

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
جامعة الدكتور مولاي الطاهر - سعيدة
Université Dr. MOULAY Tahar – Saida
Faculté de Science Naturelle et de Vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Sciences Biologiques
Spécialité :
Biochimie
Thème :

**Prédiction de l'activité anti-inflammatoire des
flavonoïdes par modélisation QSAR : Sélection de
composés prometteurs.**

- Présenté par : GOURA Nafissa

Soutenu le : 12/06/2025

Devant le jury composé de :

Président : Pr KAHLOULA .K

Examineur : Pr ADLI .D.E.H

Examinatrice : Dr BENDAOUD .A

Rapporteur : Pr SLIMANI .M

Année universitaire : 2024 – 2025

Résumé

L'objectif de cette étude QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) est de prédire l'activité inhibitrice de composés naturels flavonoïdes sur la cyclooxygénase-2 (COX-2), à partir d'un modèle construit sur un ensemble d'entraînement de 20 anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

Les flavonoïdes sélectionnés appartiennent à trois grandes classes : les flavones, les flavonols et les flavanones. Le modèle QSAR, élaboré selon la méthode PLS, montre une corrélation acceptable ($R^2 = 0,725$) entre six descripteurs moléculaires et l'activité inhibitrice des composés sur la COX-2.

Les prédictions ont révélé un classement des flavonoïdes, identifiant la galangine, la chrysin et la fisétine comme les plus actifs, avec une activité comparable à celle d'inhibiteurs non sélectifs tels que l'aspirine, l'ibuprofène ou le naproxène. En revanche, ces composés présentent une activité inhibitrice nettement inférieure à celle des inhibiteurs sélectifs de la COX-2, comme le célécoxib. L'analyse structure-activité (SAR) a mis en évidence l'importance de la planéité moléculaire, des groupements hydroxyles bien positionnés, ainsi que de la lipophilie dans l'affinité des flavonoïdes pour le site actif de COX-2.

Ces résultats suggèrent que certains flavonoïdes de type flavone, bien que moins puissants que les inhibiteurs sélectifs, pourraient offrir une inhibition modérée de la COX-2 avec potentiellement moins d'effets indésirables, ce qui les rend intéressants en tant que molécules bioactives candidates à un développement thérapeutique anti-inflammatoire d'origine naturelle.

Mots-clés : Anti-inflammatoires, Aspirine, Célécoxib, Chrysin, COX-2, Fisétine, Flavonoïdes, Galangine, Ibuprofène, Inhibition, Naproxène, QSAR, Structure-activité.

Abstract

The objective of this QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) study was to predict the inhibitory activity of natural flavonoid compounds on cyclooxygenase-2 (COX-2), using a model built from a training set of 20 nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs).

The selected flavonoids belong to three main subclasses: flavones, flavonols, and flavanones. The QSAR model, developed using the Partial Least Squares (PLS) method, showed an acceptable correlation ($R^2 = 0.725$) between six molecular descriptors and COX-2 inhibitory activity.

Predictions revealed a ranking of the flavonoids, identifying galangin, chrysin, and fisetin as the most active, with inhibitory activity comparable to that of non-selective COX-2 inhibitors such as aspirin, ibuprofen, or naproxen. In contrast, these compounds exhibit significantly lower inhibitory activity than selective COX-2 inhibitors such as celecoxib.

The structure–activity relationship (QSAR) analysis highlighted the importance of molecular planarity, well-positioned hydroxyl groups, and lipophilicity in the binding affinity of flavonoids for the COX-2 active site.

These findings suggest that certain flavones may serve as promising natural candidates for the development of selective COX-2 inhibitors. Future work should focus on experimental validation, structural optimization, and integration into rational drug design strategies.

Keywords: Anti-inflammatory drugs, Aspirin, Celecoxib, Chrysin, COX-2, Fisetin, Flavonoids, Galangin, Ibuprofen, Inhibition, Naproxen, QSAR, Structure-activity.

ملخص

هدفت هذه الدراسة باستخدام علاقات الكم بين البنية والنشاط (QSAR) إلى التنبؤ بالنشاط المثبط لمركبات الفلافونويد الطبيعية على إنزيم السيكلوأوكسيجيناز-2 (COX-2)، باستخدام نموذج تم بناؤه انطلاقاً من مجموعة تدريب مكونة من 20 دواءً مضاداً للالتهاب غير ستيرويدي (NSAIDs). تنتمي مركبات الفلافونويد المختارة إلى ثلاث فئات رئيسية: الفلافونات، الفلافونولات، والفلافانونات.

تم تطوير نموذج الـ QSAR باستخدام طريقة الانحدار الجزئي الأقل تربيعاً (PLS)، وأظهر هذا النموذج ترابطاً مقبولاً ($R^2 = 0.725$) بين ست واصفات جزيئية والنشاط المثبط لـ COX-2. كشفت التنبؤات عن ترتيب لمركبات الفلافونويد، حيث تم تحديد الغالانجين، الكريسين، والفيسيتين كأكثر المركبات نشاطاً، بنشاط مثبط مماثل لتلك الأدوية غير الانتقائية لـ COX-2 مثل الأسبرين، الإيبوبروفين، أو النابروكسين. وعلى العكس من ذلك، فإن هذه المركبات تُظهر نشاطاً مثبطاً أقل بكثير مقارنةً بالمثبطات الانتقائية لـ COX-2 مثل السيليكوكسيب.

أبرز تحليل العلاقة بين البنية والنشاط (SAR) أهمية التخطيط الجزيئي، وتوضّع مجموعات الهيدروكسيل بشكل مناسب، والصفات الدهنية (الليوفيلية) في قوة ارتباط مركبات الفلافونويد بموقع الفعالية لإنزيم COX-2.

تشير هذه النتائج إلى أن بعض مركبات الفلافون قد تكون مرشحة واعدة كمثبطات طبيعية انتقائية لـ COX-2 ويوصى في المستقبل بالتركيز على التحقق التجريبي، والتحسين البنوي، ودمج هذه المركبات في استراتيجيات التصميم العقلاني للأدوية.

الكلمات المفتاحية: أسبرين، إيبوبروفين، الأدوية المضادة للالتهاب، التثبيط، فيسيتين، الفلافونويدات، كرايسين، غالانجين، سيليكوكسيب، نابروكسين، QSAR، COX-2، العلاقة بين البنية والنشاط

Remerciements

Je remercie Allah de m'avoir permis d'achever ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à mes parents pour leur soutien constant, ainsi qu'à mon frère et ma sœur pour leur aide et leurs encouragements.

Je remercie également l'ensemble de mes enseignants de la Faculté des Sciences de la Vie pour la qualité de leur encadrement tout au long de ma formation.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements au Professeur Miloud Slimani pour son encadrement, ses conseils pertinents et sa patience tout au long de ce travail. Son soutien a été essentiel à la réussite de ce mémoire.

Enfin, je remercie les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Table des matières

Résumé	2
Table des matières	6
Table des figures	9
Liste des tableaux	11
Liste des Abréviations :	12
Introduction.....	13
1. partie bibliographique	16
1.1. Enzyme COX-2 et son rôle dans l'inflammation	17
1.1.1. Processus de l'inflammation :	17
1. Généralités sur les processus inflammatoires :	17
2. Types de l'inflammation :	18
3. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire :	19
4. Les médiateurs chimiques de l'inflammation :	20
5. Les marqueurs de l'inflammation :	21
5.1. Critères essentiels pour l'évaluation des marqueurs inflammatoires :	21
5.2. La protéine c-réactive :	22
5.3. La vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS) :	23
5.4. La procalcitonine :	23
5.5. Les cytokines :	24
1.1.2. Caractéristiques des enzymes cyclooxygénase : COX	24
1. Mécanisme d'action des COX :	24
2. Structures de COX-1 et COX-2 - Similitudes et différences :	26
3. Caractéristiques des sites actifs des COX :	29
1.2. les anti-inflammatoires non stéroïdien (AINS)	33
1.2.1. Généralités sur les AINS :	33
1.2.2. Classification des AINS :	33
1.2.3. Mécanisme d'action des AINS :	39
1.3. les flavonoïdes et leur potentiel anti-inflammatoire	40
1.3.1. Généralités :	40
1.3.2. Biosynthèse des Flavonoïdes.....	40
1. Introduction : Le lien entre métabolisme primaire et secondaire :	40

2. Origine des précurseurs des flavonoïdes :	41
1.3.3. Biosynthèse des Flavonoïdes :	42
1.3.4. Structure chimique des flavonoïdes :	43
1.3.5. Principales classes des flavonoïdes :	44
i. Groupe des flavonols :	45
ii. Groupe des flavanones :	46
iii. Groupe des flavanols (flavan-3-ols) :	46
iv. Groupe des flavones :	47
v. Groupe des isoflavonoïdes :	48
vi. Groupe des anthocyanidines :	48
1.3.6. Propriétés biologiques des flavonoïdes :	49
1. Généralités :	49
2. Propriétés Antioxydantes des Flavonoïdes :	50
3. Propriétés anti-inflammatoires des flavonoïdes :	50
1.4. QSAR (Quantitative structure activity relation-ship)	52
1.4.1. Introduction à la modélisation QSAR :	52
1.4.2. Principe des méthodes QSAR :	52
1.4.3. Outils et techniques de QSAR :	52
a. Paramètres biologiques :	52
b. Propriétés moléculaires et leurs paramètres :	53
1.4.4. Caractéristiques des descripteurs moléculaires en QSAR :	54
1. Descripteurs topologiques :	54
2. Descripteurs géométriques :	54
3. Descripteurs physico-chimiques :	55
4. Descripteurs électroniques :	55
5. Descripteurs basés sur les fragments moléculaires :	55
1.4.5. Relation structure activité quantitative :	56
1.4.6. Méthodologie générale d'une étude QSAR :	57
1.4.7. Etapes du QSAR :	57
a. Collecte des données :	58
b. Calcul des descripteurs :	58
c. Construction du modèle QSAR :	58
d. La validation du modèle :	58
1.4.8. Critères de sélection des molécules bioactives :	58

2. Partie Pratique	61
Matériel et méthodes	62
2.1. Caractérisation structurale des AINS utilisés dans le modèle QSAR :.....	63
2.1.1. Dérivés de l'acide anthranilique (fenamates) :	63
2.1.2. Dérivés de l'acide arylacétique ou arylpropionique :.....	63
2.1.3. Dérivés de l'indole et de l'indène :	65
2.1.4. Oxicams (dérivés de l'acide énolique) :	65
2.1.5. Coxibs (inhibiteurs sélectifs de COX-2) :	66
2.1.6. Autres composés :	66
2.2. Caractéristiques structurales des flavonoïdes :.....	67
2.3. Les étapes méthodologiques du QSAR :.....	70
2.3.1. Constitution des données :.....	70
2.3.2. Préparation des structures moléculaires :	70
2.3.3. Sélection des descripteurs :	73
2.3.4. Construction du modèle QSAR :	74
2.3.5. Validation du modèle :	74
2.3.6. Prédiction de l'activité des flavonoïdes (groupe test) :.....	75
2.3.7. Sélection des composés flavonoïdes pour l'étude QSAR :.....	75
a. Règle de Lipinski :	75
b. Règle de Veber.....	76
c. Règle de Ghose :	76
d. Objectif du filtrage :	77
2.4. Résultats et Discussion.....	78
2.4.1. Le filtrage des composés :	78
2.4.2. Analyse du Rapport du Modèle QSAR (PLS) :.....	79
1. Paramètres Statistiques :	79
2. Modèle Estimé Linéaire :	81
3. Modèle Estimé Normalisé Linéaire :	81
4. Importance Relative des Descripteurs :	82
2.4.3. Validation du modèle QSAR : comparaison entre les valeurs expérimentales et prédites des AINS :.....	83
2.4.4. Analyse prédictive de l'activité inhibitrice des flavonoïdes :	85
2.5. Discussion générale.....	88
3. Conclusion et Perspectives.....	89
Bibliographie.....	89

Table des figures

Figure 1 : La réponse inflammatoire (Harou et Yessad, 2017).....	17
Figure 2 : Métabolisation de l'acide arachidonique avec une première étape assurée par la cyclooxygénase (Chandrasekharan N. V et Simmons D. L., 2004).....	25
Figure 3 : Représentation de COX-1 et COX-2	28
Figure 4 : Modèle 3D de COX, comportant un noyau hème dans le site peroxydase et un site COX occupé ici par le Flurbiprofène	29
Figure 5 : Représentation schématique des différences structurelles entre les canaux de liaison au substrat de la cyclooxygénase (COX)-1 et de la (COX)-2.	30
Figure 6 : Représentation du site actif de la COX-1	31
Figure 7 : Représentation du site actif de la COX-2 (La structure 3D de la COX-2, déterminée en 1996 par Luong et coll.)(Nuhrich A,2015)	32
Figure 8 : Les valeurs de IC50 du COX-1 et COX-2. (Bézière N,2008)	38
Figure 9 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Gerhard, 1993).	43
Figure 10 : Squelette de base commun aux flavonoïdes	43
Figure 11 : Classification et exemple de flavonoïdes ainsi que leurs structures chimiques.	44
Figure 12 : Structure chimique des flavonols (Mladěnka P, et al,2011)	45
Figure 13 : Structure chimique des flavanones	46
Figure 14 : Structure chimique des flavanols	46
Figure 15 : Structure chimique des flavones.....	47
Figure 16 : Structure chimique des isoflavonoïdes	48
Figure 17 : Structure chimique des anthocyanidines.....	48
Figure 18 : Structure et exemple de quelques classes des flavonoides	49
Figure 19 : Les 5 étapes de base de la construction du modèle de QSAR	57
Figure 20 : Structure de l'Acide niflumique.....	63
Figure 21 : structure de diclofénac.	64
Figure 22 : structure de Etodolac.	64
Figure 23 : structure de naproxène.	64
Figure 24 : structure de l'ibuprofène.	64
Figure 25 : structure de tolmétine.....	64

Figure 26 : structure de kétoprofène.....	64
Figure 27 : structure de flurbiprofène.....	64
Figure 28 : structure de carprofène.....	64
Figure 29 : structure de l'indométhacine.	65
Figure 30 : structure de sulindac.	65
Figure 31 : structure de méloxicam.....	65
Figure 32 : structure de piroxicam.	65
Figure 33 : structure de ténoxica.....	65
Figure 34 : structure de rofécoxib.	66
Figure 35 : structure de célécoxib.	66
Figure 36 : structure de étoricoxib.	66
Figure 37 : structure de valdécoxib.....	66
Figure 38 : structure de l'aspirine.....	67
Figure 39 : structure de nimsulide.....	67
Figure 40 : structure de base de flavonoïdes.....	67

Liste des tableaux

Tableau 1 : Cellules de l'inflammation (Mebirouk, 2017).	20
Tableau 2 : Quelques médiateurs chimiques de l'inflammation.	20
Tableau 3 : Différences entre Cyclooxygénase-1 / Cyclooxygénase-2 (Chandrasekharan V, Simmons DL, 2004.)	27
Tableau 4 : quelques exemples sur des familles d'AINS connus avec leurs structures	34
Tableau 5 : Quelques exemples de molécules appartenant à la sous-classe des flavonols	45
Tableau 6 : Quelques exemples de molécules appartenant à la sous-classe des flavanones	46
Tableau 7: Molécules appartenant à la sous-classe des flavanols.....	47
Tableau 8 : Exemples de molécules appartenant à la sous-classe des flavones.....	47
Tableau 9 : Molécules appartenant à la sous-classe des isoflavonoïdes.....	48
Tableau 10 : Exemples de molécules appartenant à la sous-classe des anthocyanidines.....	48
Tableau 11 : Types de données biologiques utilisées dans l'analyse QSAR.....	53
Tableau 12 : Paramètres physico-chimiques et intrinsèques.	53
Tableau 13 : Classification structurale des flavonoïdes.	68
Tableau 14 : : Liste des AINS constituant le groupe training ,avec structures smiles et les valeurs de IC50 pour le COX2 converties en pIC50.....	71
Tableau 15 : : Liste des composés flavonoïdes constituant le groupe test avec structures smiles.	72
Tableau 16 : Filtrage des composés bioactifs	78
Tableau 17: Analyse des données du groupe d'entraînement.....	84
Tableau 18 : Le potentiel inhibiteur des flavonoïdes vis à vis COX-2.....	86

Liste des Abréviations :

- AA : acide arachidonique
- AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens
- COX : cyclooxygénase
- HBA : Num. H-bond acceptors
- HBD : Num. H-bond donors
- Log P : Log Po/w
- LOX : lipoxygénases
- MR : Molar Refractivity
- MW : Molecular Weight
- PDB : protéine Data Bank
- PG : prostaglandine
- PGD2 : prostaglandine D2
- PGE2 : prostaglandine E2
- PGF2a : prostaglandine F2a
- PGHS : prostaglandine synthèse
- PGI2 : prostaglandine 12
- PLA2 : phospholipase A2
- POX : peroxydase
- RB : Rotatable Bonds
- RMSE: Root Mean Square Error
- TPSA : Topological Polar Surface Area

Introduction

Introduction

L'inflammation est une réponse physiologique complexe du système immunitaire aux lésions tissulaires, aux infections ou à des agents étrangers. Ce processus est caractérisé par une cascade de réactions biochimiques et cellulaires destinées à éliminer l'agent pathogène et à favoriser la réparation des tissus. Cependant, lorsque cette réponse devient excessive ou prolongée, elle peut conduire à des maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite, les maladies cardiovasculaires et les troubles neurodégénératifs (Medzhitov, 2008).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont largement utilisés pour traiter ces affections, principalement en inhibant les cyclooxygénases (COX), enzymes responsables de la production des médiateurs pro-inflammatoires, les prostaglandines (Vane & Botting, 1998). Cependant, l'utilisation prolongée des AINS est souvent limitée par leurs effets secondaires, notamment gastro-intestinaux et cardiovasculaires, ce qui a conduit à la recherche de traitements alternatifs moins toxiques.

Les cyclooxygénases (COX) existent sous deux isoformes principales :

la **COX-1** et la **COX-2**. La **COX-1** est une enzyme constitutive présente dans de nombreux tissus, où elle joue un rôle essentiel dans l'homéostasie physiologique, notamment la protection de la muqueuse gastrique, la régulation de la fonction rénale et l'agrégation plaquettaire (Smith et al., 2000). En revanche, la **COX-2** est principalement induite en réponse à des stimuli inflammatoires et joue un rôle majeur dans la production de prostaglandines lors des processus inflammatoires, de la douleur et de la fièvre (Kujubu et al., 1991). L'inhibition sélective de COX-2 a permis de développer des AINS moins irritants pour l'estomac, mais ceux-ci ne sont pas exempts de risques, notamment cardiovasculaires.

Dans cette optique, les flavonoïdes, des métabolites secondaires d'origine végétale, ont suscité un grand intérêt en raison de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Ces composés poly-phénoliques, présents dans des aliments comme les fruits, légumes, thé et cacao, jouent un rôle dans la modulation des voies inflammatoires, notamment en inhibant les COX et d'autres enzymes inflammatoires (Havsteen, 2002).

Leur activité antioxydante, par la neutralisation des radicaux libres, leur permet de réduire le stress oxydatif, un facteur majeur dans l'inflammation chronique (Serafini et al., 2010). De plus, les flavonoïdes peuvent moduler les cytokines inflammatoires telles que TNF- α , IL-1 β et IL-6, réduisant ainsi l'intensité de la réponse inflammatoire (Cayatte et al., 2013).

Les flavonoïdes attirent particulièrement l'attention en raison de leurs multiples bienfaits médicaux. Ces polyphénols hydroxylés, présents en abondance dans les fruits, légumes, céréales, noix, herbes et fleurs, sont connus pour leurs effets antioxydants, anticancéreux,

Introduction

antimicrobiens, neuroprotecteurs et anti-inflammatoires. Des études ont montré que les flavonoïdes exercent une action anti-inflammatoire en activant des voies antioxydantes, en inhibant la sécrétion de certaines enzymes inflammatoires, telles que les lysozymes et la β -glucuronidase, et en réduisant la libération d'acide arachidonique. De plus, ils modulent l'expression et l'activation des cytokines et régulent les gènes impliqués dans la production de molécules pro-inflammatoires. Enfin, ils ciblent directement des enzymes inflammatoires comme la cyclooxygénase-2 (COX-2) et la lipoxygénase.

Notre travail de recherche porte sur différents axes étroitement liés à notre thématique. Dans un premier temps, nous réaliserons une étude bibliographique portant sur les processus inflammatoires, les marqueurs de l'inflammation et le rôle essentiel de l'enzyme COX-2.

Nous examinerons également la classification des AINS et des flavonoïdes, en mettant en lumière leurs propriétés anti-inflammatoires respectives.

La partie expérimentale sera consacrée à l'application de modèles mathématiques de simulation, notamment l'approche QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship), afin de prédire l'activité anti-inflammatoire des flavonoïdes et de la comparer à celle des AINS.

Cette étude a pour objectif d'identifier les composés présentant une IC₅₀ (concentration inhibitrice 50) plus faible, indiquant une meilleure activité inhibitrice, tout en déterminant les substituants structuraux clés responsables de cette activité.

1. partie bibliographique

1.1. Enzyme COX-2 et son rôle dans l'inflammation

1.1.1. Processus de l'inflammation :

1. Généralités sur les processus inflammatoires :

L'inflammation est généralement considérée comme un processus bénéfique, visant à activer le système immunitaire pour éliminer les agents pathogènes et favoriser la réparation des tissus endommagés (Bounihi, 2016). Cependant, elle peut devenir pathologique et, dans certains cas, entraîner la mort de l'organisme si la réponse inflammatoire est mal régulée. Cela peut se produire dans les situations suivantes :

- Lorsque la réponse inflammatoire est insuffisante pour éliminer l'agent pathogène.
- Lorsque la réaction inflammatoire est excessive et conduit à des dommages aux tissus sains.
- Lorsque l'une des phases de l'inflammation persiste de manière auto-entretenue, alors que l'agent pathogène a disparu (Kirassian, 2015).

Sur le plan clinique, l'inflammation se manifeste par des phénomènes locaux bien définis, qui sont traditionnellement caractérisés par quatre signes cardinaux : la rougeur, la chaleur, la douleur et l'œdème. Toutefois, l'inflammation peut également entraîner divers effets biologiques et cliniques généraux, dont l'intensité s'accroît lorsque l'inflammation persiste. Parmi ces effets, on observe une dégradation de l'état général de l'animal, marquée par des symptômes tels que l'asthénie, l'anorexie, une perte de poids, de la fièvre, des troubles du sommeil, ainsi que la cachexie accompagnée d'une fonte musculaire (Rousselet et al., 2005) (Figure 1).

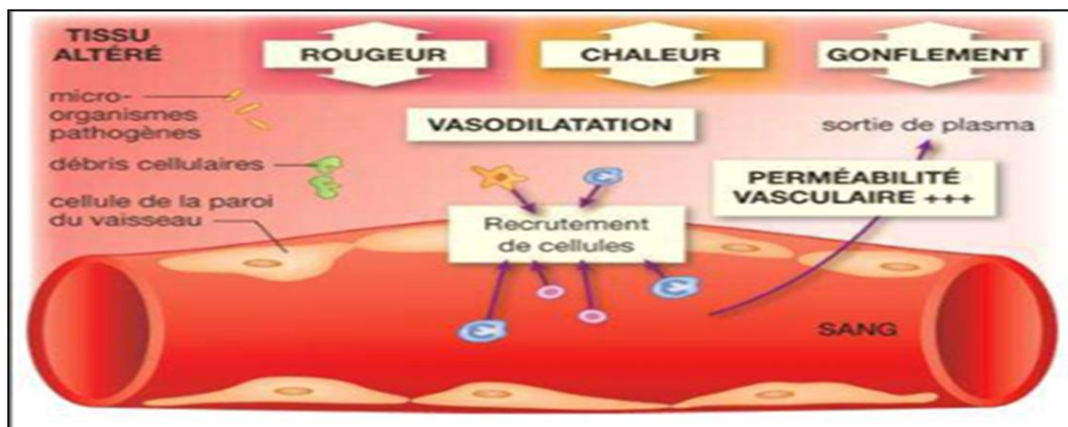


Figure 1 : La réponse inflammatoire (Harou et Yessad, 2017).

Partie bibliographique

Les agents pathogènes sont nombreux et jouent un rôle majeur dans les lésions cellulaires ou tissulaires, éléments déclencheurs de l'inflammation.

Les causes d'une réponse inflammatoire sont variées et peuvent être classées comme suit :

- **Infectieuses** : bactériennes, virales, parasitaires, fongiques...
- **Physiques** : chaleur, froid, rayons ultraviolets (UV), rayons X...
- **Chimiques** : toxines, substances caustiques, venins...
- **Traumatiques** : blessures, interventions chirurgicales...
- **Immunologiques** : maladies auto-immunes, allergies...
- **Cancéreuses** : lymphomes...
- **Par défaut de vascularisation** : nécrose tissulaire...

Lorsqu'un agent agresseur pénètre dans l'organisme, il entraîne généralement une destruction des tissus ou des cellules, générant un signal qui active la réponse du système immunitaire. La nature de cet agent influence l'intensité et la durée de la réaction inflammatoire, qui varient en fonction des circonstances (Lakhani et al., 2009).

2. Types de l'inflammation :

L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires (Mansour, 2015).

- **Inflammation aigue** : L'inflammation aigue est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur (Weill et al., 2003 ; Charles et al., 2010). Est une réaction brutale et de courte durée qui se produit dans les premières heures qui suivent la lésion tissulaire (Canaud et al., 2003 ; Charles et al., 2010). Elle est dite non-spécifique lorsque l'évènement déclencheur de la réaction inflammatoire est rencontré pour la première fois par l'organisme, et qu'elle ne fait pas intervenir la « mémoire lymphocytaire ». Les inflammations aigues guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante. La réaction inflammatoire peut être artificiellement divisée en trois phases (Bounihi, 2016).
- **Inflammation chronique** : L'inflammation chronique ou secondaire est très fréquente (Messaoudi et Ould Mohamed, 2014) est une inflammation prolongée, définie par la présence de cellules immunitaires. Elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années (Ait-Idir et Bouyoucef, 2017). Quand l'agent pathogène persiste à cause de l'échec de la réponse inflammatoire aigue ou d'une réponse inappropriée, la balance entre les molécules

pro-inflammatoires et anti inflammatoire est perturbée et la réponse inflammatoire évolue vers la chronicité provoquant de sérieuses séquelles anatomiques et fonctionnelles. Ce déséquilibre est à l'origine de nombreuses pathologies caractérisées par une destruction tissulaire importante (Mebirouk ,2017). L'inflammation chronique est également provoquée dans le cas de certaines maladies auto-immunes, et ainsi caractérisée par une longue durée (Trabsa, 2015).

3. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire :

La réaction inflammatoire est un processus complexe qui implique diverses cellules du système immunitaire, chacune jouant un rôle clé dans la reconnaissance et l'élimination des agents pathogènes, ainsi que dans la régulation de la réponse inflammatoire (tableau 01).

