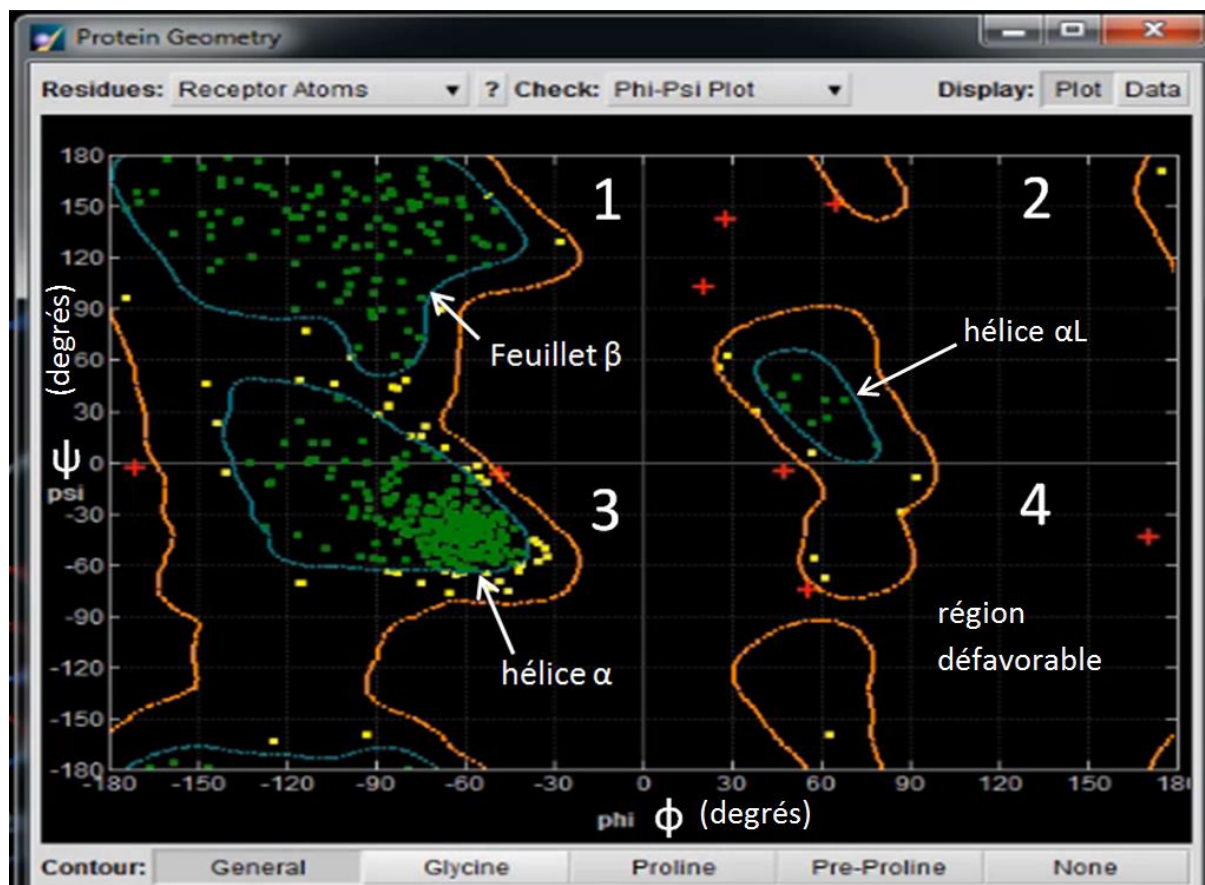
**Figure 44 : 3LN1 préparé par MOE**

### **Analyse de la structure par le diagramme de Ramachandran :**

Le diagramme de Ramachandran permet de vérifier la validité des structures tridimensionnelles des protéines obtenues par des méthodes expérimentales (comme la cristallographie aux rayons X ou la RMN) ou par modélisation. Les angles phi ( $\phi$ ) et psi ( $\psi$ ) des acides aminés devraient se trouver dans des régions autorisées du diagramme. Il aide à identifier les conformations favorables et les contraintes stériques dans les chaînes polypeptidiques, ce qui est crucial pour comprendre la stabilité et la flexibilité des protéines (Ramachandran et al., 1963).

Les structures secondaires des protéines, telles que les hélices alpha et les feuillets bêta, sont déterminées par les angles de torsion (ou dièdres) phi ( $\phi$ ) et psi ( $\psi$ ) le long de la chaîne polypeptidique. Étant donné que les rotations autour des liaisons peptidiques (qui sont rigides) sont limitées. Les angles  $\phi$  et  $\psi$  déterminent la conformation de la chaîne principale de la protéine. Ces angles définissent l'orientation des liaisons peptidiques entre les acides aminés dans la structure tridimensionnelle. (Morris et al, 2009)

L'objectif de l'analyse du diagramme de Ramachandran est de s'assurer que la structure de la protéine a été correctement modélisée et que les angles dièdres principaux sont conformes aux contraintes stéréochimiques. L'analyse du diagramme de Ramachandran de la chaîne A de la protéine 3LN1, téléchargée à partir de la PDB, a révélé les caractéristiques suivantes de la protéine (Figure 43).



**Figure 45 : Diagramme de Ramachandran de la 3LN1**

Angle dièdre  $\phi$  (phi) :

L'angle  $\phi$  (phi) représente la rotation autour de la liaison entre l'atome d'azote (N) et l'atome de carbone alpha ( $C\alpha$ ) dans un acide aminé. Il mesure la flexion de la liaison entre l'atome d'azote et le carbone alpha.

Angle dièdre  $\psi$  (psi) :

L'angle  $\psi$  représente la rotation autour de la liaison entre l'atome de carbone alpha ( $C\alpha$ ) et l'atome de carbone (C) portant le groupe carbonyle (C=O) dans un acide aminé. Il mesure la flexion de la liaison entre le carbone alpha et le groupe carbonyle.

Ces angles dièdres  $\phi$  et  $\psi$  déterminent la conformation de la chaîne polypeptidique, ce qui est essentiel pour la structure tridimensionnelle globale d'une protéine.

Dans la légende du diagramme de Ramachandran fournie par le logiciel MOE, La valeur de l'angle diédral  $\phi$  phi en abscisse et celle de l'angle diédral psi  $\psi$  en ordonnée, pour des valeurs de -180 à +180 degrés.

Les différentes zones sont colorées comme suit :

"Allowed" (jaune) :

Cette zone représente les conformations diédrales autorisées, c'est-à-dire les angles phi  $\phi$  et psi  $\psi$  qui sont conformes aux restrictions stériques et énergétiques de la protéine. Les angles dans cette zone sont considérés comme favorables sur le plan structural.

"Core" (vert) :

La zone "Core" indique les conformations diédrales les plus préférées sur le plan structural. Ces angles  $\phi$  et  $\psi$  se situent généralement dans cette zone pour une protéine bien repliée et stable. Cette région représente les combinaisons d'angles  $\phi$  et  $\psi$  les plus autorisées et les plus stables sur le plan énergétique.

"Croix rouge" (outlier) : ou Région non autorisée :

Cette région représente les combinaisons d'angles  $\phi$  et  $\psi$  qui sont énergétiquement instables et peu probables dans une structure de protéine bien repliée. Les angles dans cette région sont généralement associés à des contraintes géométriques qui rendent ces conformations très peu favorables sur le plan énergétique.

Ces couleurs et légendes permettent d'évaluer la qualité de la structure tridimensionnelle d'une protéine en fonction de la distribution de ses angles  $\phi$  et  $\psi$  dans le diagramme de Ramachandran.

La subdivision du diagramme en quatre quadrants permet d'identifier la distribution des angles dièdres préférés pour les structures protéiques. Cette analyse aide à évaluer la qualité de la structure tridimensionnelle en mettant en évidence les conformations conformes aux éléments structurels tels que les hélices alpha et les feuillets bêta. Elle permet également d'identifier les régions non favorables qui pourraient indiquer des déformations structurales.

Quadrant supérieur gauche :

Dans ce quadrant, l'angle  $\phi$  est négatif tandis que l'angle  $\psi$  est positif. Cela correspond souvent à des conformations de feuille bêta (beta-sheets) étendus" ou "feuillets bêta anti-parallèles" dans une chaîne polypeptidique.

Quadrant inférieur gauche :

Dans ce quadrant, les angles  $\phi$  et  $\psi$  sont négatifs. Cela correspond souvent à des conformations dites "en hélice alpha" dans une chaîne polypeptidique.

