



République Algérienne Démocratique et Populaire  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE  
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire

# Mémoire

Présenté pour l'Obtention du Diplôme de Master en

Biochimie Moléculaire et Santé

Par :

CHEBIRA Meriem

BOUDJAADAR Wissam

## Thème

**Contribution à la mise en évidence de nouveaux anti-  
inflammatoires par docking moléculaire**

Soutenue le : 22/06/2014

**Devant le jury :**

**Président :** Mr. BENSEGUENI A.

Pr. Université Constantine 1.

**Rapporteur :** Mr. MOKRANI E.H.

M.A.B.Université Constantine 1.

**Examineur :** Mme. TENIOU S.

M.A.B.Université Constantine 1.

**Année universitaire : 2013 – 2014**

# Remerciements

*Avant tout, nous remercions allah qui nous a donné la force et la puissance pour réaliser et achever ce travail dans des bonnes conditions.*

*Nous avons le plaisir d'exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur **Mr MOKRANI E.H.** Maître assistant « B » à l'Université Constantine 1 pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.*

*Merci encore Mr MOKRANI.*

*Un grand merci à **Mr BENSEGUENI A.** professeur à l'université Constantine 1, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce Jury.*

*Nos profondes remerciements vont aussi à **Mme TENIOU S.** Maître assistante « B » à l'Université Constantine 1, pour avoir acceptée d'examiner ce travail.*

*Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

*A mes chers frères et sœurs : Sofian, Hayet, Kamel, Souad, Widad, Bilel et Mohamed. Pour leurs amours et leurs sacrifices sans limites.*

*A ma belle sœur Ibtissem Pour son soutien moral.*

*A mes beaux frères.*

*A ma chère nièce Douaa.*

*A mes très chers neveux,*

*A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université: Farida, wassila, Nadia, Djazia et Fahima.*

*A Amel, Chafia et Soumia.*

*A tous mes collègues de promotion de master et spécialement : Karima, Asma, Ratiba et Meriem.*

*A mon binôme Wissam.*

*A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer.*

***Meriem***

# *Dédicaces*

*A ma fleur de mes espérances, la source de la tendresse à la plus personne, à **ma mère**,  
je te dis que tu resteras toujours la plus adorable dans ma vie.*

*A celui qui a sert que donner l'espoir et le courage nécessaire pendant mon long  
trajet d'étude, à **mon père**, je vous estime fort ainsi que je vous aime.*

*A mon marie plus chère de mon cœur **ATAf**, qui ma encouragé, qui ma donnée la  
force et la volonté de surmonter tous les obstacles et les difficultés.*

*A mon adorable frère **sid ali***

*A mes chères sœurs **Ahlem, Selma, Amira, Nihed et hibet allah***

*Pour leurs amours et leurs encouragements.*

*Et surtout surtout à ma **grand-mère** et à **mon grand-père**.*

*A tout ma famille.*

*A mes amis plus chères **Amina, Sara, khawla, Fatima, Loubna et nadjat**.*

*A Mon binôme **Meriem**.*

*À tous mes collègues de promotion de master **BMS**.*

*Et tout ce qui m'ont encouragé tout au long de mes études.*

*Wissam*

**Introduction**.....1

## Revue bibliographique

### Chapitre1: les maladies inflammatoires

1. Les maladies inflammatoires.....3

2. La relation entre les maladies et l'inflammation.....3

    2.1. L'asthme.....3

    2.2. La fièvre.....4

    2.3. Rhumatisme.....4

    2.4. L'Alzheimer.....4

    2.5. Le cancer.....4

    2.6. Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI).....4

3. Traitement pharmacologique.....4

    3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens.....5

    3.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens .....5

        3.2.1. Les inhibiteurs de la p38 MAP kinase.....5

        3.2.2. Les inhibiteurs de la Lipo-oxygénases.....6

        3.2.3. Les inhibiteurs de La cyclooxygénase-1(COX-1).....6

        3.2.4. Les inhibiteurs de La cyclooxygénase-2 (COX-2).....6

### Chapitre 2 : Les structures mises en jeu

1. Le récepteur : la cyclooxygénase.....8

    1.1. Description structurale.....9

    1.2. Site actif de l'enzyme.....10

        1.2.1. Site actif de COX-1.....10

        1.2.2. Site actif de COX-2.....11

2. Les inhibiteurs de la cyclooxygénase.....13

    2.1. Les inhibiteurs synthétiques.....13

        2.1.1. Les AINS.....13

        2.1.2. Classification des AINS.....14

            2.1.2.1. Classification chimique.....14

2.1.2.2. Classification selon le mode d'inhibition de l'activité COX...	15
2.1.2.3. Classification selon la sélectivité pour COX-1 et COX-2.....	15
2.2. Les inhibiteurs naturels.....	18
2.2.1. Les terpènes.....	18
2.2.2. Les flavonoïdes.....	19

### Chapitre 3 : Le docking moléculaire

1. Introduction.....	20
2. Les outils du docking moléculaires.....	21
2.1. Le récepteur.....	21
2.2 Le(s) ligand(s).....	21
2.3. Un programme de docking moléculaire.....	22
3. Le docking : du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité.....	22
3.1. Les algorithmes de recherche.....	22
3.1.1. Simulation par fragmentation incrémentale ( <i>matching</i> ).....	22
3.1.2. Simulation par tranjectoire (algorithme génétique).....	23

## Partie pratique

### Chapitre 4 : Matériels et Méthodes

1. Matériels.....	24
1.1. Microordinateurs.....	24
1.2. Programmes.....	24
1.3. Récepteur.....	24
1.4. Ligands.....	24
2. Méthodes.....	25
2.1. Préparation du récepteur.....	25
2.2. La préparation des ligands.....	25
2.3. Calcul des grilles de potentiel.....	25
2.4. La recherche des solutions d'amarrage.....	26
2.5. Analyse des résultats.....	26
3. Filtrage ADME/Tox.....	27

**Chapitre 5 : Résultats et Discussions**

1. Tests de fiabilité du programme de docking.....	28
1.1. Le test RMSD.....	28
1.2. L'analyse visuelle.....	29
1.3. Coefficient de corrélation (r).....	31
1.4. Conclusion.....	34
2. Etude des interactions COX2-Flavonoïdes par AutoDock.....	34
2.1. Composé42 (Genistein).....	36
2.2. Composé43 (Rhamnetin).....	37
2.3. Composé 44 (quercétine).....	39
2.4. Composé45 (Chrysin).....	40
2.5. Composé 46 (Catéchine).....	41
2.5. Filtrage ADME/Tox.....	43
2.6. Conclusion.....	44
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la COX-2.....	44
3.1. Criblage virtuel d'une collection de flavonoïdes issus de la littérature..	44
3.2. Criblage virtuel de similaires chimiques.....	46
3.2.1. Criblage virtuel d'une collection des similaires de l'Hespérétine....	47
3.2.2. Criblage virtuel d'une collection de similaires de la diosmétel.....	50
<b>Conclusion</b> .....	54
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumés	

## **Table des matières**

## **Table des matières**

*Liste des figures*

<b><u>Figure N° 1 :</u></b> Modèle tridimensionnel de la structure de cyclooxygénase.....	10
<b><u>Figure N° 2 :</u></b> Schéma présentant les différences structurales des deux COXs.....	12
<b><u>Figure N° 3 :</u></b> Site actif de la COX-2.....	13
<b><u>Figure N° 4 :</u></b> Structure chimique des fénacs.....	14
<b><u>Figure N° 5 :</u></b> Structure chimique des profènes.....	14
<b><u>Figure N° 6 :</u></b> Structure chimique des oxicames.....	15
<b><u>Figure N° 7 :</u></b> Structure chimique des acétylants de la Ser530.....	15
<b><u>Figure N° 8 :</u></b> Importance du groupement sulfonamide ou sulfonylméthyl dans la sélectivité COX-2 (ici l'exemple du Rofécoxib).....	17
<b><u>Figure N° 9 :</u></b> Structure chimique des coxibs.....	18
<b><u>Figure N° 10 :</u></b> Structures chimiques des triterpènes inhibant la COX-2.....	19
<b><u>Figure N° 11 :</u></b> Position de la boîte d'amarrage dans le site actif de la 3NT1.....	26
<b><u>Figure N° 12 :</u></b> Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.....	28
<b><u>Figure N°13:</u></b> Superposition des géométries des huit inhibiteurs obtenues par cristallographie (coloré en violet) et par docking avec AutoDock (Coloré en vert)...	30
<b><u>Figure N° 14:</u></b> Corrélation entre l'activité biologique (IC <sub>50</sub> ) de 46 ligands et leur énergie d'interaction vis-à-vis de la COX-2.....	33
<b><u>Figure N° 15 :</u></b> Squelette de base des flavonoïdes.....	34
<b><u>Figure N° 16 :</u></b> Structure des flavonoïdes étudiés.....	35
<b><u>Figure N° 17 :</u></b> Mode d'interaction du composé 42 dans le site actif de la COX-2...	36
<b><u>Figure N° 18 :</u></b> Représentation schématique du mode d'interaction du composé 42 et la COX-2.....	37

## Liste des figures

<b><u>Figure N° 19</u></b> : Mode d'interaction du composé 43 dans le site actif de la COX-2...	38
<b><u>Figure N° 20</u></b> : Représentation schématique du mode d'interaction du composé 43 et la COX-2.....	38
<b><u>Figure N° 21</u></b> : Mode d'interaction du composé 44 dans le site actif de la COX-2...	39
<b><u>Figure N° 22</u></b> : Représentation schématique du mode d'interaction du composé 44 et la COX-2.....	40
<b><u>Figure N° 23</u></b> : Mode d'interaction du composé 45 dans le site actif de la COX-2...	41
<b><u>Figure N° 24</u></b> : Représentation schématique du mode d'interaction du composé 45 et la COX-2.....	41
<b><u>Figure N° 25</u></b> : Interactions entre le composé 46 et le site actif de la COX-2.....	42
<b><u>Figure N° 26</u></b> : Représentation schématique du mode d'interaction du composé 46 et la COX-2.....	43
<b><u>Figure N° 27</u></b> : Interactions entre le composé 245 et le site actif de la COX-2.....	49
<b><u>Figure N° 28</u></b> : Structure du composé 245.....	50
<b><u>Figure N° 29</u></b> : Interactions entre le composé 258 et le site actif de la COX-2.....	52
<b><u>Figure N° 30</u></b> : Structure du composé 258.....	53

*Liste des tableaux*

<b><u>Tableau N°1 :</u></b> Les différences entre les deux formes des cyclooxygénases.....	8
<b><u>Tableau N°2 :</u></b> Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens selon leur sélectivité inhibitrice envers les isoforme de COX-1 et COX-2.....	16
<b><u>Tableau N°3 :</u></b> Valeurs de RMSD des huit complexes COX-2-inhibiteur étudiés.....	29
<b><u>Tableau N°4 :</u></b> Corrélation entre les énergies d'interaction des 46 inhibiteurs de la COX-2 et leur activité biologique (IC <sub>50</sub> ).....	32
<b><u>Tableau N°5 :</u></b> Critères de la règle de Lipinski pour les inhibiteurs étudiés.....	43
<b><u>Tableau N°6 :</u></b> Energie d'interaction envers la COX-2 des flavonoïdes testés.....	45
<b><u>Tableau N°7 :</u></b> Résultats de l'énergie d'interaction des meilleurs similaires.....	47
<b><u>Tableau N°8 :</u></b> Propriétés physicochimiques du composé 245 proposé.....	50
<b><u>Tableau N°9 :</u></b> Résultats de l'énergie d'interaction des meilleurs similaires.....	51
<b><u>Tableau N°10 :</u></b> Propriétés physicochimiques du composé 258.....	53

*Liste des abréviations*

**2D:** deux dimensions.

**3D:** Trois dimensions.

**5-LO :** 5-Lipooxygénase.

**Å:** Angström.

**AA:** acide arachidonique.

**ADT:** AutoDock Tools.

**AG :** Algorithme Génétique.

**AGL:** Algorithme Génétique Lamarkien.

**AIS :** Les anti-inflammatoires stéroïdiens.

**AINS :** Les anti-inflammatoires.

**AM1:** Austin Model 1.

**CaP:** Cancer de la Prostate.

**COX:** cyclooxygenase.

**COX-1:** cyclooxygénase-1.

**COX-2:** cyclooxygénase-2.

**Dlg:** Docking LoG file.

**Dpf:** Dock Parameters File.

**EGF:** Epidermal Growth Factor-like.

**FDA:** Food and Drug Administration.

**Glg:** Grid LoG file.

**Go:** Giga opté.

**GOLD:** Genetic Optimization for Ligand Docking.

**Gpf:** Grid Parameters File.

**IC50 :** Inhibitory Concentration 50.

**IL:** interleukine.

**kDa:** Kilo Dalton.

**Ki:** Constante inhibition.

**MAP:** Mitogen Activated Protein kinase.

**MBD :** Domaine de liaison à la membrane plasmique.

**MC :**Maladie de Crohn.

**MICI :**Maladies Inflammatoires chroniques de l'Intestin.

**PCT:** Pentacyclitriterpenes

**PDB:** Protein Data Bank.

**PGI2:** Prostacycline.

**PGHS :** Prostaglandine endoperoxide G/H synthase.

**PGG2:** Prostaglandines G2.

**PGH2:** Prostaglandine H2.

**POX:** Peroxydase.

**r :** Coefficient de corrélation linéaire.

**RCH :** Rectocolite Hémorragique.

**RMSD:** Root Mean Square Deviation.

**RMN:** Résonance Magnétique Nucléaire.

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

**VIH:** Virus d'immunodéficience humain



# Introduction

Dans le passé, un projet de développement d'un nouveau médicament était basé sur une méthode quasiment expérimentale, très coûteuse et lente : le criblage à haut débit. Elle consiste à tester *in vitro* l'activité d'un très grand nombre de ligands vis-à-vis d'une cible thérapeutique donnée afin d'identifier des composés promoteurs (*hits*). Néanmoins, cette approche s'est rapidement trouvée confrontée à de nombreux problèmes scientifiques, techniques, méthodologiques et financières notamment. L'idée qui sous-tend la stratégie du criblage repose sur une démarche statistique : si l'on teste un nombre de molécules assez grand sur une cible donnée, on finira forcément par trouver une molécule active sur cette cible, mais quand et à quel prix ? C'est à ces deux questions que le développement de nouvelles approches telles que le criblage virtuel par docking moléculaire était nécessaire [1].