- **Les macrophages** : Ce sont les premières cellules immunitaires à répondre aux lésions tissulaires. Ils jouent un rôle crucial dans la phagocytose des agents pathogènes et des débris cellulaires. Ils produisent également des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6, qui orchestrent l'inflammation (Cohen, 2002).
- **Les neutrophiles** : Ces cellules sont recrutées en grande quantité lors des premières étapes de l'inflammation aiguë. Leur fonction principale est la phagocytose des agents infectieux, et elles libèrent des enzymes et des ROS (espèces réactives de l'oxygène) pour tuer les microbes (Fitzgerald et al., 2001).
- **Les mastocytes** : Présents dans les tissus conjonctifs, les mastocytes libèrent de l'histamine et d'autres médiateurs chimiques qui favorisent la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins, facilitant ainsi le recrutement d'autres cellules inflammatoires (Galli et al., 2005).
- **Les lymphocytes T et B** : Les lymphocytes T, notamment les T CD4⁺ et CD8⁺, sont essentiels dans la régulation de la réponse immunitaire, en activant d'autres cellules ou en détruisant les cellules infectées. Les lymphocytes B produisent des anticorps qui ciblent spécifiquement les pathogènes (Sallusto et al., 2010).
- **Les cellules dendritiques** : Ces cellules agissent comme des sentinelles en capturant et en présentant les antigènes aux lymphocytes, ce qui est essentiel pour l'activation de la réponse immunitaire adaptative (Banchereau et Steinman, 1998).

Tableau 1 : Cellules de l'inflammation (Mebirouk, 2017).

Catégorie	Cellules impliquées
Cellules sanguines circulantes	Polynucléaires neutrophiles, Polynucléaires basophiles, Polynucléaires éosinophiles, Monocytes, Lymphocytes, Plaquettes
Cellules résidentes tissulaires	Macrophages, Mastocytes, Cellules endothéliales, Fibroblastes

4. Les médiateurs chimiques de l'inflammation :

Lorsqu'un agent pathogène pénètre dans l'organisme, des cellules résidentes du système immunitaire inné présentes dans les tissus, telles que les macrophages, les cellules dendritiques et les mastocytes, libèrent des médiateurs chimiques qui déclenchent et amplifient la réponse inflammatoire (tableau 02). Ces médiateurs sont responsables des signes classiques de l'inflammation, tels que l'augmentation de la perméabilité vasculaire, la vasodilatation, la fièvre et la douleur. Il existe une grande variété de médiateurs solubles impliqués dans les réactions inflammatoires, incluant plusieurs médiateurs "principaux" qui sont détaillés ci-dessous (Florimond, A, 2024).

Tableau 2 : Quelques médiateurs chimiques de l'inflammation.

Nom	Nature et origine	Rôle
Histamine	Amine stockée dans les granules des mastocytes	Molécule vasoactive.
Prostaglandines	Médiateurs lipidiques néoformés à la suite de l'activation des mastocytes.	Impliqués dans la vasodilatation. Augmentent la sensibilité aux stimuli douloureux et la température de référence dans l'hypothalamus.
Cytokines pro-inflammatoires (TNF, IL1 et IL6)	Médiateurs libérés par les mastocytes et les macrophages.	Augmentent le recrutement et la production des cellules et molécules de l'immunité.

5. Les marqueurs de l'inflammation :

Lorsqu'une inflammation survient, qu'elle soit infectieuse ou aseptique, elle provoque des changements dans les paramètres biologiques et cytologiques qui témoignent d'une réponse systémique impliquant le métabolisme, le système végétatif, l'hématologie et les hormones. Les biomarqueurs sont des indicateurs biologiques mesurables de manière objective, présents dans des fluides tels que le sang ou les urines, et sont utilisés pour évaluer des processus normaux ou pathologiques, ainsi que pour suivre la réponse à un traitement (Liagare et al., 2019).

Les protéines de la réaction inflammatoire (PRI) subissent des variations au cours de l'inflammation. Certaines PRI dites « positives » voient leur production stimulée par des cytokines comme l'IL-1, l'IL-6 et le TNF-alpha. Parmi celles-ci, on trouve la CRP, la procalcitonine (PCT), le fibrinogène, l'orosomucoïde, le plasminogène, la ferritine et d'autres protéines du complément (Liagare et al., 2019).

En revanche, les PRI dites « négatives » diminuent de plus de 25 % pendant l'inflammation. Celles-ci incluent des protéines telles que l'albumine, la transferrine et la pré-albumine (Gursoy et al., 2015). Ces protéines présentent des cinétiques différentes : la CRP et la PCT réagissent rapidement, l'orosomucoïde et l'haptoglobine ont une cinétique intermédiaire, tandis que la transferrine et la ferritine réagissent de manière plus lente (Monti, 2013).

En pratique clinique, les dosages de ces biomarqueurs aident à poser un diagnostic ou à surveiller l'évolution de l'inflammation. Toutefois, ces tests ne permettent pas d'en identifier la cause précise. Leur principale limite réside dans le manque de spécificité, bien qu'ils soient généralement bien corrélés avec la gravité de la maladie sous-jacente.

5.1. Critères essentiels pour l'évaluation des marqueurs inflammatoires :

L'identification d'un marqueur inflammatoire repose sur des critères qui doivent répondre efficacement aux besoins de la pratique clinique. Ces critères garantissent la fiabilité du marqueur, ainsi que son utilité dans le diagnostic et le suivi des processus inflammatoires.

a. Spécificité pour l'inflammation :

Un bon marqueur d'inflammation doit être spécifiquement lié à l'inflammation et ne doit pas être influencé par d'autres conditions physiopathologiques. En d'autres termes, sa concentration doit augmenter uniquement en réponse à un processus inflammatoire, et non à d'autres états de l'organisme, comme des infections virales, des troubles métaboliques ou des maladies cardiovasculaires (Gabay & Kushner, 1999).

Cette spécificité garantit que le marqueur mesure réellement l'intensité de la réaction inflammatoire sans être affecté par d'autres pathologies.

b. Sensibilité élevée :

Un marqueur efficace doit présenter une sensibilité élevée, ce qui permet de détecter l'inflammation même à un stade précoce et de faible intensité. Cela implique qu'il doit être capable de mesurer des variations subtiles dans l'organisme, cruciales pour la détection rapide et la gestion précoce des maladies inflammatoires (Heinrich et al., 1990). Une telle sensibilité permet une surveillance adéquate de l'évolution de l'inflammation.

c. Corrélation avec la sévérité de l'inflammation :

Le marqueur doit être capable de refléter l'intensité de l'inflammation. Son augmentation dans les fluides biologiques, tels que le sang, doit être proportionnelle à la gravité du processus inflammatoire. De plus, il doit permettre de suivre l'évolution de la maladie en indiquant si l'inflammation est en régression ou en aggravation, ce qui aide les cliniciens à ajuster le traitement en conséquence (Pepys & Hirschfield, 2003). La CRP (protéine C-réactive) en est un bon exemple, car son taux est élevé lors des inflammations aiguës, reflétant l'intensité de l'inflammation.

d. Demi-vie adaptée :

Un bon marqueur inflammatoire doit posséder une demi-vie optimale, ni trop courte ni trop longue. Si la demi-vie est trop courte, le marqueur peut fluctuer rapidement, rendant son suivi difficile. À l'inverse, une demi-vie trop longue peut entraîner un retard dans la détection de la réponse inflammatoire ou de sa résolution (Vigushin, 1993). La CRP, par exemple, possède une demi-vie relativement courte, permettant ainsi un suivi rapide tout en offrant une évaluation utile de l'intensité de l'inflammation sur une période donnée.

5.2. La protéine c-réactive :

La CRP, une protéine de 120 kDa, est produite par le foie, principalement les hépatocytes, en réponse à des cytokines inflammatoires telles que l'IL-6. Elle joue un rôle clé dans la réponse immunitaire en se liant à des molécules comme la phosphocholine, la chromatine et la fibronectine, facilitant ainsi l'élimination des agents pathogènes et des cellules endommagées. Ce mécanisme est bénéfique, bien que dans certains cas, comme dans les maladies auto-immunes, il puisse devenir pathologique (Sproston NR, Ashworth JJ, 2018 ; Willerson JT, Ridker PM, 2004).

En tant que marqueur d'inflammation, la CRP augmente de manière significative pendant un processus inflammatoire, et ce de façon rapide, avec des taux pouvant augmenter jusqu'à 1000

fois en réponse à des infections graves ou des traumatismes (Sproston NR, Ashworth JJ, 2018; Willerson JT, Ridker PM, 2004). En période normale, les niveaux de CRP sont généralement inférieurs à 5 mg/L, bien que cela varie en fonction de plusieurs facteurs biologiques comme l'âge, le sexe, le cycle menstruel, l'indice de masse corporelle (IMC) et les habitudes telles que la consommation de tabac (Chenillot O et al., 2000 ; Sproston NR, Ashworth JJ, 2018 ; Hage FG, Szalai AJ, 2007).

Des concentrations très élevées, dans l'ordre de plusieurs centaines de mg/L, sont souvent un indicateur d'infections bactériennes, où la CRP peut augmenter exponentiellement en 24 heures (Chenillot O et al., 2000 ; Black S et al., 2004).

5.3. La vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS) :

La vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS) a été introduite en 1897 par Biernacki et a été standardisée en 1921 par Westergren. Ce test mesure la distance parcourue par les globules rouges dans un tube capillaire en une heure, et il est couramment utilisé pour évaluer les processus inflammatoires.

La VS repose sur la capacité des globules rouges à sédimenter dans un tube de sang anti coagulé sous l'effet de la gravité. En présence d'une inflammation, plusieurs phénomènes modifient cette sédimentation :

- Lors d'un processus inflammatoire, le foie produit des protéines telles que le fibrinogène, la **protéine C-réactive (CRP)** et les **immunoglobulines**.

Ces protéines modifient la charge électrique des érythrocytes et favorisent leur agrégation en rouleaux (Abramson N, 2006) ...

- Ces agrégats de globules rouges augmentent leur masse et réduisent leur résistance à la sédimentation, ce qui accélère la chute des érythrocytes au fond du tube.
- Plus les agrégats sont nombreux, plus la VS est élevée. Ainsi, une inflammation active se traduit par une augmentation de la vitesse de sédimentation. (Henry-Amar M et al., 1991 ; Lluberas-Acosta G, Schumacher HR, 1996).

5.4. La procalcitonine :

La procalcitonine (PCT) est une protéine de 116 acides aminés, précurseur de la calcitonine, ayant un poids moléculaire de 14,5 kDa. Elle est normalement produite dans les cellules C de la glande thyroïde ainsi que dans certaines cellules neuroendocrines.

En réponse à une infection bactérienne, la production de PCT est augmentée dans divers tissus, ce qui peut se faire par deux mécanismes : directement par des métabolites bactériens ou

indirectement via des cytokines comme IL-6, TNF- α et IL-1 β , qui activent sa synthèse. L'interféron- γ inhibe la production de PCT, ce qui en fait un marqueur spécifique des infections bactériennes (Davies J, 2015 ; Samsudin I et Vasikaran SD, 2017).

La PCT devient détectable dans le sang entre 2 et 4 heures après le début de l'infection, atteignant un pic entre 6 et 12 heures. Sa demi-vie est d'environ 24 heures, et elle peut rester détectable jusqu'à 7 jours (Hamade B, Huang DT, 2020 ; Müller B et al., 2001).

5.5. Les cytokines :

Les cytokines forment un groupe étendu de polypeptides ayant des fonctions similaires à des hormones, initialement reconnues pour leurs capacités à moduler le système immunitaire. Elles jouent un rôle crucial dans de nombreux processus physiopathologiques, tels que la croissance cellulaire, la cicatrisation des tissus, l'immunité, l'inflammation, les cancers, l'hématopoïèse, l'athérogenèse, ainsi que dans divers troubles auto-immuns et maladies neuro-immunologiques. Leur concentration dans le sang est généralement faible, se situant dans la plage des ng/L (Kishen A, Muralidharan NP, 2020; Bartekova M et al., 2018).

La production des cytokines est assurée par divers types de cellules, et elles exercent leurs effets de différentes manières :

- **Pléiotropisme** : une cytokine peut avoir des effets différents sur divers types de cellules cibles.
- **Redondance** : plusieurs cytokines peuvent induire le même effet biologique.
- **Synergie** : plusieurs cytokines agissent ensemble pour renforcer leur effet.
- **Antagonisme** : une cytokine peut inhiber les effets d'une autre cytokine.
- **Induction en cascade** : ce mécanisme permet une production amplifiée de cytokines spécifiques via des étapes successives (Kany S et al., 2019).

1.1.2. Caractéristiques des enzymes cyclooxygénase : COX

1. Mécanisme d'action des COX :

La cyclooxygénase (COX), également connue sous le nom de prostaglandine G/H synthase (PGHS), est une enzyme clé dans la voie de métabolisation de l'acide arachidonique.

Un acide gras polyinsaturé essentiel. Cet acide gras, principalement situé dans les membranes cellulaires, est rarement présent sous forme libre dans le cytoplasme des cellules animales.

Partie bibliographique

Il est continuellement redistribué entre les compartiments cellulaires et les lipides membranaires (Hinz B, Brune K, 2002). Elle est responsable de la production de divers médiateurs chimiques, notamment les prostanoïdes, qui sont des molécules essentielles à l'induction des processus inflammatoires (Copeland RA et al., 1994).

Lorsqu'il est libéré sous l'action de la phospholipase A2 (PLA2), l'acide arachidonique est converti par la COX en prostaglandine G2 (PGG2), qui est ensuite transformée en prostaglandine H2 (PGH2) (figure 02). La PGH2 sert de précurseur pour la production de divers médiateurs bioactifs, appelés prostanoïdes, incluant PGD2, PGE2, PGI2, PGF2 α , et thromboxane A2 (TXA2) (Rizzo MT, 2011). Ces prostanoïdes jouent un rôle essentiel dans de nombreux processus physiopathologiques, y compris la régulation de l'inflammation, la circulation sanguine, la modulation du système immunitaire et la réponse au stress cellulaire (Astudillo AM et al., 2012).

La COX a été découverte en 1971 comme la cible moléculaire des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), une classe de médicaments largement utilisés pour traiter les inflammations (Zarghi A, Arfaei S, 2011). Elle a ensuite été purifiée et isolée en 1976, ce qui a permis de mieux comprendre son rôle et ses mécanismes d'action (Blobaum AL, Marnett LJ, 2007).

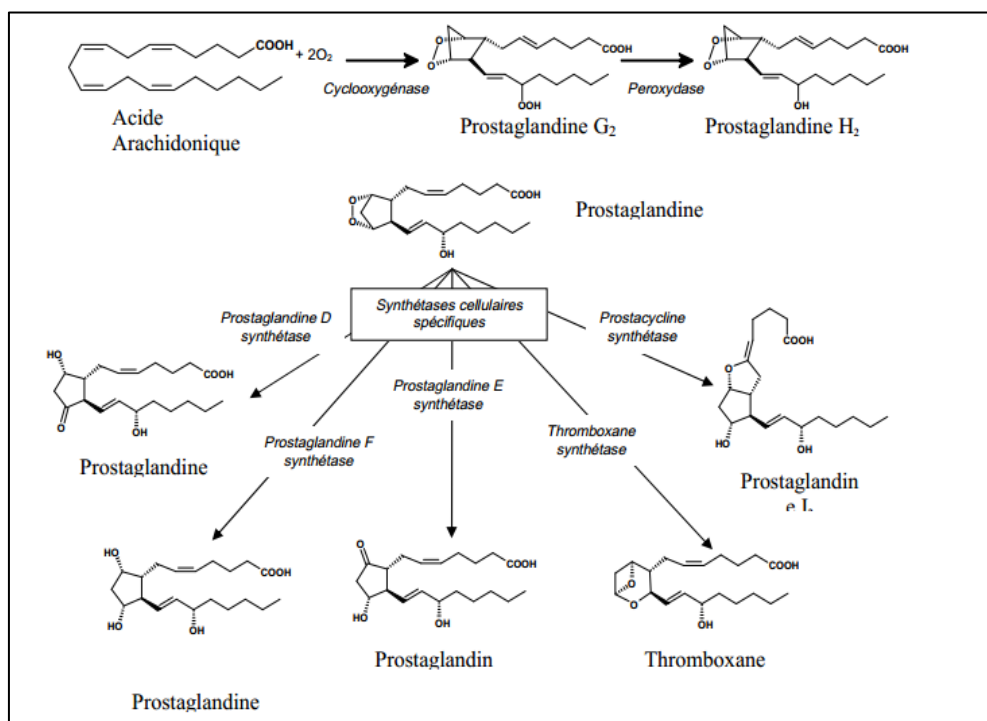


Figure 2 : Métabolisation de l'acide arachidonique avec une première étape assurée par la cyclooxygénase (Chandrasekharan N. V et Simmons D. L., 2004)

2. Structures de COX-1 et COX-2 - Similitudes et différences :

COX-1 et COX-2 ont une masse de 71 kDas environ, mais l'ARN messager qui leur est Associé diffère fortement : il fait 2,8 kb pour COX-1 et 4,5 kb pour COX-2, et l'activation de leur transcription se fait de manière très différente. (Tableau 03)

Après traduction, cette enzyme se retrouve dans la membrane luminale du réticulum endoplasmique ainsi que dans les feuillettes internes et externes de l'enveloppe nucléaire des monocytes, des cellules endothéliales et des fibroblastes. La localisation préférentielle et une activité COX-2 plus importante dans l'enveloppe nucléaire (Spencer A. G. et al., 1998).

Au niveau structural, les différences marquées entre les 2 isoformes. Dans la structure primaire, la séquence en acides aminés présente une homologie d'environ 60%, les acides aminés nécessaires à l'interaction avec l'acide arachidonique étant tous conservés (Tableau 03).

Partie bibliographique

Tableau 3 : Différences entre Cyclooxygénase-1 / Cyclooxygénase-2 (Chandrasekharan V, Simmons DL, 2004.)

	COX-1	COX-2
Similitude structurelle	Seulement 60% d'homologie dans la séquence d'acides aminés (COX-1 et COX-2 sont codées par des gènes différents). Le site actif de COX-2 est plus grand que celui de COX-1.	
Régulation	Présence physiologique, multiplication possible de la concentration par un facteur deux à quatre.	Formation induite lors d'inflammation (synthèse multipliée par 10 à 80 en cas de simulation appropriée : inflammation, hormones).
Localisation tissulaire	Présente dans la plupart des tissus, particulièrement abondante dans les thrombocytes, les cellules endothéliales, l'estomac, les reins et les muscles lisses.	Présente physiologiquement dans la prostate, l'utérus, les testicules et les poumons. Présente dans tous les tissus après induction.
Fonction de l'enzyme	Production de prostaglandines à fonctions protectrices, régulant le fonctionnement rénal, la fonction digestive et la coagulation sanguine.	Activée par une inflammation qu'elle aggrave par la production de prostaglandines pro-inflammatoires. Toutefois, rôle physiologique non négligeable pour le maintien de diverses fonctions vitales.
Nom du gène	PTGS1	PTGS2
Localisation du gène	Chr.9 (9q33.2)	Chr.1 (1q31.1)
Poids moléculaire	71kDa	72kDa
Nombre d'acide aminé	576	604
	COX-1	COX-1
Similitude structurelle	Seulement 60% d'homologie dans la séquence d'acides aminés (COX-1 et COX-2 sont codées par des gènes différents). Le site actif de COX-2 est plus grand que celui de COX-1.	
Régulation	Présence physiologique, multiplication possible de la concentration par un facteur deux à quatre.	Formation induite lors d'inflammation (synthèse multipliée par 10 à 80 en cas de simulation appropriée : inflammation, hormones).
Localisation tissulaire	Présente dans la plupart des tissus, particulièrement abondante dans les thrombocytes, les cellules endothéliales, l'estomac, les reins et les muscles lisses.	Présente physiologiquement dans la prostate, l'utérus, les testicules et les poumons. Présente dans tous les tissus après induction.
Fonction de l'enzyme	Production de prostaglandines à fonctions protectrices, régulant le fonctionnement rénal, la fonction digestive et la coagulation sanguine.	Activée par une inflammation qu'elle aggrave par la production de prostaglandines pro inflammatoires. Toutefois, rôle physiologique non négligeable pour le maintien de diverses fonctions vitales.
Nom du gène	PTGS1	PTGS2
Localisation du gène	Chr.9 (9q33.2)	Chr.1 (1q31.1)
Poids moléculaire	71kDa	72kDa
Nombre d'acide aminé	576	604

Partie bibliographique

Les structures 3D ont été publiées au milieu des années 90 aussi bien pour COX-1 (Picot .et al.,1994) que pour COX-2 (Luong C. et al., 1996). (Figure 03).

Ces enzymes, organisées en homodimères, sont globalement identiques, et présentent trois sous-domaines (Kurumbail R. G. et al., 2001) (Figure 04) :

- 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.

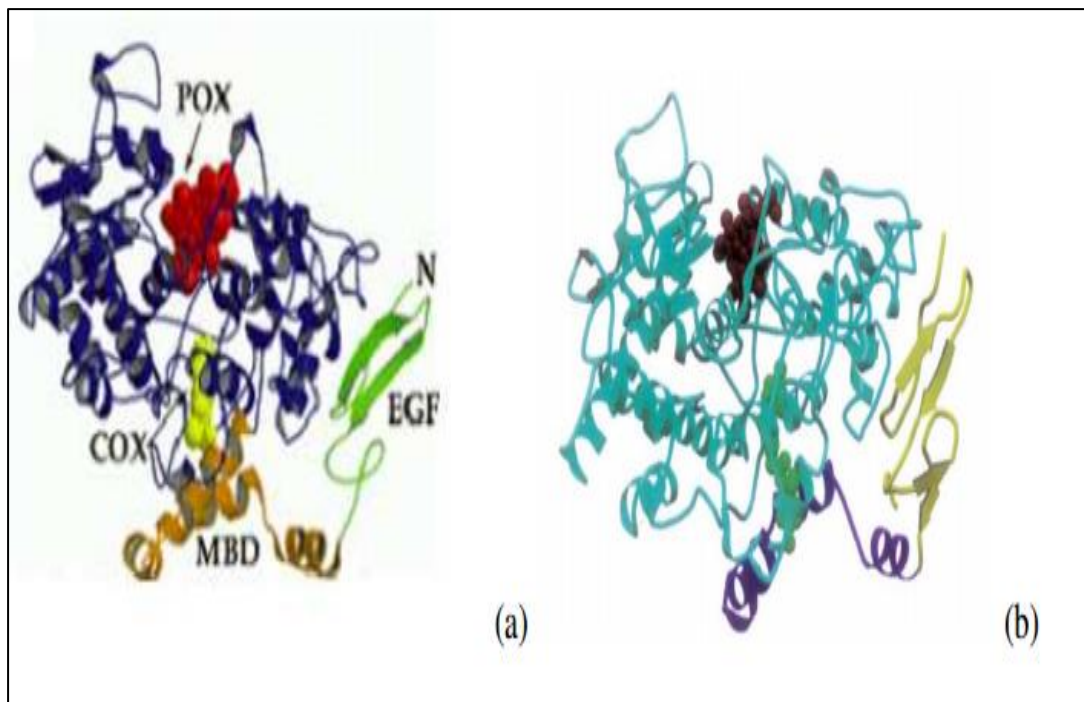


Figure 3 : Représentation de COX-1 et COX-2

a) Représentation de COX-1 avec le flurbiprofène (jaune), précisant les positions des sites POX, contenant l'hème (rouge), et COX et le domaine catalytique (bleu), le MBD (orange) et le domaine EGF-like (vert) (Praveen .R,et al,2008).

b) Représentation de COX-2 avec l'inhibiteur RS 104897 (vert), l'hème (marron), le domaine catalytique (bleu), le MBD (violet) et le domaine EGF-like (jaune) (Luong, C.,et al ,1996).

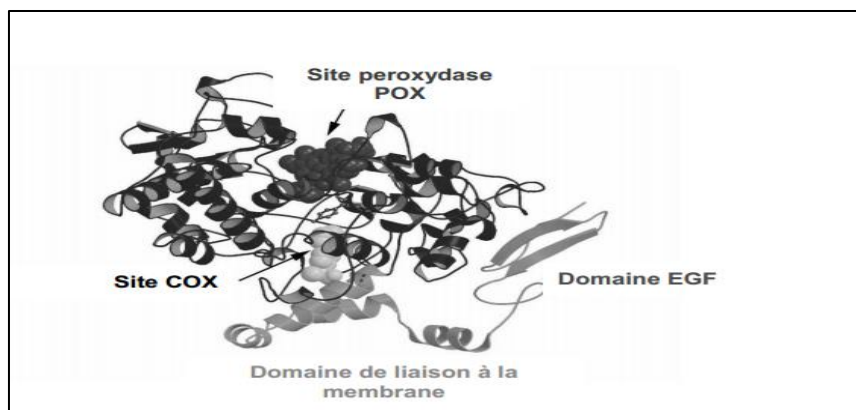


Figure 4 : Modèle 3D de COX, comportant un noyau hème dans le site peroxydase et un site COX occupé ici par le Flurbiprofène

Ce 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. Dans le cas de COX-2, le site de cyclooxygénation est légèrement plus grand que celui de COX-1 d'environ 17% en présentant en plus une poche hydrophobe latérale (Botting R. M., 2006).

Un noyau hème présent dans un site voisin totalement indépendant du site de cyclooxygénation, est également indispensable à l'activité peroxydase.

Bien que ces acides aminés indispensables soient présents dans les deux isoformes, il existe des différences dans la séquence primaire, qui conduisent à de légères modifications de l'environnement électronique et de l'encombrement stérique dans le site actif (Garavito et DeWitt .,1999 ; Garg, et al., 2003).

3. Caractéristiques des sites actifs des COX :

Les sites actifs de la COX-1 et de la COX-2 présentent des structures tridimensionnelles très similaires et parmi les acides aminés conservés entre les 2 isoformes, certains se révèlent être essentiels : l'Arg 120 (située à l'entrée du site et intervenant dans la liaison des

anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) et de l'AA), la Tyr 385 (qui intervient dans la réaction de cyclo-oxygénation) et la Ser 530 (qui établit une liaison covalente notamment avec l'aspirine lors de la réaction d'acétylation).

Quelques différences majeures entre les sites actifs de la COX-1 et de la COX-2 sont cependant à noter expliquant la spécificité de certains inhibiteurs pour chacune de ces deux protéines.

Premièrement, les sites actifs de COX-1 et COX-2 ont des formes et tailles différentes. Le site actif de COX-2 est plus large de plus de 17% que COX-1, permettant l'introduction de

diverses molécules plus volumineuses qui ne pourront pas s'insérer dans le site actif de COX. De plus, la COX-2 possède une seconde poche interne augmentant de 25% le volume de son site actif (Figure 05).