Quadrant supérieur droit :

Dans ce quadrant, les angles  $\phi$  et  $\psi$  sont positifs est associé aux conformations en hélice alpha (l'hélice  $\alpha_L$ ). Contrairement aux hélices alpha à main droite (quadrant inférieur gauche), qui s'enroulent dans le sens des aiguilles d'une montre, les hélices alpha à main gauche s'enroulent dans le sens inverse des aiguilles d'une montre. Cette différence découle de l'orientation opposée de leurs angles dièdres  $\phi$  et  $\psi$

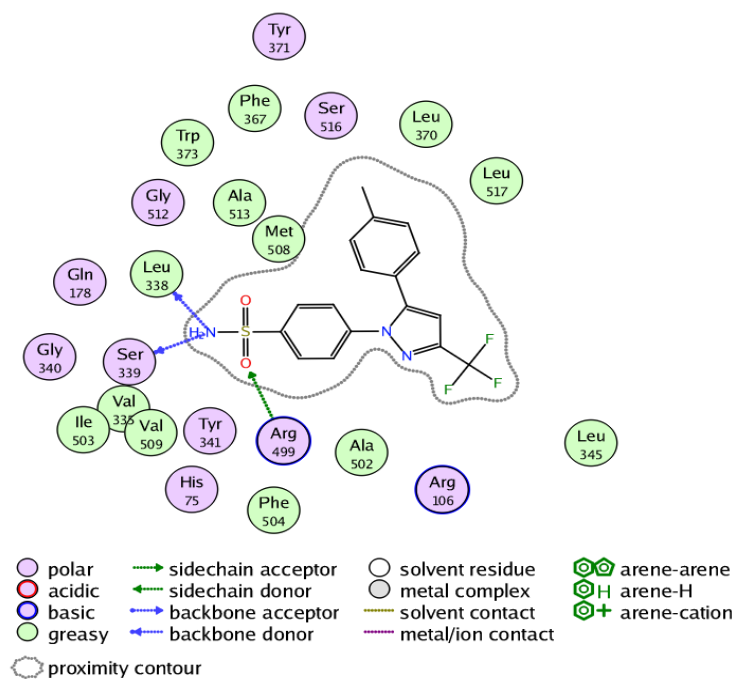
Quadrant inférieur droit :

dans ce quadrant les combinaisons d'angles  $\phi$  positifs et  $\psi$  positifs entraînent des collisions stériques importantes entre les atomes, ce qui est énergétiquement défavorable.

Les angles dièdres phi et psi des acides aminés fournissent des informations clés sur la structure secondaire des protéines, permettant de distinguer les hélices alpha des feuillets bêta. Ces informations sont essentielles pour la compréhension de la structure tridimensionnelle et de la fonction des protéines. (**Branden et Tooze, 1999 ; Berg et al, 2015**)

### **Visualisation des interactions:**

La figure 46 détaille les interactions par liaison hydrogène entre le célécoxib et la COX-2. Le célécoxib interagit avec la COX-2 via trois liaisons hydrogène : entre N3 du groupement 4-sulfamoylphényle et O(Leu338), entre N3 du groupement 4-sulfamoylphényle et O(Ser339), et entre O2 du groupement 4-sulfamoylphényle et NH1(Arg499)



**Figure 46 : Types d'interactions entre la COX-2 et la célécoxib**

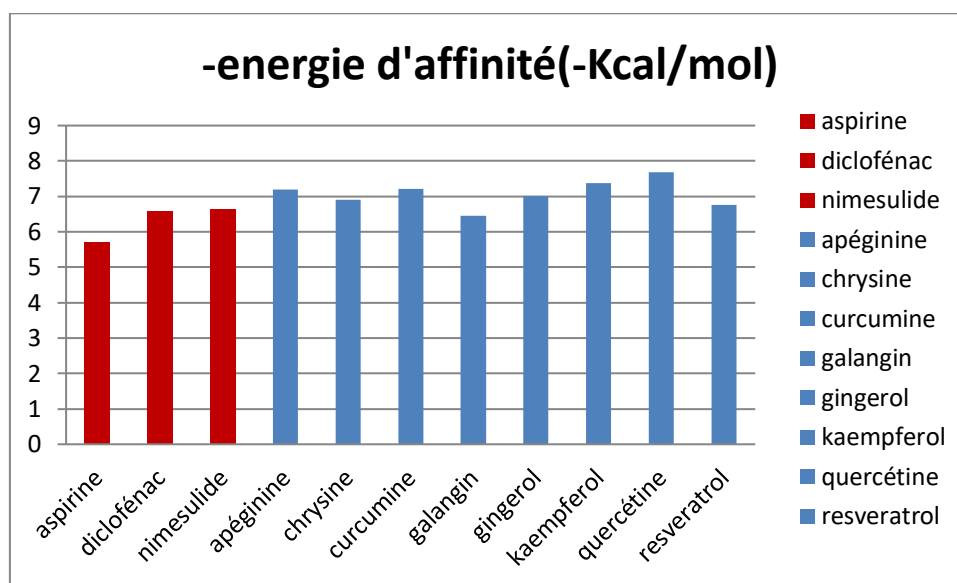
Le tableau 8 présente les poses sélectionnées pour chaque composé, parmi les 5 générées par MOE. Ces poses ont été choisies en fonction de leur score d'affinité de liaison ligand-protéine et de leur RMSD par rapport au ligand de référence, le célécoxib

**Tableau 8 : Résultats du docking en fonction de minime énergie et minime RMSD**

Classe	composé	Energie d'affinité (-Kcal/mol)	RMSD (Å)
AINS	Aspirine	-5.6994	1.2305
	Diclofénac	-6.5902	1.7092
		-5.8219	0.8836
	Nimesulide	-6.6425	1.2880
Polyphénol	Apigénine	-7.1859	0.8296
		-1.4769	0.7567
	Chrysine	-6.9017	1.8532
		-5.8281	0.8897
	Curcumin	-7.2115	0.7194
	Galangin	-6.4493	1.5807
		-5.8927	0.9485
	Gingérol	-7.0089	1.3125
		-6.9879	1.0157
	Kaempférol	-7.3804	1.9617
-6.5849		1.0190	
Quercétine	-7.6759	0.9467	
Resvératrol	-6.7550	1.0819	
	-6.3854	0.6440	

L'énergie d'affinité est un critère crucial dans l'évaluation de la qualité des poses générées lors d'une simulation de docking moléculaire. Une énergie de liaison négative indique une interaction favorable entre le ligand et la protéine cible. Cela signifie que le système libère de l'énergie lorsqu'ils se lient, ce qui renforce la stabilité du complexe. Plus l'énergie de liaison est négative, plus l'affinité entre le ligand et la protéine est forte (figure 46).

La figure 47 est un diagramme classe les ligands selon leur énergie d'affinité.



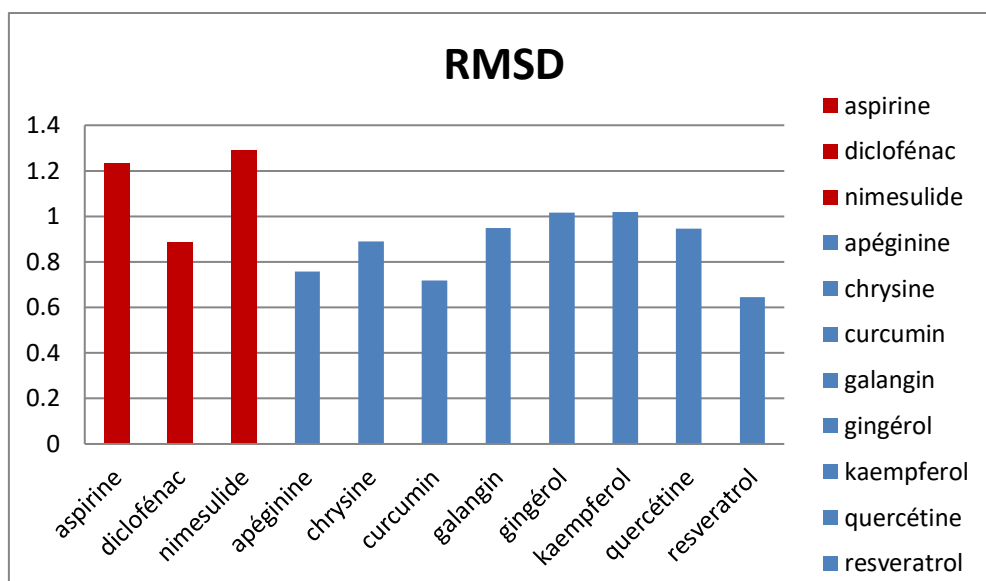
**Figure 47: Les composés ayant les meilleures énergies d'affinités**

Le RMSD est un outil précieux pour évaluer la qualité des poses générées lors d'une simulation de docking moléculaire.

Le RMSD mesure la distance moyenne entre les atomes correspondants de deux structures moléculaires superposées. Dans le contexte du docking, le RMSD est utilisé pour comparer la position du ligand docké à la position du ligand de référence, généralement une structure cristalline ou une pose expérimentale connue, le celecoxib

Plus le RMSD est bas, plus la superposition entre le ligand docké et le ligand de référence est bonne. Cela signifie que le ligand docké se trouve dans une position proche de celle du ligand de référence dans la poche de liaison de la protéine. En général, on considère qu'un RMSD inférieur à 2 Å indique une bonne superposition et une pose potentiellement correcte.