Le criblage virtuel par docking moléculaire est une nouvelle approche visant à simuler l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour une cible thérapeutique donnée, ce qui est plus facile à mettre en place, plus rapide pour un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. De nos jours, ces approches sont devenues des étapes cruciales dans de nombreux programmes de découvertes de médicaments car les industries pharmaceutiques consacrent près de 10% de leur budget à la recherche de médicaments assistée par ordinateur [2].

A l'heure actuelle, il existe un bon nombre de logiciels de docking moléculaire (commerciaux ou libres), tels que le programme AutoDock qui a déjà aidé à la conception de nouveaux médicaments. En effet, AutoDock a été utilisé de manière intensive et pertinente dans le développement préclinique de la molécule « Raltegravir » (inhibiteur de l'intégrase du VIH), dont la distribution sur le marché américain a été autorisée fin 2007 par la FDA [3].

C'est au docking moléculaire par AutoDock que nous nous intéressons dans le présent travail. Nous avons choisi comme cible thérapeutique la cyclooxygénase 2 (COX-2) ; enzyme clé produite par l'organisme en réponse à des provocations inflammatoires. Le choix de cet enzyme est dicté par son expression dans certaines pathologies humaines, à savoir le cancer [4], le traumatisme crânien [5], l'Alzheimer, la maladie de Parkinson...etc. [6]. La cyclooxygénase 2 est une enzyme dont la fonction principale est la synthèse des prostaglandines (médiateurs de l'inflammation potentiellement dangereux) à partir de l'acide arachidonique (AA). Son inhibition

grâce à des molécules comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens(AINS), soulage donc des symptômes de l'inflammation et de la douleur.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens figurent parmi les médicaments les plus vendus au monde. Non seulement le nombre de maladies inflammatoires est élevé, mais de plus en plus de gens en sont atteints. Bien que ces molécules sont puissants et efficaces pour lutter contre l'inflammation, ils présentent de nombreux effets indésirables principalement digestif, rénaux et surtout cardiovasculaire qui rendent leur utilisation problématique [7,8]. Il est dès lors intéressant de savoir que la nature nous offre une foule de plantes médicinales, ainsi que d'autres remèdes à action anti-inflammatoire, à savoir des inhibiteurs de la COX-2. Nous citons à titre d'exemple les flavonoïdes, présentant un pouvoir anti-inflammatoire puissant avec très peu voire même sans effets secondaires [9]. Dans la mesure où très peu d'études de modélisation moléculaire sur cette famille de substances naturelles ont été réalisées à ce jour, il nous a semblé important de développer cet aspect en vue de proposer théoriquement de nouveaux flavonoïdes plus puissant envers la COX-2.

L'objectif du présent travail est, dans un premier temps, de tester la fiabilité du programme AutoDock utilisé dans cette étude. Le premier test consiste à calculer l'écart quadratique moyen ou RMSD entre la position du ligand amarrée par le logiciel et celle déterminée expérimentalement. Le deuxième test consiste à déterminer le coefficient de corrélation linéaire qui existe entre les valeurs expérimentales de l'IC<sub>50</sub> des molécules retenues dans cette étude et leur énergie d'interaction simulée par AutoDock.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes attachés à mieux comprendre les mécanismes d'inhibitions de la COX-2 par les flavonoïdes. En nous appuyant sur les résultats de simulation par AutoDock, nous envisageons de faire ressortir le meilleur inhibiteur de la COX-2 appartenant à cette famille de molécules.

Dans une dernière partie, nous avons tenté de proposer *in silico* de nouveaux inhibiteurs naturels plus puissants et affins envers la cible thérapeutique en question.

# Chapitre 1: L'inflammation

## **1. Les maladies inflammatoires**

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression pouvant être physique (chaleur, froid, rayonnements ionisants...etc.) ou chimique (composés acides ou basiques, des toxines bactériennes). Elle peut être également déclenchée suite à une infection microbienne ou virale. Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes mais avec des intensités et des durées variables. [10].

Le processus de l'inflammation comprend :

- des phénomènes généraux, exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, le plus souvent par de la fièvre et éventuellement une altération de l'état général.
- des phénomènes locaux : l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé. En revanche, les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage, cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète [11].

## **2. La relation entre les maladies et l'inflammation**

La réaction inflammatoire est déclenchée pour lutter contre une agression extérieure, et de ce point de vue elle est indispensable pour préserver le bon fonctionnement de l'organisme. Par contre, lorsque cette réaction prend trop d'ampleur, elle devient néfaste et peut perturber différents processus physiologiques régissant le corps humain. En effet, l'inflammation chronique est désormais reconnue comme un facteur important dans le développement de nombreuses maladies, citons à titre d'exemple l'asthme, le rhumatisme, le cancer, l'Alzheimer...etc.

### **2.1. L'asthme**

L'asthme est une des maladies chroniques les plus fréquentes. C'est un désordre inflammatoire qui s'accompagne de remaniements durables de la structure des voies aériennes. Cette inflammation est secondaire à un infiltrat de cellules inflammatoires, en particulier les mastocytes et les éosinophiles. La réaction inflammatoire, associée à une hyperréactivité bronchique en réponse à différents stimuli comme le tabac, les allergènes et les polluants atmosphériques, va entraîner des symptômes comme la toux [12].

## **2.2. La fièvre**

Une des premières réponses adaptées de l'organisme est la fièvre. Elle est un des signes majeurs de l'inflammation systémique. La fièvre participe à la lutte contre l'infection notamment car elle stimule la prolifération des cellules de l'immunité tout en inhibant la prolifération de nombreux organismes pathogènes [13].

## **2.3. Rhumatisme**

Les rhumatismes inflammatoires chroniques appartiennent au groupe des maladies systémiques et auto-immunes. Elles sont caractérisées par des douleurs articulaires d'horaires inflammatoires [14].

## **2.4. L'Alzheimer**

L'inflammation au cours de la maladie d'Alzheimer présente un caractère particulier puisqu'elle se situe au sein du système nerveux central et n'implique que très peu les lymphocytes et les monocytes. Ainsi, les études immunologiques dans la maladie d'Alzheimer se sont concentrées sur les réponses humorales [15].

## **2.5. Le cancer**

Rudolf Virchow était le premier avoir prouvé l'existence d'un lien entre l'inflammation et le cancer (en 1863). Grâce à son étude menée en 1863, il a été signalé que la plupart des cancers étaient accompagnés, en plus des cellules du système immunitaire, des cellules inflammatoires [16].

**2.6. Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI)**  
les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) comprennent la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH). Ce sont des inflammations chroniques du tube digestif dont la physiopathologie [17].

## **3. Traitement pharmacologique**

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui peuvent réduire la douleur, l'inflammation et dans certains cas, la fièvre. Une inflammation est une rougeur, une sensation de chaleur, une enflure et un afflux de sang accru qui se produisent en raison d'une infection, d'une maladie ou d'une blessure.

Les anti-inflammatoires sont généralement divisés en deux grandes classes :

- Les anti-inflammatoires stéroïdiens aussi appelés corticoïdes, présentant des actions anti-inflammatoire et d'autres effets (immunosuppression, mise au repos de l'axe surrénalien...).
- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), composés présentant un mécanisme d'action et des propriétés communes qui justifient leur prescription dans de nombreuses situations [18].

### **3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de substances dérivées du cortisol qui agissent à différents niveaux de la réaction inflammatoire. Ils augmentent la production de la lipocortine (protéine anti-inflammatoire) inhibant ainsi la phospholipase A2 donc la libération de l'acide arachidonique. Par contre, ils diminuent fortement la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines, les ions superoxydes [19]. Parmi les anti-inflammatoires stéroïdiens les plus puissants, on cite les glucocorticoïdes, les corticoïdes naturels (cortisol) et les corticoïdes de synthèse (Prednisone, Prednisolone, Triamcilonne et Dexamétasone) [20,21].

### **3.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) forment un groupe hétérogène de substances qui agissent sur les produits de la réaction inflammatoire quelle que soit son origine. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont parmi les médicaments les plus fréquemment prescrits dans le monde (4,5 % de la consommation médicamenteuse des pays industrialisés). Plusieurs classifications ont été proposées, basées soit sur la structure des AINS, soit encore sur leurs modalités d'action et/ou leur sélectivité anti-COX [19].

#### **3.2.1. Les inhibiteurs de la p38 MAP kinase**

L'un des axes de recherche les plus récents visant à réguler la biosynthèse des cytokines inflammatoires concerne l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de la p38 MAP kinase (Mitogen Activated Protein kinase). Le rôle majeur de cette voie dans l'expression des cytokines inflammatoires a été mis en évidence en 1994, par l'utilisation d'un inhibiteur spécifique de p38 qui s'est révélé être un puissant suppresseur de la libération du TNF- $\alpha$  et de l'IL-1 $\beta$ , avec une IC<sub>50</sub> submicromolaire [21].

### 3.2.2. Les inhibiteurs de la Lipo-oxygénases

Un système enzymatique clé dans l'inflammation s'est révélé être impliqué dans de nombreux cancers (côlon, pancréas, sein, poumon) et notamment dans le cancer de la prostate (CaP). La 5-lipooxygénase (5-LO) contrôle la formation des leucotriènes, médiateurs de l'inflammation de l'allergie. Par exemple : Le zileuton est un inhibiteur de la 5-lipooxygénase qui, en inhibant la synthèse des leucotriènes correspondants, a donné des résultats intéressants dans le traitement de l'asthme. Il a une courte durée d'action du fait de sa métabolisation rapide. Son principal effet indésirable serait l'élévation des transaminases avec risque d'hépatite [22].

### 3.2.3. Les inhibiteurs de La cyclooxygénase-1(COX-1)

Seule l'aspirine ( $\leq 325$  mg/jour) possède une activité antiagrégante plaquettaire engendrée par l'inhibition sélective et irréversible de la COX-1 des plaquettes. Le thromboxane A<sub>2</sub>, synthétisé par la COX-1, n'étant plus produit, il y aura inhibition de l'activité vasoconstrictrice et proagrégante de celle-ci. La PGI<sub>2</sub>, synthétisée par la COX-2, localisée au niveau de l'endothélium vasculaire ne sera pas touchée par cette inhibition, et son action vasodilatatrice et antiagrégante sera conservée [23].

### 3.2.4. Les inhibiteurs de La cyclooxygénase-2 (COX-2)

L'inhibition sélective de la formation inductible (cyclooxygénase-2) doit permettre conserver l'activité anti-inflammatoire sans avoir les effets indésirables liés à l'inhibition de la forme constitutionnelle (cyclooxygénase-1). L'intérêt pharmacologique de développer des inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase-2 repose donc sur l'hypothèse qu'ils ont moins d'effet secondaire car ils n'inhibent pas ou peu cyclooxygénase-1 [24]. Le développement de nouveaux AINS susceptibles d'avoir un index bénéfice/risque amélioré, les coxibs. Ces molécules se définissent par leur sélectivité d'inhibition de COX-2, c'est-à-dire par leur pouvoir inhibiteur négligeable sur la COX-1 plaquettaire *in vitro* et *in vivo* après prise orale des posologies maximales recommandées. Les coxibs commercialisés en France (célécoxib, rofécoxib, parécoxib) ne sont cependant pas équivalents en termes de sélectivité et certaines molécules de "deuxième génération" (étoricoxib, lumiracoxib) seront encore plus sélectives de COX-2. Ces "nouveaux" coxibs correspondent au développement ultime de la notion de sélectivité pour COX-2 et permettront probablement d'appréhender les limites du concept thérapeutique basé sur l'inhibition sélective de cette isoenzyme [13].

L'inhibition sélective de la COX-2 doit permettre conserver l'activité anti-inflammatoire sans avoir les effets indésirables liés à l'inhibition de la COX-1 ce qui pourrait conférer ces molécules des avantages par rapport aux autres classes d'AINS. Ceci explique notre choix pour cette classe de médicaments anti-inflammatoires. Le but de notre travail est de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de la COX 2 en faisant appel au docking moléculaire.