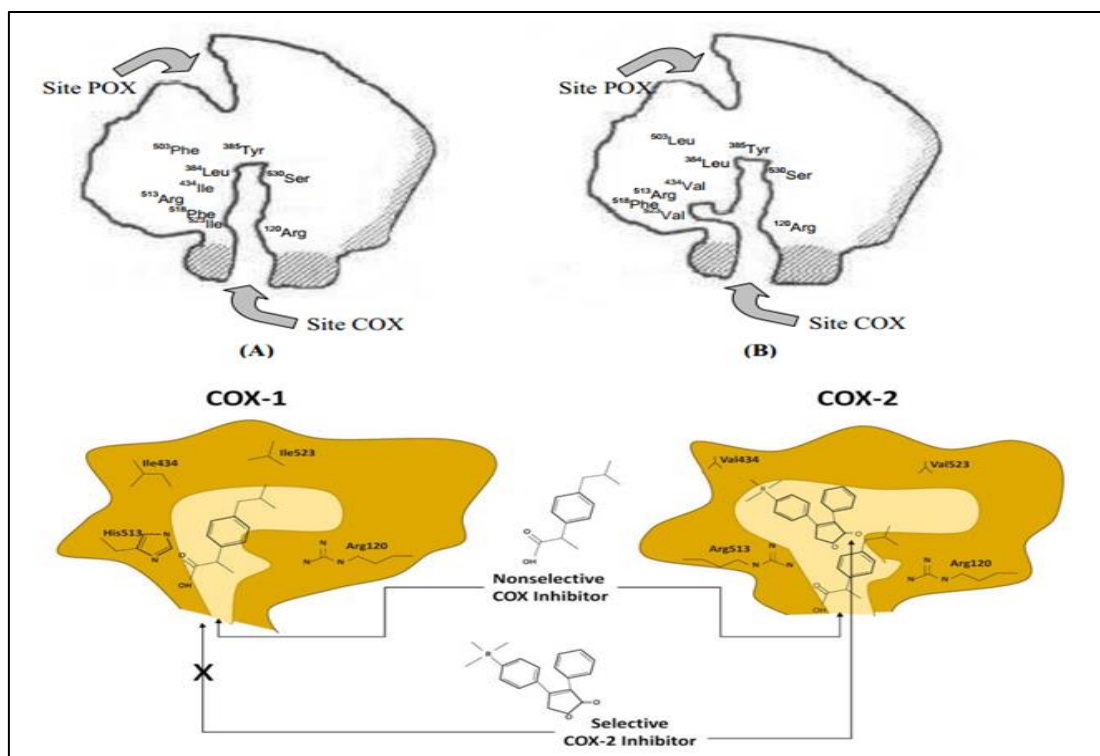


Figure 5 : Représentation schématique des différences structurales entre les canaux de liaison au substrat de la cyclooxygénase (COX)-1 et de la (COX)-2.

Les principaux acides aminés expliquant la taille et l'environnement chimique différents dans le site de liaison se trouvent :

- En position 523 : une isoleucine dans COX-1, est remplacée par une valine dans COX-2 (Figure 05). Ce résidu plus petit libère de la place dans le tunnel hydrophobe et facilite l'accès à la seconde poche supplémentaire. Cette poche est particulièrement connue pour être le site de liaison des inhibiteurs sélectifs de COX-2. Quant à l'isoleucine dans COX-1, son groupe éthyle encombre le passage de molécules plus volumineuses (Marnett, L.J, et al, 1999 ; Blobaum, A.L et Marnett, L.J,2007; Botting, R.M. et Botting, J.H,2007).
- En position 434 : une autre isoleucine est remplacée par une valine dans COX2 (Figure 05,06,07). Cette fois-ci, cette substitution offre une meilleure mobilité des chaînes latérales des résidus, c'est le cas notamment de Phe 518 qui en pivotant réduit les effets stériques et améliore l'accès à la seconde poche (Dannhardt, G. et Kiefer, W.2001)

Partie bibliographique

- En position 513 : une histidine est remplacée par une arginine dans COX-2 (Figure 5,6,7). Ce résidu a montré de meilleures affinités avec les groupements sulfonamides des inhibiteurs sélectifs de COX-2 favorisant non seulement la formation de liaisons hydrogène mais aussi l'introduction de ces molécules dans le second site de liaison.
- L'Arg 513 : joue également un rôle important dans les inhibitions dites « time-dépendent », pour les inhibiteurs sélectifs de COX-2 (Marnett, L.J , et al , 1999 ; Blobaum, A.L et Marnett, L.J,2007; Botting, R.M. et Botting, J.H,2007)
- en position 503 : une phénylalanine est substituée par une leucine dans COX-2 (Figure 07). Ce résidu pivote sa chaîne latérale de façon à augmenter l'espace à l'intérieur du site actif pour permettre un accès facile aux molécules sélectives et volumineuses dans la poche supplémentaire (Marnett, L.J , et al , 1999 ; Blobaum, A.L et Marnett, L.J,2007; Botting, R.M. et Botting, J.H,2007)

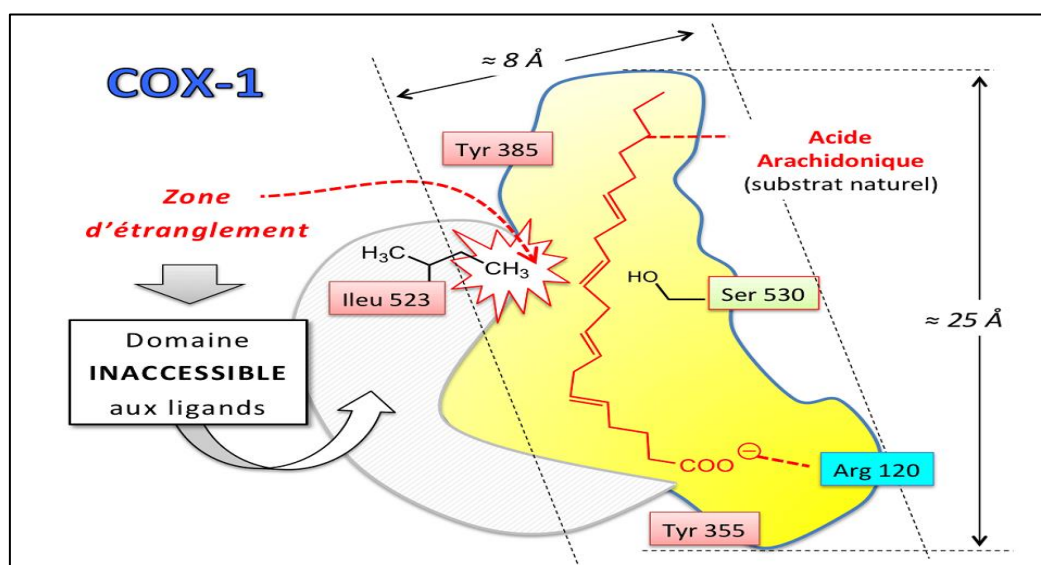


Figure 6 : Représentation du site actif de la COX-1

La structure tridimensionnelle de la COX-1 a été établie au début des années 1990 par étude radio cristallographique (Picot et al, 1994).

Le domaine catalytique est constitué d'un long canal hydrophobe relativement étroit (dimensions : 25 × 8 Å) (Nuhlich A, 2015)

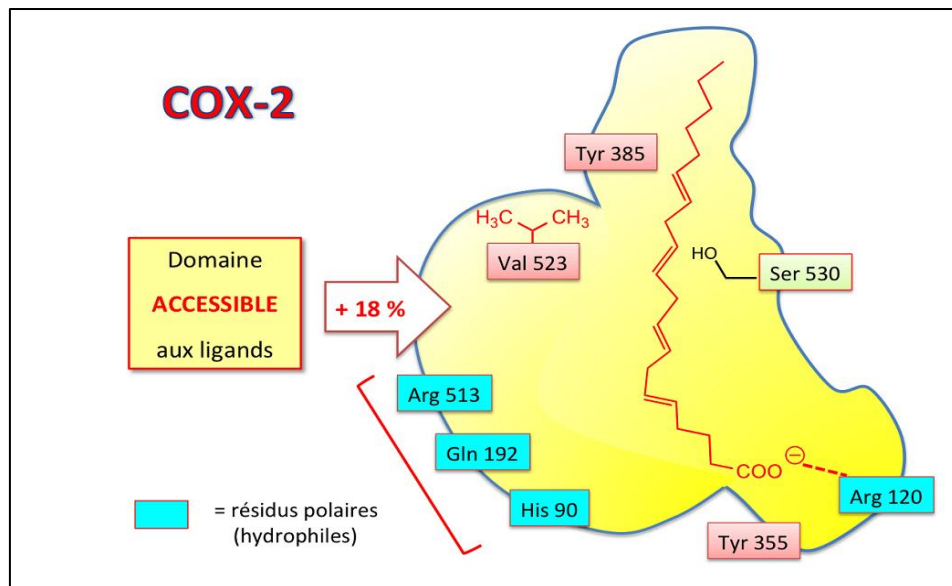


Figure 7 : Représentation du site actif de la COX-2 (La structure 3D de la COX-2, déterminée en 1996 par Luong et coll.)(Nuhrich A,2015)

1.2. les anti-inflammatoires non stéroïdien (AINS)

1.2.1. Généralités sur les AINS :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments qui inhibent la production de prostaglandines, des molécules clés dans les processus inflammatoires, la douleur et la fièvre (Vane & Botting, 1998). Leur action thérapeutique repose principalement sur l'inhibition des enzymes cyclooxygénases (COX-1 et COX-2), ce qui leur confère à la fois leurs effets bénéfiques et leurs effets secondaires (Patrono et al., 2001).

Les AINS, également appelés anti-inflammatoires non hormonaux, sont des substances qui atténuent les réponses inflammatoires sans être dérivées des corticostéroïdes (Fitzgerald, 2004). Leur effet principal consiste à réduire les médiateurs inflammatoires, sans toutefois modifier la cause sous-jacente de l'inflammation.

Grâce à leurs propriétés antipyrétiques (réduction de la température corporelle), antalgiques (soulagement de la douleur) et anti-inflammatoires, les AINS sont largement utilisés. Ils permettent de réduire la douleur et l'œdème, facilitant ainsi la mobilisation des articulations touchées par l'inflammation (Hinz et Brune, 2012).

En raison de ces effets variés, les AINS sont essentiels dans le traitement des affections inflammatoires, tant aiguës que chroniques, comme les arthrites, les troubles musculo-squelettiques, les céphalées et les états fébriles (Brune et Patrignani, 2015)

1.2.2. Classification des AINS :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peuvent être classés selon plusieurs critères. Une classification chimique repose sur la structure du noyau central, permettant de distinguer des groupes tels que les dérivés de l'acide acétique, propionique, anthranilique ou encore les oxicams (Brune et Patrignani, 2015).

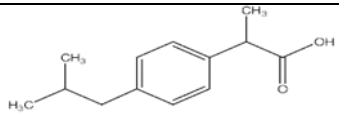
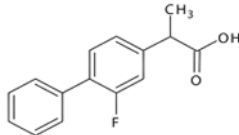
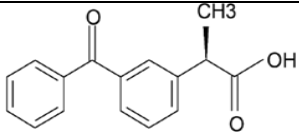
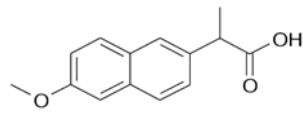
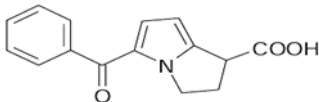
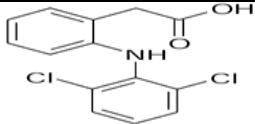
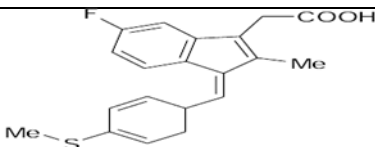
- Les fénacs : diclofénac, indométhacine, sulindac... portant une fonction acide
- Les profènes : ibuprofène, kétoprofène, naproxène...dont la particularité est de porter une fonction acide sur un carbone asymétrique
- Les oxicames : piroxicam, tenoxicam... dérivés carboxamides du benzothiazine dioxyde
- Les acétylants de la 530Ser : aspirine, o-(acetoxyphenyl)hept-2-ynyl-sulfide et certains dérivés de l'acide salicylique.(tableau 04)

Partie bibliographique

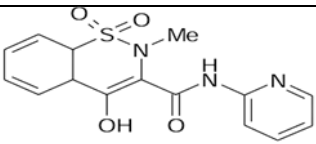
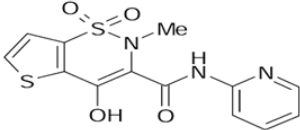
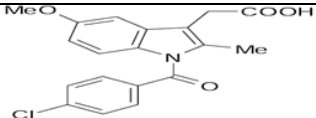
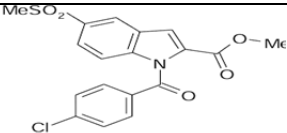
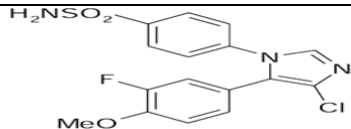
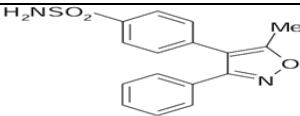
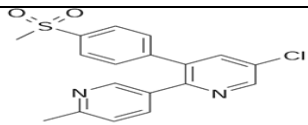
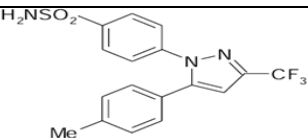
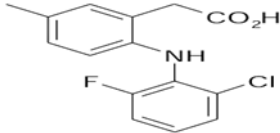
- La plupart de ces composés présentent un groupement capable de créer une liaison ionique avec l'arginine 120 qui se situe en entrée du site actif.

Un autre critère de classification concerne leur pharmacocinétique, notamment la demi-vie plasmatique, qui permet de différencier les AINS à courte durée d'action, nécessitant des prises fréquentes, et ceux à longue durée d'action, favorisant une administration espacée (Rainsford, 2004).

Tableau 4 : quelques exemples sur des familles d'AINS connus avec leurs structures

Famille	NOM	STRUCTURE 2D
PROFENE	Ibuprofène	
	flurbiprofène	
	Kétoprofène	
	Naproxène	
FENAC	ketorolac	
	diclofénac	
	Sulindac sulfide	

Partie bibliographique

Famille	NOM	STRUCTURE 2D
OXICAMS	piroxicam	
	tenoxicam	
INDOLIQUES	indométacine	
COXIBS	rofécoxib	
	cimicoxib	
	valdecoxib	
	etoricoxib	
	celecoxib	
	umiracoxib	

Enfin, un critère majeur repose sur leur sélectivité vis-à-vis des cyclooxygénases. Les AINS traditionnels inhibent de manière non sélective les isoformes COX-1 et COX-2, tandis que les inhibiteurs spécifiques de la COX-2 ont été développés pour limiter les effets indésirables gastro-intestinaux liés à l'inhibition de la COX-1 (Vane et Botting, 1998 ; Patrono et al., 2001).

La sélectivité d'une molécule envers COX-2 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 (Jouzeau, J.-Y., 2004. Kam, P.C.A. et See, A.U.L., 2004)

- $IC_{50} (COX-1) / IC_{50} (COX-2) > 1 \Rightarrow$ inhibition préférentielle de COX-2.
- $IC_{50} (COX-1) / IC_{50} (COX-2) < 1 \Rightarrow$ inhibition préférentielle de COX-1.
- $IC_{50} (COX-2) / IC_{50} (COX-1) = 1 \Rightarrow$ inhibition non sélective.

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

Plusieurs études ont d'ailleurs démontré une relation entre le ratio d'IC₅₀ (COX-1/COX-2) et les effets secondaires du système GI : plus le ratio est grand, moindre sont les effets secondaires (Vane, J.R., 2000. Richardson, C. and Emery, P., 1996).

- **Les inhibiteurs préférentiels de COX-1 :** sont des AINS qui exercent une inhibition prédominante sur la COX-1, avec une inhibition plus faible de la COX-2. Leur ratio IC₅₀ (COX-1/COX-2) est faible, indiquant une affinité plus élevée pour la COX-1. En raison de cette sélectivité, ces inhibiteurs sont souvent associés à des effets secondaires gastro-intestinaux, tels que des ulcères et des troubles digestifs, liés à la diminution de la production des prostaglandines protectrices de la muqueuse gastrique. Quelques exemples de cette catégorie : Aspirine avec un rapport IC₅₀ 0,3/50 de l'ordre de 0.006 et l'indométacine avec un rapport IC₅₀ 0.16/0.46 de l'ordre de 0.347 (Vane & Botting, 1998)
- **Les inhibiteurs préférentiels de COX-2 :** Ces AINS exercent une inhibition modérée de la COX-1, mais leur effet sur la COX-2 est plus prononcé, avec un rapport IC₅₀ allant de 2 à 100 fois plus élevé pour la COX-2 par rapport à la COX-1. Ces médicaments sont généralement mieux tolérés au niveau gastro-intestinal.

Exemple : Meloxicam avec un rapport IC_{50} 1.4/0.7 l'ordre de 2. Ils sont souvent utilisés pour traiter des affections inflammatoires tout en minimisant les effets secondaires sur l'estomac et les intestins (Patrono et al., 2001).

- **Les inhibiteurs non sélectifs de COX** : Ces AINS inhibent de manière significative les deux isoformes, COX-1 et COX-2, à des concentrations thérapeutiques courantes.

Exemple : Ibuprofène. Bien qu'efficaces pour soulager la douleur et l'inflammation, leur action sur la COX-1 peut entraîner des risques accrus de complications gastro-intestinales, en particulier lors de traitements prolongés (Cryer & Dubois, 1998).

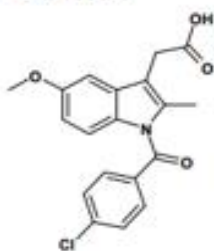
- **Inhibiteurs sélectifs de COX-2 :**

Les inhibiteurs sélectifs de la COX-2, également appelés **COXIBs**, sont caractérisés par un **rapport IC_{50} (COX-1/COX-2) faible**, ce qui signifie qu'ils inhibent principalement la COX-2 et ont une faible affinité pour la COX-1 permet de réduire les effets secondaires gastro-intestinaux courants avec les AINS non sélectifs, qui inhibent à la fois la COX-1 et la COX-2.

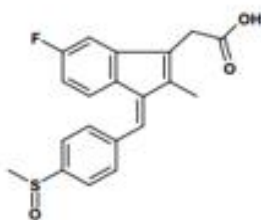
Par exemple, le **Célécoxib** présente un rapport IC_{50} 6.7/0.87 de l'ordre 7.70 , indiquant une sélectivité marquée pour la COX-2.

Un autre exemple, le **Rofécoxib** IC_{50} 18.8/0.53 de l'ordre de 35.47, également un COXIB, montre une sélectivité similaire pour la COX-2 par rapport à la COX-1 (Grosser et al., 2006).

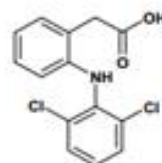
Les fénacs



Indométhacine
 CI_{50} COX-1 = 0,16 μ M
 CI_{50} COX-2 = 0,46 μ M

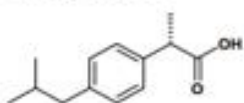


Sulindac
 CI_{50} COX-1 = 1,02 μ M
 CI_{50} COX-2 = 10,43 μ M

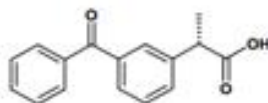


Diclofénac
 CI_{50} COX-1 = 0,14 μ M
 CI_{50} COX-2 = 0,05 μ M

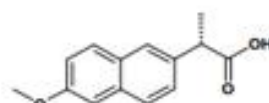
Les profènes



Ibuprofène
 CI_{50} COX-1 = 4,7 μ M
 CI_{50} COX-2 > 30 μ M

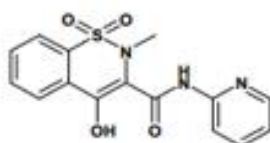


Kétoprofène
 CI_{50} COX-1 = 0,02 μ M
 CI_{50} COX-2 = 1,08 μ M

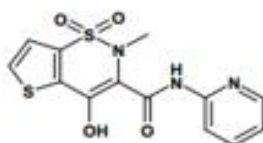


Naproxène
 CI_{50} COX-1 = 7,76 μ M
 CI_{50} COX-2 = 74 μ M

Les oxicames

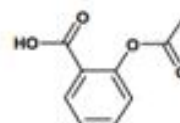


Piroxicam
 CI_{50} COX-1 = 0,76 μ M
 CI_{50} COX-2 = 9,0 μ M



Tenoxicam
 CI_{50} COX-1 = 2,30 μ M
 CI_{50} COX-2 = 14 μ M

L'aspirine



Aspirine
 CI_{50} COX-1 = 0,3 μ M
 CI_{50} COX-2 = 50 μ M

Célécoxib, Celebrex [®]		CI_{50} COX-1 = 6,7 μ M CI_{50} COX-2 = 0,87 μ M
Rofécoxib, Vioxx [®]		CI_{50} COX-1 = 18,8 μ M CI_{50} COX-2 = 0,53 μ M
Valdécoxib, Bextra [®]		CI_{50} COX-1 = 26,1 μ M CI_{50} COX-2 = 0,87 μ M

Figure 8 : Les valeurs de IC50 du COX-1 et COX-2. (Bézière N,2008)

1.2.3. Mécanisme d'action des AINS :

Tous les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) agissent en inhibant les cyclooxygénases (COX).

Toutefois, deux approches pharmacologiques peuvent être utilisées pour les classer selon leurs mécanismes d'action :

1. Le degré et le type d'inhibition pharmacodynamique,
2. L'inhibition préférentielle des isoformes de COX (Jouzeau et al., 2004).

Les AINS présentent des niveaux variables d'inhibition enzymatique, ce qui permet de les regrouper en trois catégories principales :

- **Inhibiteurs compétitifs réversibles** : Ces AINS se lient au site actif de l'enzyme COX, empêchant ainsi l'acide arachidonique de se fixer et de participer à la formation des prostaglandines. La majorité des AINS courants appartiennent à cette catégorie.
- **Inhibiteurs irréversibles** : Certains AINS, comme l'indométacine, le flurbiprofène ou l'acide méfénamique, bloquent de manière permanente l'activité de la COX. Pour que l'enzyme retrouve son activité, une nouvelle synthèse de protéines est nécessaire.
- **Inhibiteurs compétitifs réversibles avec capture des radicaux libres** : Ces AINS ciblent spécifiquement les radicaux libres. La COX, qui fonctionne en conjonction avec une peroxydase pour former un complexe enzymatique, utilise ces radicaux pour produire des prostaglandines, du thromboxane et de la prostacycline. Les AINS dérivés phénoliques captent ces radicaux libres et bloquent ainsi la réaction enzymatique, empêchant la synthèse des prostaglandines (Lechat, 2007).

Les AINS suivent un mécanisme d'action similaire, certains présentent moins d'effets secondaires. Ces différences pourraient être attribuées à la sélectivité des AINS avec les deux isoformes de la cyclooxygénase, la **COX-1** et la **COX-2** (Bertin et al., 1999).

1.3. les flavonoïdes et leur potentiel anti-inflammatoire

1.3.1. Généralités :

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux, jouent un rôle fondamental dans la croissance des plantes et leur défense contre les pathogènes (Havsteen B, 2002). Ils font partie des composés phénoliques de faible poids moléculaire les plus abondants dans le règne végétal et sont particulièrement représentés chez les plantes supérieures. Bien que souvent identifiés comme pigments floraux, leur répartition ne se limite pas aux fleurs, mais englobe l'ensemble des tissus végétaux (Dewick PM, 2001).

Les flavonoïdes constituent une classe essentielle de composés naturels, appartenant aux métabolites secondaires des plantes et caractérisés par une structure polyphénolique. Ils sont largement répandus dans divers aliments tels que les fruits, les légumes ainsi que certaines boissons. Ces composés sont reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé, notamment grâce à leurs propriétés antioxydantes, et ils jouent un rôle potentiel dans la prévention de maladies comme le cancer, la maladie d'Alzheimer et l'athérosclérose (Burak M, Imen Y, 1999 ; Lee Y et al., 2009).

Les flavonoïdes sont impliqués dans plusieurs applications en nutraceutique (combinaison de « nutrition » et « pharmaceutique ») pour formuler des produits visant à améliorer la santé et prévenir certaines pathologies, en pharmacologie ainsi qu'en cosmétique, en raison de leurs activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antimutagènes et anti-carcinogènes. De plus, ils interviennent dans la modulation de nombreuses enzymes cellulaires et sont connus pour inhiber certaines enzymes clés, telles que la xanthine oxydase (XO), la cyclo-oxygénase (COX), la lipoxygénase et la phosphoinositide 3-kinase (Metodiewa D et al., 1997 ; Walker E et al., 2000).

1.3.2. Biosynthèse des Flavonoïdes

1. Introduction : Le lien entre métabolisme primaire et secondaire :

Le métabolisme des organismes vivants se divise en **métabolisme primaire** et **métabolisme secondaire**. Le métabolisme primaire regroupe les réactions biochimiques essentielles à la croissance et à la survie des cellules, telles que la glycolyse, le cycle de Krebs et la biosynthèse des acides aminés, des lipides et des nucléotides (Dixon & Pasinetti, 2010).

En revanche, le métabolisme secondaire produit des molécules qui ne sont pas directement impliquées dans la croissance, mais qui confèrent des avantages adaptatifs aux organismes, comme les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes (Vogt, 2010).

Le métabolisme secondaire est souvent dérivé du métabolisme primaire. Par exemple, la **voie du Shikimate**, qui provient du métabolisme des glucides (via la glycolyse et la voie des pentoses phosphates), aboutit à la formation du **chorismate**, un précurseur clé des acides aminés aromatiques : **phénylalanine, tyrosine et tryptophane** (Maeda & Dudareva, 2012). Ces acides aminés sont ensuite impliqués dans la biosynthèse de nombreux métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes.

2. Origine des précurseurs des flavonoïdes :

La biosynthèse des flavonoïdes repose principalement sur deux voies métaboliques issues du métabolisme primaire :

a. La voie du shikimate et la formation des acides aminés aromatiques :

La voie du shikimate commence avec la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) et de l'érythrose-4-phosphate, provenant respectivement de la glycolyse et de la voie des pentoses phosphates, pour former le shikimate. Après une série de réactions enzymatiques, le shikimate est transformé en chorismate, qui sert de précurseur aux acides aminés aromatiques. (Herrmann & Weaver, 1999).

-Le chorismate est converti en préphénate par l'enzyme chorismate mutase.

-Le préphénate donne naissance à la phénylalanine via la préphénate déshydratase et à la tyrosine via la préphénate déshydrogénase.

-Le chorismate est également transformé en tryptophane par une voie indépendante impliquant plusieurs enzymes, dont la tryptophane synthase.

Ces acides aminés aromatiques constituent la base de nombreuses voies du métabolisme secondaire, y compris la biosynthèse des flavonoïdes (Maeda & Dudareva, 2012).

b. Conversion de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA :

L'acétyl-CoA, issu de la glycolyse et de la dégradation des acides gras, est converti en malonyl-CoA par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (ACC). Cette étape est essentielle, car le malonyl-CoA est un donneur d'unités à trois carbones pour la synthèse des flavonoïdes et d'autres métabolites secondaires ((Schijlen et al., 2004 ; Vogt, 2010).