Le diagramme présente les meilleurs RMSD pour les composés testés, en différenciant les AINS (en rouge) des composés phénoliques (en bleu). Ce type de diagramme permet de visualiser rapidement les composés qui présentent les meilleures superpositions avec le ligand de référence



**Figure 48: Les composé ayant meilleurs RMSD**

Les résultats du docking ont révélé des interactions variables entre les flavonoïdes et le site actif de la COX-2. Les scores de liaison et les RMSD (voir tableau 6) démontrent une affinité variable des composés testés, allant de -7.6759 à -1.4769 pour les scores de liaison et de 0.6440 à 1.8532 pour les RMSD. En comparaison, les scores de liaison des AINS tels que l'acide acétylsalicylique (S=-5.6994, RMSD=1.2305), le diclofénac (S=-6.5902, RMSD=1.7092 ; S=-5.8219, RMSD=0.8836 et le nimésulide (S=-6.6425, RMSD=1.2880)

### L'analyse des interactions :

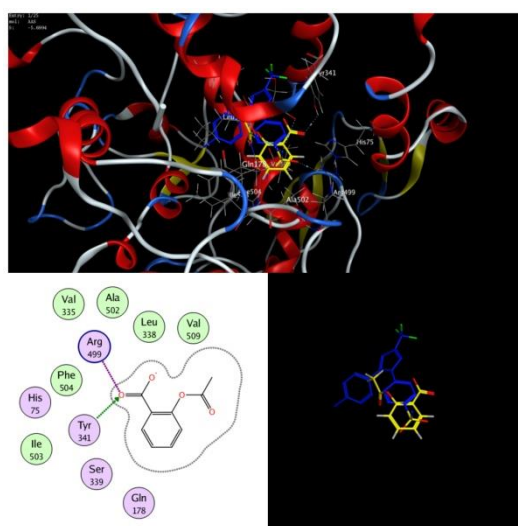
Le tableau 9 présent les types d'interactions des poses sélectionnés dans le tableau 7

**Tableau 9 : types d'interactions des composés testés**

Classe	composé	Type d'interaction	
<b>Molécule de référence</b>	<b>célécoxib</b>	N3 du groupement 4-sulfamoylphényle-Leu338 N3 du groupement 4-sulfamoylphényle-Ser339 O2 du groupement 4-sulfamoylphényle-Arg499	
<b>AINS</b>	Aspirine	O fonction carboxylique-Tyr341 : liaison hydrogène O fonction carboxylique-Arg499 : liaison ionique	
	Diclofénac	O fonction carboxylique-Ser516 : liaison hydrogène Cycle benzène substitué par le Cl-Val509 : liaison pi Cycle benzène substitué par le Cl-Ala513 : liaison pi	
	Nimesulide	Noyau benzène- Leu517 : liaison pi	
<b>Polyphénols</b>	Apigénine	OH5 du noyau A-His75 : liaison hydrogène OH7du noyau A-Glu510 : liaison hydrogène OH5du noyau A-His75 : liaison pi Noyau B-Ala513 : liaison pi	
		Chrysine	OH7 du noyau A-His75 : liaison hydrogène O de la fonction carbonyle-Ser516 : liaison hydrogène
			Curcumin

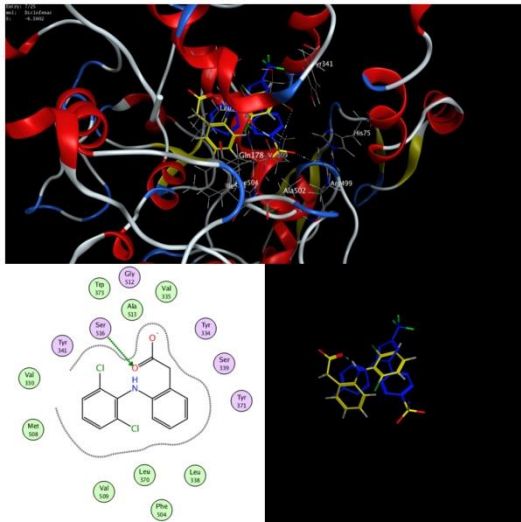
		hydrogène
Galangin		OH5 du noyau AArg106: liaison ionique
		OH5 du noyau A-Arg106: liaison ionique
Gingérol		OH5 du noyau A-OLeu338 : liaison hydrogène
		OH5 du noyau A-Arg499 : liaison hydrogène
Kaempferol		OH5 du noyau A-Arg499 : liaison ionique
		OH5 du noyau A-Arg106 : liaison ionique
Quercétine		OH5 du noyau A-His75 : liaison hydrogène
Resveratrol		OH3 du noyau A-Tyr371 : liaison pi
		Noyau B-Ser339 : liaison pi
		OH3 du noyau A-His75 : liaison hydrogène Noyau A-Ser339 : liaison pi

Les figures 49-66 présentent les interactions entre les ligands testés et la protéine d'intérêt avec une visualisation 3D de l'arrimage moléculaire de ses composés dont le composé de référence illustré en bleu et les composés testés en jaune avec leurs énergies d'affinité en kcal/mol et leurs RMSD en Å

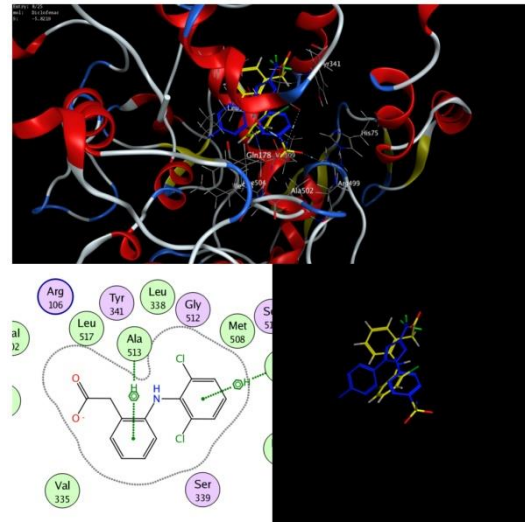


**Figure 49: Ammarge du l'acide acétylsalicylique ; énergie d'affinité :-5.994, RMSD : 1.2305**

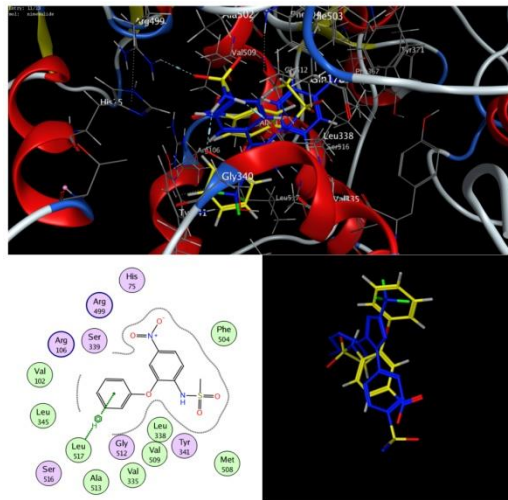




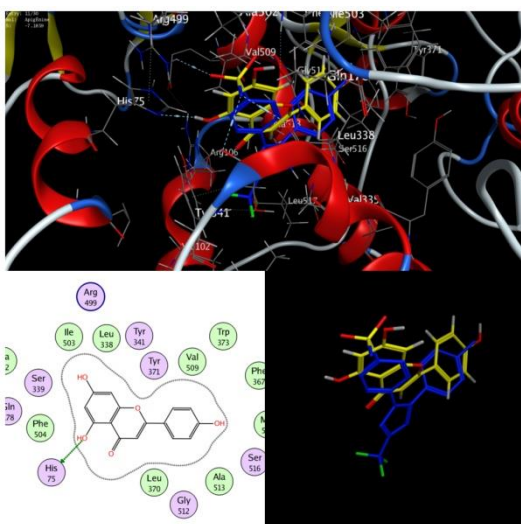
**Figure 50 : Amarrage du diclofenac ; énergie d'affinité : -6.5902, RMSD : 1.7092**



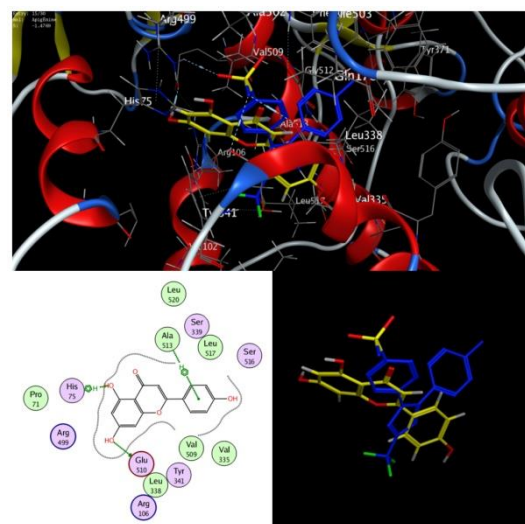
**Figure 51 : Amarrage du diclofenac ; énergie d'affinité : -5.8219, RMSD : 0.8836**



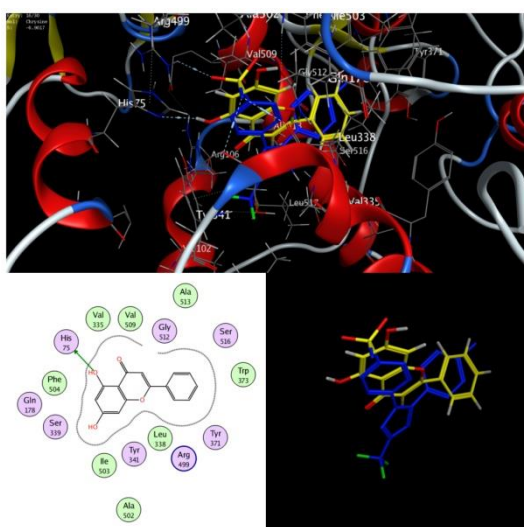
**Figure 52 : Amarrage de la nimesulide ; énergie d'affinité : -6.6425, RMSD : 1.2880**