# Chapitre 2: Les structures mises en jeu

## 1. Le récepteur : la cyclooxygénase

La cyclooxygénase (COX), également appelée prostaglandine endoperoxyde G/H synthase (PGHS) (EC 1.14.99.1.) est une enzyme qui joue un rôle essentiel dans la cascade de l'acide arachidonique. En effet, c'est elle qui est responsable de la synthèse des différents médiateurs chimiques que sont les prostanoïdes et les thromboxanes. Ces métabolites sont à l'origine des processus inflammatoires [25]. Au début des années 90, deux isoformes de cette enzyme ont été identifiées [26] :

**La cyclooxygénase-1 (COX-1)** qui est la forme constitutive de l'enzyme est codée par un gène qui se localise sur le chromosome 9. Cette protéine est hautement exprimée dans le tube digestif, les plaquettes sanguines, les reins et les cellules endothéliales vasculaires. (voir tableau N°1)

**La cyclooxygénase-2 (COX-2)** représente la forme inductible de l'enzyme. Elle a été identifiée dans les cellules endothéliales, les macrophages, les chondrocytes, les fibroblastes et les cellules mésangiales. L'expression de cette éventuelle enzyme est assurée par un gène localisé sur le chromosome 1. (voir tableau N°1)[27].

**Tableau N° 1 :** Les différences entre les deux formes des cyclooxygénase [28].

COX 1	COX 2
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Constitutive</li> <li>• Synthétise des prostanoïdes qui régulent l'homéostasie</li> <li>• Importante pour :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>– la muqueuse gastrique</li> <li>– le rein</li> <li>– les plaquettes</li> <li>– l'endothélium vasculaire</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inductible (dans la plupart des tissus)</li> <li>• Synthétise des prostanoïdes qui régulent l'inflammation, la douleur et la fièvre</li> <li>• Produite sur le site de l'inflammation</li> <li>• L'expression constitutive est surtout dans :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>– le cerveau</li> <li>– le rein</li> </ul> </li> </ul>

Des études ont montré que lors d'une réaction inflammatoire, l'expression de la cyclooxygénase est augmentée. De ce fait, l'organisme répond par la production de prostaglandines au niveau des sites inflammatoires. Par contre, si cette réaction prend

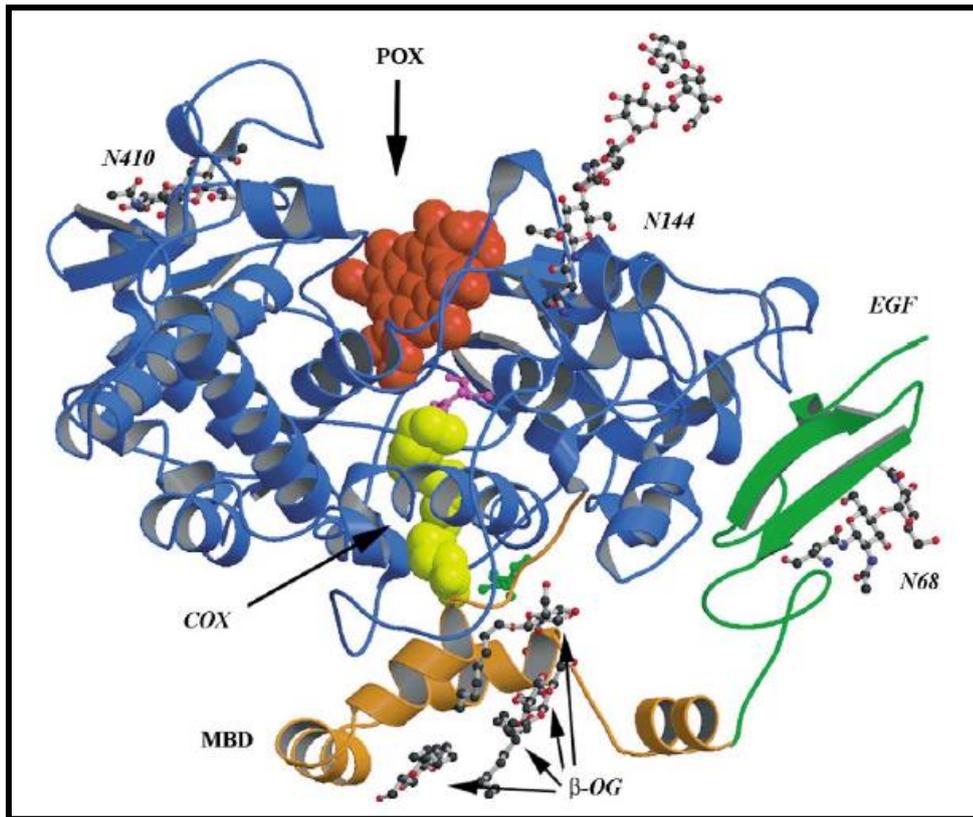
de l'ampleur, elle peut devenir néfaste en perturbant les différents processus physiologiques. L'inhibition de la cyclooxygénase pourrait être la réponse thérapeutique à bon nombre de problèmes rencontrés lors d'une inflammation en supprimant la synthèse de prostaglandines bien entendu [29].

### 1.1. Description structurale

Les COX sont des hémoprotéines de 600 acides aminés environ, qu'on trouve enchâssées par dimères dans une des couches lipidiques de la membrane plasmique du réticulum endoplasmique et du noyau cellulaire. [18]. Par ailleurs, des études récentes menées sur la COX utilisant la cristallographie au rayon X ont fourni des informations précieuses sur la structure 3D de l'enzyme. En effet, trois domaines ont été constatés (voir Figure N°1):

- 1) un court domaine en *N*-terminal formé de deux doubles feuillets  $\beta$ , qui ressemble au Facteur de croissance épidermique « *Epidermal Growth Factor-like* ».
- 2) un domaine de liaison à la membrane composé de quatre hélices  $\alpha$  où se loge l'AA ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens.
- 3) un domaine catalytique bifonctionnel en *C*-terminal représentant environ 80% de la protéine. Ce domaine catalytique se présente sous la forme d'un long tunnel hydrophobique dont l'entrée se situe à proximité du domaine de liaison à la membrane. Il comprend deux sites spatialement distincts mais fonctionnellement couplés : le premier est celui de réaction cyclooxygénase (di-oxygénase) et le deuxième est chargé de réaction peroxydase [30, 31]. Dans un premier temps, les COXs assurent une activité di-oxygénasique sur l'acide arachidonique, permettant ainsi son oxydation et sa transformation en prostaglandines G2 (PGG2). Dans un second temps, les COX assurent une activité peroxydasique provoquant la réduction de la PGG2 en prostaglandine H2 (PGH2) [32].

La figure N°1 représente un modèle tridimensionnel de la COX proposé par Garavito et al (2002). Ce modèle comporte un noyau hème (en rouge) dans le site peroxydase, un site cyclooxygénase occupé ici par le flurbiprofène (en jaune), un domaine de liaison à la membrane (en beige), et un domaine *Epidermal Growth Factor-like*(en vert). [33].



**Figure N° 1 :** Modèle tridimensionnel de la structure de cyclooxygénase

Abréviations : COX site d'activité cyclooxygénase ; EGF domaine *Epidermal Growth Factor-like* ; MBD domaine de liaison à la membrane ; POX site d'activité peroxydase.

## 1.2. Site actif de l'enzyme

### 1.2.1. Site actif de COX-1

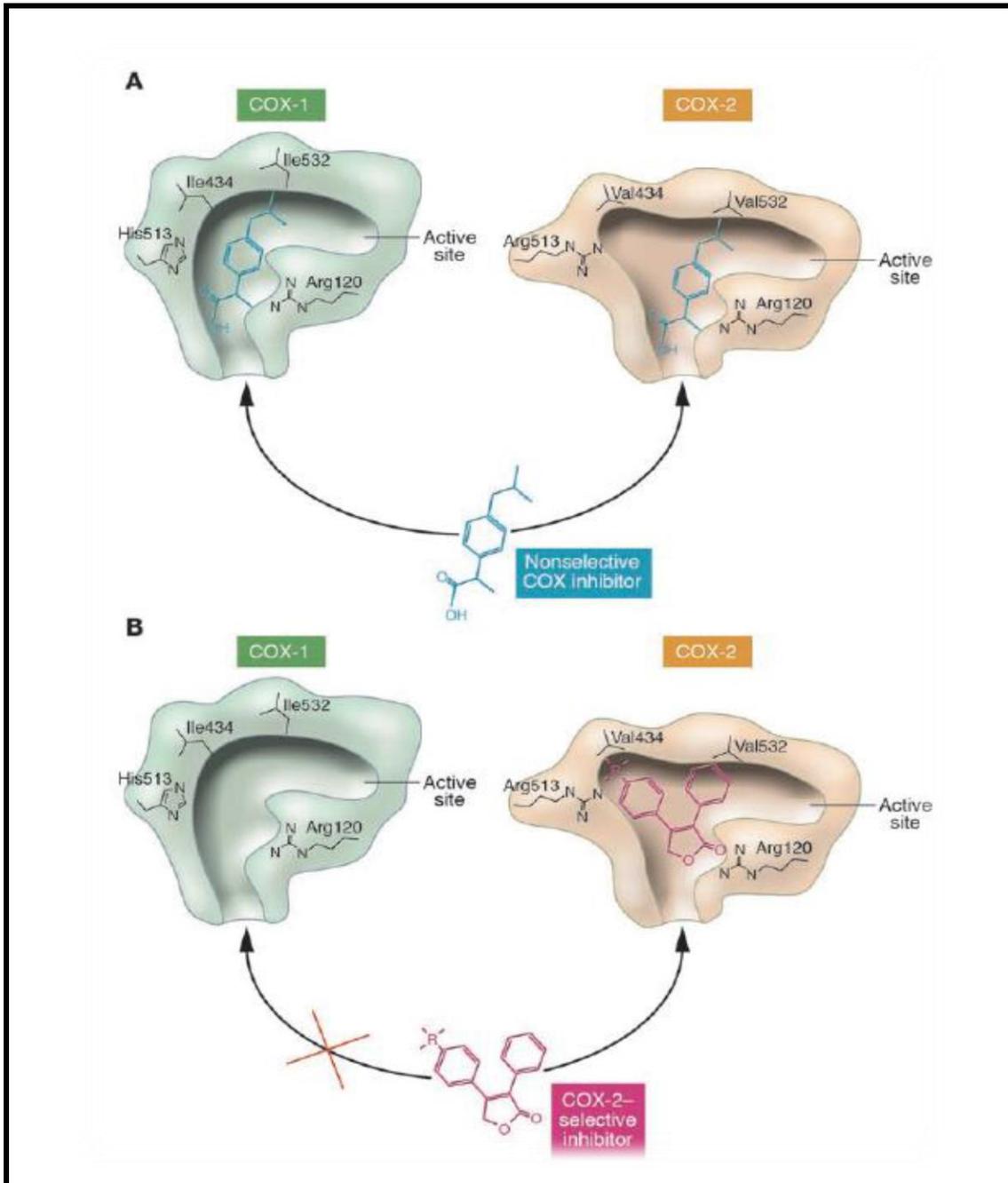
La cyclooxygénase-1 humaine est une protéine de 71 kDa. Elle est constituée de 576 acides aminés. Structuralement parlant, son site actif comprend quelques acides aminés spécifiques jouant un rôle clé dans la stabilité du complexe COX-Substrat (AA). Selon une étude récente réalisée par Picot et *al* en 1994. Le site actif de COX 1 est représenté notamment par les acides aminés **Arg120**, **Ser530**, **Tyr385**. Grâce à son groupement carboxylique terminal, l'acide aminé Arg120 est capable de se lier avec l'acide arachidonique (et quelques AINS) en jouant un rôle remarquable dans la formation et la stabilité du complexe Enzyme-Substrat (ou inhibiteur). De son côté, l'acide aminé Ser530 sera acétylé lors de la liaison COX-Aspirine. Enfin, le

résidu Tyr385 est à l'origine de l'activité catalytique dioxygénase de l'éventuelle enzyme. [34].