1.3.3. Biosynthèse des Flavonoïdes :

La biosynthèse des flavonoïdes commence par la voie des **phénylpropanoïdes**, qui transforme la **phénylalanine** en composés intermédiaires essentiels : (figure 09)

1. Transformation de la phénylalanine en acide cinnamique : L'enzyme phénylalanine ammonia-lyase (PAL) catalyse la déamination oxydative de la phénylalanine, aboutissant à la formation de l'acide cinnamique. Cette réaction marque le début de la voie des phénylpropanoïdes (Dixon & Pasinetti, 2010).
 2. Formation du p-coumaroyl-CoA : L'acide cinnamique est hydroxylé en acide p-coumarique par l'enzyme cinnamate 4-hydroxylase (C4H). L'acide p-coumarique est ensuite activé en p-coumaroyl-CoA par l'action de la 4-coumarate-CoA ligase (4CL) (Vogt, 2010).
 3. Formation des flavonoïdes : Le p-coumaroyl-CoA entre dans la voie de la biosynthèse des flavonoïdes grâce à l'enzyme chalcone synthase (CHS), qui catalyse la condensation de trois unités de malonyl-CoA avec une molécule de p-coumaroyl-CoA, formant ainsi une chalcone, le premier intermédiaire flavonoïde (Dixon & Pasinetti, 2010).
- La chalcone est ensuite isomérisée en flavanone par chalcone isomérase (CHI).
 - les flavanones peuvent être transformées en différents flavonoïdes sous l'action d'enzymes spécifiques, comme la flavone synthase (FNS), la flavonol synthase (FLS) et la dihydroflavonol réductase (DFR).

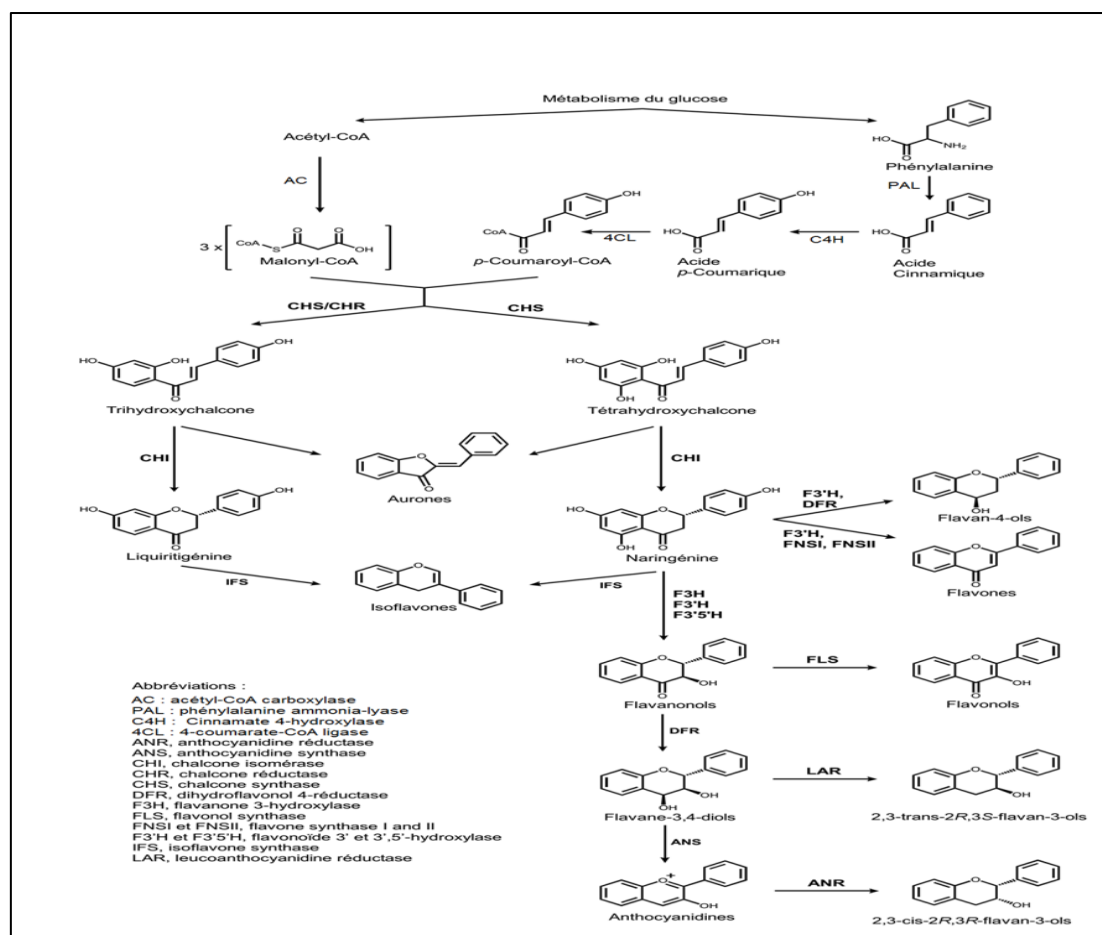


Figure 9 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Gerhard, 1993).

1.3.4. Structure chimique des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des molécules d'origine végétale. Il s'agit de pigments donnant la coloration aux fleurs, fruits et dans certains cas aux feuilles. Les principales propriétés des flavonoïdes sont anti-inflammatoires, protectrices des vaisseaux et anti-oxydantes (Xavier G, 2014).

Ces substances sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone (Milane, 2004) à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitués de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, nommé C (Dacosta E, 2003.) , portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (figure 10).

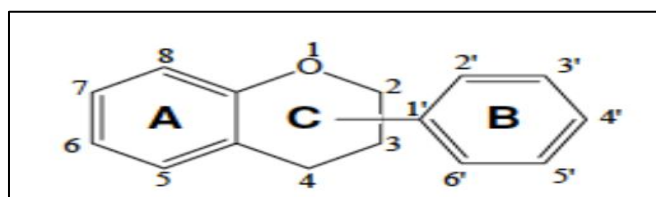


Figure 10 : Squelette de base commun aux flavonoïdes

1.3.5. Principales classes des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont divisés en six sous-classes principales. 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 (figure 11)

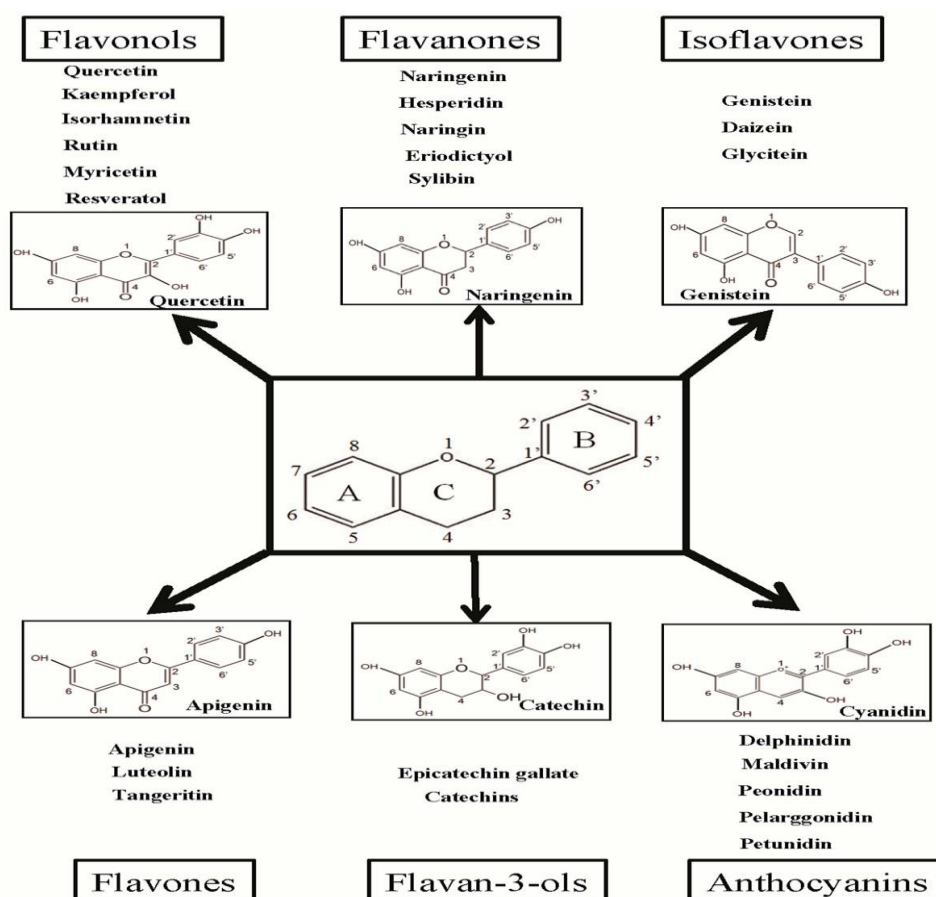


Figure 11 : Classification et exemple de flavonoïdes ainsi que leurs structures chimiques.

Partie bibliographique

Les flavonoïdes sont classés en six groupes, comprenant les flavanols, les flavanones, les isoflavones, les flavones, les flavan-3-ols et les anthocyanines. Les structures chimiques de chacune des six classes de flavonoïdes sont présentées comme exemples, incluant l'isorhamnétine pour les flavanols, la naringine pour les flavanones, la daidzéine pour les isoflavones, l'apigénine pour les flavones, la catéchine pour les flavan-3-ols et la cyanidine pour les anthocyanines.

i. Groupe des flavonols :

Les flavonols possèdent la même structure de base avec : un groupe hydroxyle en position 3 (sauf pour la rutine) et une double liaison C2-C3 au niveau du cycle C (Figure 12, tableau 05.). Les flavonols sont ubiquitaires dans les fruits et les légumes. La quercétine est le flavonoïde le plus répandu de cette sous-classe (Dwyer JT, Peterson JJ, 2002 ; Graf BA, et al, 2005)

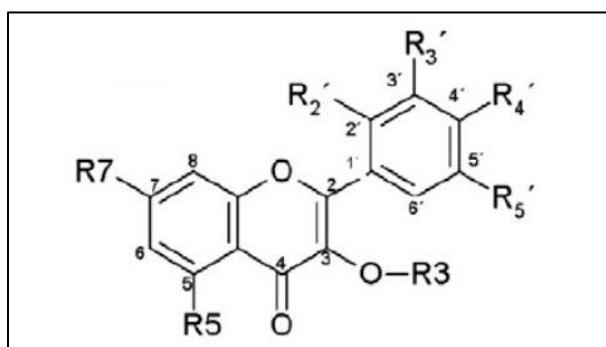


Figure 12 : Structure chimique des flavonols (Mladěnka P, et al, 2011)

Tableau 5 : Quelques exemples de molécules appartenant à la sous-classe des flavonols

Flavonols	Substitution						
	3	5	7	2'	3'	4'	5'
Kaempférol	H	OH	OH	H	H	OH	H
Quercétine	H	OH	OH	H	OH	OH	H
Myrcétine	H	OH	OH	H	OH	OH	OH
Rutine	-Glc-Rha	OH	OH	H	OH	OH	H

(Avec Glc : Glucose ; Rha : Rhamnose)

ii. Groupe des flavanones :

Au niveau de la famille des flavanones, la double liaison en C2-C3 du cycle C a disparu (Figure13,tableau 06.). On retrouve essentiellement les flavanones dans les agrumes tels que les pamplemousses, les citrons etc. Quant à l'héspéridine, on la retrouve également dans la menthe poivrée et le cumin (Dwyer JT, Peterson JJ,2002.)

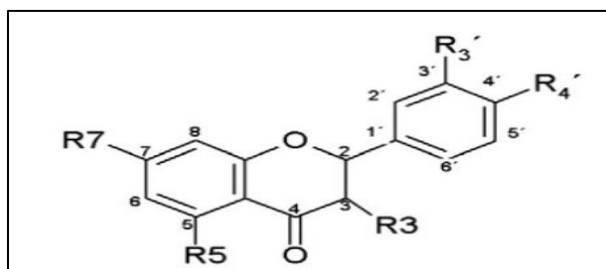


Figure 13 : Structure chimique des flavanones

Tableau 6 : Quelques exemples de molécules appartenant à la sous-classe des flavanones

Flavanones	Substitution				
	3	5	7	3'	4'
Naringénine	H	OH	OH	H	OH
Naringine	H	OH	O-Glc-Rha	H	OH
Hespérétine	H	OH	OH	OH	OCH ₃
Hespéridine	H	OH	O-Glc-Rha	OH	OCH ₃
Taxifoline	OH	OH	OH	OH	OH

iii. Groupe des flavanols (flavan-3-ols) :

La classe des flavanols est également appelée flavan-3-ols. Cette sous-famille comprend les 4 formes de la catéchine. Cette molécule possède deux carbones asymétriques, les carbones C2 et C3, donnant lieu à 4 stéréo-isomères (R (-) ou S (+)) (Figure 14). Dans le règne végétal, on trouvera plus fréquemment la catéchine (+) et l'épicatéchine (-). Les flavan-3-ols sont très présents dans le cacao (environ 132,4 mg/kg de matière fraîche dans le chocolat noir) mais aussi les thés verts et noirs (à hauteur de 132,1 mg de flavonoïdes pour 100 g de thé vert (Graf BA,et al ,2005).

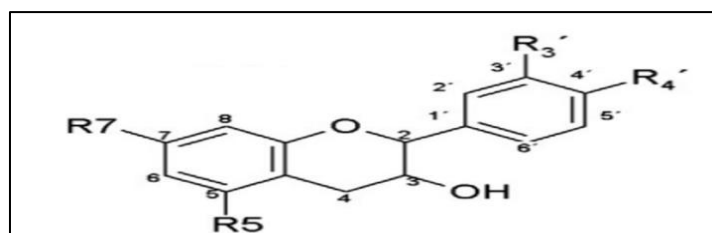


Figure 14 : Structure chimique des flavanols

Tableau 7: Molécules appartenant à la sous-classe des flavanols

<i>Flavanols</i>	Substitution				
	5	7	3'	4'	Conformation
Épicatéchine (- ou +)	OH	OH	OH	OH	2R, 3R (-) ou 2S, 3S (+)
Catéchine (- ou +)	OH	OH	OH	OH	2S, 3R (-) ou 2R, 3S (+)

iv. Groupe des flavones :

Les flavones ont un squelette de base correspondant au 2-phénylchromén-4-one (Figure 15 tableau 08). Ils sont essentiellement présents dans les pigments jaunes des fleurs. Cette sous-classe est prédominante au niveau des céréales, les herbes aromatiques et les légumes

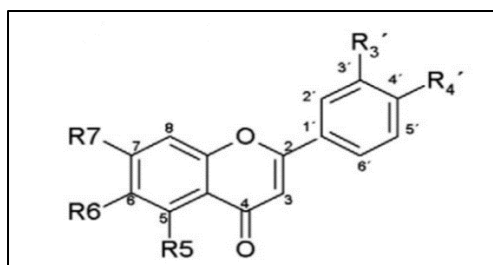


Figure 15 : Structure chimique des flavones

Tableau 8 : Exemples de molécules appartenant à la sous-classe des flavones

<i>Flavones</i>	Substitution				
	5	6	7	3'	4'
Flavone	H	H	H	H	H
Chrysine	OH	H	OH	H	H
Apigénine	OH	H	OH	H	OH
Lutéoline	OH	H	OH	OH	OH
Baicaléine	OH	OH	OH	H	H
Diosmine	OH	H	O-Glc-Rha	OH	OCH ₃

v. Groupe des isoflavonoïdes :

Les isoflavonoïdes (Figure 16) sont exclusivement trouvés dans les légumes, plus particulièrement les graines de soja.(Graf BA,et al ,2005)

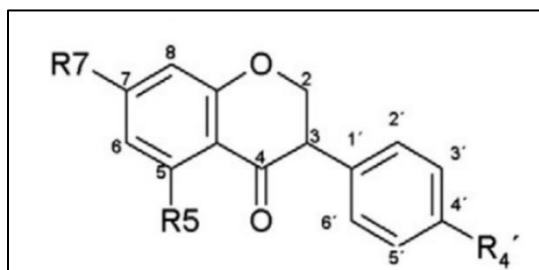


Figure 16 : Structure chimique des isoflavonoïdes

Tableau 9 : Molécules appartenant à la sous-classe des isoflavonoïdes

Isoflavonoïdes	Substitution		
	5	7	4'
Daidzéine	H	OH	OH
Génistéine	OH	OH	OH

vi. Groupe des anthocyanidines :

Les anthocyanidines (Figure 17) sont responsables de la couleur des végétaux. Leur pigment varie du rouge au bleu en fonction du milieu (Košir IJ,et al,2004) (rouge pour milieu acide, bleu-violet pour milieu alcalin voire neutre) ainsi que du degré d'hydroxylation. On les utilise comme colorants alimentaires (figure 18)

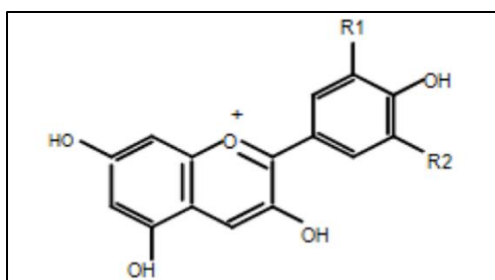


Figure 17 : Structure chimique des anthocyanidines

Tableau 10 : Exemples de molécules appartenant à la sous-classe des anthocyanidines

Anthocyanidines	Substitutions					
	3	5	7	3'	4'	5'
Cyanidine	OH	OH	OH	OH	OH	H
Malvidine	OH	OH	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃
Pétunidine	OH	OH	OH	OCH ₃	OH	OH

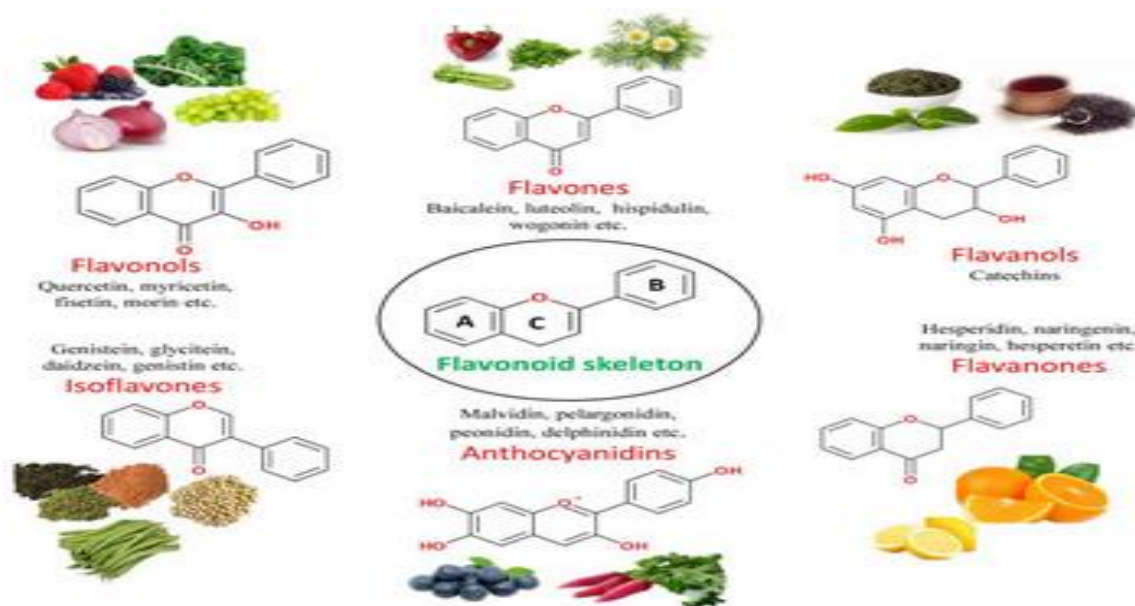


Figure 18 : Structure et exemple de quelques classes des flavonoïdes

La classification des flavonoïdes permet de mieux comprendre leurs propriétés chimiques et biologiques. La diversité structurale de ces composés offre un large éventail d'applications potentielles dans les domaines de la santé et de l'industrie.

1.3.6. Propriétés biologiques des flavonoïdes :

1. Généralités :

Les flavonoïdes sont des composés bioactifs présents dans de nombreux aliments d'origine végétale, tels que les fruits, les légumes, le thé et le cacao. Ils sont largement reconnus pour leurs effets antioxydants et anti-inflammatoires, ce qui en fait des candidats prometteurs dans la prévention et le traitement de diverses maladies chroniques. En plus de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, les flavonoïdes sont également associés à des effets protecteurs dans d'autres domaines de la santé. Par exemple, ils sont impliqués dans la réduction du risque de maladies cardiovasculaires en améliorant la fonction endothéliale et en réduisant l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) (Knekt et al., 2002). De plus, des études ont montré que certains flavonoïdes ont des effets hépatoprotecteurs, en réduisant les dommages au foie causés par les toxines et le stress oxydatif (Bousserouel et al., 2013). Ils sont également connus pour leurs propriétés anticancéreuses, en inhibant la prolifération cellulaire et en induisant l'apoptose dans les cellules tumorales (Li et al., 2009).

De nombreuses études ont mis en évidence leurs propriétés antioxydantes, en neutralisant les radicaux libres et en réduisant le stress oxydatif, ce qui aide à protéger les cellules des

dommages causés par l'oxydation (Metodiewa D et al., 1997). En outre, les flavonoïdes exercent un effet anti-inflammatoire en inhibant les enzymes clés telles que la cyclooxygénase (COX) et la lipoxygénase, qui sont impliquées dans la production de médiateurs inflammatoires (Walker E et al., 2000).

2. Propriétés Antioxydantes des Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes, ce qui renforce leurs effets anti-inflammatoires. En activant le facteur de transcription (Nrf2, facteur nucléaire erythroïde 2), ils régulent l'expression de diverses protéines antioxydantes. (Nrf2) inhibe des molécules telles que (MCP-1, monocyte chemo attractant protein-1) et (VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1), réduisant ainsi l'adhésion et la migration des monocytes vers les cellules endothéliales. Cela diminue l'expression des voies (MAPK, mitogen-activated protein kinase) et (p38, p38 mitogen-activated protein kinase) et prévient la formation de lésions athérosclérotiques (Chen et al., 2006).

Les flavonoïdes induisent également la production d'enzymes antioxydantes, telles que l'hème-oxygénase, la superoxyde dismutase, la γ -glutamylcystéine synthétase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase (Serafini et al., 2010). Cette capacité à moduler la réponse inflammatoire pourrait être bénéfique dans des pathologies où l'inflammation joue un rôle clé, telles que la maladie d'Alzheimer, la polyarthrite rhumatoïde, le diabète de type II et certains cancers, où des cytokines inflammatoires comme IL-1 β , IL-6 et TNF- α sont fortement exprimées (Choy et al., 2019).

3. Propriétés anti-inflammatoires des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques largement présents dans les plantes, notamment dans les fruits, les légumes, le thé, et le cacao. Les flavonoïdes exercent leurs effets anti-inflammatoires en modifiant diverses voies de signalisation cellulaire impliquées dans l'inflammation.

Les flavonoïdes agissent principalement en inhibant les enzymes clés impliquées dans la production de médiateurs inflammatoires. Par exemple, plusieurs flavonoïdes, tels que la quercétine, le kaempférol, et la myricétine, ont été identifiés comme des inhibiteurs de la cyclooxygénase (COX) et de la lipoxygénase, enzymes responsables de la synthèse des prostaglandines et leucotriènes, respectivement (Metodiewa D et al., 1997). En inhibant la COX-2, les flavonoïdes limitent la production de prostaglandines pro-inflammatoires, réduisant ainsi l'inflammation et la douleur (Walker E et al., 2000).

De plus, les flavonoïdes exercent une action anti-inflammatoire en modulant la production de cytokines inflammatoires. Ils inhibent la production de médiateurs tels que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6, qui jouent un rôle central dans la cascade inflammatoire (Cayatte et al., 2013). Par exemple, la **quercétine** et le **resvératrol** ont montré leur capacité à réduire les niveaux de TNF- α et à moduler la réponse immunitaire (Cayatte et al., 2013; Liao et al., 2015)

1.4. QSAR (Quantitative structure activity relation-ship)

1.4.1. Introduction à la modélisation QSAR :

Bien que l'étude des relations structure-activité ait commencé à la fin du 19^{ème} siècle, ce n'est qu'au début des années 60 que les travaux de Corwin Hansch ont proposé un modèle mathématique pour corréler l'activité biologique et la structure chimique. Pendant ces quarante dernières années, ce domaine a largement été étudié et les données bibliographiques disponibles sur cette approche sont maintenant importantes (Debnath,A.K,2001) .

La méthode QSAR inclut toutes les méthodes statistiques par lesquelles des activités biologiques (le plus souvent exprimées par des logarithmes des activités molaires équipotentielles) sont reliées avec les éléments structuraux (analyse de Free Wilson), les propriétés physico-chimiques (analyse de Hansch) ou différents paramètres liés à la notion de champ aidant à la description de la structure (3D QSAR). Les informations extraites à partir des résultats d'étude de QSAR peuvent être utilisées pour obtenir une meilleure connaissance des structures moléculaires et probablement le mode d'action au niveau moléculaire. Ces informations peuvent alors être utilisées pour prévoir les propriétés physicochimiques et les activités biologiques de nouveaux composés ainsi que pour concevoir de nouvelles structures (Waterbeemd,H ; Rose,S.2003)

1.4.2. Principe des méthodes QSAR :

Le principe des méthodes QSPR/QSAR est de trouver une relation mathématique reliant de manière quantitative des propriétés moléculaires, appelées descripteurs, avec une propriété ou une activité biologique pour une série de composés chimiques similaires à l'aide des méthodes d'analyses de données. La forme générale d'un tel modèle est la suivante :

$$\text{Propriété/ Activité} = f(D1, D2, \& Dn, ,.....)$$

D1, D2, &Dn sont des descripteurs des structures moléculaires.

1.4.3. Outils et techniques de QSAR :

a. Paramètres biologiques :

Les données biologiques sont habituellement exprimées sur une échelle logarithmique en raison de la relation linéaire entre la réponse et le logarithme de dose dans la région centrale de la courbe de log dose-réponse. Les logarithmes inverses de l'activité ($\log 1/C$) sont également utilisées pour obtenir des valeurs mathématiques plus élevées lorsque les structures sont

Partie bibliographique

biologiquement très efficaces. Des exemples de données biochimiques ou biologiques, utilisés dans l'analyse de QSAR, sont décrits dans le tableau 11 (celassie,C.D,2003).

Tableau 11 : Types de données biologiques utilisées dans l'analyse QSAR

Source d'activité	Paramètres biologiques
1. Récepteurs isolés	
Constante de vitesse	Log k
Constante de Michaelis-Menten	Log 1/K _m
Constante d'inhibition	Log 1/K _i
2. Systèmes cellulaires	
Constante d'inhibition	Log 1/IC ₅₀
Résistance croisée	Log CR
Données biologiques in vitro	Log 1/C
Mutation de gène	Log TA ₉₈
3. Systèmes in vivo	
Facteur de bioconcentration	Log BCF
Vitesses de la réaction in vivo	Log I (induction)
Vitesses pharmacodynamiques	Log T (clairance totale)

b. Propriétés moléculaires et leurs paramètres :

Tableau 12 : Paramètres physico-chimiques et intrinsèques.