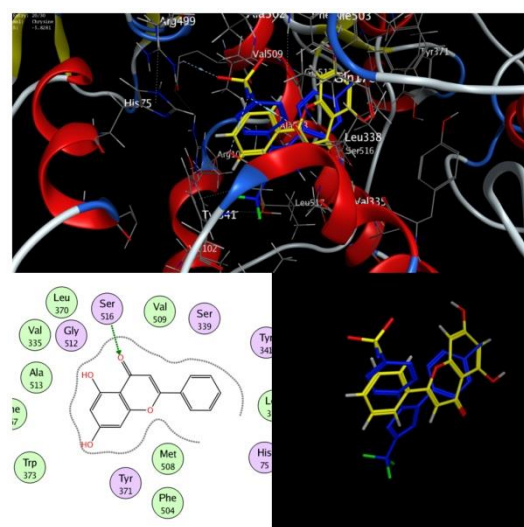
**Figure 53 : Amarrage de l'apigénine ; énergie d'affinité : -7.1859, RMSD : 0.8296**



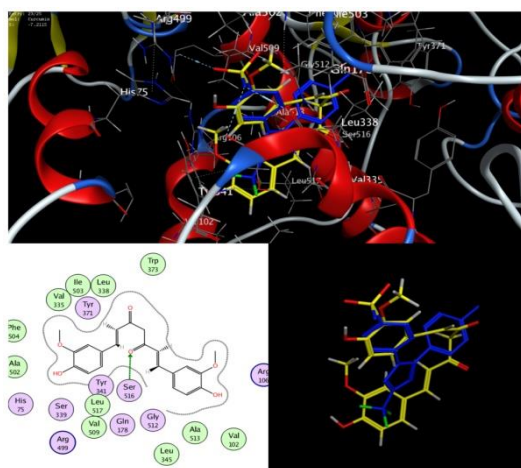
**Figure 54 : Amarrage de l'apigénine ; énergie d'affinité : -1.4769, RMSD : 0.7567**



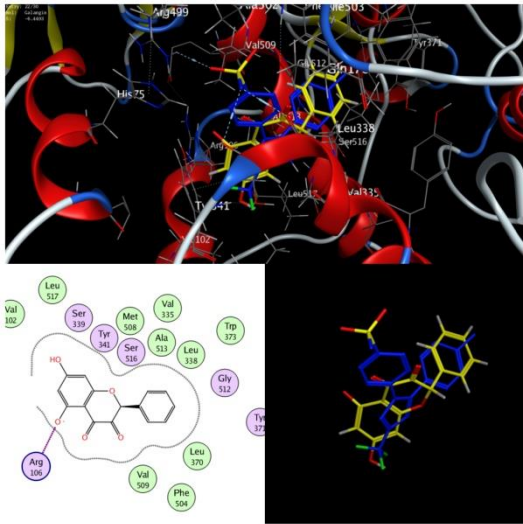
**Figure 55 : Amarrage de chrysin ;énergie d'affinité : -6.9017, RMSD :1.8532**



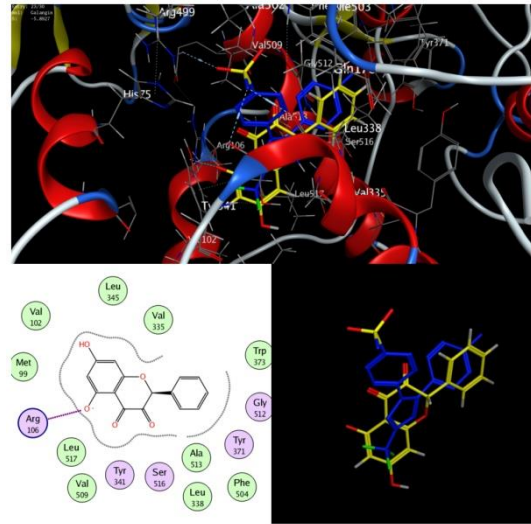
**Figure 56 : Amarrage de chrysin ;énergie d'affinité : -6.9017, RMSD :1.8532**



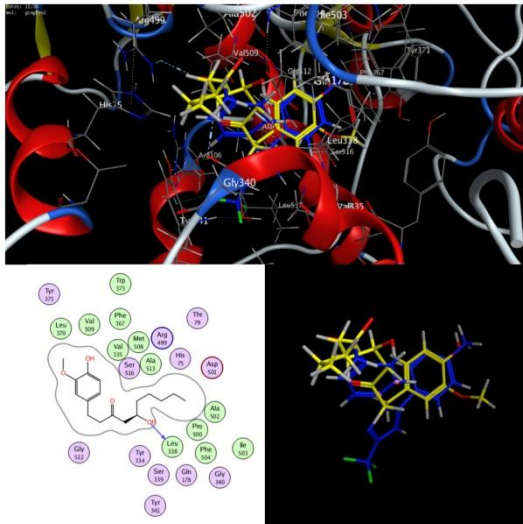
**Figure 57 : Amarrage de la curcumine ; énergie d'affinité :-7.2115, RMSD : 0.7194**



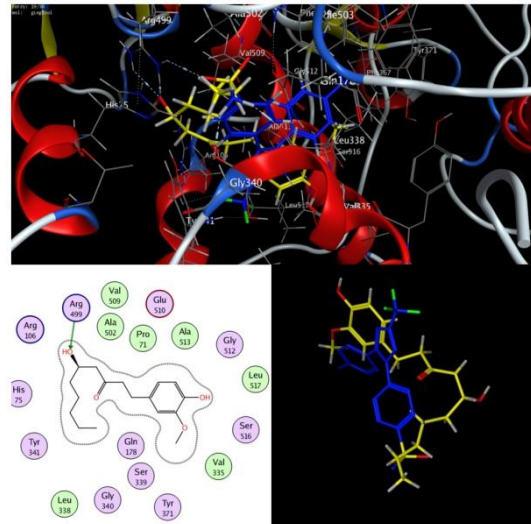
**Figure 58 : Amarrage du galangin ; énergie d'affinité : -6.4493, RMSD : 1.5807**



**Figure 59 : Amarrage du galangin ; énergie d'affinité : -5.8927, RMSD : 0.9485**



**Figure 60 : Amarrage du gingerol ; énergie d'affinité : -7.0089, RMSD : 1.3125**



**Figure 61 : Amarrage du gingerol ; énergie d'affinité : -6.9879, RMSD : 1.0157**

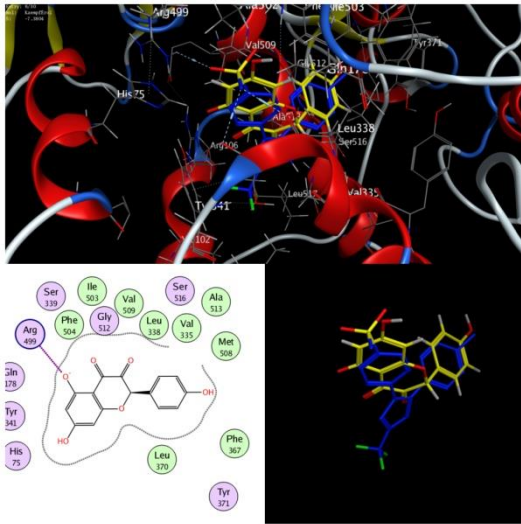


Figure 62 : amarrage de kaempférol ; énergie d'affinité -7.3804, RMSD : 1.9617

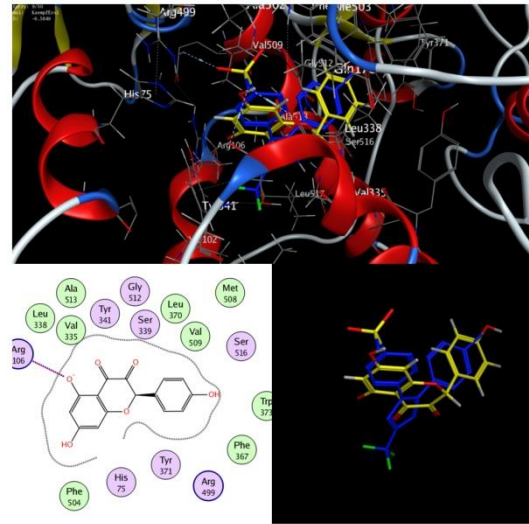


Figure 63 : amarrage de kaempférol ; énergie d'affinité -6.5849, RMSD : 1.0190

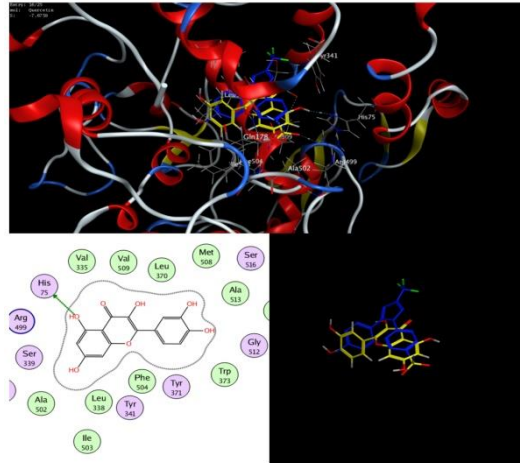


Figure 64 : amarrage de quercétine ; énergie d'affinité : -7.6759, RMSD : 0.9467

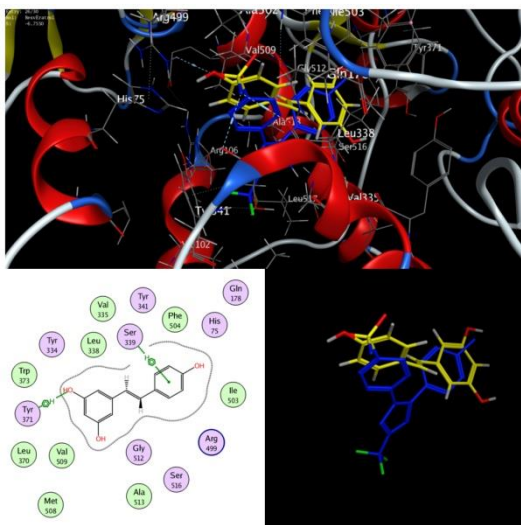


Figure 65 : amarrage du resvératrol ; énergie d'affinité : -6.7550, RMSD : 1.0819