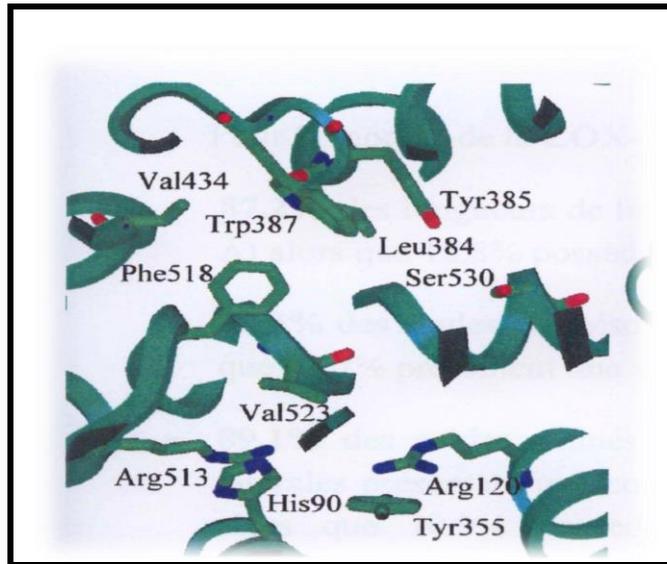
### 1.2.2. Site actif de COX-2

La COX-2 humaine est une enzyme de 72 kDa et contient 604 acides aminés. La récente résolution de sa structure tridimensionnelle a permis de mettre en évidence les différences structurales de son site actif vis-à-vis de celui de la COX-1 [35]. En effet, le site actif de la COX-2 se caractérise par la présence de deux résidus Valine en positions 434 et 523 (à la place des deux résidus Ile 434 et 523 dans le cas de la COX-1), entraînant la disparition d'un groupement méthylène à chaque position. Comme le montre la figure N° 2 l'emplacement du groupement Ile dans la position 523 permet l'accès à une nouvelle poche supplémentaire dans le site actif de la COX-2 jouant un rôle majeur dans la formation et la stabilité du complexe COX-2-acide arachidonique [36]. De même, cette éventuelle poche donne à la COX-2 la possibilité d'être inhibé spécifiquement par certains AINS.

Une autre étude réalisée par Llorens O, et *al* en 2002, montre que le site actif de la COX2 est divisé en trois régions importantes : la première étant une poche hydrophobe définie par Tyr385, Trp387, Phe518, Tyr248 et Leu384. La seconde région étant l'entrée du site actif bordé avec les résidus hydrophiles Arg120, Ser530, Tyr355. La troisième est une poche latérale bordée par His90 et Val523 Arg513 (voir figure N°3) [37].



**Figure N° 2:** Schéma présentant les différences structurales des deux COXs [38].



**Figure N° 3 :** Site actif de la COX-2

## 2. Les inhibiteurs de la cyclooxygénase

Les inhibiteurs de la cyclooxygénase sont de petites molécules de synthèse, hémi-synthèse ou naturels appartenant à plusieurs familles chimiques. Ils peuvent être mixtes inhibant aussi bien la COX-1 que la COX-2, ou alors sélectives pour la COX-2 [39].

### 2.1. Les inhibiteurs synthétiques

Après la validation de la COX en tant que cible thérapeutique en 1971 [40], plusieurs molécules ont été synthétisées et sont maintenant considérées comme principaux agents thérapeutiques pour le traitement et la prévention vis-à-vis des maladies inflammatoires. Actuellement, les produits pharmaceutiques inhibant les COXs par excellence sont l'Aspirine et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) [22].

#### 2.1.1. Les AINS

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont parmi les médicaments les plus fréquemment prescrits dans le monde (4,5 % de la consommation médicamenteuse des pays industrialisés) [41 ,42]. Plusieurs classifications ont été proposées, basées soit sur la structure des AINS, soit encore sur leurs modalités d'action et/ou leur sélectivité anti-COX.

## 2.1.2. Classification des AINS

### 2.1.2.1. Classification chimique

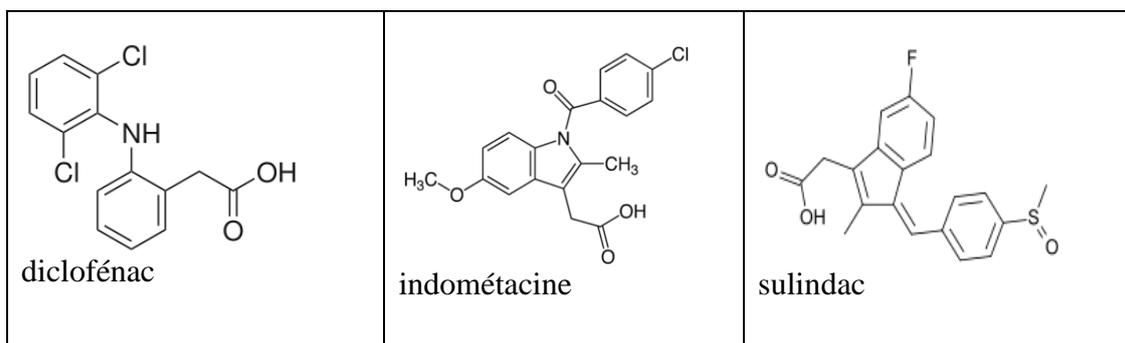
Structuralement parlant, les AINS se regroupent en quatre classes:

-Les fénacs : les médicaments de ce groupent se caractérisent par la présence d'une fonction acide dans leur structure tels que : diclofénac, indométacine ou sulindac pour ne citer que ces exemples. (voire figure N°4).

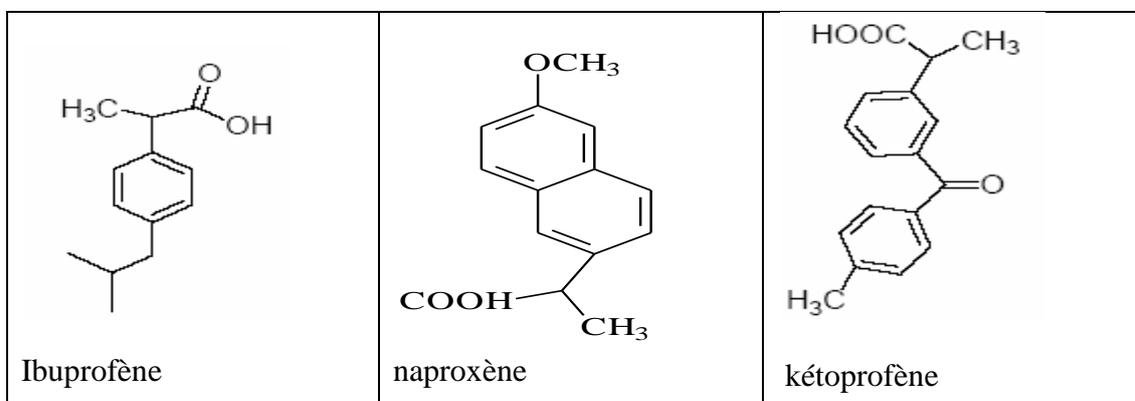
- les profènes: caractérisés par la présence d'une fonction carboxylique sur un carbone asymétrique. Les médicaments les plus connus de ce groupe sont ibuprofène, kétoprofène et naproxène (voire figure N°5).

- les oxicames : caractérisés par la présence d'un noyau 2-pyridyl dans leur structure, citons à titre d'exemple piroxicam, tenoxicam, meloxicam (voire figure N°6).

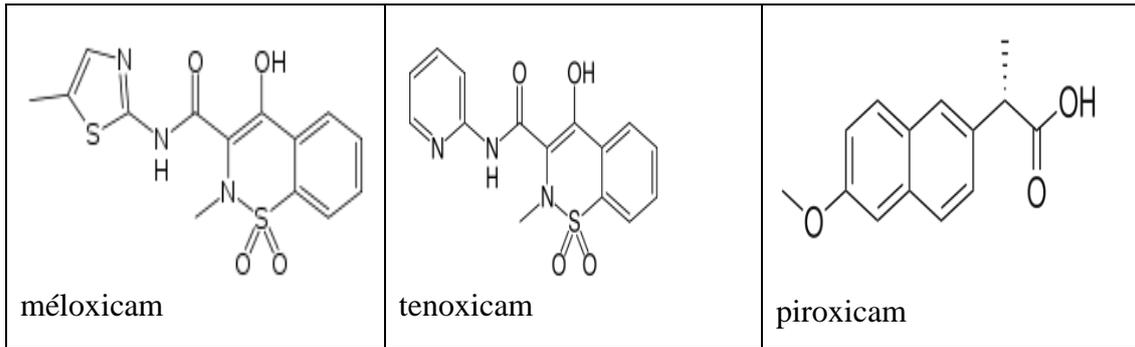
-les acétylants de la Ser530 : aspirine et certains dérivés de l'acide salicylique. (voire figure N° 7) [43].



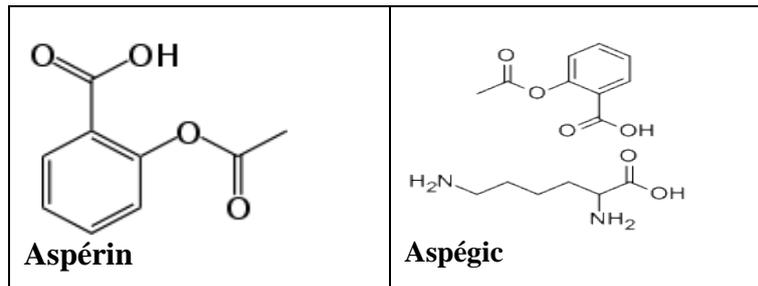
**Figure N° 4 :** Structure chimique des fénacs.



**Figure N° 5 :** Structure chimique des profènes.



**Figure N° 6:** Structure chimique des oxicames.



**Figure N° 7:** Structure des acétylants de la Ser530.

### 2.1.2.2. Classification selon le mode d'inhibition de l'activité COX

On peut également classer les AINS en fonction de leurs interactions avec l'enzyme :

- inhibiteurs irréversibles de COX-1 et 2 : c'est le cas de l'aspirine, qui acétyle Ser530, ce qui empêche l'AA de se loger dans la cavité de cyclooxygénation ;
- inhibiteurs compétitifs réversibles de COX-1 et 2 : c'est le cas des oxicames et de la majorité des profènes ;
- inhibiteurs réversibles dépendant du temps : c'est le cas entre autres de l'indométacine et du flurbiprofène, qui par l'interaction avec Arg120 se logent dans le site catalytique et bloquent la configuration de l'enzyme.
- Inhibiteurs lents et irréversibles sélectifs COX-2 [44].

### 2.1.2.3. Classification selon la sélectivité pour COX-1 et COX-2

Plusieurs études *in vitro* ont été réalisées pour comparer les activités inhibitrices relatives des AINS sur COX-1 et COX-2. Leur objectif est de calculer un ratio qui

met en rapport l'affinité de l'AINS pour chaque isoforme de COX. Cette affinité est estimée par la détermination de l'IC<sub>50</sub> qui signifie la concentration de l'AINS inhibant 50% de l'activité enzymatique de COX-1 ou de COX-2. Un AINS présentant un ratio (IC<sub>50</sub> COX-1/IC<sub>50</sub> COX-2) supérieur à 1, inhibe donc préférentiellement voire sélectivement la COX-2 [45]. Les inhibiteurs sélectifs et mixtes de la COX les plus prescrits sont mentionnés dans le tableau N°2

**Tableau N° 2 :** Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens selon leur sélectivité inhibitrice envers les isoforme de COX-1 et COX-2 [22, 45, 46, 47].

Inhibiteurs Sélectifs COX-2	Inhibiteurs Non Sélectifs
Etodolac	Piroxicam
Meloxicam	Aspirine
Nimesulide	Ibuprofène
SC58125	Diclofénac
NS-398	S-Flurbiprofène
L-745, 337	Indométacine
DFU	Kétorolac
Célécoxib	Sulindac sulfide
Rofécoxib	Naproxène
Cimicoxib	Sulindac
Valdécoxib	Salicylate de sodium

- **L'aspirine (L'acide acétylsalicylique)**

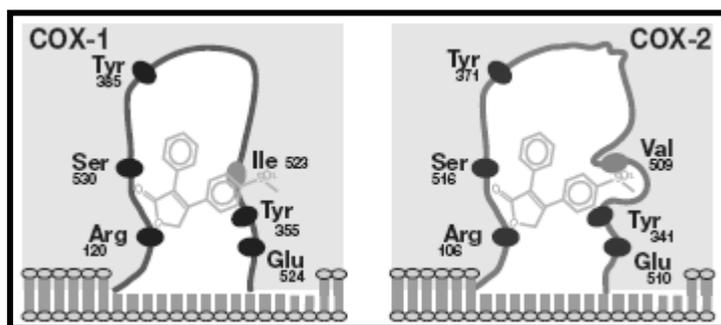
L'acide acétylsalicylique, plus connu sous le nom d'Aspirine, est le premier inhibiteur des cyclooxygénase mis en marché [48]. Grâce à une réaction d'acétylation, cette molécule possède la capacité de se fixer au résidu Ser530 des COX de façon irréversible [34].

- **Les coxibs**

Les coxibs sont des inhibiteurs sélectifs de COX2. Sur le plan chimique, ils sont caractérisés par :

- 1) l'absence de fonction acide carboxylique leur confère un pouvoir irritant digestif réduit.