Propriété moléculaire	Interaction correspondante	Paramètres
Lipophilie	Interactions hydrophobes	Log P, π , f, R _m
Polarisabilités	Interaction de van-der-waals	MR ,MV
Densité électronique	Liaisons ionique , hydrogènes Interactions dipole-dipole Liaisons, transfert de charge	σ ,R,F
Topologie	Interactions stériques	Es,rv , distances , volumes

Log P : coefficient de partition

π : constant de Hansch (constant de substitut lipoïdique)

f : constante de fragment hydrophobe

MR : réfraction moléculaire

MV : volume moléculaire

σ : constante de Hammett

F, R : paramètres de champ et de résonance

Es : constante de Taft (aspect stérique). r_v : rayon moyen (rayons de Van-der-Waals de substituants symétriques)

1.4.4. Caractéristiques des descripteurs moléculaires en QSAR :

Les descripteurs moléculaires sont des valeurs numériques qui traduisent des informations sur la structure et les propriétés des molécules. Ils permettent d'établir des relations quantitatives entre la structure chimique et l'activité biologique d'un composé. Voici les principales catégories de descripteurs et leurs caractéristiques :

1. Descripteurs topologiques :

Ces descripteurs sont basés sur la connectivité des atomes au sein de la molécule, sans prendre en compte la géométrie 3D. L'indice de Wiener, par exemple, est une mesure de la compacité moléculaire en sommant les distances entre tous les couples d'atomes. Plus cet indice est élevé, plus la molécule est allongée et moins elle est compacte (Wiener, 1947). L'indice de connectivité de Randic reflète la complexité des liaisons dans la molécule et peut être corrélé à la stabilité chimique (Randic, 1975). Le nombre de liaisons rotatables est un paramètre clé dans la prédiction de la flexibilité moléculaire, influençant ainsi la biodisponibilité et l'affinité avec les récepteurs biologiques. Ces indices sont particulièrement utiles pour prédire la biodisponibilité et la réactivité chimique des molécules (Todeschini et al., 2009).

2. Descripteurs géométriques :

Ces descripteurs prennent en compte la forme tridimensionnelle de la molécule. Le volume moléculaire est une mesure de l'espace occupé par une molécule et joue un rôle dans l'affinité avec des sites enzymatiques ou récepteurs. La surface accessible au solvant (SAS) est un

paramètre crucial qui détermine la solubilité et la disponibilité d'une molécule en milieu biologique (Cramer et al., 2005). Un autre descripteur important, le moment d'inertie, permet d'évaluer la distribution de la masse autour des axes principaux de la molécule, influençant ainsi son interaction avec les biomolécules. (Schoenwald et al., 1996). Ces descripteurs sont essentiels dans l'étude de la pharmacocinétique des molécules.

3. Descripteurs physico-chimiques :

Ces descripteurs sont essentiels pour prédire les propriétés pharmacocinétiques et l'absorption des molécules. Le LogP, qui exprime le coefficient de partage entre l'octanol et l'eau, est un indicateur d'hydrophobicité. Une valeur élevée de LogP indique une meilleure affinité pour les membranes lipidiques, tandis qu'une valeur basse suggère une solubilité accrue en milieu aqueux (Muegge et al., 2001). Le pKa renseigne sur l'acidité ou la basicité de la molécule, ce qui influence son état d'ionisation en fonction du pH physiologique (Bergström et al., 2010). Le poids moléculaire est un critère déterminant pour la diffusion et la pénétration membranaire, sachant que les molécules trop lourdes (>500 Da) sont généralement moins absorbées. Enfin, la solubilité aqueuse (LogS) influence la biodisponibilité, car une molécule peu soluble aura du mal à atteindre sa cible à des concentrations suffisantes. (Lipinski et al., 1997).

4. Descripteurs électroniques :

Les descripteurs électroniques sont liés à la distribution des électrons dans une molécule et peuvent influencer son interaction avec des récepteurs biologiques. Le moment dipolaire peut affecter la manière dont la molécule interagit avec des sites chargés ou polaires sur des protéines cibles (Todeschini et al., 2008). Les charges partielles des atomes indiquent la répartition des électrons, jouant un rôle déterminant dans les interactions électrostatiques avec des récepteurs ou d'autres molécules (Puzyn et al., 2010). L'énergie des orbitales HOMO et LUMO est un autre paramètre clé : un HOMO élevé indique une tendance accrue à donner des électrons (réactivité nucléophile), tandis qu'un LUMO bas signifie une meilleure capacité à accepter des électrons (réactivité électrophile). (Baughman et al., 2004).

5. Descripteurs basés sur les fragments moléculaires :

Les descripteurs basés sur les fragments moléculaires permettent d'analyser les groupes fonctionnels spécifiques présents dans la molécule, comme les cycles aromatiques ou les groupes donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène. Le nombre de cycles aromatiques est un facteur déterminant, car il peut conférer une stabilité accrue à la molécule et influencer son

interaction avec l'ADN ou des récepteurs biologiques (Verma et al., 2012). La présence de liaisons hydrogène donneuses et accepteurs (comme les groupes -OH, -NH₂ ou -COOH) est un élément clé pour la formation de liaisons hydrogène avec des cibles biologiques sont des facteurs importants dans la reconnaissance moléculaire et l'affinité avec les cibles biologiques (Dearden et al., 2007).

1.4.5. Relation structure activité quantitative :

Les équations QSAR prennent la forme générale suivante :

$$\text{Activité biologique} = \text{fonction}\{\text{paramètre(s)}\}$$

Dans l'équation, l'activité biologique est normalement exprimée comme :

$$\log[1/(\text{symbole de concentration})],$$

où : C est généralement la concentration minimum requise pour causer une réponse biologique définie (thomas, G, 2003).

La relation mathématique entre un paramètre ou plusieurs paramètres physico-chimiques et l'activité biologique d'un composé peut être exprimée à travers l'équation de Hansch :

$$\text{Log } 1/C = -K_1(\log P)^2 + K_2 \log P + K_3 + K_4 E_s + K_5$$

Cette équation est obtenue par analyse de régression. La valeur du coefficient r obtenue après cette analyse donne des informations sur la concordance des paramètres qui sont utilisés pour former l'équation de Hansch. Si le résultat obtenu pour r est 0,9, cela signifie que les paramètres utilisés sont valides et que l'équation peut être exploitée pour le reste des composés dans un 'training set' (ou ensemble de molécules). L'équation de Hansch est utilisée pour prévoir l'activité biologique de composés dont la structure est semblable à ceux utilisés pour former cette équation. Cependant, dans le cas où la valeur prévue est différente de celle déterminée par l'expérimentation, cela peut signifier que l'activité biologique réelle des composés n'est pas prise en compte par les paramètres mis en jeu dans le processus de construction de l'équation. L'équation de Hansch peut être également utilisée pour montrer le degré d'importance de différents paramètres sur l'activité biologique (bohm, G.H, et al, 2000).

1.4.6. Méthodologie générale d'une étude QSAR :

La méthodologie générale d'une étude QSAR/QSPR est la suivante :

1. Collecte d'une base de données
2. Recherche de descripteurs adéquats pour l'activité étudiée
3. Le choix d'une méthode d'analyse des données
4. Validation du modèle :
 - Validation interne : on utilise la série d'apprentissage constituée de 2/3 de la base de données. Ce type de validation a pour but de vérifier la stabilité et le pouvoir explicatif du modèle QSAR retenu.
 - Validation externe : on utilise la série de test constituée généralement de 1/3 de la base de données. Le but de cette validation est de vérifier le pouvoir prédictif du modèle élaboré.

1.4.7. Etapes du QSAR :

En général, pour prédire l'activité biologique par la méthode QSAR, la construction du modèle mathématique est effectuée en 5 étapes de base. L'ensemble des données utilisées dans l'étude de QSAR sont collectées soit directement à partir des mesures expérimentales, extraites de la littérature ou à partir de bases de données. (Hansch, 1969 ; Jhanwar et al.,2011; Mombelli, 2008; Phuong,2007, Kapoor and Kumar, 2019)

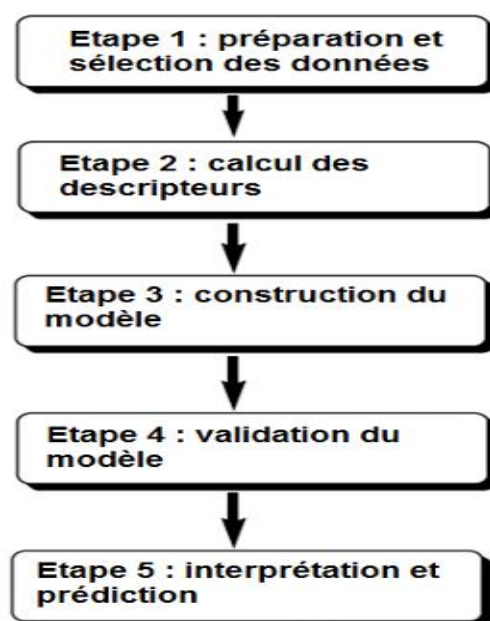


Figure 19 : Les 5 étapes de base de la construction du modèle de QSAR

a. Collecte des données :

En pratique, le développement d'un modèle débute par la collecte de données expérimentales fiables et en nombre le plus important possible. Les données collectées sont divisées en deux parties :

A. Les données d'apprentissage « Training Set (TSET) » : utilisées pour la construction des modèles finaux.

B. Les données de prédiction « Prédiction Set (PSET) » : utilisées pour la validation des modèles formés.

b. Calcul des descripteurs :

Génération de descripteurs moléculaires à partir des structures chimiques. Ces descripteurs peuvent inclure des propriétés géométriques, topologiques, électroniques, physico-chimiques, et hydrophobes. Une fois les descripteurs moléculaires sont calculés pour chaque composé de l'ensemble de données, ils peuvent être utilisés comme entrée pour construire un modèle QSAR. Le choix des descripteurs dépend souvent de la nature des données et des propriétés spécifiques des composés étudiés, ainsi que des objectifs de l'étude QSAR.

c. Construction du modèle QSAR :

Cette étape consiste à choisir un algorithme approprié (régression linéaire) et construire un modèle mathématique reliant les descripteurs moléculaires aux activités biologiques des composés.

d. La validation du modèle :

Il s'agit de vérifier la qualité et la robustesse du modèle QSAR, en utilisant des critères internes (comme le coefficient de détermination ou le coefficient de corrélation) ou externes (comme la capacité de prédiction sur des données indépendantes ou la pertinence biologique).

1.4.8. Critères de sélection des molécules bioactives :

Les études de QSAR sont utilisées pour prédire les propriétés physico-chimiques des composés chimiques. Ces propriétés peuvent avoir un impact important sur la biodisponibilité orale, la solubilité, la stabilité et la toxicité des composés.

La sélection des composés est donc une étape cruciale qui permet d'éliminer les composés qui ne répondent pas à certains critères physico-chimiques ou pharmacocinétiques.

Partie bibliographique

Cette sélection permet d'optimiser la qualité des données utilisées pour construire les modèles QSAR et d'améliorer ainsi la pertinence et la fiabilité des prédictions de l'activité

➤ La règle de Lipinski (1997) :

La **règle des 5 de Lipinski** définit quatre critères pour qu'un composé soit bien absorbé par voie orale (Lipinski et al., 2001) :

- Masse moléculaire (MW) ≤ 500 Da
- Log P (logarithme du coefficient de partage octanol-eau) $\text{Log P} \leq 5$
- Nombre d'accepteurs de liaisons d'hydrogène (H-bond acceptors) ≤ 10
- Nombre de donneurs de liaisons hydrogène (H-bond donors): **HBD ≤ 5**
- Nombre d'accepteurs de liaisons d'hydrogène (H-bond acceptors) **HBA ≤ 10**

Lipinski considère strictement que tous les azotes et oxygènes comme accepteurs de liaison H et tous les azotes et oxygènes avec au moins un hydrogène comme -H les donateurs d'obligations.

Selon cette règle, Les composés qui répondent à la règle de Lipinski peuvent être utilisés pour générer des modèles QSAR plus précis.

Un composé possède toutes les chances d'être disponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité.

➤ La règle de Veber (2002) :

La règle de Veber propose des critères pour estimer la **biodisponibilité orale** d'une molécule, en particulier sa capacité à être bien absorbée au niveau intestinal. Elle s'appuie principalement sur deux paramètres :

- **Le nombre de liaisons rotatives (RB)** : Ce sont des liaisons simples pouvant tourner librement autour de leur axe, excluant celles impliquées dans des cycles ou adjacentes à des hétéroatomes. Une molécule avec **10 liaisons rotatives ou moins** est généralement considérée comme suffisamment rigide pour favoriser une bonne perméabilité intestinale.
- **La surface polaire topologique (TPSA)** : Elle correspond à la somme des surfaces des atomes polaires (principalement oxygène et azote) et de leurs hydrogènes associés. Le TPSA est exprimé en **Ångströms carrés (Å²)**.

En chimio-informatique et en pharmacologie, la TPSA est un paramètre essentiel pour prédire la capacité d'une molécule à traverser les membranes biologiques :

- Une **TPSA < 140 Å²** est généralement associée à une **bonne absorption intestinale**.
- Une **TPSA < 70 Å²** est souvent requise pour une **bonne pénétration au niveau du système nerveux central** (absorption cérébrale).

➤ **Règle de Ghose :**

Met l'accent sur la taille, la forme, la polarité et la solubilité.

➤ **Autres critères de sélection :**

D'autres critères sont également utilisés pour optimiser la pharmacocinétique :

- Ghose Filter : propose des plages optimales pour le poids moléculaire, le LogP et le nombre d'atomes (Ghose et al., 1999).
- Egan Rule : prédit la perméabilité intestinale à partir du LogP et de la surface polaire (Egan et al., 2000).
- Règle de Muegge : prend en compte la complexité structurale et la présence de groupes fonctionnels critiques (Muegge et al., 2001).

2. Partie Pratique

Matériel et méthodes

Dans le cadre de cette étude, une approche de modélisation QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) a été utilisée afin de prédire l'activité inhibitrice de composés flavonoïdes vis-à-vis de l'enzyme COX-2 (Cyclooxygénase-2). Le logiciel MOE (Molecular Operating Environment) version 2014 [Chemical Computing Group ULC, Montréal, QC, Canada] a été utilisé pour toutes les étapes de modélisation, incluant la préparation des structures moléculaires, la sélection des descripteurs, la construction et la validation du modèle QSAR.

2.1. Caractérisation structurale des AINS utilisés dans le modèle QSAR :

L'objectif de cette étude est de construire un modèle QSAR prédictif de l'affinité d'inhibition de la cyclooxygénase-2 (COX-2) par une série de 20 anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), dans le but d'établir une relation structure-activité moléculaires régissant leur efficacité, afin d'identifier les groupements fonctionnels susceptibles d'interagir spécifiquement avec les sites actifs de l'enzyme COX-2.

Les AINS inclus dans cette étude se répartissent principalement en plusieurs classes chimiques bien définies :

2.1.1. Dérivés de l'acide anthranilique (fenamates) :

- Acide niflumique : Composé aromatique contenant un groupement acide carboxylique et un noyau aminobenzoïque substitué par un groupement trifluorométhyle. Ces groupements favorisent les interactions hydrophobes et ioniques avec COX-2 (Vane, J. R., & Botting, R. M. 1998).

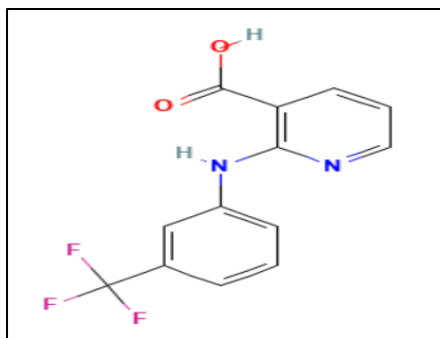


Figure 20 : Structure de l'Acide niflumique.

2.1.2. Dérivés de l'acide arylacétique ou arylpropionique :

Diclofénac, Étodolac, Tolmétine, Kétoprofène, Naproxène, Flurbiprofène, Ibuprofène, Carprofène : Ces composés possèdent un noyau aromatique mono- ou poly-substitué et une

Partie Pratique

chaîne latérale acide (carboxylique), essentielle pour les interactions ioniques avec la poche catalytique de la COX-2. La présence de substituants halogénés (Cl, F) renforce les interactions hydrophobes (Lombardino, J. G., & Lowe, J. A. 2004).

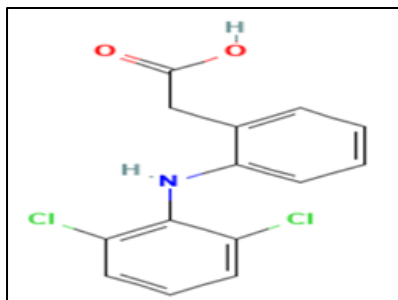


Figure 21 : structure de diclofénac.

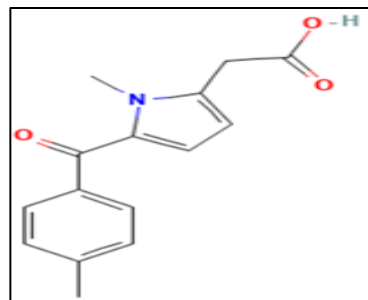


Figure 25 : structure de tolmétine.

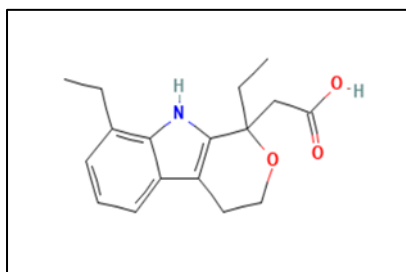


Figure 22 : structure de Etodolac.

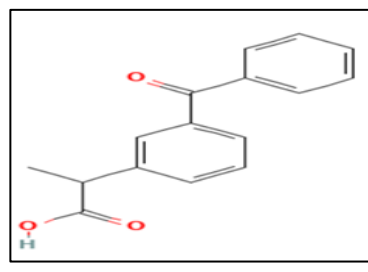


Figure 26 : structure de kétoprofène.

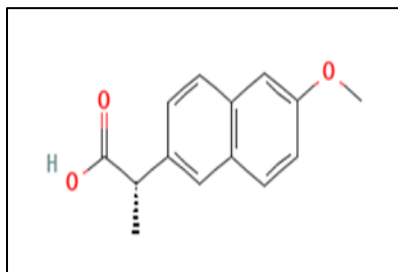


Figure 23 : structure de naproxène.

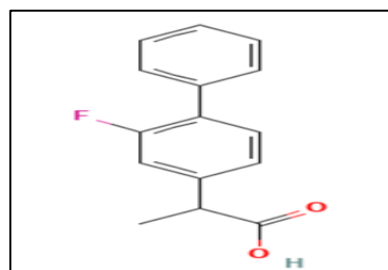


Figure 27 : structure de flurbiprofène.

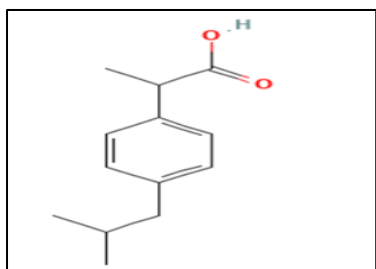


Figure 24 : structure de l'ibuprofène.

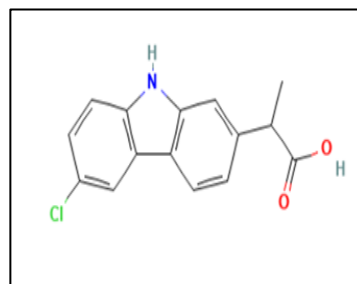


Figure 28 : structure de carprofène.

2.1.3. Dérivés de l'indole et de l'indène :

Indométhacine, Sulindac : Ces composés possèdent un noyau indol ou indène, apportant rigidité et planéité à la molécule, favorisant les interactions π - π dans la poche de liaison de COX-2. Les groupes cétone ou sulfoxyde améliorent leur affinité. (Warner, T. D., & Mitchell, J. A. 2002).

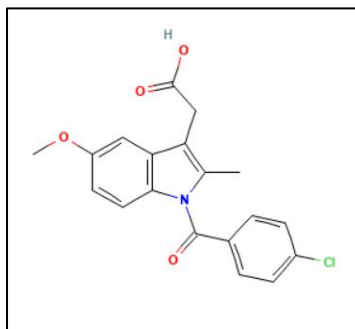


Figure 29 : structure de l'indométhacine.

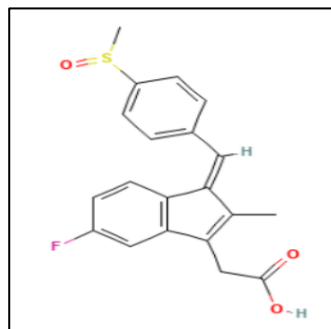


Figure 30 : structure de sulindac.

2.1.4. Oxicams (dérivés de l'acide énoïque) :

Méloxicam, Piroxicam, Ténoxicam : Ces composés partagent une structure thiazine-pyridine avec une fonction énoïque en équilibre avec un groupement cétone. Cette classe se distingue par l'absence de groupe carboxylique, compensée par des interactions hydrogène via les groupes amide et hydroxyle (Hawkey, C. J. 1999).

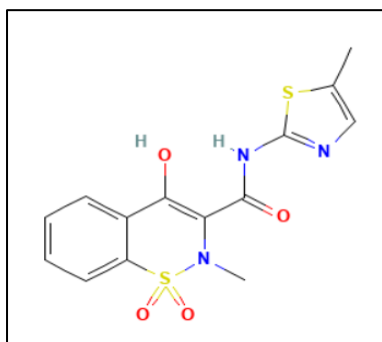


Figure 31 : structure de méloxicam.

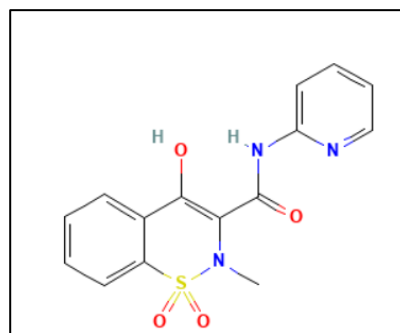


Figure 32 : structure de piroxicam.

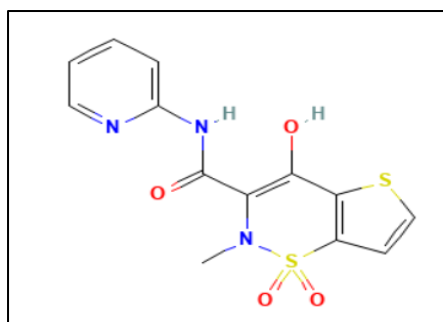


Figure 33 : structure de ténoxicam.

2.1.5. Coxibs (inhibiteurs sélectifs de COX-2) :

Rofécoxib, Célécoxib, Étoricoxib, Valdécoxib : Ces composés présentent des groupements sulfonamide ou sulfone ainsi que des hétérocycles (pyrazole, isoxazole, pyridine). Leur sélectivité pour COX-2 repose sur la présence d'un canal latéral spécifique de COX-2, dans lequel ces substituants polaires s'insèrent efficacement (Penning, T. D., et al. 1997).

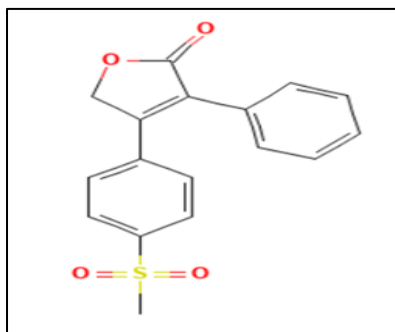


Figure 34 : structure de rofécoxib.

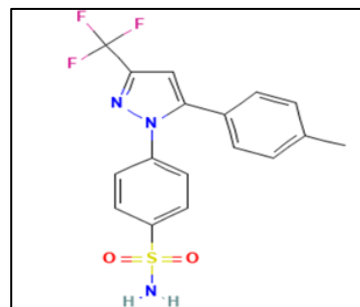


Figure 35 : structure de célécoxib.

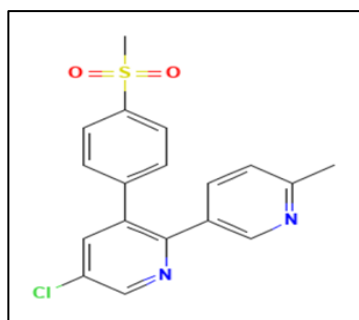


Figure 36 : structure de étoricoxib.

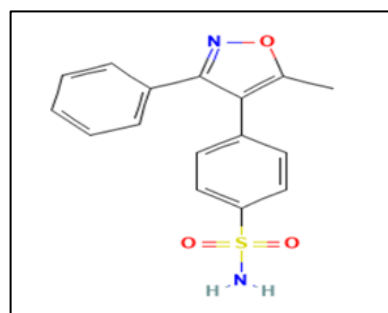


Figure 37 : structure de valdécoxib.

2.1.6. Autres composés :

- Aspirine (Acide acétylsalicylique) : fait partie du groupe Salicylate
- Acide acétylsalicylique un dérivé salicylé, caractérisé par la présence d'un acide carboxylique et d'un ester acétylé. Il inhibe COX-2 de manière irréversible par acétylation de la sérine catalytique (Roth, G. J, et al ,1975)

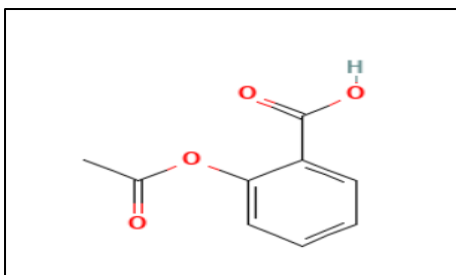


Figure 38 : structure de l'aspirine.

- Nimsulide : fait partie du groupe Sulfonanilide contenant un groupement nitro et un sulfonamide. Ces fonctions assurent une sélectivité pour COX-2, via des interactions électrostatiques spécifiques (Rainsford, K. D. 2004)

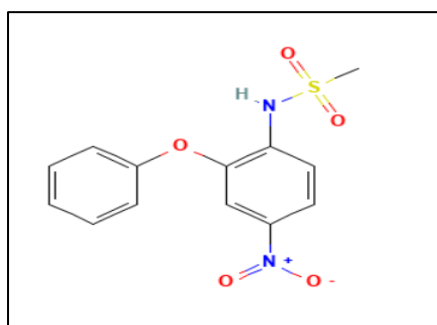


Figure 39 : structure de nimsulide.

Cette classification structurale constitue une étape essentielle pour la compréhension des paramètres moléculaires déterminants dans l'efficacité des inhibiteurs du COX-2.

2.2. Caractéristiques structurales des flavonoïdes :

Dans le cadre de cette étude, plusieurs flavonoïdes ont été sélectionnés pour cette étude QSAR.

La structure de base des flavonoïdes partage une structure commune de type C6-C3-C6, composée de deux cycles aromatiques (A et B) reliés par une chaîne à trois carbones formant un hétérocycle (cycle C). Selon les modifications apportées à ce squelette de base (saturation du cycle C, position et nombre de groupes hydroxyles, présence de cétone...), ils sont répartis en différentes classes : flavones, flavonols et flavanones.