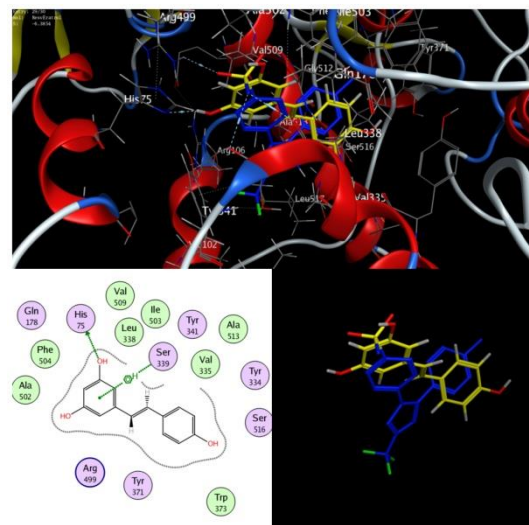


Figure 66 : amarrage du resvératrol ; énergie d'affinité : -6.3854, RMSD : 0.6440

Tableau récapitulatif des acides aminés du site actif de la COX-2 impliqués dans l'interaction avec les composés dockés (tableau 10)

Tableau 10 : les acides aminés impliqués dans l'interaction

<b>Composé docké</b>	<b>Nom de l'acide aminé et position</b>
Celecoxib	Leu338, Ser339, Arg499
Acide acétyl salicylique	Tyr341, Arg499
Diclofenac	Val509 , Ala513 ,Ser516
Nimésulide	Leu517
Apigénine	His75, Glu510, Ala513
Chrysine	His75, Ser516
Curcumin	Ser516
Galangin	Arg106
Gingérol	Leu338, Arg499
Kaempferol	Arg106, Arg499
Quercétine	His75
Resveratrol	His75, Ser339, Tyr371

Ce tableau montre que les composés bioactifs d'origine végétale présentent des similitudes avec les AINS en termes d'acides aminés impliqués dans l'interaction avec la 3LN1, notamment : Ser516, Leu338, Ser339, Ala513 et Arg499. Cependant, des différences d'interactions avec la 3LN1 par rapport aux AINS sont également observées, notamment avec : His75, Arg106, Tyr371 et Glu510. Cette différence pourrait s'expliquer par la complexité structurale unique de ces composés bioactifs, qui leur permet d'interagir de manière distinctive avec le site actif de la protéine.

## Discussion

L'objectif de cette étude est d'explorer le potentiel anti-inflammatoire des flavonoïdes et des non-flavonoïdes en analysant leur interaction avec la cyclooxygénase-2 (COX-2), une enzyme clé de la cascade inflammatoire. Le docking moléculaire, une technique de simulation informatique, a été utilisé pour analyser les liaisons entre les flavonoïdes et la COX-2, en les comparant aux interactions établies avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Vane et al, 1998 ; Bridoux, 2005 ; Kuwataniet al, 2006, Brogden et al, 2007 ; Emeraux, 2019 ; Haroun et al, 2023).

Avant d'effectuer le docking moléculaire, nous avons réalisé une analyse structurale de la chaîne A de la protéine 3LN1 co-cristallisée avec le célécoxib, téléchargée depuis la base de données PDB via le logiciel MOE. Cette analyse a révélé une structure primaire constituée de 605 acides aminés, avec une méthionine en position N-terminale et une leucine en position C-terminale. Une structure secondaire constituée en hélices alpha, en feuillets bêta parallèles et antiparallèles, ainsi qu'en coudes, pouvant servir de sites d'ancrage hydrophobes, des feuillets bêta fournissant des surfaces d'interaction planes et des coudes permettant une certaine flexibilité pour l'adaptation du ligand. La structure bien définie de la chaîne A, peut constituer une cible pour les études de docking moléculaire, permettant d'explorer l'interaction de la protéine avec divers ligands.

L'analyse du diagramme de Ramachandran par le logiciel MOE de la protéine 3LN1 révèle les conformations favorables des angles dièdres  $\phi$  (phi) et  $\psi$  (psi) des acides aminés. Ce diagramme montre que la protéine 3LN1 possède des hélices alpha, des feuillets bêta et des coudes, indiquant des structures secondaires stables et bien définies. La présence de ces conformations favorables confirme que la protéine 3LN1 est structurée correctement, ce qui est crucial pour des interactions fiables dans les simulations de docking moléculaire. Par conséquent, ce diagramme de Ramachandran valide l'utilisation de cette protéine pour des études de docking moléculaire en permettant une meilleure compréhension de la structure et de la flexibilité de la protéine, ce qui facilite l'identification des poches de liaison potentielles, la prédiction de la conformation du ligand et l'évaluation de l'affinité de liaison.

Différentes études ont montré que le diagramme de Ramachandran s'avère être un outil important pour le docking moléculaire en offrant une évaluation détaillée de la structure protéique et de ses interactions potentielles avec les ligands (Ramachandran et al, 1963 ; Branden et Tooze, 1999 ; Morris et al, 2009 ; Berg et al, 2015)

Après avoir préparé la protéine cible 3LN1 et les composés à l'aide du logiciel MOE, nous avons analysé l'interaction entre la protéine 3LN1 co-cristallisée avec le célécoxib et plusieurs composés, dont trois anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) : l'aspirine, le diclofénac et le nimésulide. Huit autres composés bioactifs, flavonoïdes et non flavonoïdes, ont également été testés : la curcumine, le gingérol, le kaempférol, la quercétine, la galangine, la chrysin, le resvératrol et l'apigénine.

En ce qui concerne la molécule de référence, célécoxib co cristallisé avec la 3LN1, les résultats du docking moléculaire ont révélé que le célécoxib se lie à la 3LN1 par des interactions de type hydrogène et hydrophobe avec les acides aminés Leu 338 Ser 339 et Arg 499. D'après les données bibliographiques le célécoxib se lie au site actif par des interactions hydrogène et hydrophobes avec les acides aminés Tyr 341, Phe 222 et Arg340. Le célécoxib se lie spécifiquement au site actif de la COX-2, empêchant ainsi l'enzyme de convertir l'acide arachidonique en prostaglandines inflammatoires. Le célécoxib se lie principalement à la poche active de la COX-2, formant des liaisons hydrophobes avec des acides aminés clés tels que le tryptophane 387 et la valine 523. Ces interactions stabilisent le complexe inhibiteur et empêchent la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines. (Silverstein et al, 2000 ; Riendeau et al, 2001 ; Bridoux, 2005; Xu et al, 2012; Tekin, et al, 2016; Na'imah et al, 2019 ; Emeraux, 2019 )

Le docking d'autres AINS connus comme inhibiteurs non spécifiques de la COX-2, tels que l'acide acétylsalicylique, le diclofénac et le nimésulide, a montré des interactions hydrogène hydrophobe et même ionique avec les acides aminés Tyr341, Arg499, Val509, Ala513, Ser516, Leu517. Ces interactions suggèrent une liaison moins spécifique au site actif de la COX-2, ce qui pourrait expliquer leur activité inhibitrice moins sélective par rapport au célécoxib. L'aspirine agit en acétylant le résidu sérine 530 de la COX-2, ce qui inhibe irréversiblement son activité enzymatique. Cette liaison covalente explique l'inhibition irréversible de la COX-2 par l'aspirine. (Silverstein et al, 2000 ; Surh et al, 2004 ; Bridoux, 2005 ; Seyoum et al, 2006 ; Abd-El-Aziz et al, 2011; Xu et al, 2012; Tekin et al, 2016 Emeraux, 2019)

Les résultats du docking moléculaire des 8 composés test avec la 3NL1 co cristallisé avec célécoxib a révélé des interactions avec le site actif de l'enzyme variable en fonction de la structure de ces composés. Les 8 composés flavonoïdes et non flavonoïdes ont montré des modes d'interaction distincts avec les acides aminés du site actif de la COX-2.

L'analyse approfondie des interactions hydrogène et hydrophobes met en lumière des similitudes et des différences entre les flavonoïdes et les AINS. Les AINS présentent des interactions hydrogène avec des acides aminés similaires, mais également des interactions uniques qui ne sont pas observées avec les composés flavonoïdes et non flavonoïdes comme (Tyr341, Val509 et Leu517). Cela suggère que les flavonoïdes peuvent interagir avec le site actif de la COX-2 de manière plus complexe et étendue que les AINS.