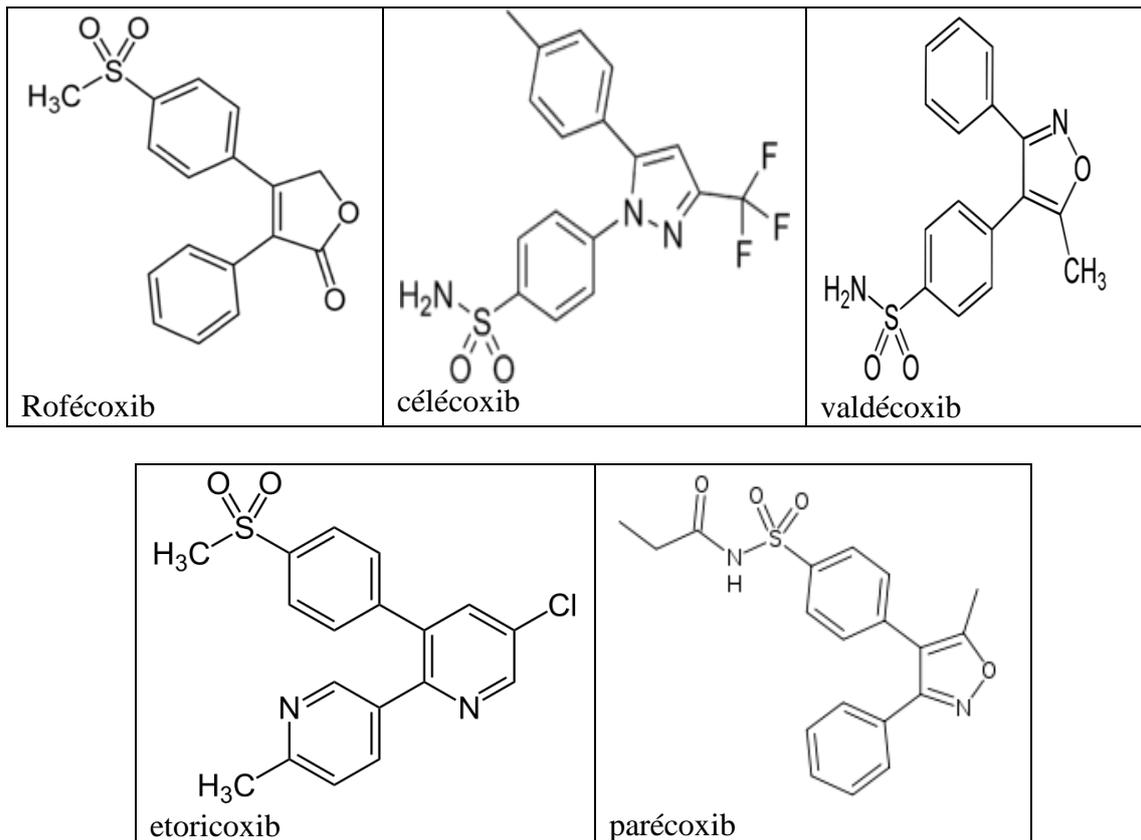
- 2) Une structure volumineuse comprenant 2 grands cycles aromatiques reliés à un hétérocycle central, ce qui leur confère probablement une liposolubilité supérieure aux AINS classiques.
- 3) La présence de groupements fonctionnels méthylsulfone pour le rofécoxib (figure N°8) ou sulfonamide pour le célécoxib et le parécoxib jouant un rôle primordiale dans la sélectivité des ces molécules envers la COX-2 [49].



**Figure N° 8 :** Importance du groupement sulfonamide ou sulfonylméthyl dans la sélectivité COX-2 (ici l'exemple du Rofécoxib)

Parmi la panoplie de médicaments appartenant à cette classe : Le célécoxib (Celebrex®) est le premier inhibiteur COX-2 approuvé par la *Food and Drug Administration* (FDA) en 1998 [50]. Des études récentes *in vitro* menées sur la COX humaine ont montré une sélectivité 375 fois plus importante pour la COX-2 que pour la COX-1 [51].

La plupart des coxibs en développement dans l'industrie pharmaceutique, ou en cours d'enregistrement au près des autorités sanitaires, ont des structures proches du célécoxib, dont elles conservent la structure tricyclique et les groupements fonctionnels méthylsulfone pour l'étoricoxib (Arcoxia®) ou sulfonamide pour le valdécoxib (Bextra®) et ne diffèrent principalement que par la nature de l'hétérocycle central : pyridinyl pour l'étoricoxib au lieu de furanone pour le rofécoxib, isoxazole pour le Valdécoxib au lieu de pyrazole pour le célécoxib (voire figure N° 9)[49].



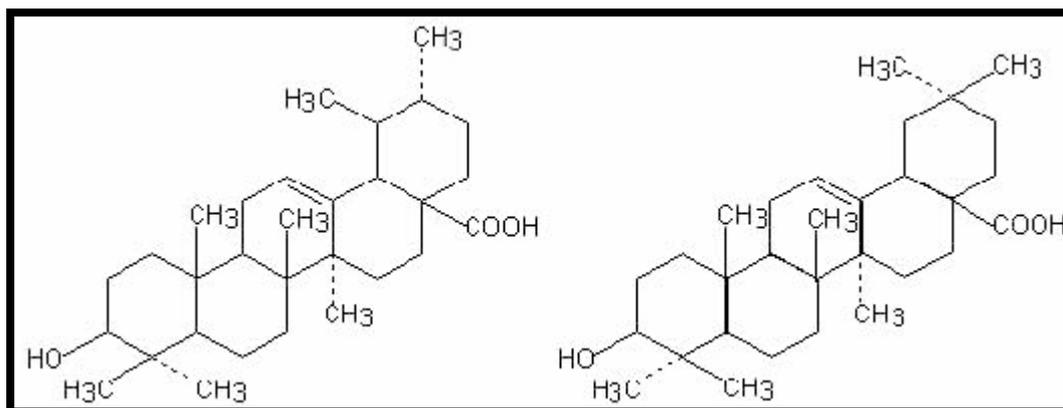
**Figure N° 9 :** Structure chimique des coxibs

## 2.2. Les inhibiteurs naturels

Plusieurs plantes médicinales sont utilisées avec succès pour traiter ou soulager certaines maladies inflammatoires telles que la goutte, l'arthrite rhumatoïde, l'asthme, l'arthrose, et le cancer. Des études récentes montrent que les propriétés anti-inflammatoires de ces plantes reviennent à leur contenu en métabolites secondaires : les flavonoïdes et les terpènes notamment [52].

### 2.2.1. Les terpènes

Les majorités des triterpènes pentacycliques (PCT) ont une action inhibitrice envers la COX2. Les deux composés pentacycliques les plus efficaces sont l'acide ursolique et l'acide oléanolique avec des  $IC_{50}$  respectives de  $130 \mu M$  et  $295 \mu M$  (Figure N°10). Des études récentes prouvent la capacité de l'acide ursolique à inhiber l'inflammation de la peau. D'autre part, en Chine, l'acide oléanolique isolé a déjà été utilisé comme traitement de l'hépatite pendant de nombreuses années [53].



acide ursolique

acide oléanolique

**Figure N° 10 :** Structures chimiques des triterpènes inhibant la COX2.

### 2.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le plus grand groupe de composés polyphénoliques présent dans les plantes supérieures. Ils sont très réputés par leurs effets anti-viral, anti-radicalaires, anti-allergiques, anti-tumoral, anti-inflammatoires et anti-cancéreux. Ils sont également réputés par leur effet inhibiteur vis-à-vis de quelques enzymes à visées thérapeutiques à savoir la cyclooxygénase 2. En effet, il a été démontré dans un premier temps que l'utilisation des extraits de plantes riches en flavonoïdes s'avère très efficace pour inhiber la COX-2 dans le traitement des maladies inflammatoires. Dans cette optique, des études menées par Vanamala J et *al* prouvent que certains types de flavonoïdes sont capable, en inhibant la COX2, de lutter contre certaines maladies inflammatoires citons à titre d'exemple : la naringine (cancérogenèse colique), la Tricin (adénome chez la souris), la Genistein (cancer du sein) et la Quercetin (adénocarcinome œsophagien) [54,55].

D'autres études plus poussées révèlent la genistein, rhamnetin, quercétine, chrysin, et catéchin comme inhibiteurs potentiels de cette éventuelle enzyme avec de très faibles valeurs de leur  $IC_{50}$  (20.7 ; 18.6 ; 10.5 ; 5 ; 1.45  $\mu$ M respectivement) [9.56]. Ces molécules naturelles présentent une activité inhibitrice comparable à celle des coxibs mais avec moins voire même sans effets secondaires. Ceci justifie en partie les raisons ayant motivé notre choix d'étudier les flavonoïdes dans le cadre de notre mémoire de master.



# Chapitre 3: Le docking moléculaire

## 1. Introduction

Le développement d'un nouveau médicament est un processus complexe, long, très coûteux et fortement encadré juridiquement à cause des risques de santé publique. En réalité, seules les plus grandes entreprises de l'industrie pharmaceutique sont capables d'assurer le développement d'un médicament de A à Z. Celui-ci est divisé en plusieurs phases dont chacune nécessite la validation de la précédente pour pouvoir continuer. Entre 12 et 15 ans et près d'un milliard de dollars sont nécessaires pour concevoir un nouveau médicament [1].

Dans le passé, la méthode expérimentale établie pour la recherche des ligands interagissant avec une protéine donnée est le criblage à haut débit (« HTS » en anglais). L'activité (ou plutôt l'affinité) d'un très grand nombre de composés est systématiquement testée *in vitro* afin d'identifier des composés prometteurs qui seront par la suite optimisés et testés *in vivo* [57]. Malheureusement, les méthodes expérimentales à haut débit restent très loin à pouvoir tester une grande collection de molécules (chimiotèque) tout en dépensant moins d'argent. C'est à ces problèmes que le développement de nouvelles approches telles que le criblage virtuel par docking moléculaire était nécessaire.

Le criblage virtuel est une nouvelle approche permettant de modéliser et prédire l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour le site actif d'une cible thérapeutique donnée. Grâce à cette stratégie, les compagnies pharmaceutiques peuvent aboutir plus rapidement à des listes très réduites de molécules présentant l'activité souhaitée, avec un coût bien moindre que les méthodes de criblage expérimental à haut débit [58]. Ces molécules seront soumises à des tests *in vitro* et/ou *in vivo* ultérieurs afin de valider la prédiction.

Les nombres grandissants de cibles génomiques d'intérêt thérapeutique et de macromolécules (protéines, acides nucléiques), pour lesquelles une structure tridimensionnelle (3-D) est disponible, rendent les techniques de criblages virtuels de plus en plus attractifs pour des projets d'identification de molécules bioactives [59]. D'ailleurs, un certain nombre de médicaments mis sur le marché proviennent d'une conception rationnelle basée sur des stratégies de criblage virtuel, citons à titre d'exemples:

- Des inhibiteurs de l'aldose réductase: par recherche dans des bases de données de composés.
- Un inhibiteur d'un élément de réponse de la transactivation de la HIV-1 RNA: par docking rigide et recherche dans des bases de données de composés.

-Un inhibiteur de la thrombine: par docking sur des chimiothèques combinatoires et par des méthodes de *novo*.

-Un inhibiteur de la glyceraldéhyde-3-phosphate dehydrogenase: par docking sur des chimiothèques combinatoires [60].

## 2. Les outils du docking moléculaires

### 2.1. Le récepteur

La première grande voie d'étude et de conception de molécules bioactives par modélisation moléculaire est celle qui se fonde sur la structure des récepteurs. Cette approche est basée sur l'exploitation de la structure moléculaire tridimensionnelle de la protéine cible [61]. Trois méthodes expérimentales permettent aujourd'hui de déterminer la structure des protéines : la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X. Cette dernière technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures appelée la «*Protein Data Bank*» (PDB) [60].

La PDB est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques. Ces molécules proviennent de l'ensemble des règnes biologiques. La PDB est gratuitement accessible par Internet (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Elle contient plusieurs de milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie aux rayons X, soit par RMN.

Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [62].

### 2.2 Le(s) ligand(s)

Pour un docking moléculaire, le ligand doit être également sous forme 3D. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimique. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl ...etc [57].

### 2.3. Un programme de docking moléculaire

Le docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires. La première consiste à rechercher les conformations du ligand aptes à établir des interactions idéales avec le récepteur. La deuxième est une fonction de score permettant d'évaluer ces conformations par un calcul rapide de leur énergie d'interaction avec ce récepteur [63]. L'utilisation des programmes tels que Flex X, GOLD, GLID et AutoDock est devenue incontournable dans la recherche de nouveaux principes actifs.

## 3. Le docking : du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité

L'étude du docking est une étape capitale dans la compréhension des réactions biologiques et dans la conception de médicaments. Les tentatives de docking ont longtemps été basées sur le concept « clé-serrure », considérant le récepteur et le ligand rigides [64]. c'est sans aucun doute la catégorie la plus simple et rapide du docking moléculaire. L'approche la plus utilisée dans le traitement de la flexibilité, considère la cible protéique comme corps rigide tandis que le ligand est flexible. Ce type de docking (semi-flexible) permet d'obtenir des résultats plus précis. Aujourd'hui, la puissance de calculs des ordinateurs permet, pour certains logiciels de docking, de traiter la flexibilité du ligand et de façon partielle le récepteur [57].