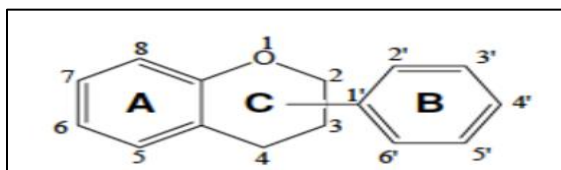
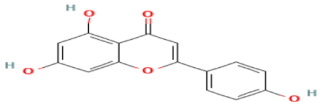
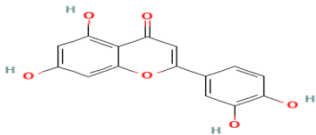
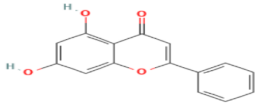
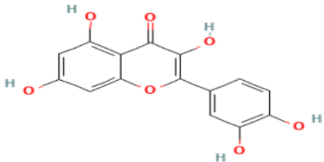
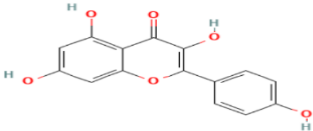


Figure 40 : structure de base de flavonoïdes

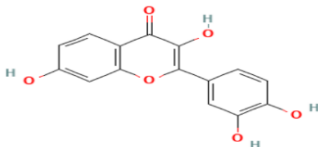
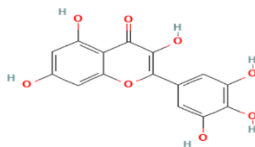
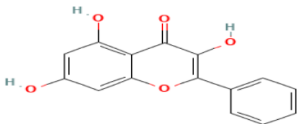
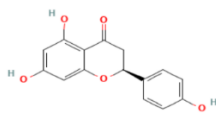
Partie Pratique

Les caractéristiques structurales, notamment le nombre et la position des groupes hydroxyles (-OH), influencent considérablement l'activité biologique de ces composés, notamment leur capacité à se lier à des cibles enzymatiques telles que la cyclooxygénase-2 (COX-2).

Tableau 13 : Classification structurale des flavonoïdes.

Molécule	Classe	Groupes hydroxyles (-OH)	Caractéristiques structurales
Apigénine 	Flavone	5, 7, 4'	Trihydroxyflavone, non substituée en position 3 (cycle C)
Lutéoline 	Flavone	5, 7, 3', 4'	Tétrahydroxyflavone, forte polarité, substitution sur B
Chrysrine 	Flavone	5, 7	Faiblement substituée, pas de -OH sur cycle B
Quercétine 	Flavonol	3, 5, 7, 3', 4'	Penta-hydroxy flavonol, hautement polaire, très antioxydante
Kaempférol 	Flavonol	3, 5, 7, 4'	Tétra-hydroxy flavonol, moins polaire que la quercétine

Partie Pratique

Molécule	Classe	Groupes hydroxyles (-OH)	Caractéristiques structurales
Fisetin 	Flavonol	3, 7, 3', 4'	Tétra-hydroxy, cycle B riche en hydroxyles
Myricétine 	Flavonol	3, 5, 7, 3', 4', 5'	Hexa-hydroxy, très polaire, forte activité de chélation
Galangine 	Flavonol	3, 5, 7	Aucun groupe hydroxyle sur le cycle B, moins polaire
Naringénine 	Flavanone	5, 7, 4'	Cycle C saturé (flavanone), structure non plane

- Flavones (Apigénine, Lutéoline, Chrysin) : caractérisées par une double liaison C2=C3 et une cétone en C4. L'absence d'un groupe hydroxyle en C3 distingue les flavones des flavonols.
- Flavonols (Quercétine, Kaempférol, Fisetin, Myricétine, Galangine) : possèdent un groupe -OH en C3 en plus de la cétone en C4, leur conférant une forte capacité antioxydante.
- Flavanones (Naringénine) : le cycle C est saturé, réduisant la planéité et la conjugaison électronique, ce qui peut moduler leur interaction avec la COX-2.
- Le nombre et la position des groupes -OH influencent fortement l'hydrophilie, la capacité de chélation des métaux, et les interactions hydrogène avec les enzymes cibles.

2.3. Les étapes méthodologiques du QSAR :

2.3.1. Constitution des données :

Deux groupes de composés ont été définis :

- Groupe d'entraînement ou d'apprentissage (Training set) : composé de 20 anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) dont les valeurs expérimentales de IC₅₀ vis-à-vis de la COX-2 ont été collectées à partir de la littérature scientifique publiée. Ce groupe a servi à construire le modèle QSAR en établissant une relation mathématique entre les descripteurs moléculaires et l'activité biologique.

- Groupe test ou groupe de validation externe (Test set) : constitué de 9 flavonoïdes appartenant à différentes classes (flavones, flavonols, flavanones), les activités inhibitrices sur la COX-2 (IC₅₀) étaient initialement inconnues.

L'objectif de cette étude était de prédire ces activités en utilisant le modèle QSAR développé à partir du groupe d'apprentissage.

2.3.2. Préparation des structures moléculaires :

Les représentations SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) des structures bidimensionnelles (2D) de tous les composés ont été importées de la base pubchem dans l'environnement MOE. Le format SMILES permet une représentation linéaire et unique de la structure chimique de chaque molécule. Les structures 2D importées ont été converties en modèles tridimensionnels (3D) par MOE. Cet étape est importante pour le calcul des descripteurs moléculaires qui dépendent de la géométrie spatiale des molécules.

Partie Pratique

Tableau 14 : : Liste des AINS constituant le groupe training ,avec structures smiles et les valeurs de IC50 pour le COX2 converties en pIC50

(Bizière ,2008 ;Anzini et al.,2008 ;Bartsioside et al.,2019 ; Vilsmeier-Haack et al.,2019),

Composé	CI50 (μ M)	-logIC50 (M)	Smiles
Acide niflumique	0.1	7	<chem>C1=CC(=CC(=C1)NC2=C(C=CC=N2)C(=O)O)C(F)(F)F</chem>
Diclofenac	0.05	7.301	<chem>C1=CC=C(C(=C1)CC(=O)O)NC2=C(C=CC=C2Cl)Cl</chem>
indomethacin	0.44	6.3565	<chem>CC1=C(C2=C(N1C(=O)C3=CC=C(C=C3)Cl)C=CC(=C2)OC)CC(=O)O</chem>
Nimesulide	0.56	6.2518	<chem>CS(=O)(=O)NC1=C(C=C(C=C1)[N+](=O)[O-])OC2=CC=CC=C2</chem>
Meloxicam	0.7	6.1549	<chem>CC1=CN=C(S1)NC(=O)C2=C(C3=CC=CC=C3S(=O)(=O)N2C)O</chem>
Ràfecoxib	0.53	6.2757	<chem>CS(=O)(=O)C1=CC=C(C=C1)C2=C(C(=O)OC2)C3=CC=CC=C3</chem>
Celecoxib	0.87	6.0606	<chem>CC1=CC=C(C=C1)C2=CC(=NN2C3=CC=C(C=C3)S(=O)(=O)N)C(F)(F)F</chem>
Etoricoxib	1.1	5.9586	<chem>CC1=NC=C(C=C1)C2=C(C=C(C=N2)Cl)C3=CC=C(C=C3)S(=O)(=O)C</chem>
Valdecosib	0.87	6.0605	<chem>CC1=C(C(=NO1)C2=CC=CC=C2)C3=CC=C(C=C3)S(=O)(=O)N</chem>
Ketoprofen	1.08	5.9666	<chem>CC(C1=CC(=CC=C1)C(=O)C2=CC=CC=C2)C(=O)O</chem>
Naproxene	74	4.1307	<chem>C[C@@H](C1=CC2=C(C=C1)C=C(C=C2)OC)C(=O)O</chem>
Flurbiprofen	2.56	5.5917	<chem>CC(C1=CC(=C(C=C1)C2=CC=CC=C2)F)C(=O)O</chem>
Etodolac	4.5	5.3468	<chem>CCC1=C2C(=CC=C1)C3=C(N2)C(OCC3)(CC)CC(=O)O</chem>
Tolmetine	7	5.1549	<chem>CC1=CC=C(C=C1)C(=O)C2=CC=C(N2C)CC(=O)O</chem>
Sulindac	10.43	4.9817	<chem>CC\1=C(C2=C(/C1=C\C3=CC=C(C=C3)S(=O)C)C=CC(=C2)F)CC(=O)O</chem>
Piroxicam	9	5.0457	<chem>CN1C(=C(C2=CC=CC=C2S1(=O)=O)O)C(=O)NC3=CC=CC=N3</chem>
Tenoxicam	14	4.8538	<chem>CN1C(=C(C2=C(S1(=O)=O)C=CS2)O)C(=O)NC3=CC=CC=N3</chem>
Aspirine	50	4.301	<chem>CC(=O)OC1=CC=CC=C1C(=O)O</chem>
Ibuprofen	18	4.7447	<chem>CC(C)CC1=CC=C(C=C1)C(C)C(=O)O</chem>
Carprofen	17.5	4.75696	<chem>CC(C1=CC2=C(C=C1)C3=C(N2)C=CC(=C3)Cl)C(=O)O</chem>

Partie Pratique

Tableau 15 : : Liste des composés flavonoïdes constituant le groupe test avec structures smiles.

Flavonoïdes	Smiles
Lutéoline	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
Fisetin	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(O2)C=C(C=C3)O)O)O)O</chem>
Myricétine	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
Apigénine	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
Quercétine	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
Kaempférol	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
Chrysine,	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O</chem>
Galangine	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>
Naringénine	<chem>C1[C@H](OC2=CC(=CC(=C2C1=O)O)O)C3=CC=C(C=C3)O</chem>

Les structures 3D générées ont ensuite été soumises à une série d'étapes de préparation visant à obtenir des géométries moléculaires plus adaptés pour le calcul des descripteurs et la modélisation QSAR :

-Hydrogénation 3D : Le but de l'hydrogénation 3D est de compléter la valence de chaque atome, en tenant compte de son environnement chimique. Les atomes d'hydrogène sont essentiels pour une représentation moléculaire complète et pour le calcul précis de nombreux descripteurs, notamment ceux liés aux interactions intermoléculaires et aux propriétés électroniques.

Cliquez compute --- protonate 3D pour ajouter les protons aux structures

-Ajout de charges : Des charges partielles ont été attribuées aux atomes de chaque molécule. L'ajout de charges est important car il permet de tenir compte de la distribution électronique au sein de la molécule. Ces charges influencent les interactions électrostatiques, qui jouent un rôle

crucial dans la liaison des molécules aux cibles biologiques (comme la COX-2) et dans leurs propriétés physicochimiques.

Cliquez :compute --- partial charges pour attribuer des charges partielles aux atomes de la molécule

-Optimisation énergétique : Les structures 3D avec les hydrogènes et les charges ajoutées ont été soumises à une optimisation de la géométrie à l'aide de l'application MOPAC-AM1 dans MOE. L'optimisation énergétique a pour but de trouver la conformation de chaque molécule qui correspond à un minimum d'énergie potentielle. Cette conformation est considérée comme la plus stable et plus représentative de la structure que la molécule pourrait adopter lors de son interaction avec la cible biologique.

Cliquez :compute ---- Energy minimize ---MOPAC (Molecular Orbital PACKage) ---- AM1(Austin Model1) afin d'optimiser la conformation des molécules

Cette application permet d'obtenir rapidement une géométrie optimisée et des propriétés électroniques utiles pour les calculs QSAR

Une fois ces étapes de préparation terminées, les structures 3D optimisées ont été sauvegardées sous extension .moe et utilisées pour le calcul des descripteurs moléculaires nécessaires à la construction du modèle QSAR.

Pour sauvegarder :File ----- save ----- sous extension .moe

2.3.3. Sélection des descripteurs :

Les descripteurs sont des variables numériques qui caractérisent la structure d'une molécule. Ils sont utilisés dans les modèles QSAR pour décrire la relation entre la structure et l'activité. Les modèles QSAR utilisent des descripteurs moléculaires pour quantifier les caractéristiques structurales des composés. Ces descripteurs peuvent être basés sur la topologie, la géométrie, les propriétés électroniques, etc.

Ils peuvent être utilisés pour prédire l'activité de nouvelles molécules.

Pour générer les descripteurs moléculaires nécessaires à la modélisation QSAR, la commande suivante a été utilisée dans le logiciel MOE : Compute > Descriptors > Calculate.

Plusieurs types de descripteurs (topologiques, géométriques, électroniques, etc.) ont été générés pour chaque molécule à l'aide de MOE.

Les descripteurs présentant une valeur prédictive significative ont été retenus qui permettent d'obtenir un meilleur coefficient de corrélation R^2

2.3.4. Construction du modèle QSAR :

Cette étape consiste à construire le modèle QSAR. Le modèle est une équation qui relie les descripteurs à l'activité biologique. Il existe de nombreuses méthodes statistiques qui peuvent être utilisées pour construire des modèles QSAR.

Une régression linéaire multiple (MLR) a été appliquée au training set pour établir une équation reliant les descripteurs sélectionnés à l'activité biologique $pIC_{50} = -\log IC_{50}$ (le logarithme négatif de la CI_{50} , souvent utilisé pour linéariser la relation dose-réponse et faciliter l'analyse statistique) du groupe d'apprentissage.

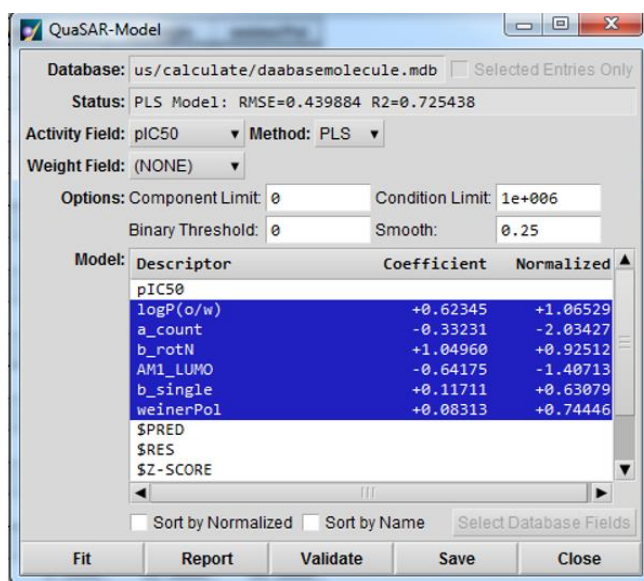
Cliquez sur QSAR > Build Model pour créer un modèle à partir du groupe training.

2.3.5. Validation du modèle :

La validation consiste à tester le modèle sur un ensemble de données indépendant. Si le modèle fournit des prédictions précises sur l'ensemble de données indépendant, il peut être considéré comme valide.

le modèle a été évalué à l'aide de paramètres statistiques comme le coefficient de détermination (R^2), le coefficient de validation croisée (Q^2), et l'erreur quadratique moyenne (RMSE) (Tropsha et al.,2003)

Pour valider le modèle, il faut cliquer QSAR > Validate Model.



L'analyse a révélé que le modèle QSAR construit avec les 06 descripteurs sélectionnés présente un coefficient de corrélation (R^2) de 0,725438 et un RMSE (Root Mean Square Deviation) de 0,439884 . Ces indicateurs suggèrent une bonne corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs observées, ce qui traduit la fiabilité du modèle QSAR

2.3.6. Prédiction de l'activité des flavonoïdes (groupe test) :

Une fois le modèle QSAR validé, les descripteurs moléculaires correspondants aux 9 composés flavonoïdes du groupe test ont été calculés en utilisant le même logiciel et les mêmes méthodes que pour le groupe d'apprentissage. Ces descripteurs ont ensuite été introduits dans le modèle QSAR développé pour prédire leurs valeurs d'activité inhibitrice sur la COX-2, exprimées en pIC50. Ces valeurs prédites ont ensuite été reconverties en IC50 pour faciliter leur interprétation et leur comparaison et d'estimer leur potentiel inhibiteur vis-à-vis de COX-2.

2.3.7. Sélection des composés flavonoïdes pour l'étude QSAR :

Dans le cadre de l'étude QSAR, l'objectif du filtrage selon les règles de Lipinski, Veber et Ghose est de sélectionner des composés potentiellement bioactifs qui respectent des critères de biodisponibilité et de perméabilité adéquats. Trois règles ont été retenus dans cette étude :

a. Règle de Lipinski :

La règle de Lipinski évalue les propriétés physico-chimiques des composés pour prédire leur biodisponibilité orale (Lipinski et al., 1997). Les critères sont :

- Poids moléculaire (MW) : doit être inférieur à 500 Da, ce qui garantit que la molécule est suffisamment petite pour passer à travers les membranes biologiques. Les composés de poids moléculaire inférieur à 500 daltons ont tendance à être plus solubles dans l'eau et moins susceptibles de subir un métabolisme métabolique. Ces propriétés favorisent la biodisponibilité orale. Si le PM d'un composé est supérieur à 500 daltons, il est plus susceptible d'être insoluble dans l'eau et plus susceptible de subir un métabolisme métabolique. Ces propriétés peuvent limiter la biodisponibilité orale du composé
- LogP (Coefficient de partage octanol/eau) : Le LogP est un descripteur physicochimique qui caractérise la lipophilicité d'une molécule , un descripteur important dans la prédiction de la biodisponibilité, de l'absorption et de la distribution des molécules. Il est défini comme le logarithme du rapport des concentrations du composé dans l'octanol et dans l'eau. Un logP plus élevé indique une lipophilie plus élevée. Le coefficient de partage doit être

inférieur à 5. Un LogP élevé peut signaler une hydrophobicité excessive, ce qui peut affecter la solubilité et l'absorption.

- Nombre d'accepteurs d'hydrogène (HBD) : est limité à 5, afin de minimiser la formation de liaisons hydrogène excessives, ce qui pourrait réduire la solubilité et moins susceptibles de subir un métabolisme métabolique
- Nombre d'accepteurs d'hydrogène (HBA) : est limité à 10 afin de minimiser la formation de liaisons hydrogène excessives, ce qui pourrait réduire la solubilité et moins susceptibles de subir un métabolisme métabolique

b. Règle de Veber

La règle de Veber évalue la flexibilité et la polarité de la molécule, deux caractéristiques importantes pour la capacité d'un composé à interagir efficacement avec sa cible tout en traversant les membranes biologiques (Veber et al., 2002). Les critères sont :

- Nombre de liaisons rotatables : Nombre de liaisons à libre rotation (FRB) : $FRB \leq 10$. Le nombre est limité à 10 pour assurer la rigidité de la molécule, ce qui favorise une interaction plus spécifique avec les cibles.
- Surface polaire (TPSA) : Le TPSA est exprimé en Ångströms carrés (Å²), doit être inférieure à 140 Å², car une surface polaire trop élevée peut entraver la perméabilité membranaire

La polarité (logP et la surface polaire TPSA) : une surface polaire faible et un LogP optimal favorisent la pénétration cellulaire et la perméabilité membranaire. Un composé trop flexible ou trop polaire peut avoir une faible absorption intestinale.

c. Règle de Ghose :

La règle de Ghose combine des critères physico-chimiques y compris la solubilité et la perméabilité pour estimer la validité d'un composé comme candidat potentiel pour avoir un médicament prometteur (Ghose et al., 1999).

Pour qu'une structure obéisse à la règle de Ghose, il faut que:

- Poids moléculaire se situe $160\text{Da} < MW < 480\text{ Da}$
- LogP : doit être compris entre -0,4 et 5,6 pour garantir un bon équilibre entre lipophilicité et hydrophilicité, essentiel pour l'absorption et la distribution

- Nombre total d'atomes (C, H, O, N, S, halogènes) : $20 \leq N_{\text{atoms}} \leq 70$
- Réfractivité Molaire (MR) : La réfractivité molaire est une mesure de la polarisabilité totale d'une mole d'une substance et dépend de la température, de l'indice de réfraction et de la pression.
- Le coefficient de réfraction molaire (MR) pour le nombre total d'atomes se situe :
 $40 < MR < 130$

d. Objectif du filtrage :

L'objectif principal de ce filtrage est de garantir que les flavonoïdes retenus obéissent aux critères établis par ces trois règles de sélection au moins à trois critères pour chaque règle pour constituer un groupe de données pour une meilleure modélisation QSAR, et de prédire de manière plus fiable les propriétés pharmacologiques des flavonoïdes. Ce processus permet de sélectionner des composés avec une meilleure capacité à traverser les membranes biologiques et à se lier efficacement à leurs cibles, pour constituer un groupe de données pour une meilleure modélisation QSAR, et de prédire de manière plus fiable les propriétés pharmacologiques des flavonoïdes.

2.4. Résultats et Discussion

2.4.1. Le filtrage des composés :

Avant de procéder à la prédiction des activités inhibitrices des 9 composés flavonoïdes, il est primordial de s'assurer que ces composés répondent aux règles de sélection établies, telles que les règles de Lipinski (Lipinski et al., 1997), Ghose (Ghose et al., 1999) et Veber (Veber et al., 2002). L'application de ces filtres est essentielle pour sélectionner les composés qui peuvent prétendre être de bons candidats potentiels pour l'inhibition de la COX-2 et être considérés comme des candidats médicaments à pouvoir anti-inflammatoire. Les 9 composés flavonoïdes qui satisfont à ces critères de sélection rigoureux feront alors l'objet de notre étude QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship).

Après avoir effectué le criblage initial de nos 9 composés flavonoïdes, il est essentiel d'analyser les résultats obtenus en regard des règles de sélection établies pour évaluer leur potentiel en tant que candidats médicaments, notamment pour l'inhibition de la COX-2 et le développement d'agents anti-inflammatoires (tableau 16)

Tableau 16 : Filtrage des composés bioactifs

	mol	a_count	b_rotN	lip_acc	lip_don	lip_druglike	logP(o/w)	mr	TPSA	Weight
1	Lutéoline	31.0000	1.0000	6.0000	4.0000	1.0000	2.2610	7.1215	107.2200	286.2390
2	Fisetin	31.0000	1.0000	6.0000	4.0000	1.0000	2.3050	7.1252	107.2200	286.2390
3	Myricétine	33.0000	1.0000	8.0000	6.0000	1.0000	1.7590	7.3525	147.6800	318.2370
4	Apigénine	30.0000	1.0000	5.0000	3.0000	1.0000	2.5340	7.0036	86.9900	270.2400
5	Quercétine	32.0000	1.0000	7.0000	5.0000	1.0000	2.0320	7.2401	127.4500	302.2380
6	Kaempférol	31.0000	1.0000	6.0000	4.0000	1.0000	2.3050	7.1252	107.2200	286.2390
7	Chrysine	29.0000	1.0000	4.0000	2.0000	1.0000	2.8420	6.8856	66.7600	254.2410
8	Galangine	30.0000	1.0000	5.0000	3.0000	1.0000	2.6130	7.0110	86.9900	270.2400
9	Naringénine	32.0000	1.0000	5.0000	3.0000	1.0000	2.3800	7.0635	86.9900	272.2560

Règle de Lipinski (Lipinski et al., (2001):

Poids moléculaire (weight) = 500 Da

Nombre d'atomes d'hydrogène donneurs (lip_don) = 5 (groupements OH et NH)

Nombre d'atomes d'oxygène accepteurs (lip_acc) = 10 (N+O)

LogP(o/w) = 5

Règle de Veber (Veber et al., 2000):

Le nombre de liaisons à libre rotation (b_rotN) = 10

Surface polaire topologique (TPSA) = 140 Å²

Règle de Ghose (Ghose et al., 1998):

Poids moléculaire = 480 Da

LogP = 4.8

40 < Réfractivité molaire (mr) < 130 (cm³.mol⁻¹)

20 < Nombre d'atomes(a_count) < 70

L'application des règles de Lipinski (Lipinski et al., 1997), basées sur les descripteurs de masse moléculaire (MW), de coefficient de partage octanol-eau (logP), du nombre de donneurs de

liaisons hydrogène (HBD) et du nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBA), révèle que les 9 composés présentent des valeurs qui respectent les seuils établis

($MW \leq 500$ Da, $\log P \leq 5$, $HBD \leq 5$, $HBA \leq 10$).

Ces résultats suggèrent que ces composés présentent une bonne absorption et perméabilité intestinale.

Ces 9 composés flavonoides répondent parfaitement aux critères établis par la règle de Ghose qui prend en compte la masse moléculaire (MW), le coefficient de partage calculé (clogP), la réfractivité molaire (MR) et le nombre d'atomes, démontre que les valeurs de nos 9 composés se situent dans les intervalles définis ($160 \leq MW \leq 480$ Da, $-0.4 \leq \text{clogP} \leq 5.6$, $40 \leq MR \leq 130$, $20 \leq \text{nombre d'atomes} \leq 70$ (Ghose et al., 1999).

L'évaluation selon les règles de Veber (Veber et al., 2002), qui considèrent le nombre de liaisons rotatives (n_{rotb}) et la surface polaire topologique (TPSA), indique également que nos 9 composés affichent des valeurs comprises dans les plages souhaitables ($n_{\text{rotb}} \leq 10$ et $TPSA \leq 140 \text{ \AA}^2$).

Ces propriétés sont associées à une meilleure biodisponibilité orale.

L'ensemble des résultats de ce criblage in silico basé sur les règles de Lipinski, Ghose et Veber indiquent que les 9 composés flavonoïdes étudiés répondent parfaitement à ces critères de sélection. Ces résultats prometteurs suggèrent qu'ils constituent d'excellents candidats potentiels pour la poursuite de notre travail de modélisation QSAR en vue de l'identification d'inhibiteurs de la COX-2 à activité anti-inflammatoire.

2.4.2. Analyse du Rapport du Modèle QSAR (PLS) :

Le rapport présente un modèle QSAR construit à l'aide de la méthode des Moindres Carrés Partiels (PLS) pour prédire l'activité inhibitrice (pIC_{50}) de la COX-2 pour un groupe d'entraînement de 20 AINS. Six descripteurs moléculaires ont été sélectionnés pour construire ce modèle, en utilisant 6 composantes PLS (6 descripteurs).

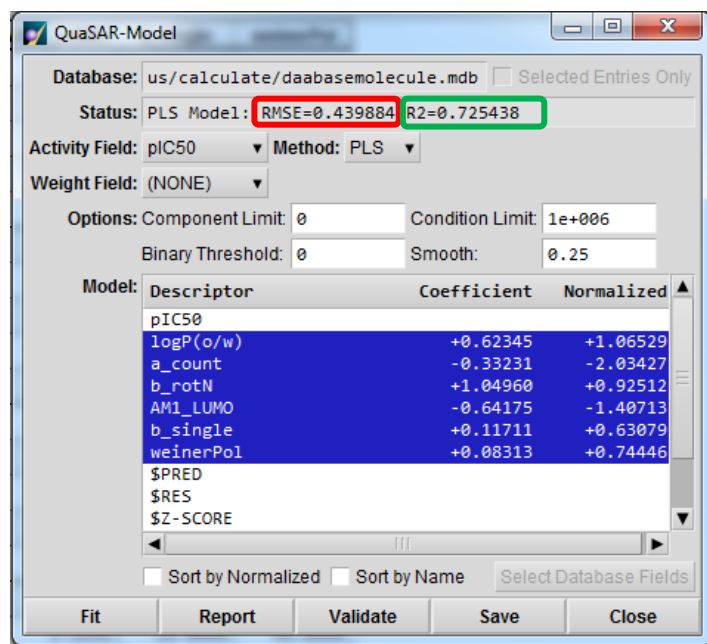
1. Paramètres Statistiques :

Nombre d'Observations : 20

- Le modèle a été construit en utilisant les données d'activité et les descripteurs de 20 molécules d'AINS.

Nombre de Descripteurs : 6

- Six descripteurs moléculaires ont été retenus comme variables indépendantes pour prédire l'activité.
- La méthode PLS a utilisé 6 composantes pour établir la relation entre les descripteurs et l'activité.



ROOT MEAN SQUARE ERROR (RMSE) : 0.43988

- L'erreur quadratique moyenne (RMSE) mesure la dispersion des erreurs de prédiction du modèle pour les données d'entraînement. Une valeur de 0.43988 indique que, en moyenne, les prédictions du modèle s'écartent des valeurs d'activité observées d'environ 0.44 unités de pIC50. Plus la RMSE est faible, meilleur est l'ajustement du modèle aux données d'entraînement.