Les résultats du docking moléculaire montrent que les composés bioactifs présentent certaines similitudes de liaison avec le site actif de la 3LN1, similaires à celles observées avec les trois AINS. Ces similitudes incluent des interactions avec des acides aminés spécifiques (Ser516, Leu338, Ser339, Ala513 et Arg499.), ce qui peut s'expliquer par la présence de groupes structuraux communs, tels que les groupes phénols, hydroxyles et méthoxyles, impliqués dans les interactions avec le site actif de la protéine COX-2.

Cependant, les huit composés bioactifs montrent également des interactions avec certains acides aminés du site actif de COX-2 (His75, Arg106, Tyr371 et Glu510) qui ne sont pas

observées avec les trois AINS. Cela pourrait s'expliquer par la complexité structurale unique de ces composés bioactifs, qui leur permet d'interagir de manière distinctive avec le site actif de la protéine.

Les flavonoïdes partagent une structure de base commune composée de deux anneaux benzéniques (A et B) reliés par un hétérocycle de trois carbones (anneau C). Les variations dans la substitution des groupes fonctionnels sur ces anneaux influencent significativement leur activité biologique (Baumann et al, 1980; Middleton et al, 2000; Ross et al, 2002 ; Castellano et al, 2013; Panche et al, 2016; Emeraux, 2019; Rayar, 2017)

De nombreuses études se sont penchées sur les mécanismes d'action des flavonoïdes en tant qu'inhibiteurs de la COX-2, révélant une diversité de modes d'action. Il a été rapporté que les flavonoïdes peuvent agir selon plusieurs mécanismes

Les flavonoïdes peuvent inhiber la COX-2 par différents mécanismes, notamment en bloquant l'accès du substrat à l'enzyme ou en interférant avec son activité catalytique et empêcher la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines. Cette liaison peut être compétitive ou non compétitive, selon le flavonoïde spécifique (Surh, et al., 2004 ; Liu et al, 2005; Seyoum et al, 2006; Abd-El-Azizet al, 2011; Kumar et al, 2013 ; Liu et al, 2017; Rayar, 2017 ; Emeraux, 2019)

La COX-2 nécessite plusieurs co-facteurs pour fonctionner, notamment le fer hémique et le peroxyde de nitrogène. Les flavonoïdes peuvent chélater le fer hémique ou inhiber la production de peroxyde de nitrogène, ce qui peut empêcher l'activité de la COX-2 (Surh et al, 2004; Seyoum et al, 2006; Abd-El-Azizet al, 2011; Zhang et al., 2015 ; Rayar, 2017; Emeraux, 2019)

La COX-2 est une enzyme membranaire et son activité peut être affectée par la composition des lipides de la membrane. Les flavonoïdes peuvent modifier la composition des lipides membranaires, ce qui peut perturber l'activité de la COX-2 (Seyoum et al, 2006 ; Calderón-Montaña et al, 2011; García-Lafuente et al, 2013 ; Rayar, 2017 ; Emeraux, 2019) .Il existe des similitudes structurales entre les AINS et les flavonoïdes dans leur capacité à inhiber la COX-2. Les deux types de composés ont des interactions potentielles avec les sites actifs de l'enzyme COX-2. Ils peuvent tous les deux former des liaisons avec des résidus clés de la COX-2, perturbant ainsi son activité enzymatique (Liu et al, 2005 ; Calderón-Montaña et al, 2011; Zhang, et al, 2015 ; Liu et al, 2017 ; Rayar, 2017) . En effet, des études ont montré que la capacité de ces composés à inhiber COX-2 est largement influencée par la présence des motifs aromatiques et la position des groupes hydroxyle et méthoxy sur leurs structures chimiques.. Ces motifs peuvent leur permettre de se lier à la COX-2 de manière similaire aux AINS, mais avec des interactions plus étendues en raison de leur taille et de leur complexité. (Middleton et al, 2000 ; Kim et al, 2004 ; Tamaoki et al, 2006 ; Seyoum et al, 2006 ; Rayar A.M ,2017)

Les flavonoïdes se lient souvent au site actif de COX-2 via des interactions hydrogène et hydrophobes. Les groupes hydroxyle peuvent former des liaisons hydrogène avec les résidus d'acides aminés dans le site actif de l'enzyme, tandis que les groupes méthoxy peuvent interagir hydrophobiquement. La présence de groupes hydroxyle (-OH) sur les anneaux A, B et C peut augmenter l'activité inhibitrice sur COX-2 (Kim et al, 2004; **Tamaoki et al, 2006** ; Emeraux, 2019). Les flavonoïdes avec plusieurs groupes hydroxyle, tels que la quercétine,



montrent souvent une meilleure activité anti-inflammatoire. Les groupes hydroxyle en position 5 et 7 de l'anneau A et en position 3' et 4' de l'anneau B sont souvent associés à une activité inhibitrice plus forte (Seyoum et al, 2006 ; García-Lafuente et al, 2009 ; Russo et al, 2012 ; Kumar et Pandey, 2013 ; Rayar, 2017)

L'introduction de groupes méthoxy sur le noyau flavonoïde peut augmenter la lipophilicité, permettant une meilleure pénétration cellulaire et éventuellement une interaction plus efficace avec le site actif de COX-2. La méthylation des groupes hydroxyle, c'est-à-dire leur conversion en groupes méthoxy (-OCH<sub>3</sub>), peut affecter l'activité. L'apigénine (avec une structure 4',5,7-trihydroxyflavone) a des groupes hydroxyle spécifiques qui sont importants pour son interaction avec COX-2.(Baumann et al, 1980 ; Middleton et al, 2000; Surh, et al, 2004 ;D'Mello et al, 2011; Wang et al, 2014; RajuDashet al, 2015 ; Emeraux, 2019). Les variations structurelles flavonoïdes par rapport aux AINS, modulent également leur efficacité en tant qu'inhibiteurs de COX-2

En conclusion ; L'étude de l'interaction des flavonoïdes avec la COX-2 par le docking moléculaire peut fournir des informations précieuses sur leur potentiel en tant qu'agents anti-inflammatoires. La compréhension des mécanismes d'action spécifiques des flavonoïdes pourrait conduire au développement de nouveaux médicaments plus efficaces et plus sélectifs pour le traitement de l'inflammation.

## Conclusion

L'inflammation est un processus physiologique complexe impliquant une cascade d'événements cellulaires et moléculaires visant à éliminer les agents nocifs et à réparer les tissus endommagés. Bien que l'inflammation soit un mécanisme de défense essentiel, une inflammation chronique non contrôlée peut entraîner des pathologies telles que l'arthrite, les maladies cardiovasculaires et le cancer. La recherche de nouvelles thérapies anti-inflammatoires plus efficaces et moins toxiques est donc un enjeu majeur de santé publique.

Dans ce contexte, l'exploration du potentiel anti-inflammatoire des flavonoïdes ou non flavonoïdes, des composés naturels présents dans les fruits et légumes conduit à une investigation de leur interaction avec la cyclooxygénase-2 (COX-2), une enzyme clé dans la cascade inflammatoire. Le docking moléculaire, une technique de simulation informatique, a été employé pour analyser les liaisons entre les flavonoïdes et la COX-2, en les comparant aux interactions établies avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens

L'étude de docking moléculaire réalisée a permis d'explorer les interactions entre les composés bioactifs flavonoïdes et non flavonoïdes dont la curcumine, Le resvératrol, La quercétine, Le kaempférol, l'apigénine, la chrysin, le gingerol, le galangin et la protéine COX-2 (code 3LN1, co cristallisé avec le celecoxib, un inhibiteur spécifique de la COX-2, en les comparant avec des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) bien connus (celecoxib, acide acétyl salicylique et diclofenac). Les scores de liaison, les RMSD et les interactions avec les résidus d'acides aminés du site actif de la COX-2 ont été analysés pour chaque composé bioactif. Cette étude nous permettra de mieux comprendre la capacité de ces composés à moduler l'activité de la COX-2 et à potentiellement inhiber l'inflammation.

Les résultats du docking moléculaire ont montré que les huit composés bioactifs testés présentent des scores de liaison, des RMSD et des interactions avec le site actif de la COX-2 variables en fonction de leurs structures. Certains composés partagent des interactions communes avec des AINS connus, tandis que d'autres présentent des interactions spécifiques avec le site actif de l'enzyme. Tous les composés partagent des motifs structuraux communs avec les AINS, tels que des groupes phénoliques, hydroxyles et méthoxy, qui sont impliqués dans les interactions avec les résidus d'acides aminés du site actif.

Des études expérimentales approfondies peuvent être envisagées pour confirmer l'activité anti-inflammatoire des composés les plus prometteurs. À ce titre, des tests *in vitro* et *in vivo* permettront d'évaluer leur efficacité et leur innocuité dans des modèles cellulaires et animaux.

De plus, des modifications structurelles ciblées pourraient être envisagées pour optimiser l'affinité et la puissance inhibitrice des composés. Cela permettrait d'améliorer leur potentiel thérapeutique et de les rendre plus compétitifs par rapport aux AINS conventionnels.