### 3.1. Les algorithmes de recherche

L'utilisation des programmes de docking a conduit à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives [65]; néanmoins, leurs algorithmes sont toujours en maturation [57]. Actuellement, il existe deux grandes classes d'algorithmes de docking qu'on peut répartir selon la méthode utilisée :

#### 3.1.1. Simulation par fragmentation incrémentale (*matching*)

Le principe général est de couper le ligand en fragments rigides et flexibles. Dans un premier lieu, un ou plusieurs fragments qui doivent être rigides sont placés au sein du site actif et donc mis en interaction avec la cible, puis le ligand est reconstruit en plaçant les fragments flexibles d'une manière successive tout en exploitant les angles de torsion [66]. Des programmes comme FlexX et Surflex utilisent cette approche qui permet notamment un criblage rapide de vastes chimiothèques de molécules [67].

### 3.1.2. Simulation par trajectoire (algorithme génétique)

La seconde approche, par trajectoire, est plus précise : à partir d'une position initiale aléatoire, à l'extérieur du site actif, le ligand considéré dans son entier explore le site actif étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur. Ces techniques sont plus lentes que celles par *matching* mais prennent mieux en considération la flexibilité du ligand et permettent l'exploration de régions plus vastes. Dans cette catégorie, nous pouvons citer GOLD et AutoDock. [68,57].

Les différentes approches de docking se distinguent au niveau de leurs conditions d'application et de la nature des informations qu'elles peuvent fournir. La pertinence du choix d'un programme de docking donne réponse en premier lieu sur l'adéquation entre ces caractéristiques et celles du système étudié. L'efficacité du programme choisi sera par ailleurs un compromis entre rapidité d'exécution et précision des résultats.

# Chapitre 4: Matériels et méthodes

## 1. Matériels

### 1.1. Microordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé deux micro-ordinateurs puissants avec une mémoire vive de 4 GO et 2 GO respectivement. Les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7.

### 1.2. Programmes

Concernant le programme du docking moléculaire, nous avons utilisé la version la plus récente d'AutoDock (4.2.5.1) [69]. Il s'agit d'un programme libre et très réputé utilisant un Algorithme Génétique de Lamarckian (AGL), qui permet l'exploration d'un espace conformationnelle très important, en générant donc des résultats plus fiables. Nous avons également utilisé l'interface graphique AutoDock Tools (1.5.6) permettant la visualisation des interactions COX2-Ligands.

Le deuxième programme que nous avons utilisé dans cette étude est « Titan ». Il permet la construction moléculaire tridimensionnelle des ligands issus de la littérature avec minimisation de leur énergie intramoléculaire.

Open Babel (2.0.2) est le dernier logiciel utilisé dans cette étude. C'est un programme libre visant à faciliter l'inter conversion des données chimiques d'un format à un autre de fichiers de divers types (*pdb*, *mol*, *mol2*...etc.).

### 1.3. Récepteur

La COX-2, faisant l'objet de notre étude, a été téléchargée sous format *pdb* via la banque de donnée *Protein Data Bank* (PDB). Cette dernière nous a proposé 24 conformations 3D de COX2 parmi lesquelles nous avons choisi le code 3NT1, car il s'agit d'une structure convenablement définie avec une résolution égale à 1.73 Å.

### 1.4. Ligands

Les flavonoïdes étudiés dans ce travail ont été dessinés par le logiciel de construction moléculaire : Titan, en tenant compte de l'état d'hybridation de chaque atome. Par la suite, une étape de minimisation d'énergie intramoléculaire (en appliquant la méthode semi-empirique AM1) est primordiale afin d'optimiser géométriquement les molécules dessinées. Enfin, Les ligands construits sont enregistrés sous format *pdb*.

## 2. Méthodes

La procédure de simulation par le programme AutoDock 4.2.5.1 se décompose en 5 étapes :

### 2.1. Préparation du récepteur

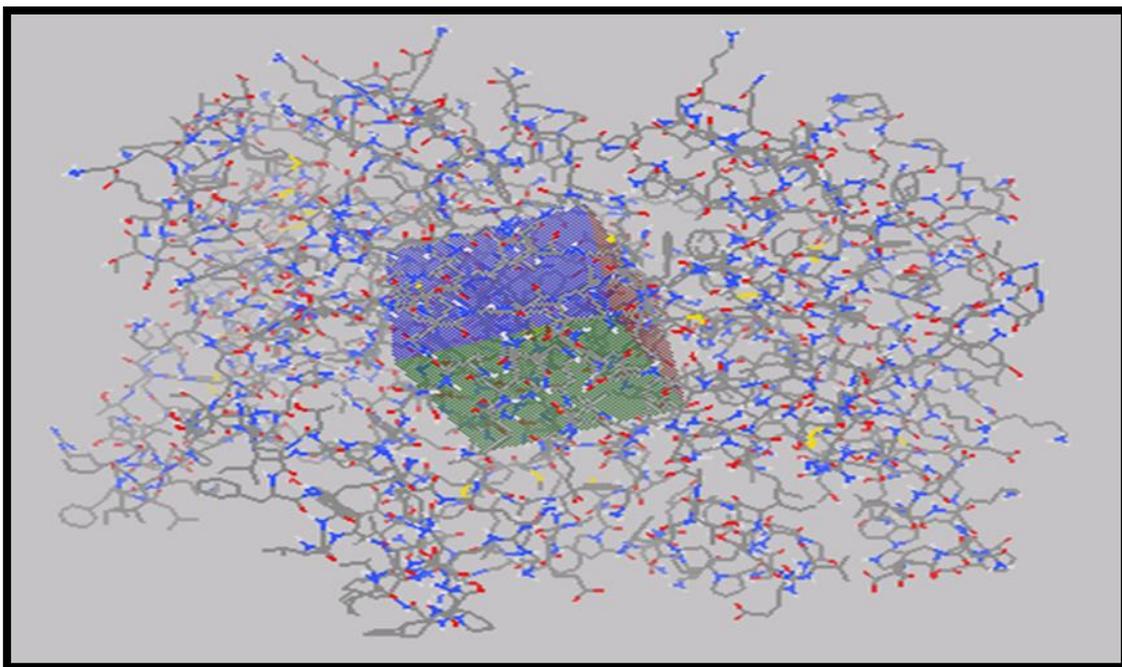
Avant son utilisation par AutoDock, le complexe 3NT1 est séparé de son ligand afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre. Le récepteur est ensuite préparé en définissant les charges partielles de ses atomes. Il est également nécessaire de rajouter à ce récepteur les hydrogènes dits « essentiels » c'est-à-dire polaires. Le fichier ainsi préparé est enregistré par AutoDock sous format *pdbqt* (format propre à AutoDock).

### 2.2. La préparation des ligands

Les ligands précédemment dessinés et enregistrés sous extension *pdb* sont par la suite préparés pour le docking avec AutoDock. Ce dernier a pour rôle de contrôler les mouvements du ligand, en définissant les atomes aromatiques, les liaisons flexibles et les angles de torsion. Enfin, les ligands sont enregistrés également sous le format *pdbqt*.

### 2.3. Calcul des grilles de potentiel

Afin d'augmenter la vitesse d'exécution du logiciel, AutoDock utilise une grille de potentiel qu'il place au niveau du site actif de l'enzyme en question. Dans notre cas, le centre de cette boîte est déterminé par les coordonnées  $X = -40.957$ ,  $Y = -51.193$  et  $Z = -22.318$ , avec les dimensions  $40 \times 40 \times 40 \text{ \AA}^3$  (Voire Figure N°11). La boîte est alors centrée sur le site actif et ses dimensions sont proportionnelles à la taille de tous les ligands étudiés. Ces instructions sont sauvegardées dans un fichier texte d'extension *gpf* (GridParameters File). Il s'agit d'un fichier exécutable par le sous-programme AutoGrid qui calcule l'affinité entre les différents types d'atomes de la protéine (C, H, O, N et S) vis-à-vis ceux du ligand. Les résultats sont générés dans un fichier texte avec l'extension *glg*.



**Figure N° 11** : Position de la boîte d’amarrage dans le site actif de la 3NT1

#### 2.4. La recherche des solutions d’amarrage

Pour que le programme AutoDock réalise l’étape du docking proprement dite, nous devons lui fournir un ensemble des instructions dans un fichier texte de format *dpf*. Ce fichier contient le nom des fichiers de la protéine et le ligand ainsi préparés, la position initiale du ligand ainsi que la méthode de recherche utilisée. Dans notre cas, nous avons utilisé l’Algorithme Génétique de Lamarkien (AGL) avec ses paramètres par défaut. En exécutant ce fichier *dpf*, le programme AutoDock fait varier les différentes positions du ligand dans le site actif de la COX-2 tout en évaluant les énergies d’interactions correspondantes. Il utilise pour cela les grilles de potentiel pré-calculé dans l’étape précédente.

#### 2.5. Analyse des résultats

Les résultats du docking sont générés dans un fichier *dlg* fournissant les coordonnées atomiques des 10 meilleures positions d’amarrage du ligand dans le site actif de l’enzyme étudiée, leur mode d’interaction, leur énergie d’interaction ( $\Delta G$  en Kcal/mol), leur  $K_i$  ainsi que les valeurs de l’écart quadratique moyen (Root Mean Square Deviation ou le RMSD) correspondantes.

### 3. Filtrage ADME/Tox

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (filtre ADME/Tox) [70]. En 1997, Lipinski a défini un ensemble de critères permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure 2D. Selon cette règle un composé possède toutes les chances d'être disponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivantes:

1. Ne possède pas plus de 5 donneurs de ponts hydrogène (OH et NH).
2. Ne possède pas plus de 10 accepteurs de ponts hydrogène (O et N).
3. Possède une masse moléculaire inférieure à 500 daltons.
4. Un coefficient de partition octanol/eau (log P) ou une lipophilie entre -2 et 5.
5. le nombre de liaisons rotatable inférieur à 15.

Dans notre travail, ces paramètres ont été calculés en utilisant le serveur Molinspiration [71].

# Chapitre 5: Résultats et discussions

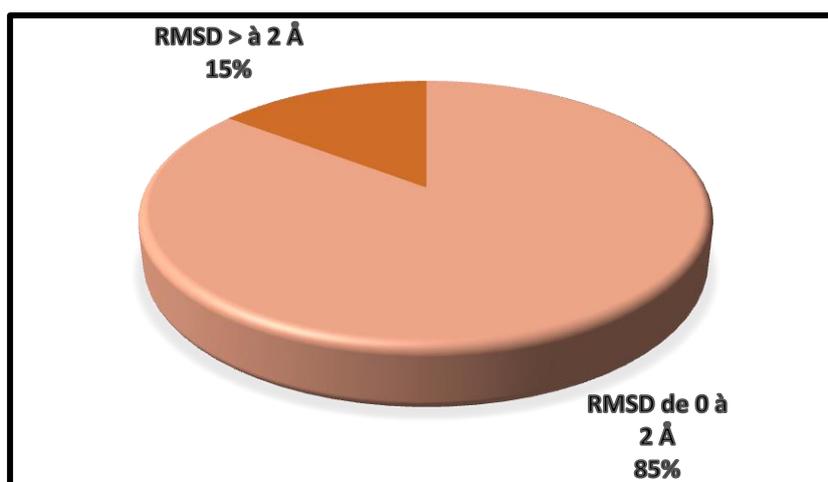
## 1. Tests de fiabilité du programme de docking

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la COX-2 par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du logiciel AutoDock utilisé dans cette étude. La performance de ce programme est jugée au moyen de trois critères différents :

- l'écart quadratique moyen ou le RMSD (Root Mean Square Déviation).
- L'analyse visuelle.
- Le coefficient de corrélation linéaire( $r$ ).

### 1.1. Le test RMSD

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur. La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (*root-mean-square dérivation*) entre la position du ligand du complexe cristallographique et celles des ligands amarrés par le programme de docking. Un seuil maximal de 2Å est souvent utilisé pour discriminer une bonne position d'une mauvaise position [72.73]. Dans notre cas, le test de fiabilité du programme AutoDock par le RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand pris de manière arbitraire via la PDB. (Voir annexe N°1). Les résultats de ce test sont représentés dans la figure N°12.



**Figure N° 12:** Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles

La figure N°12 montre que le programme AutoDock reproduit bien les données expérimentales. En effet, dans 85 % des cas, les valeurs de RMSD entre le ligand Co-cristallisé et le ligand arrimé par AutoDock sont à moins de 2 Å, conformément aux travaux de CHIKHI et BENSEGUENI (2008), et GABB J et *al* (1997) [72.73]. Ces résultats montrent que le programme AutoDock simule correctement les interactions protéine-ligand.