CORRELATION COEFFICIENT (R²) : 0.72544

- Le coefficient de détermination (R²) indique la proportion de la variance de l'activité (pIC50) qui est expliquée par le modèle. Une valeur de 0.72544 signifie que le modèle explique environ 72.5% de la variabilité de l'activité des 20 AINS dans le groupe d'entraînement. C'est une valeur considérée comme acceptable à bonne, suggérant que le modèle capture une partie significative de la relation structure-activité.

2. Modèle Estimé Linéaire :

L'équation du modèle linéaire estimé est donnée par :

$$\text{pIC50} = 6.68788 + 0.62345 * \log P(o/w) - 0.33231 * a_count + 1.04960 * b_rotN - 0.64175 * AM1_LUMO + 0.11711 * b_single + 0.08313 * weinerPol$$

Cette équation montre comment chaque descripteur contribue à la prédiction de l'activité (pIC50).

Le signe du coefficient indique la direction de l'effet :

- **logP(o/w) (+0.62345)** : Un coefficient positif suggère qu'une augmentation du coefficient de partage octanol-eau (une mesure de la lipophilie) tend à augmenter l'activité inhibitrice (pIC50).
- **a_count (-0.33231)** : Un coefficient négatif suggère qu'une augmentation du nombre total d'atomes tend à diminuer l'activité inhibitrice (pIC50).
- **b_rotN (+1.04960)** : Un coefficient positif suggère qu'une augmentation du nombre de liaisons rotatives non-NH tend à augmenter l'activité inhibitrice (pIC50). La magnitude de ce coefficient indique une influence relativement importante de ce descripteur.
- **AM1_LUMO (-0.64175)** : Un coefficient négatif suggère qu'une augmentation de l'énergie de la plus basse orbitale moléculaire inoccupée (LUMO) calculée par la méthode AM1 tend à diminuer l'activité inhibitrice (pIC50).
- **b_single (+0.11711)** : Un coefficient positif suggère qu'une augmentation du nombre de liaisons simples spécifiques (le type exact dépend de la définition du descripteur) tend à augmenter l'activité inhibitrice (pIC50), bien que l'impact de ce descripteur semble relativement faible en raison de la petite magnitude du coefficient.
- **weinerPol (+0.08313)** : Un coefficient positif suggère qu'une augmentation de l'indice de Wiener de polarisabilité tend à augmenter l'activité inhibitrice (pIC50), avec un impact également relativement faible.
- **Constante (6.68788)** : Représente l'activité prédite lorsque tous les descripteurs ont une valeur de zéro (ce qui n'a pas nécessairement de signification physique).

3. Modèle Estimé Normalisé Linéaire :

Le modèle normalisé est obtenu en utilisant les descripteurs et l'activité divisés par leurs écarts-types respectifs. Cela permet de comparer l'importance relative des descripteurs indépendamment de leurs échelles d'unité. Les coefficients dans le modèle normalisé représentent le changement en unités d'écart-type de l'activité pour un changement d'une unité d'écart-type du descripteur.

$$\text{pIC50} / \text{SD}(\text{pIC50}) = 7.96655 + 1.06529 * \log P(o/w) / \text{SD}(\log P(o/w)) - 2.03427 * a_count / \text{SD}(a_count) + 0.92512 * b_rotN / \text{SD}(b_rotN) - 1.40713 * AM1_LUMO / \text{SD}(AM1_LUMO) + 0.63079 * b_single / \text{SD}(b_single) + 0.74446 * weinerPol / \text{SD}(weinerPol)$$

- **pIC50 / SD(pIC50)** : Représente l'activité inhibitrice normalisée (pIC50 divisée par son écart-type dans l'ensemble d'entraînement).
- **7.96655** : Est la constante (l'ordonnée à l'origine) du modèle normalisé. Sa valeur est différente de celle du modèle non normalisé car les données ont été centrées et mises à l'échelle.
- **1.06529, -2.03427, 0.92512, -1.40713, 0.63079, 0.74446** : Sont les coefficients normalisés pour chaque descripteur. Ces coefficients indiquent le changement en unités d'écart-type de l'activité normalisée pour un changement d'une unité d'écart-type du descripteur normalisé correspondant.

Les signes des coefficients restent les mêmes que dans le modèle non normalisé, reflètent l'impact relatif après normalisation. Par exemple, le coefficient de **a_count** est le plus grand en valeur absolue (-2.03427), indiquant qu'une variation standardisée du nombre total d'atomes a l'impact normalisé le plus important sur l'activité.

4. Importance Relative des Descripteurs :

Le tableau "RELATIVE IMPORTANCE OF DESCRIPTORS" fournit une mesure de l'influence relative de chaque descripteur sur la prédiction de l'activité. Ces valeurs sont souvent normalisées de sorte que le descripteur le plus important a une valeur de 1.000000.

- **a_count (1.000000)** : Est le descripteur le plus important dans ce modèle pour prédire l'activité inhibitrice de la COX-2 dans cet ensemble de données. Le nombre total d'atomes semble être un facteur clé.
- **AM1_LUMO (0.691713)** : L'énergie de la LUMO calculée par AM1 est le deuxième descripteur le plus important. Les propriétés électroniques semblent jouer un rôle significatif.
- **logP(o/w) (0.523673)** : La lipophilie (coefficient de partage octanol-eau) a également une influence notable.
- **b_rotN (0.454768)** : Le nombre de liaisons rotatives non-NH contribue de manière modérée à la prédiction.
- **weinerPol (0.365962)** : La polarisabilité a une influence relativement plus faible.
- **b_single (0.310080)** : Le nombre de liaisons simples spécifiques semble être le descripteur le moins important dans ce modèle.

Il ressort de cette analyse que le modèle QSAR construit avec la méthode PLS montre une corrélation acceptable ($R^2 = 0.725$) entre les six descripteurs sélectionnés et l'activité inhibitrice de la COX-2 pour le groupe d'entraînement de 20 AINS. L'analyse de l'importance relative des descripteurs révèle que le nombre total d'atomes (a_count) est le facteur le plus influent, suivi par l'énergie de la LUMO (AM1_LUMO) et la lipophilie (logP(o/w)). Les autres descripteurs (nombre de liaisons rotatives non-NH, polarisabilité et nombre de liaisons simples spécifiques) ont une influence moindre selon ce modèle.

2.4.3. Validation du modèle QSAR : comparaison entre les valeurs expérimentales et prédites des AINS :

Dans le cadre de cette étude, un modèle QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) a été construit dans le but de prédire l'activité inhibitrice vis-à-vis de la cyclooxygénase-2 (COX-2) d'un ensemble de neuf flavonoïdes. L'élaboration de ce modèle repose sur un groupe d'entraînement constitué de 20 anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) de référence, dont les activités biologiques sont tirées de la bibliographie.

Le modèle a été développé à l'aide du logiciel MOE, en se basant sur une sélection de six descripteurs moléculaires physico-chimiques jugés pertinents pour l'inhibition de COX-2.

- logP(o/w) : mesure de la lipophilie,
- a_count : nombre total d'atomes.
- b_rotN : nombre de liaisons rotatives non-NH.
- AM1_LUMO : énergie de la plus basse orbitale moléculaire inoccupée.
- b_single : nombre de liaisons simples spécifiques.
- weinerPol : indice de polarité de Wiener.

Ces descripteurs ont été intégrés dans un modèle statistique basé sur la méthode des Moindres Carrés Partiels (PLS). Le modèle a ensuite été évalué à partir de trois éléments principaux : les valeurs expérimentales d'activité inhibitrice exprimées en pIC50, les valeurs prédites par le modèle et l'écart (résidu) entre ces deux valeurs, utilisé comme indicateur de performance (tableau 17).

Tableau 17: Analyse des données du groupe d'entraînement.

File Edit Display Compute Window Help										
	mol	pIC50	logP(o/w)	a_count	b_rotN	AM1_LUMO	b_single	weinerPol	\$PRED	\$RES
1	Ac niflumique	7.0000	3.2288	28.0000	4.0000	2.3573	16.0000	29.0000	6.3661	0.6339
2	Aspirine	4.3010	1.6350	20.0000	3.0000	3.7419	12.0000	16.0000	4.5438	-0.2428
3	Carprofen	4.7570	4.6290	30.0000	2.0000	2.0603	16.0000	31.0000	4.8322	-0.0752
4	Celecoxib	6.0606	3.1168	40.0000	4.0000	-1.2374	25.0000	41.0000	6.6669	-0.6063
5	Diclofenac	7.3010	4.3520	29.0000	4.0000	1.8503	17.0000	27.0000	7.0104	0.2906
6	Etodolac	5.3468	3.8570	41.0000	4.0000	2.4578	32.0000	38.0000	4.9951	0.3517
7	Etoricoxib	5.9586	3.4050	39.0000	3.0000	-1.1830	23.0000	38.0000	5.6109	0.3477
8	Flurbiprofen	5.5917	4.3100	30.0000	3.0000	2.2582	18.0000	27.0000	5.4576	0.1341
9	Ibuprofen	4.7447	3.7350	32.0000	4.0000	3.5984	25.0000	19.0000	4.7788	-0.0341
10	Indomethacin	6.3565	4.4940	40.0000	5.0000	1.6210	24.0000	42.0000	6.7068	-0.3503
11	Ketoprofen	5.9666	3.7140	32.0000	4.0000	1.7775	19.0000	28.0000	5.9797	-0.0131
12	Meloxicam	6.1549	0.0040	36.0000	3.0000	-1.4276	25.0000	41.0000	5.1779	0.9770
13	Naproxene	4.1307	3.4140	30.0000	3.0000	2.3681	19.0000	26.0000	4.8624	-0.7317
14	Nimesulide	6.2518	2.5810	32.0000	5.0000	2.2966	20.0000	28.0000	6.1069	0.1449
15	Piroxicam	5.0457	0.1000	36.0000	3.0000	-1.4346	24.0000	42.0000	5.1584	-0.1127
16	Rabecoxib	6.2757	3.0910	36.0000	3.0000	-1.7139	24.0000	34.0000	6.5373	-0.2616
17	Sulindac	4.9817	3.4910	41.0000	4.0000	1.1696	28.0000	40.0000	5.2915	-0.3098
18	Tenoxicam	4.8538	-0.3700	33.0000	3.0000	-1.7687	22.0000	39.0000	5.5931	-0.7393
19	Tolmetine	5.1549	2.8520	33.0000	4.0000	1.9784	21.0000	27.0000	5.1322	0.0227
20	Valdecoxib	6.0605	2.7170	36.0000	3.0000	-0.9870	21.0000	34.0000	5.4863	0.5742

Les résultats montrent une corrélation satisfaisante entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées, avec un coefficient de détermination (R^2) de 0,725 et une erreur quadratique moyenne (RMSE) de 0,44, ce qui indique que le modèle est capable de produire la variabilité de l'activité biologique à partir des descripteurs structuraux.

Les résultats présentés dans le tableau, montrent une concordance satisfaisante entre les deux séries de données, avec des écarts généralement faibles proche de zéro.

Par exemple, le diclofénac présente une valeur expérimentale de pIC₅₀ de 7,3010 et une valeur prédite de 7,0104, soit un écart de 0,2906. D'autres composés comme la tolmetine (écart : 0,0227) ou l'aspirine (écart : -0,2428) montrent également une concordance satisfaisante.

Ces écart entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites par le système est proche de zéro indiquent que le modèle prédit l'activité de cette molécule avec une bonne précision et ce qui confirme la fiabilité du modèle pour des composés fortement actifs.

Certains composés présentent des écart positifs (la différence entre la valeur expérimental et la valeur prédite) ce qui signifient que la valeur expérimentale est plus élevée que la valeur prédite (le modèle sous-estime l'activité).

Pour les écarts négatifs d'autres composés comme aspirine, signifient que la valeur expérimentale est plus faible que la valeur prédite (le modèle surestime l'activité).

Toutefois, ces écarts restent dans la plage acceptable pour les modèles QSAR .

L'analyse des valeurs expérimentales et prédites, ainsi que des résidus, pour le groupe d'entraînement de 20 AINS suggère que le modèle QSAR développé est capable de prédire l'activité inhibitrice de la COX-2 avec une précision globalement acceptable pour la majorité des composés. Les valeurs "Pred" suivent les valeurs "Exp", ce qui suggère que le modèle QSAR a permis à établir une relation entre les descripteurs moléculaires et l'activité inhibitrice de la COX-2 pour cet ensemble d'AINS.

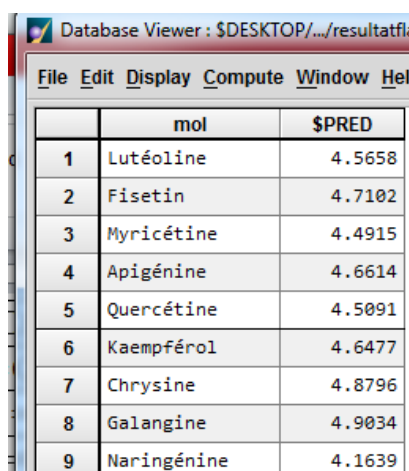
Ces résultats valident la capacité du modèle QSAR à reproduire avec fidélité l'activité inhibitrice de la COX-2 pour les composés du groupe d'entraînement. La faible amplitude des écarts observés confirme la robustesse et la pertinence du modèle pour une application prédictive. Ce modèle constitue ainsi un outil fiable pour évaluer *in silico* de nouveaux composés, notamment des dérivés naturels tels que les flavonoïdes, dans le cadre d'une recherche rationnelle d'inhibiteurs de la COX-2.

Le modèle QSAR développé à partir de l'ensemble des données du groupe d'entraînement présente une précision prédictive satisfaisante, notamment pour les composés dont l'architecture chimique est similaire à celle des flavonoïdes étudiés. Cette performance renforce la fiabilité du modèle pour estimer l'activité inhibitrice de ces composés vis-à-vis de la COX-2, dans un contexte exploratoire ou de présélection *in silico*.

2.4.4. Analyse prédictive de l'activité inhibitrice des flavonoïdes :

Le modèle QSAR précédemment établi a été appliqué à un ensemble de neuf flavonoïdes naturels dans le but d'évaluer leur potentiel inhibiteur vis-à-vis de la cyclooxygénase-2 (COX-2) (voir tableau 18). Les valeurs prédites de pIC_{50} s'étendent de 4,16 pour la naringénine à 4,90 pour la galangine, ce qui suggère une activité inhibitrice modérée, en comparaison avec les AINS les plus actifs tels que le diclofénac ($pIC_{50} \approx 7,3$) ou le célécoxib ($pIC_{50} \approx 6,7$).

Tableau 18 : Le potentiel inhibiteur du flavonoïdes vis a vis COX-2.



The screenshot shows a 'Database Viewer' window with a menu bar (File, Edit, Display, Compute, Window, Help) and a table with three columns: an index, 'mol', and '\$PRED'. The table contains nine rows of data for various flavonoids.

	mol	\$PRED
1	Lutéoline	4.5658
2	Fisetin	4.7102
3	Myricétine	4.4915
4	Apigénine	4.6614
5	Quercétine	4.5091
6	Kaempférol	4.6477
7	Chrysine	4.8796
8	Galangine	4.9034
9	Naringénine	4.1639

La plage d'activité prédites de pIC_{50} des composés flavonoïdes vis-à-vis de la COX-2 est comparativement proche de celle observée pour certains AINS faiblement à modérément actifs, tels que : Aspirine : 4,54 ,Carprofène : 4,83, Naproxène : 4,86,Étodolac : 4,99.

Les AINS étudiés — aspirine ($pIC_{50} = 4,54$), carprofène (4,83), naproxène (4,86) et étodolac (4,99)

Ces AINS présentent une activité inhibitrice modérée vis-à-vis de la COX-2, avec des valeurs de pIC_{50} comprises entre 4,5 et 5,0. Ces valeurs reflètent une affinité relativement faible pour la COX-2 comparée à celle observée pour des inhibiteurs plus puissants et sélectifs comme le diclofénac ($pIC_{50} > 7$) ou les coxibs.

L'ordre décroissant des valeurs de pIC_{50} pour les flavonoïdes est le suivant :

Galangine (4,90) > Chrysin (4,88) > Fisétine (4,71) > Apigénine (4,66) = Kaempférol (4,65) > Lutéoline (4,56) = Quercétine (4,51) = Myricétine (4,49) > Naringénine (4,16).

En ce qui concerne les flavonoïdes testés, la galangine (4,90), la chrysin (4,88) et la fisétine (4,71) présentent des valeurs proches de celles du naproxène et de l'étodolac, suggérant une activité inhibitrice comparable à certains AINS .

En revanche, des composés comme la naringénine (4,16) ou la myricétine (4,49) montrent une activité prédite plus faible, avoisinant celle de l'aspirine, considérée comme l'un des AINS les moins puissants.

La variabilité observée dans l'activité prédite peut être attribuée à des différences structurales, telles que le nombre et la position des groupes hydroxyles, la planarité de la molécule, et la nature du cycle central, qui influencent directement la capacité de liaison au site actif de la COX-2. L'analyse de la relation structure-activité (SAR) des flavonoïdes testés met en évidence l'influence de certains groupements fonctionnels sur l'activité inhibitrice. En particulier, les flavonoïdes possédant des groupes hydroxyles en position 3', 4' et 5' du cycle B, comme la

fisétine, la quercétine et la myricétine, semblent montrer une affinité accrue pour la COX-2, probablement en raison de leur capacité à former des liaisons hydrogène avec les résidus de la poche catalytique de l'enzyme (Wong et al., 2019 ; Kumar & Pandey, 2013). De même, la présence d'un groupe hydroxyle en position 5 du cycle A, retrouvé chez la plupart des flavonoïdes testés, pourrait favoriser les interactions avec les sites hydrophiles de l'enzyme.

Par ailleurs, il a été démontré que les flavonoïdes dotés d'une planéité moléculaire élevée et d'une faible flexibilité (faible nombre de liaisons simples rotatives) tendent à mieux s'insérer dans la cavité active de la COX-2 (Matos et al., 2015). Ce facteur pourrait expliquer les valeurs prédictives plus élevées observées pour des composés comme la galangine et la kaempférol, par rapport à des flavanones comme la naringénine, dont la structure plus saturée réduit la planéité et l'affinité de liaison.

Ces flavonoïdes ne semblent pas, selon ce modèle, atteindre la puissance des inhibiteurs sélectifs de la COX-2 (coxibs) ou des AINS non sélectifs les plus puissants.

Ces résultats suggèrent que certains flavonoïdes, notamment la galangine et la chrysin, pourraient exercer une inhibition de la COX-2 d'intensité comparable à certains AINS non sélectif de la COX-2, ce qui renforce leur intérêt en tant que candidats potentiels pour le développement d'agents anti-inflammatoires naturels. Néanmoins, des études complémentaires telles que le Docking moléculaire et la validation expérimentale sont nécessaires pour confirmer leur potentiel thérapeutique

2.5. Discussion générale

L'approche QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) permet d'établir une relation entre les caractéristiques structurales des molécules et leur activité biologique. Dans cette étude, elle a été utilisée pour prédire l'activité inhibitrice de la COX-2, une enzyme clé de l'inflammation, par une série de flavonoïdes naturels sélectionnés sur la base de leur conformité aux règles de Lipinski (Lipinski et al., 1997), Veber (Veber et al., 2002). et Ghose (Ghose et al., 1999).

L'ensemble des résultats de ce criblage in silico basé sur les règles de Lipinski (Lipinski et al., 1997), Veber (Veber et al., 2002), et Ghose (Ghose et al., 1999) indiquent que les 9 composés flavonoïdes étudiés répondent parfaitement à ces critères de sélection.

Ces résultats prometteurs suggèrent qu'ils constituent d'excellents candidats potentiels pour la poursuite de notre travail de modélisation QSAR en vue de l'identification d'inhibiteurs de la COX-2 à activité anti-inflammatoire.

Dans le cadre de cette étude, un modèle QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) a été développé à partir d'un ensemble de 20 anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) connus pour leur activité inhibitrice vis-à-vis de l'enzyme cyclooxygénase-2 (COX-2).

Le modèle, fondé sur des descripteurs moléculaires physico-chimiques

- $\log P(o/w)$ lipophilie.
- a_count : Nombre total d'atomes.
- b_rotN : Nombre de liaisons rotatives non-NH.
- AM1_LUMO : Énergie de la plus basse orbitale moléculaire inoccupée .
- b_single : Nombre de liaisons simples spécifiques .
- weinerPol : Indice de Wiener de polarisabilité .

a permis de prédire efficacement les valeurs de pIC_{50} expérimentales pour les composés du groupe de training ou d'entraînement . La bonne corrélation entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites témoigne de la robustesse du modèle, offrant ainsi un outil pertinent pour l'évaluation in silico de nouveaux composés inhibiteurs de COX-2.).

L'analyse statistique indique une bonne corrélation entre les données expérimentales et prédites ($R^2 = 0,725$; RMSE = 0,44), démontrant la robustesse du modèle pour la prédiction in silico de nouveaux inhibiteurs de COX-2.

Il ressort de cette analyse que le modèle QSAR construit avec la méthode PLS montre une corrélation acceptable ($R^2 = 0.725$) entre les six descripteurs sélectionnés et l'activité inhibitrice de la COX-2 pour le groupe d'entraînement de 20 AINS. L'analyse de l'importance relative des

Discussion générale

descripteurs révèle que le nombre total d'atomes (a_count) est le facteur le plus influent, suivi par l'énergie de la LUMO (AM1_LUMO) et la lipophilie (logP(o/w)). Les autres descripteurs (nombre de liaisons rotatives non-NH, polarisabilité et nombre de liaisons simples spécifiques) ont une influence moindre selon ce modèle.

Lorsqu'il est appliqué à une série de neuf flavonoïdes naturels, le modèle a permis de prédire des valeurs de pIC₅₀ allant de 4,16 (naringénine) à 4,90 (galangine), indiquant une activité modérée. Ces résultats sont comparables à ceux de certains AINS faiblement sélectifs comme l'aspirine ou le carprofène. Le classement prédictif montre que les flavones galangine et chrysin, suivies de la fisétine, présentent les activités inhibitrices les plus marquées. L'ordre décroissant des valeurs de pIC₅₀ pour les flavonoïdes est le suivant :

Galangine > Chrysin > Fisétine > Apigénine = Kaempférol > Lutéoline = Quercétine = Myricétine > Naringénine (4,16).

La relation structure-activité (SAR) observée met en évidence plusieurs paramètres influents sur l'affinité des flavonoïdes pour la COX-2. Tout d'abord, la planéité moléculaire, favorisée par la présence de la double liaison C2=C3 dans le cycle central (structure de type flavone), semble cruciale pour l'insertion dans la cavité active de la COX-2.

En effet, des flavonoïdes de type flavanone comme la naringénine, plus flexibles, montrent des activités plus faibles, ce qui corrobore des études antérieures soulignant l'importance de la rigidité conformationnelle dans l'affinité pour COX-2 (Middleton et al., 2000 ; Matos et al., 2015).

Par ailleurs, la présence de groupements hydroxyles bien positionnés, notamment en position 3' et 4' du cycle B (configuration catéchol), favorise les liaisons hydrogène stabilisantes avec des résidus du site actif de COX-2, tels que Ser530, Arg120 ou Tyr385 (Wang et al., 2006). Ce motif est retrouvé dans des composés comme la quercétine, la fisétine ou la lutéoline, qui affichent des activités intermédiaires à modérées. À l'inverse, un excès de groupements polaires peut engendrer une diminution de la lipophilie et une mauvaise compatibilité avec les poches hydrophobes de l'enzyme.

Enfin, l'absence de groupement carboxylique dans les flavonoïdes, contrairement aux AINS classiques, n'empêche pas l'interaction avec la COX-2. Les flavonoïdes utilisent d'autres modes d'ancrage, notamment via des interactions hydrogène et π - π stacking, et peuvent bénéficier de la poche latérale élargie de la COX-2, absente chez COX-1, ce qui leur confère une certaine sélectivité fonctionnelle (Kumar & Pandey, 2013).

Discussion générale

Ces observations appuient le potentiel pharmacologique des flavonoïdes comme inhibiteurs partiels et naturels de la COX-2, et soulignent l'intérêt d'exploiter leurs structures comme squelettes de départ pour la conception de dérivés semi-synthétiques à activité améliorée. De plus, certains flavonoïdes exercent une action anti-inflammatoire plus large en inhibant d'autres cibles telles que la 5-lipoxygénase ou en modulant l'expression de COX-2 à travers des voies transcriptionnelles.

3. Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Cette étude a porté sur la détermination du pouvoir inhibiteur de la cyclooxygénase-2 (COX-2) de neuf composés flavonoïdes d'origine naturels, à l'aide d'un modèle QSAR construit sur la base d'un ensemble d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Les composés testés appartiennent à différentes classes structurales de flavonoïdes, à savoir les flavones (galangine, chrysin, apigénine, lutéoline), les flavonols (kaempférol, quercétine, myricétine, fisétine) et une flavanone (naringénine). Tous ces composés respectaient les règles de sélection de Lipinski, Veber et Ghose, confirmant leur potentiel de biodisponibilité orale.

L'analyse du modèle QSAR, établi à l'aide de la méthode de régression par moindres carrés partiels (PLS), a montré une corrélation acceptable avec un $R^2 = 0,725$ entre les six descripteurs sélectionnés et l'activité inhibitrice de la COX-2 pour un groupe d'entraînement constitué de 20 AINS. Le coefficient de détermination obtenu ($R^2 = 0,725$) justifie la viabilité du modèle. L'analyse de l'importance relative des descripteurs révèle que le nombre total d'atomes (a_count) constitue le facteur prédictif le plus influent, suivi par l'énergie de la LUMO (AM1_LUMO) et la lipophilie ($\log P(o/w)$). Les autres descripteurs (nombre de liaisons rotatives non-NH, polarisabilité, et nombre de liaisons simples spécifiques) jouent un rôle plus modéré.

Le modèle QSAR établi appliqué à une série de neuf flavonoïdes naturels a permis de prédire un classement des pIC_{50} , avec une activité inhibitrice marquée pour les flavones galangine et chrysin, suivies de la fisétine. L'ordre décroissant des activités prédites est le suivant : Galangine > Chrysin > Fisétine > Apigénine = Kaempférol > Lutéoline = Quercétine = Myricétine > Naringénine.

Il est à noter que les valeurs de pIC_{50} prédites pour les flavonoïdes sélectionnés dans cette étude révèlent un potentiel d'inhibition de la COX-2 comparable à celui d'AINS non sélectifs tels que l'aspirine, l'ibuprofène ou le naproxène. En revanche, ces composés présentent une activité inhibitrice nettement inférieure à celle des inhibiteurs sélectifs de la COX-2, comme le célécoxib.

L'analyse structure-activité (QSAR) souligne plusieurs éléments structuraux déterminants dans l'interaction avec la COX-2. En premier lieu, la planéité moléculaire, favorisée par la double liaison C2=C3 dans le noyau central des flavones, semble essentielle pour l'insertion efficace dans la cavité active de l'enzyme. À l'inverse, les flavanones comme la naringénine, caractérisées par une plus grande flexibilité conformationnelle, présentent une affinité réduite, en accord avec les observations précédentes rapportant le rôle crucial de la rigidité moléculaire dans l'inhibition de COX-2.