En conclusion, l'exploration du potentiel anti-inflammatoire des flavonoïdes par le docking moléculaire ouvre de nouvelles perspectives encourageantes pour le développement de traitements innovants contre l'inflammation. Des recherches futures approfondies permettront de concrétiser ce potentiel et de proposer de nouvelles solutions thérapeutiques plus efficaces et mieux tolérées.

## Référence bibliographique

Achat, S. 2013. Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de doctorat en biologie. Université A. Mira-Bejaia, Algérie. 261p.

Akli, A., Belakhdar, H., Boursila, F., & Tali, I. 2022. Etude par docking moléculaire de l'affinité de nouveaux analogues de la rivastigmine pour l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mouloud Mammeri, Algérie. 140 p.

André, J. 2012. Modélisation moléculaire de complexes Tubuline-Ligand. Thèse de doctorat en Bioinformatique. Université d'Évry-Val-d'Essonne, France. 183p.

Arrault, A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat en Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Université d'Orléans, France. 2007. 190p.

Athamena S., - Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminumcuminum* et les feuilles de *Rosmarinusofficinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de magister de l'Université de Batna, 2009.

Atta ur Rahman, M., Choudhary, M. I., & Atia-tul-Wahab, et al. 2018. Anti-inflammatory potential of some selected Pakistani medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 318-331.

Bakhle, Y. S. 2001. COX-2 and cancer: a new approach to an old problem. *British Journal of Pharmacology*, 1137-1150.

Bannwarth, B. 2001. Inhibiteurs sélectifs de COX-2: AINS et estomac enfin réconciliés?. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 79-85.

Benaida, H., & Terea, S. 2019. Évaluation des biomarqueurs de la toxicité pulmonaire de deltaméthrine et lambda-cyhalothrine chez les souris et action protectrice d'un extrait végétal (Doctoral dissertation, Université Laarbi Tebessi Tebessa).

Bensaid, A., Bourdoulous, S., Lerhun, D., Calvez, D., Droogman, L., Martinez, D., & Couraud, P. O. 1993. Expression d'interleukine 6 après infection par *Cowdria ruminantium* de cellules endothéliales de cerveau bovin. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, p 195.

Benzahi, K. 2001. Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon dactylon* L. Mémoire de magister en chimie organique. Université de Ourgla, Algérie. 102p.

Bessadok, A. 2011. La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine: Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. Thèse de doctorat en Bioinformatique Structurale. Université Pierre et Marie Curie-Paris, France. 206 p.

- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J. 2015. *Biochemistry* (8th ed.). New York: W.H. Freeman and Company.
- Bezière, N. 2008. Optimisation du concept d'inhibition de cyclooxygénase dans le traitement du cancer de la prostate (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
- Biswas, K., Chatin, K. M., & Grunberg, N. E. 2017. Gingerols: Emerging role in inflammatory disease and pain management. *Journal of Inflammation Research*, 375-382.
- Blain, H. 2002. Exploration in vitro et ex vivo du pouvoir inhibiteur des anti-inflammatoires non stéroïdiens vis-à-vis des iso-enzymes de la cyclooxygénase (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).
- Blouaum, A. L., & Marnett, L. J. 2007. Structural and functional basis of cyclooxygenase inhibition. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1425-1441.
- Bouchagra, S. 2018. Modélisation des interactions protéine-petites molécules: étude de la relation structure-fonction dans le cas des lipases. Thèse de doctorat en chimie organique et bioorganique. Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie. 145 p.
- Boukerche, O. 2013. Analyse par modélisation moléculaire des modes de reconnaissance d'une série d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. (Mémoire de master, Université Houari Boumediène, Algérie).
- Boizot, N., & Charpentier, J.P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Branden, C., Tooze, J. 1999. *Introduction to Protein Structure (2nd ed.)*. New York: Garland Science.
- Bridoux, A. 2005. Conception, synthèse et évaluation pharmacologique de  $\gamma$ -carboline, inhibiteurs potentiels de 5-lipoxygénase et de cyclooxygénases (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
- Calderon-Montano, J. M., Burgos-Morón, E., Pérez-Guerrero, C., & López-Lázaro, M. 2011. A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 298-344.
- Chalumeau, C. 2010. Développement d'outils chimiques pour l'élucidation de la biosynthèse des flavonoïdes du raisin: Anthocyanes versus proanthocyanidines (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).
- Chandrasekharan, N. V., Dai, H., Roos, K. L. T., Evanson, N. K., Tomsik, J., Elton, T. S., ... & Simmons, D. L. 2002. COX-2--the role of COX-2 in inflammation and pain. *British Journal of Pharmacology*, 1068-1096.

- Chavant, A., Gautier-Veyret, E., Chhun, S., Guilhaumou, R., & Stanke-Labesque, F. 2020. Modifications pharmacocinétiques liées à une infection aiguë. Exemples issus de la pandémie de SARS-CoV-2. Dans *Thérapies* (pp. 319-333). Elsevier Masson.
- Chevrollier, N. 2019. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Thèse de doctorat en Sciences de la vie et de la santé. Université Paris-Saclay, France. 196 p.
- Chikhi, A., & Bensegueni, A. 2008. Comparative study of the efficiency of three protein-ligand docking programs. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*, 161-165.
- Chikhi, A. 2007. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase–substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" moléculaire. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de Mentouri Constantine, Algérie. 126p.
- Collège des Enseignants d'Immunologie. 2018. *Immunologie fondamentale et immunopathologie*. Elsevier Masson.
- Dandachli, F. 2010. Régulation de la fonction plaquettaire par un aptamère dirigé contre le domaine A1 du facteur Von-Willebrand.
- Danowski, R. 1991. Inflammation en rhumatologie. Dans *Annales de kinésithérapie* (pp. 233-240). Elsevier Masson.
- Delort, B. 2018. Études par dynamique moléculaire de l'interaction de Récepteurs Couplés aux Protéines-G avec leurs partenaires extra et intra-cellulaires. Thèse de doctorat en Ingénierie Moléculaire. Université Montpellier, France. 224p.
- Denis, M. C. 2016. Effets préventifs et thérapeutiques des polyphénols dans un modèle in vitro et in vivo de maladie inflammatoire de l'intestin: caractérisation des polyphénols de la pelure de pomme et de la canneberge par spectrométrie de masse.
- Desaphy, J. 2013. L'analyse structurale de complexes protéine/ligand et ses applications en chémogénomique. Thèse de doctorat en chémoinformatique. Université de Strasbourg, France. 198p.
- Fitzgerald, G. A. 2004. Coxibs and cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine*, 1709-1711.
- Gallois, C. 2001. Rôle clé de la COX-2 dans l'inhibition de la prolifération des cellules étoilées du foie myofibroblastiques humaines. (Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, France).
- Garavito, R. M., & DeWitt, D. L. 1999. The cyclooxygenase isoforms: structural insights into the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 278-287.
- Ghedira, K. 2005. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 162-169.

Gougerot-Pocidalò, M. A., El Benna, J., Elbim, C., Chollet-Martin, S., & Dang, M. C. 2002. Régulation de l'explosion oxydative des polynucléaires neutrophiles humains par les cytokines pro- et anti-inflammatoires. *Journal de la Société de Biologie*, 196(1), 37-46.

Grandin, M. 2013. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, utilisation et conseils dans la pratique officinale quotidienne. Thèse de doctorat en pharmacie. Université d'Angers. France. 115 p.

Grosdidier, A. 2007. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier, France. 90p.

Gueye, R. 2013. Conception, synthèse et évaluation biologique de nouveaux dérivés flavonoïdiques inhibiteurs potentiels de la cyclooxygénase-2. Thèse de doctorat en chimie organique. Université de Limoges, France. 199p.

Haroun, M., et al. 2023. Identification of Novel Cyclooxygenase-1 Selective Inhibitors of Thiadiazole-Based Scaffold as Potent Anti-Inflammatory Agents with Safety Gastric and Cytotoxic Profile. *Molecules*, 3416-3434.

Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J. Y. 2001. Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, p 433-442.

Hla, T., & Neilson, K. 1992. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 7384-7388.

Hoffer, L. 2013. Développement et validation du logiciel S4MPLE: application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design. Thèse de doctorat en chimoinformatique. Université de Strasbourg, France. 165p.

Jacob, V., Hagai, T., Soliman, K. 2011. Structure-activity relationships of flavonoids. *Current Organic Chemistry*, 2641-2657

Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. J. 2001. *Immunobiology: The immune system in health and disease*. Garland Publishing.

Kam, P. C. A., & See, A. U. L. 2000. Cyclo-oxygenase isoenzymes: physiological and pharmacological role. *Anaesthesia*, 442-449.

Kim H.P., Son K.H., Chang H.W., Kang S.S.,- Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms-. *PharmacolSci.*, 2004., 229-45

Kurumbail, R. G., Kiefer, J. R., & Marnett, L. J. 2001. Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition. *Current Opinion in Structural Biology*, 752-760.

Kuwatani, S., Ishizaki, T., Kawai, S., & Misawa, S. 2006. Cyclooxygenases: new frontiers in inflammation and its related diseases. *Journal of biomedical science*, p 653-660.

Lacave-Lapalun, J. V. 2013. Réponse immunitaire induite par l'irradiation colorectale : manipulation thérapeutique des « toll like receptors ». (Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie).

Lalout, W. 2016. Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules: Cas de la Maladie de Parkinson. Thèse de doctorat en Chimie-physique. Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, Algérie. 76p.