Toutefois, les résultats d'un tel test ne sont jamais suffisants pour s'assurer de la fiabilité de ce programme afin d'étudier spécifiquement l'inhibition de la COX2. C'est pourquoi, il était indispensable de conforter davantage nos résultats en appliquant ce test directement sur les huit complexes COX2\_inhibiteurs disponible dans la PDB. Les codes PDB de ces complexes et de leurs inhibiteurs ainsi que les valeurs de leur RMSD (Å) obtenues avec AutoDock sont mentionnés dans le tableau N°3

**Tableau N° 3** : Valeurs de RMSD des huit complexes COX2-inhibiteur étudiés.

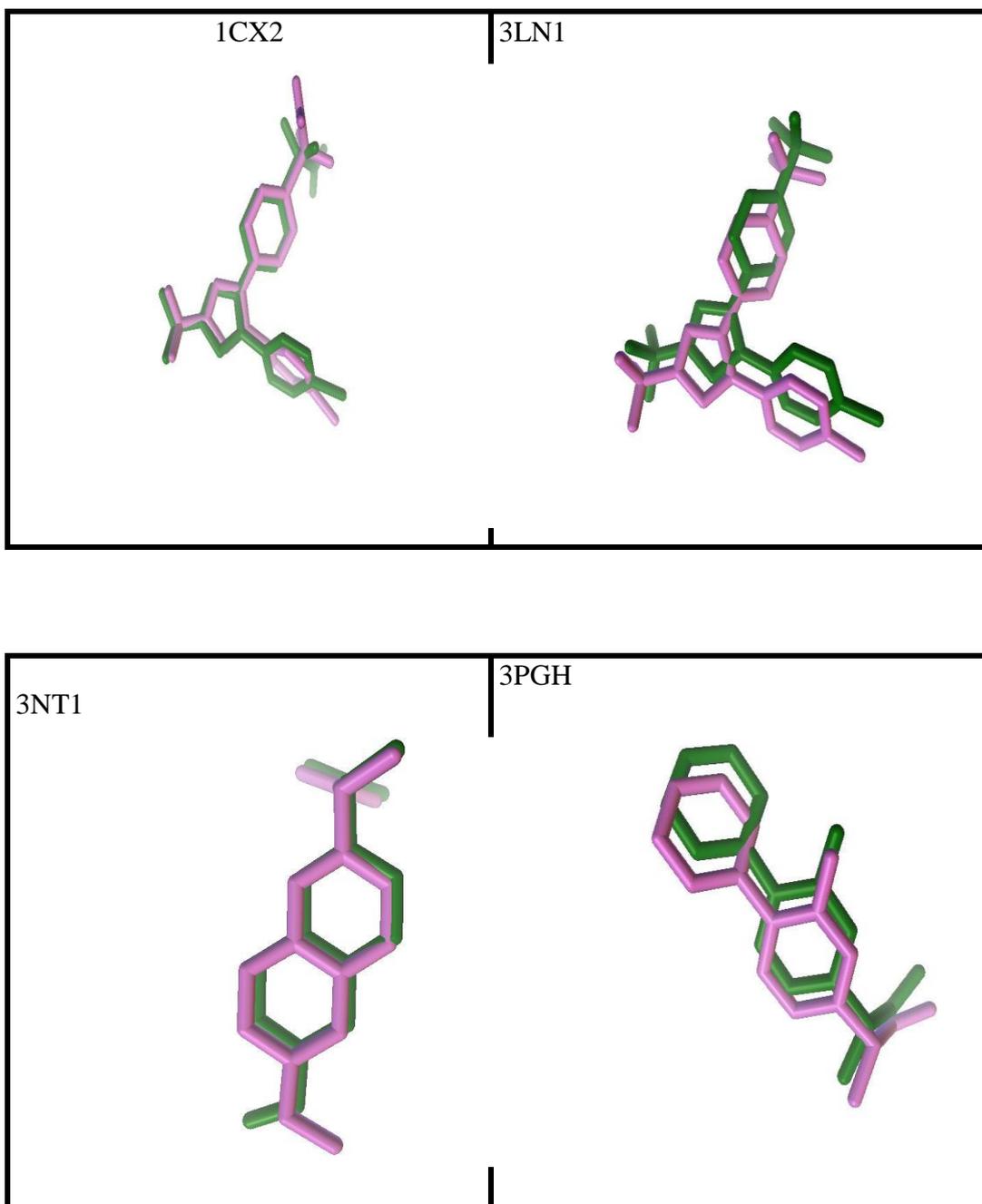
Code PDB	Code des ligands	RMSD (Å)
1CX2	S58	1.57
3LN1	CEL	0.98
3NT1	NPS	0.70
3PGH	FLP	0.71
4COX	IMN	0.89
4FM5	DF0	1.15
4LLZ	LUR	0.65
4M11	MXM	1.09

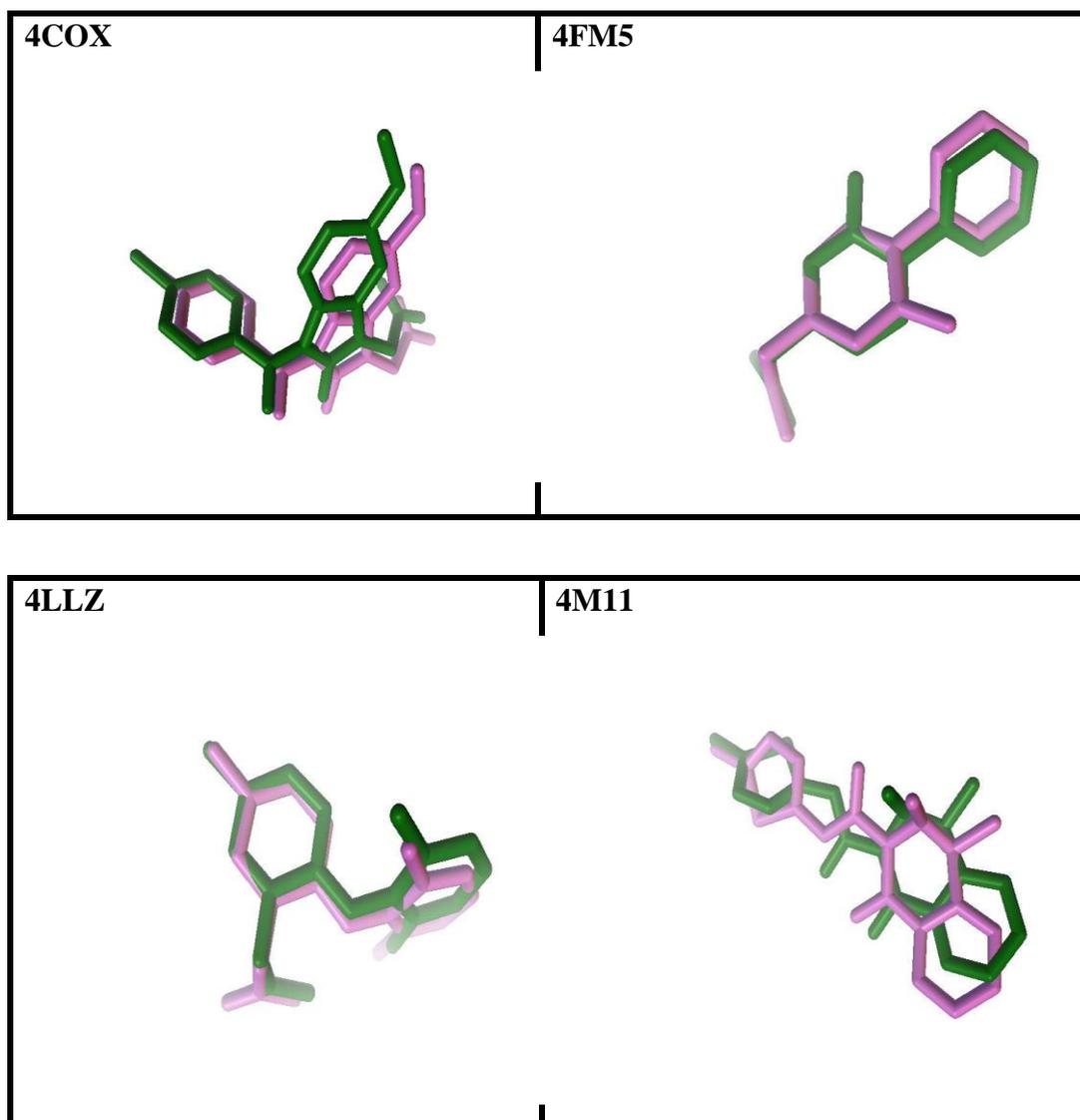
Sur les huit complexes COX2-ligands étudiés, le programme AutoDock simule correctement les interactions, avec des valeurs de RMSD inférieurs à 2 Å. [40.41]. Ceci prouve davantage que ce programme est bien adapté à l'étude *in silico* de l'inhibition de la COX2 qui nous intéresse ici.

### 1.2. L'analyse visuelle

L'analyse visuelle par AutoDock est une étape essentielle pour confirmer les résultats du RMSD. Elle permet de déterminer si un ligand simulé se superpose avec

le ligand Co-cristallisé. En effet, l'analyse visuelle par AutoDock réalisée sur les huit complexes COX2- inhibiteurs cités plus haut montre que les modèles des ligands simulés par AutoDock sont correctement placés dans le site actif de la COX-2. Ils présentent des conformations spatiales très proches voir même superposables à celles déterminées expérimentalement par cristallographie qu'on retrouve dans la PDB (voir figures N°13)





**Figure N°13:** Superposition des géométries des huit inhibiteurs obtenues par cristallographie (colorées en violet) et par docking avec AutoDock (colorées en vert).

### 1.3. Coefficient de corrélation (r)

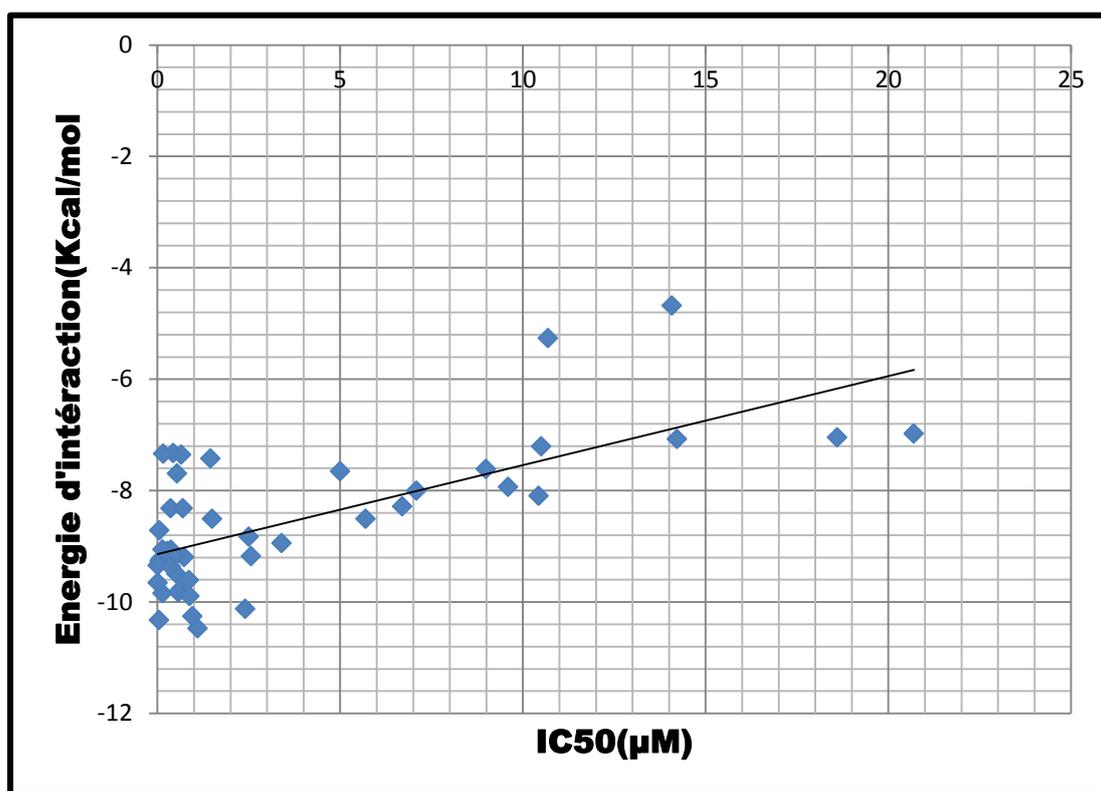
A présent, la PDB ne met pas à notre disposition des complexes cristallisés de la COX-2 avec les flavonoïdes, objet de notre étude. Dans ce cas, nous ne pouvons pas appliquer le test RMSD pour évaluer de manière significative le positionnement des flavonoïdes au sein du site actif de la COX-2. C'est la raison pour laquelle nous avons opté pour une autre approche afin de conforter davantage l'évaluation de la performance d'AutoDock en matière à simuler les interactions COX2-Flavonoïdes. Dans cette optique, nous avons jugé utile de calculer le coefficient de corrélation linéaire en traçant la droite de régression linéaire entre l'énergie d'interaction ( $\Delta G$ )

des inhibiteurs de la COX-2 simulés avec AutoDock et les valeurs de leur IC<sub>50</sub> déterminées expérimentalement. Dans notre cas, nous avons utilisé 46 inhibiteurs de la COX2 dont 5 appartenant à la famille des flavonoïdes. La disponibilité des valeurs de leur IC<sub>50</sub> est parmi les critères de choix en faveur pour ces molécules. Les résultats des énergies d'interaction des inhibiteurs étudiés ainsi que leur IC<sub>50</sub> sont représentés dans le tableau N°4 (les structures 2D de chaque composé sont représentées dans l'annexe N°2).