Conclusion et Perspectives

Par ailleurs, la présence de groupements hydroxyles bien orientés, notamment en positions 3' et 4' du cycle B (configuration catéchol), favorise la formation de liaisons hydrogène stabilisantes avec des résidus clés du site actif de la COX-2. Ce motif est présent dans des composés comme la quercétine, la fisétine ou la lutéoline, qui présentent des activités intermédiaires à modérées. Toutefois, un excès de groupements polaires peut entraîner une diminution de la lipophilie, altérant ainsi l'interaction avec les poches hydrophobes de l'enzyme.

Ces résultats suggèrent que certains flavonoïdes, notamment ceux de type flavone, moins puissants que les inhibiteurs sélectifs, pourraient constituer des alternatives naturelles intéressantes à des inhibiteurs de COX-2 moins sélectifs, tels que l'aspirine ou l'indométhacine avec moins d'effets indésirables, ce qui les rend des molécules bioactives candidates à un développement thérapeutique anti-inflammatoire d'origine naturelle

Perspectives :

Pour approfondir ces observations, il serait envisageable de :

- valider expérimentalement les prédictions obtenues par des essais biologiques in vitro et in vivo sur la COX-2 ;
- envisager des modifications structurales ciblées sur les flavonoïdes les plus actifs afin d'optimiser leur affinité et leur sélectivité enzymatique ;
- élargir le groupe d'entraînement du modèle QSAR en intégrant d'autres classes de composés bioactifs pour renforcer la capacité prédictive et la généralisabilité du modèle ;
- combiner cette approche avec d'autres outils de modélisation moléculaire comme le Docking moléculaire, la dynamique moléculaire ou la prédiction ADMET, en vue d'une approche intégrée de Drug design

Bibliographie

Bibliographie

1. Abramson N. Rouleaux formation. Blood 2006;107:4205.
2. Ait-Idir, N., Bouyoucef, H. (2017). Etude de l'activité anti-inflammatoire, in vitro, des extraits des feuilles et des écorces des racines de Pistacia lentiscus L. sur la stabilité membranaire du globule rouge. Mémoire de master en science. Université A.MIRA de Bejaia, p 55.
3. Anzini, M., Bernini, R., Cavalli, A., & al. (2008) New COX-2 selective inhibitors: Design, synthesis, and biological evaluation ,European Journal of Medicinal Chemistry, 43, 4,731–741
4. Astudillo A. M., Balgoma D., Balboa M.A., Balsinde J. - Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids, 2012., 1821 (2) : 249-256.
5. Banchereau, J., & Steinman, R. M. (1998). Dendritic cells and the control of immunity. Nature, 392(6673), 245-252.
6. Bartekova M, Radosinska J, Jelemensky M, Dhalla NS. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease. Heart Fail Rev 2018;23:733-58.
7. Bartsioside, M., Fernandez, R., & al. (2019), Glycosides of iridoids as COX-2 inhibitors: Evaluation and structural optimization ,Phytochemistry,157, 56–64
8. Baughman, R., et al. (2004). "The effect of electron-donating and electron-withdrawing substituents on the molecular properties and reactivity of organic molecules." Journal of Molecular Structure, 710(1-3), 1-10.
9. Bergström, C. A. S., et al. (2010). "The solubility and permeability of drug candidates: Importance of the pharmacokinetic profile." International Journal of Pharmaceutics, 387(1-2), 17-30.
10. Bertin, O., Vergne, P., 1999. Le journal français de l'orthopédie sur le web [en ligne]. Prescription des anti-inflammatoires non stéroïdiens, MO n°89, P : 29-35.
11. Bézière N. *Optimisation du concept d'inhibition de la Cyclooxygénase dans le traitement du cancer de la prostate* [thèse de doctorat]. Lille (France) : Université de Lille 2 ; 2008. 200 p. Thèse de doctorat en Sciences du Médicament, spécialité : Biomolécules, Pharmacologie, Thérapeutique. 26 septembre 2008.
12. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive protein. J Biol Chem 2004;279:48487-90.
13. Blobaum A. L., Marnett L. J. -Structural and functional basis of cyclooxygenase inhibition. Medicinal Chemistry, 2007., 50 (7) : 1425-1441.

Bibliographie

14. Blobaum, A.L. and Marnett, L.J., Structural and Functional Basis of Cyclooxygenase Inhibition. *J. Med. Chem.*, 2007. 50(7): p. 1425-1441.
15. Botting, R. M. (2006) Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927-2004). *Journal of Thermal Biology*, 31(1-2), 208-19.
16. Botting, R.M. and Botting, J.H. The discovery of COX-2. 2004. Birkhaeuser Verlag.
17. Bounihi, A. (2016). Criblage phytochimique, étude toxicologique et valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (lamiacées). Thèse de doctorat national. Université mohammed. Faculté de médecine et de pharmacie rabat, p 199
18. Bousserouel H, et al. (2013). "Hepatoprotective effect of flavonoids on liver injury: a review." *Phytotherapy Research*, 27(1): 1-11
19. Brune, K., & Patrignani, P. (2015). New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Pain Research*, 8, 105-118.
20. Burak M & Imen Y (1999) Flavonoids and their antioxidant properties. *Turkiye Klin Tip Bil Derg* 19, 296–304
21. Canaud, B., Sénécal, L., Leray-Moragués, H., Picard-Gontiers, A., Terrier, N., Morena, M., et Cristol, J-P. (2003). L'accès vasculaire, une cause d'inflammation sousestimée chez l'hémodialysé. *Néphrologie*, 24(7), 353-358.
22. Cayatte C, et al. (2013). "Flavonoids and their anti-inflammatory properties." *Journal of Medicinal Food*, 16(5): 441-452.
23. Chandrasekharan V., Simmons D.L. – The cyclooxygenases, *Génome Biol.*, 2004., 5(9): 241.
24. Charles, N. S., Peter, A.W., Derek, Inflammation.Cambridge University Press; p.2-3. W.G. (2010). *Fundamentals of Inflammation*.Cambridge University Press; p.2-3.
25. Chen, X.-L.; Dodd, G.; Thomas, S.; Zhang, X.; Wasserman, M.A.; Rovin, B.H.; Kunsch, C. Activation of Nrf2/ARE Pathway Protects Endothelial Cells from Oxidant Injury and Inhibits Inflammatory Gene Expression. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2006**, 290, H1862–H1870.
26. Cheng, T., et al. (2007). "Evaluation of molecular docking programs for virtual screening of chemical libraries." *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(19), 4606-4613.
27. Chenillot O, Henny J, Steinmetz J, et al. High sensitivity C-reactive protein: biological variations and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:1003-11.

Bibliographie

28. Choy, K.W.; Murugan, D.; Leong, X.-F.; Abas, R.; Alias, A.; Mustafa, M.R. Flavonoids as Natural Anti-Inflammatory Agents Targeting Nuclear Factor-Kappa B (NFκB) Signaling in Cardiovascular Diseases: A Mini Review. *Front. Pharmacol.* **2019**, *10*, 1295
29. Cohen, J. (2002). The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*, 420(6917), 885-891.
30. Copeland R.A., Williams J.M., Giannaras J., Nurenberg S., Covington M., Pinto D., et al.- Mechanism of selective inhibition of the isoform of prostaglandin G/H synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994., 91: 11202-11210.
31. Cramer, R. D., et al. (2005). *Estimation of Molecular Properties*. John Wiley & Sons.
32. Cryer B., Dubois A. - Prostaglandins & Other Lipid Mediators .1998., 56 : 341-361.
33. Dacosta.E., - Les phytonutriments bioactifs. Yves. Dacosta, (Ed) Paris. 2003., 317.
34. Dannhardt, G. and Kiefer, W., Cyclooxygenase inhibitors - current status and future prospects. *Eur. J. Med. Chem.*, 2001. 36(2): p. 109-126.
35. Davies J. Procalcitonin. *J Clin Pathol* 2015;68:675-9.
36. Dearden, J. C., et al. (2007). "Molecular descriptors and QSAR in environmental chemistry and toxicology." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(2), 379-389.
37. Dewick PM (2001) The shikimate pathway: aromatic amino acids and phenylpropanoids. In *Medicinal Natural Products: a Biosynthetic Approach*, 2nd ed., pp. 137–186 [PM Dewick, editor]. Chichester: John Wiley
38. Dixon, R. A., & Pasinetti, G. M. (2010). Flavonoids and isoflavonoids: From plant biology to agriculture and neuroscience. *Plant Physiology*, 154(2), 453-457.
39. Dwyer JT, Peterson JJ. Measuring flavonoid intake: need for advanced tools. *Public Health Nutr.* déc 2002;5(6a):925-30.
40. Egan, W. J., Merz, K. M., & Baldwin, J. J. (2000). Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(21), 3867-3877.
41. Fitzgerald, G. A. (2004). Coxibs and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*, 351(17), 1709-1711.
42. Fitzgerald, K. A., et al. (2001). The role of neutrophils in the inflammatory response. *Clinical Immunology*, 99(1), 53-63.
43. Florimond, A. (2024). Les médiateurs chimiques de l'inflammation. Eduscol - Compléments scientifiques du programme de TS, Thème 3A. Dernière modification le 16

Bibliographie

- février 2024. Disponible sur : <https://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunité-et-vaccination/ressources-logicielles/nouveau-programme-immunologie-2012/la-reaction-inflammatoire-aigue-mecanisme-essentiel-de-l'immunité-innée/ressources/scientifique/auplles>.
44. G. Thomas, "Fundamentals of Medicinal Chemistry". "The SAR and QSAR approaches to drug design". 2003: John Wiley & Sons, Ltd.
 45. Gabay, C., & Kushner, I. (1999). Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England Journal of Medicine*, 340(6), 448-454.
 46. Galli, S. J., et al. (2005). Mast cells as sentinels of innate immunity. *Nature Immunology*, 6(4), 357-364.
 47. Garavito, R. M. et DeWitt, D. L. (1999) The cyclooxygenase isoforms: structural insights into the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1441(2-3), 278-87.
 48. Garg, R., Kurup, A., Mekapati, S. B., et Hansch, C. (2003) Cyclooxygenase (COX) inhibitors: a comparative QSAR study. *Chemical Reviews*, 103(3), 703-32.
 49. Gasteiger, J., et al. (2003). *Chemoinformatics: A Textbook*. Wiley-VCH.
 50. Ghose, A. K., V. N. Viswanadhan, and J. D. Shumee (1998). A knowledge-based approach to estimate solubility, log P, and melting point of chemicals on an IBM PC. *Journal of physical chemistry*, 102(25), 5772-5779.
 51. Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1(1), 55-68.
 52. Graf BA, Milbury PE, Blumberg JB. Flavonols, Flavones, Flavanones, and Human Health: Epidemiological Evidence. *J Med Food*. sept 2005;8(3):281-90.
 53. Gursoy AY, Caglar GS, Kiseli M, CRP at early follicular phase of menstrual cycle can cause misinterpretation for cardiovascular risk assessment. *Interv Med Appl Sci* 2015;7:143-6.
 54. H. Waterbeemd, S. Rose, "Quantitative approaches to structure-activity relationships", in Book "Quantitative approaches to structure-activity relationships". 2003, Elsevier. 351-367.
 55. Hamada B, Huang DT. Procalcitonin: where are we now? *Crit Care Clin* 2020;36:23-40.
 56. Hansch C., 1969. Une approche quantitative des relations structure-activité biochimiques. *Comptes rendus de la recherche chimique*, 2, 232-239.

Bibliographie

57. Harou , A., Yessad, N. (2017).Activité anti-inflammatoire in vitro de quelques molécules pures d'origine végétale. Mémoire de master en science. Universités A. MIRA – Bejaia, p 67.
58. Havsteen B (2002) The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther* 96, 67–202
59. Havsteen, B. (2002). "The biochemistry and medical significance of the flavonoids." *Pharmacology & Therapeutics*, 96(2): 67-202.
60. Hawkey, C. J. (1999). COX-2 inhibitors. *The Lancet*, 353(9149), 307-314.
61. Heinrich, P. C., et al. (1990). Regulation of the acute phase response. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1045(1), 63-71.
62. Henry-Amar M, Friedman S, Hayat M, et al. Erythrocyte sedimentation rate predicts early relapse and survival in earlystage Hodgkin disease. The EORTC Lymphoma Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1991;114:361-5.
63. Herrmann, K. M., & Weaver, L. M. (1999). The Shikimate Pathway. *Annual Review of Plant Biology*, 50(1), 473-503.
64. Hinz B., Brun K. - Cyclooxygenase-2 10 years later. *J. Pharmacol Exp.*, 2002.,300: 367-75.
65. Hinz, B., & Brune, K. (2012). Cyclooxygenase-2–10 years later. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 343(2), 217-225.
66. H-J. Bohm, G. Schneider, "Virtual Screening for Bioactive Molecules." 2000, Germany: Wiley-VCH.
67. Jhanwar.B, Sharma .V, et Singla .R ,2011, QSAR - Analyse Hansch et approches connexes dans la conception de médicaments. *Pharmacologyonline* 1: 306-344.
68. Jouzeau, J., Daouphars, M., et al ., 2004. Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroenterol Clin Biol* ; 28 :C7-C17.
69. Jouzeau, J.-Y., Daouphars, M., Benani, A., and Netter, P., Pharmacology and classification of cyclooxygenase inhibitors. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 2004. 28 Spec No 3: p. C7-17.
70. K. Debnath, "Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) ParadigmHansch Era to New Millenium". *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2001. I: 187-195.
71. Kam, P.C.A. and See, A.U.L., Cyclo-oxygenase isoenzymes: physiological and pharmacological role. *Anaesthesia*, 2000. 55(5): p. 442-449.

Bibliographie

72. Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in inflammatory disease. *Int J Mol Sci* 2019;20:6008.
73. Kirassian, C. (2015). Le cassis et la reine des pres : deux plantes aux propriétés anti-inflammatoires. Thèse de doctorat. Université Claude-Bernard - Lyon (médecine pharmacie), p 171.
74. Kishen A, Muralidharan NP. Role of cytokines in inflammation. *Int J Pharmaceutical Res* 2020;12:118-24.
75. Knekt P, et al. (2002). "Flavonoid intake and risk of chronic diseases: the Finnish Mobile Health Study." *American Journal of Epidemiology*, 155(12): 1222-1231.
76. Košir IJ, Lapornik B, Andrenšek S, Wondra AG, Vrhovšek U, Kidrič J. Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Anal Chim Acta*. juin 2004;513(1):277-82
77. Kujubu, D. A., Fletcher, B. S., Varnum, B. C., Lim, R. W., & Herschman, H. R. (1991). "TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue." *Journal of Biological Chemistry*, 266(20), 12866-12872.
78. Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
79. Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013.
80. Kurumbail R.G., Kiefer J. R., Marnett L. J. - Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition. *Current Opinion in Structural Biology*, 2001., 11 (6) : 752-760.
81. Lakhani, S. R., DILL, S. A and FINLAYSON., Caroline J. (2009), Basic pathology: an introduction to the mechanisms of disease. London : Hodder Arnold.
82. Lanas-Gimeno A, Lanas A. Aspirin and Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs)☆. In: Kuipers EJ, editor. *Encycl. Gastroenterol*. Second Ed., Oxford: Academic Press; 2020, p. 186–91. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-8012383.65620-9>.
83. Lechat, P., 2007. Les Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens. *Cours de Pharmacologie DCEM 1*. Université Paris-VI, Université Paris VI, faculté de médecine Pierre et Marie Curie, Chapitre 13, P : 199-205.

Bibliographie

84. Lee Y, Yuk D, Lee J, et al. (2009) Epigallocatechin-3-gallate prevents lipopolysaccharide-induced elevation of β -amyloid generation and memory deficiency. *Brain Res* 1250, 164–174.
85. Li L, et al. (2009). "Genistein, a flavonoid compound, induces apoptosis and reduces proliferation in human prostate cancer cells." *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(11): 2911-2919
86. Liagare B, Léger D, Vergne-Salle P. Exploration biochimique de l'inflammation. In Bonnefont-Rousselot D, Beaudeux J-L, Charpiot P, Editors. *Explorations en biochimie médicale : interprétations et orientations diagnostiques*. 1st ed. Paris: Lavoisier;2019. p.221-230.
87. Liao J, et al. (2015). "Quercetin suppresses pro-inflammatory cytokines in macrophages." *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 38(3): 364-370.
88. Lipinski, C. A., et al. (2001). Approches expérimentales et computationnelles pour estimer la solubilité et la perméabilité dans la découverte et le développement de médicaments. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3-26.
89. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1-3), 3-25.
90. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1997, 23(1-3), 3-25.
91. Lluberas-Acosta G, Schumacher HR. Markedly elevated erythrocyte sedimentation rates: Consideration of clinical implications in a hospital population. *Br J Clin Pract* 1996;50:138-42
92. Lombardino, J. G., & Lowe, J. A. (2004). The role of the medicinal chemist in drug discovery—Then and now. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(10), 853–862.
93. Luong, C., Miller, A., Barnett, J., Chow, J., Ramesha, C., and Browner, M.F., Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2. *Nat. Struct. Biol.*, 1996. 3(11): p. 927-933.
94. Maeda, H., & Dudareva, N. (2012). The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 73-105.
95. Mann, J. (2012). *Secondary Metabolism and Natural Product Biosynthesis*. Oxford University Press.

Bibliographie

96. Mansour, S. (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales :Artemisiaabsinthium L, Artemisia herba alba Asso et Hypericumscarboides, Etude in vivo. Thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran
97. Marnett, L.J., Rowlinson, S.W., Goodwin, D.C., Kalgutkar, A.S., and Lanzo, C.A., Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition. J. Biol. Chem., 1999. 274(33): p. 22903-22906.
98. Matos, M. J., et al. (2015). Bioactivity, structural features and QSAR studies of natural flavonoids and synthetic analogues as anti-inflammatory agents. European Journal of Medicinal Chemistry, 97, 664–672.
99. Matos, M. J., Vázquez-Rodríguez, S., Santana, L., Uriarte, E., & Montero, A. (2015). Bioactivity, structural features and QSAR studies of natural flavonoids and synthetic analogues as anti-inflammatory agents. European Journal of Medicinal Chemistry, 97, 664–672. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.081>
100. Mebirouk, R. (2017). Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'Helix aspersa (aqueux, hydro alcoolique et organique) :Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et anti-angiogénique.thèse de doctorat. Universite des freres mentouri Constantine, p 172.
101. Medzhitov, R. (2008). "Inflammation and innate immunity." Nature, 454(7203): 428-435.
102. Meng, X.-Y., et al. (2011). "Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery." *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(2), 113-122.
103. Messaoudi, F., Ould Mohamed, S. (2014).Activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique in vivo des extraits de deux plantes médicinales locales. Mémoire de master en science. Université Abderrahmane mira- Bejaïa, p 75.
104. Metodiewa D, et al. (1997). "Antioxidant properties of flavonoids in vitro." Free Radical Biology and Medicine, 23(5): 743-750.
105. Metodiewa D, Kochman A & Karolczak S (1997) Evidence forantiradical and antioxidant properties of four biologically activeN, N, diethylaminoethyl ethers of flavanone oximes: a comparison with natural polyphenolic flavonoid (rutin) action. BiochemMol Biol Int 41, 1067–1075

Bibliographie

106. 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*, 52(4), 673-751.
107. 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*, 52(4), 673–751.
108. Milane ., - La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres études et applications thérapeutiques . Thèse de doctorat Strasbourg, 2004.
109. Mladěnka P, Macáková K, Filipský T, Zatloukalová L, Jahodář L, Bovicelli P, et al. In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. *J Inorg Biochem.* mai 2011;105(5):693-701.
110. Mombelli .E, la modélisation QSAR, INERIS RAPPORT SCIENTIFIQUE, 2008.
111. Monti M. Vieux et nouveaux biomarqueurs inflammatoires : Quelle utilité pour l'interniste généraliste ? *Rev Med Suisse* 2013;9:2008-12.
112. Muegge, I., et al. (2001). Calculation of LogP (Partition Coefficient) in Drug Discovery. Elsevier.
113. Müller B, White JC, Nylén ES, et al. Ubiquitous expression of the calcitonin-I gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:396-404.
114. Nuhrich A. *UFR des Sciences Pharmaceutiques*. Université de Bordeaux; 2015.
115. Patrono, C., Rodríguez, L. A. G., Landolfi, R., & Baigent, C. (2001). Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *New England Journal of Medicine*, 345(5), 319-329.
116. Penning, T. D., et al. (1997). Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40(9), 1347–1365.
117. Pepys, M. B., & Hirschfield, G. M. (2003). C-reactive protein: a critical update. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(12), 1805-1812.
118. Pepys, M. B., & Hirschfield, G. M. (2003). C-reactive protein: a critical update. *Journal of Clinical Investigation*, 111(12), 1805-1812.
119. Phuong.H.T.N, 2007, Synthèse et étude des relations structure/activité quantitatives (QSAR 2D) d'analogues benzo[c,] phénanthridiniques, thèse de doctorat, Université d'Angers (France).

Bibliographie

120. Pichersky, E., & Gang, D. R. (2000). Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science*, 5(10), 439-445.
121. Picot, D., Loll, P. J., et Garavito, R. M. (1994) The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. *Nature*, 367(6460), 243-9.
122. Praveen Rao, P.N. and Knaus, E.E., Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2008. 11(2): p. 81s-110s.
123. Puzyn, T., et al. (2010). *Chemoinformatics: A Textbook*. Springer.
124. Rainsford, K. D. (2004). Nimesulide—A multifactorial COX-2 inhibitor with actions beyond COX-2 inhibition. *Inflammopharmacology*, 12(4), 307-327.
125. Randic, M. (1975). On characterization of molecular branching. *Journal of the American Chemical Society*, 97(12), 6609-6615.
126. Richardson, C. and Emery, P., The clinical implications of inhibition of the inducible form of cyclo-oxygenase. *Drug Saf.*, 1996. 15(4): p. 249-260.
127. Rizzo M.T. - Cyclooxygenase-2 in oncogenesis. *Clinica Acta.*, 2011., 412 : 671-687.
128. Roth, G. J., Stanford, N., & Majerus, P. W. (1975). Acetylation of prostaglandin synthase by aspirin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(8), 3073–3076.
129. Rousselet, Mc., Vignaud, J. M., Hofman, P., Chatelet, F.P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire AFECAP ; p .1-75.
130. Sallusto, F., et al. (2010). Memory and effector T cell subsets: functionalities, generation, and maintenance. *Immunity*, 27(5), 589-598.
131. Samsudin I, Vasikaran SD. Clinical utility and measurement of procalcitonin. *Clin Biochem Rev* 2017;38:59-68.
132. Schijlen, E., Ric de Vos, C. H., Jonker, H., van den Broeck, H., Molthoff, J., van Tunen, A., & Bovy, A. (2004). Pathway engineering for healthy phytochemicals in plants. *Phytochemistry Reviews*, 3, 5-18.
133. Schoenwald, R. D., et al. (1996). *Pharmacokinetics and Drug Delivery*. CRC Press.
134. Serafini, M., et al. (2010). "Flavonoids and their antioxidant effects in human health." *Phytotherapy Research*, 24(6): 850-856.

Bibliographie

135. Serafini, M.; Peluso, I.; Raguzzini, A. Flavonoids as Anti-Inflammatory Agents. *Proc. Nutr. Soc.* **2010**, *69*, 273–278
136. Smith, W. L., DeWitt, D. L., & Garavito, R. M. (2000). "Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology." *Annual Review of Biochemistry*, *69*(1), 145-182.
137. Spencer, A. G., Woods, J. W., Arakawa, T., Singer, I. I., et Smith, W. L. (1998) Subcellular localization of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2 by immunoelectron microscopy. *The Journal of Biological Chemistry*, *273*(16), 9886-93.
138. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol* 2018;*9*:754.
139. Todeschini, R., et al. (2008). *Molecular Descriptors for Chemoinformatics: Volume 1*. Wiley-VCH.
140. Todeschini, R., et al. (2009). *Handbook of Molecular Descriptors*.
141. Trabsa, H. (2015). *Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : Sedum sediforme et Lycium arabicum*. Thèse de doctorat en science. Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 147.
142. Tropsha, A.; Gramatica, P.; Gombar, V. K. The Importance of Being Earnest: Validation Is the Absolute Prerequisite for Successful Application of QSPR/QSAR Models. *QSAR Comb. Sci.* 2003, *22*, 1, 69–77
143. Vane J.R. - Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirinlike drugs. *Nature-New Biology*, 1971., *231* : 232-235.
144. Vane, J. R., & Botting, R. M. (1998). "Mechanism of action of anti-inflammatory drugs." *Scandinavian Journal of Rheumatology*, *27*(sup102), 9-21.
145. Vane, J. R., & Botting, R. M. (1998). Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, *27*(sup107), 9-21.
146. Vane, J. R., & Botting, R. M. (1998). Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The American Journal of Medicine*, *104*(3), 2S-8S.
147. Vane, J.R., The mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Ernst Schering Res. Found. Workshop*, 2000. *31*(Advances in Eicosanoid Research): p. 1-23.
148. Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, *45*(12), 2615-2623.

Bibliographie

149. Veber, U. F., J.-M. Ghose, R. C. Sinkule, and P. C. Ijzerman (2000). Molecular properties that influence oral bioavailability. *Journal of medicinal chemistry*, 43(17), 3987-4001.
150. Verma, S., et al. (2012). "Role of aromatic rings and hydrogen bonds in molecular recognition: Insights from QSAR modeling." *European Journal of Medicinal Chemistry*, 58, 191-200.
151. Vigushin, D. M., et al. (1993). The clinical relevance of serum C-reactive protein measurements in patients with acute and chronic inflammation. *Annals of Clinical Biochemistry*, 30(5), 433-437
152. Vilsmeier-Haack, S., Peterson, P., Martin, C., & al.. (2019), Diarylpyrazole derivatives as selective COX-2 inhibitors: Synthesis and biological evaluation, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 27,3
153. Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, 3(1), 2-20.
154. Walker E, et al. (2000). "Flavonoids and their role in the inhibition of COX enzymes." *Biochemical Pharmacology*, 60(10): 1345-1352.
155. Walker E, Pacold M, Perisic O, et al. (2000) Structural determinations of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Mol Cell* 6,909–919
156. Wang, J., et al. (2006). Inhibition of cyclooxygenase-2 and nitric oxide synthase by anthocyanins and anthocyanidins. *Biochemical Pharmacology*, 71(1-2), 76–85.
157. Warner, T. D., & Mitchell, J. A. (2002). Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *The FASEB Journal*, 16(7), 789-804.
158. Weill, B., Batteux, F., Dhainaut, J. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Beock université (paris), p12-13.
159. Wiener, H. (1947). Structural Determination of Paraffin Boiling Points. *Journal of the American Chemical Society*, 69(1), 17-20.
160. Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation* 2004;109:II2-10.
161. Winkel-Shirley, B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126(2), 485-493

Bibliographie

162. Wong, R. S. Y., Rabie, A. B. M., & Boucher, B. J. (2019). Flavonoids: Nutraceuticals for health promotion and disease prevention. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, Article ID 5302321. <https://doi.org/10.1155/2019/5302321>
163. Xavier G., - Les flavonoïdes pourraient prévenir le diabète de type 2. 2014., 68-72. 34
164. Zarghi A., Arfaei S. - Selective COX-2 Inhibitors: A Review of Their Structure-Activity Relationships. *Pharmaceutical Research*, 2011., 10 (4) : 655-683.