Liebschner, D. 2010. Propriétés électrostatiques et structurales des protéines diffractant à haute résolution (Doctoral dissertation, Nancy 1). Boutin, J. A., Li, Z., Vuillard, L., & Vénien-Bryan, C. 2016. La cryo-microscopie, une alternative à la cristallographie aux rayons X?. *Médecine/Sciences*, 758-767.

Lora, M. 1996. Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

L'Exact, M. 2023. Étude de la relation structure-perméabilité de macrocycles semi-peptidiques au-delà de la règle des 5 de Lipinski. Thèse de doctorat en pharmacologie. Université Laval, Canada. 224p.

Mahajan, R, N, T, S, S. 2014. Molecular docking studies of novel flavones as cyclooxygenase-2 (Cox 2) Inhibitors. *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*, 330-338.

Mahdjoub, Y. 2010. Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini « Application docking moléculaire ». Thèse de magister en Informatique. Université Mohamed Boudiaf des sciences et de la technologie d'Oran, Algérie. 100 p.

Malaise, M. 1996. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Revue Médicale de Liège*, 123-125.

Male, D., Roitt, Y., Brostoff, J., & Roth, B. D. 2007. *Immunologie : compus de référence*. Elsevier Masson.

Manicone, A., & McGuire, J. 2008. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. *Séminaires en biologie cellulaire et du développement*, p 34–41.

Marfak, A. 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat en biophysique. Université de Limoges, France. 200p.

Martin, D. 2003. Ains et douleur: actualités chez les carnivores domestiques (Doctoral dissertation).

Medzhitov, R., Schneider, D. S., & Soares, M. P. 2012. Disease tolerance as a defense strategy. *Science*, 936-941.

Medzhitov, R. 2008. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435.

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T., & C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, p 651–674.

Milane, 2004, - La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres études et applications thérapeutiques . Thèse de doctorat Strasbourg ( France)

Miramont, C. 2021. Appréciation des tanins, de la couleur et de l'astringence des raisins, moûts et vins par technologies analytiques IRTF et UV-visible couplées à l'analyse de régression multivariée. Thèse de doctorat en œnologie. Université de Bordeaux, France. 281p.

Mizuno, H., Sakamoto, C., Matsuda, K., et al. 1997. Induction of cyclooxygenase 2 in gastric mucosal lesions and its inhibition by the specific antagonist delays healing in mice. *Gastroenterology*, 387-397.

Morita, I., Schindler, M., Regier, M. K., Otto, J. C., Hori, T., DeWitt, D. L., & Smith, W. L. 1995. Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2. *Journal of Biological Chemistry*, 10902-10908.

Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, p 2785-2791

Muster, D. 2005. Médicaments de l'inflammation. *EMC-Stomatologie*, 21-29.

Nathan, C. 2006. Neutrophils and macrophages: The frontline cells of infection control. *Nature Reviews Immunology*, 6(3), 416–426.

Ngene, J.P., Ngoule, C.C., Kidik, C.P., Ottou, P.M., Dibong, S.D., Mpondo, E.M. 2015. Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 8194-8210.

Noack, M., & Kolopp-Sarda, M. N. 2018. Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie et Utilisation thérapeutique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(504), 28-37.

Nuhrich, A. 2015. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). UFR des sciences pharmaceutiques, université de Bordeaux. Wirth, H.P., Hürlimann, R., Flückiger, T. (2006). Les Forum Médical Suisse. AINS et les inhibiteurs de la COX-2: principaux effets indésirables. *Forum Médical Suisse*, 284–290.

Panickar, K. S., & Polasa, K. 2016. Anti-inflammatory activity of curcumin: A review. *Journal of Herbal Medicine*, 272-278.

Patrono, C., Patrignani, P., & García Rodríguez, L. A. 2006. Cyclooxygenase-2 in cardiovascular disease: Beyond its role in inflammation. *Journal of the American College of Cardiology*, 2104-2112.



Penning, T. D., Talley, J. J., Bertenshaw, S. R., et al. 1997. Synthesis and biological evaluation of the 1, 5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1 H-pyrazol-1-yl] benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib). *Journal of Medicinal Chemistry*, 1347-1365.

Pillon, F. (2014). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Actualités Pharmaceutiques*, 43-46.  
Blain, H., Jouzeau, J. Y., Netter, P., Jeandel, C. 2000. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *La revue de médecine interne*, p 978-988.

Podjarny, A., Howard, E., Mitschler, A., Chevrier, B., Lecomte, C., Guillot, B., & Jelsch, C. 2001. La radio-cristallographie à résolution subatomique. *Bulletin de la Société Française de Physique*, 131, 12.

Rahmani, Z. 2015. Étude de la relation structure-activité antioxydante et antihémolyse des érythrocytes humaines par quelques dithiolethiones et composés phénoliques (Doctoral dissertation, Université de Ouargla-Kasdi Merbah).

Ramachandran, G. N., Ramakrishnan, C., Sasisekharan, V. 1963. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *Journal of Molecular Biology*, p 95-99.

Rayar, A. M. 2017. In silico drug design et chimie médicinale: développement de nouvelles molécules coumariniques, sélectives de la cyclooxygénase-2. Thèse de doctorat en Médecine humaine et pathologie. Conservatoire national des arts et métiers. France. 378 p.

Rejeb, I. Etude de l'effet de l'irradiation sur les polyphénols du curcumin. Projet de Fin d'Etudes en biologie d'ingénieur. Université du 7 novembre à Carthage, Tunisie 2008. 55p.

Renvez, G. 2010. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines: vers un processus de docking. Thèse de doctorat en nanophysique. Université Paul Sabatier – Toulouse, France. 151p.

Riccioli, E., Patrignani, P., & FitzGerald, G. A. 2003. Role of cyclooxygenase-2 in inflammation. *Pharmacological Research*, 897-917.

Riendeau, D., Percival, M. D., Brideau, C., et al. 2001. Etoricoxib (MK-0663): preclinical profile and comparison with other agents that selectively inhibit cyclooxygenase-2. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 558-566.

Rira, M. 2019. Hydrolysable and condensed tannins: a way for reducing enteric methane production by ruminants in tropical environments. Thèse de doctorat en agronomie. Université Clermont Auvergne, France. 216p.

Roitt, I. M. 1990. *Immunologie*. Londres : Pradel Editions.

Saffidine, K. 2018. Étude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L (Doctoral dissertation).

- Schulz-Gasch, T., & Stahl, M. 2004. Scoring functions for protein–ligand interactions: a critical perspective. *Drug Discovery Today: Technologies*, 231-239.
- Serhan, C. N., Chiang, N., & Dalli, J. 2015. The resolution code of acute inflammation: Novel pro-resolving lipid mediators in resolution. *Seminars in Immunology*, 200-215.
- Simard, F. 2012. Régulation de l'expression génique et de la sécrétion des cytokines chez le neutrophile humain: implication de la voie des MAPK MEK/ERK et son découplage (Doctoral dissertation, Université de Sherbrooke).
- Simon, C. 2022. Rôle de la cyclooxygénase-2 dans l'inflammation et le développement des maladies inflammatoires chroniques. (Thèse de doctorat, Université de Lille).
- Smith, W. L., Garavito, R. M., & DeWitt, D. L. 1996. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and- 2. *Journal of Biological Chemistry*, 33157-33160.
- Takano-Ishikawa, Y., Goto, M., Yamaki, K. 2006. Structure–activity relations of inhibitory effects of various flavonoids on lipopolysaccharide-induced prostaglandin E2 production in rat peritoneal macrophages: Comparison between subclasses of flavonoids. *Phytomedicine*, 310-317.
- Vane, J. R., Botting, R. M., & Botting, J. H. 1998. The cyclooxygenase family: New insights on inflammation and pain. *British Journal of Pharmacology*, 204-215.
- Vane, J. R., & Botting, R. M. 1998. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflammation Research*, 78-87.
- Vane, J. R. 1971. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for the aspirinlike drugs. *Nature*, 232-235.
- Vaya, J., Tavori, H., Khatib, S. 2011. Structure-Activity relationship of flavanoids. *Current Organic Chemistry*, 2641-2657.
- Vieth, M., Hirst, J.D., Kolinski, A., & Brooks III, C.L. 1998. Assessing energy functions for flexible docking. *Journal of Computational Chemistry*, 1612-1622.
- Weill, B., & Batteux, F. 2003. Immunopathologie et réactions inflammatoires. *Sciences médicales série Laennec. De Boeck*.
- Zeghal, K. M., & Sahnoun, Z. 2013. La réaction inflammatoire et le stress oxydant. Dans *Médecines D'Asie — Savoirs & Pratiques* (pp. 47-53). Springer.
- Zerari, A. 2022. Étude in Silico de l'inhibition enzymatique par des molécules bioactives.
- Zernecke, A., & Weber, C. 2010. Chemokines in the vascular inflammatory response of atherosclerosis. *Cardiovascular Research*, p 192-201.
- Zhang, Y. M., Zhang, Z. Y., & Wang, R. X. 2020. Protective mechanisms of quercetin against myocardial ischemia reperfusion injury. *Frontiers in Physiology*, 506938.

Zhang, J., Sio, S. W. S., Mochhala, S., & Bhatia, M. 2010. Role of hydrogen sulfide in severe burn injury-induced inflammation in mice. *Molecular Medicine*, 417-424.