**Tableau N° 4 :** Corrélation entre les énergies d'interaction des 46 inhibiteurs de la COX2 et leur activité biologique (IC<sub>50</sub>)

Composé	IC50 (μM)	ΔG Score AutoDock (Kcal/mol)
1	0.64	-9.77
2	0.14	-9.85
3	0.005	-9.66
4	1.10	-10.48
5	0.06	-9.27
6	0.04	-10.33
7	1.5	-8.51
8	0.1	-9.23
9	0.52	-9.5
10	0.43	-7.33
11	0.24	-9.2
12	0.65	-7.36
13	0.73	-9.2
14	0.96	-10.26
15	5.7	-8.51
16	0.57	-9.83
17	0.37	-9.07
18	0.54	-7.7
19	2.5	-8.83
20	6.7	-8.29
21	0.27	-9.09
22	2.56	-9.18
23	8.99	-7.62
24	0.46	-9.2
25	0.86	-9.61
26	10.43	-8.1
27	0.14	-9.06
28	9.6	-7.94
29	0.88	-9.9
30	10.69	-5.27
31	14.08	-4.68

32	0.009	-9.35
33	0.05	-8.72
34	2.4	-10.13
35	0.36	-8.32
36	0.37	-9.37
37	0.16	-7.74
38	0.7	-8.32
39	14.22	-7.08
40	7.09	-8.01
41	3.4	-8.95
42	20.7	-6.98
43	18.6	-7.08
44	10.5	-7.16
45	5	-7.66
46	1.45	-7.43



**Figure N° 14 :** Corrélation entre l'activité biologique ( $IC_{50}$ ) de 46 ligands et leur énergie d'interaction vis-à-vis de la COX2.

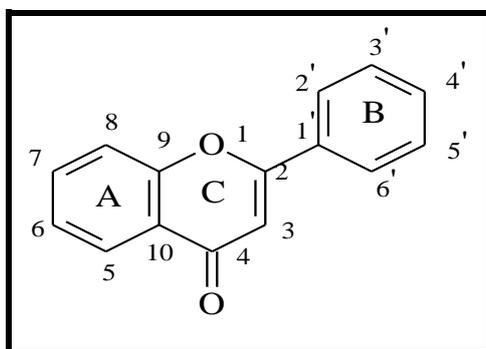
Selon les travaux de BENSEGUENI A (2007) et MOKRANI E-H (2012), un programme de docking moléculaire est performant quand la valeur absolue du coefficient de corrélation linéaire dépasse 0.5, ce qui est en parfait accord avec les résultats trouvés. Comme le montre la figure N°14, il existe une forte corrélation entre les énergies d'interaction et les IC<sub>50</sub> des inhibiteurs étudiés, avec un coefficient de corrélation égal à 0.67 [57 ,63].

#### 1.4. Conclusion

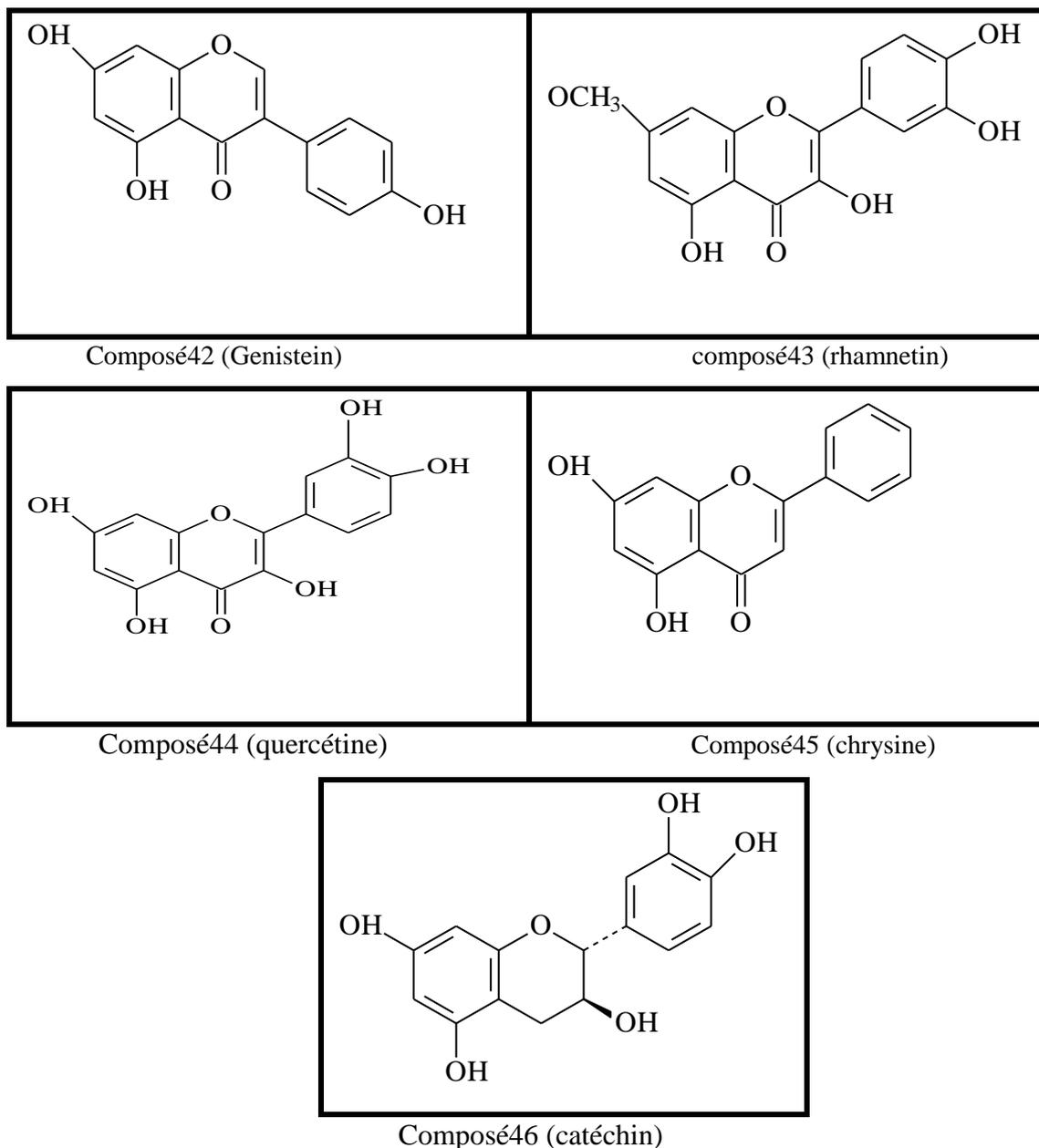
A la lumière des résultats du test RMSD, l'analyse visuelle et la corrélation linéaire, le programme AutoDock est bien adapté aux calculs des interactions COX2-Flavonoïdes. Donc nous pouvons l'utiliser sans trop risque d'erreurs pour étudier profondément les mécanismes d'inhibition de la COX2 par ces molécules.

### 2. Etude des interactions COX2-Flavonoïdes par AutoDock

Les flavonoïdes sont des composants naturels hautement actifs, possédant une variété d'activités pharmacologiques, à savoir l'inhibition de la COX-2 [9]. Avec de très faibles valeurs de leur IC<sub>50</sub>, les flavonoïdes se présentent comme des inhibiteurs de choix envers la COX-2. Les dernières études révèlent cinq flavonoïdes inhibant potentiellement la COX2. Il s'agit des mêmes composés utilisés précédemment dans le test de performance par corrélation linéaire. Rappelons que ces composés portent les noms suivants : Genistein (composé42), Rhamnetin (composé43), Quercetin (composé44), chrysin (composé45) et catéchine (composé46). voir figure N°16.



**Figure N°15:** Squelette de base des flavonoïdes



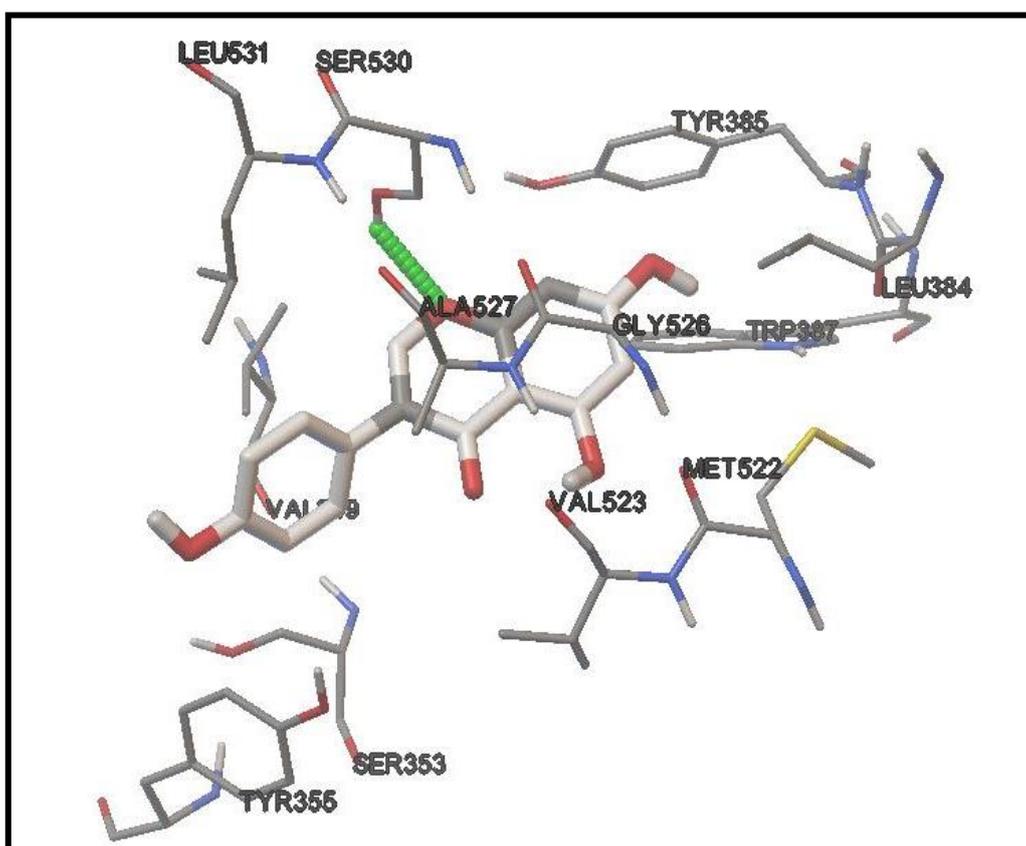
**Figure N° 16 :** Structure des flavonoïdes étudiés

En regard des publications énoncées ci-dessus, aucune référence bibliographique ne fait état sur le mode d'interaction de ces molécules avec le site actif de la COX-2, ni sur leur énergie d'interaction. Grâce au programme AutoDock, nous avons pu simuler la formation de ces complexes tout en évaluant leur énergie d'interaction. L'interface graphique ADT nous a aidé à comprendre les mécanismes d'inhibition mis en place par ces éventuelles molécules.

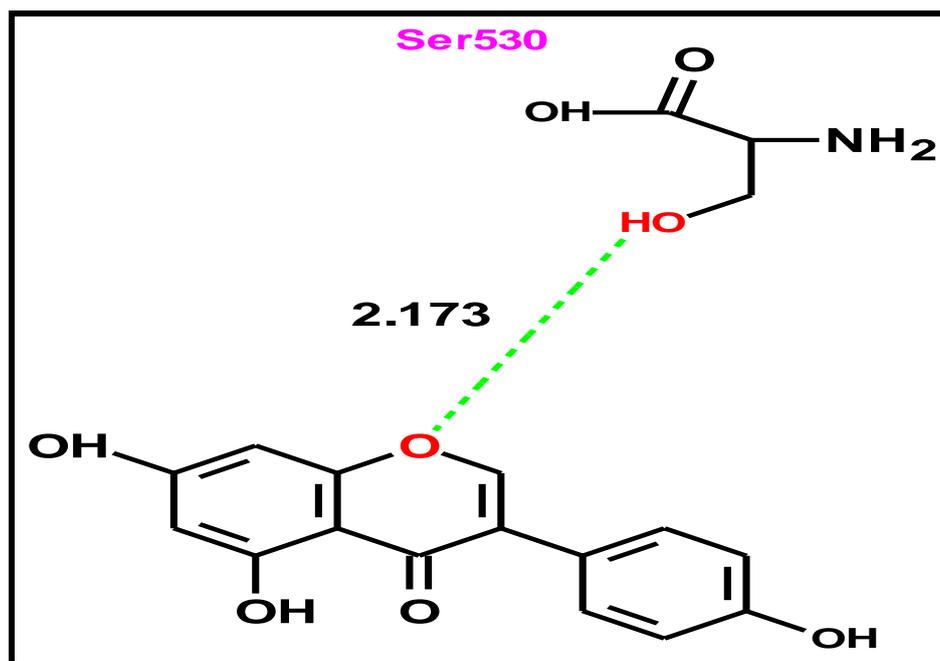
### 2.1. Composé 42 (Genistein)

Comme le montre le tableau N°4, le composé 42 se caractérise par la plus faible activité biologique ( $IC_{50} = 20.7\mu M$ ). Le programme AutoDock confirme parfaitement ce résultat en fournissant une énergie d'interaction égale à  $-6.98$  Kcal/mol, soit la valeur la plus élevée de la famille des flavonoïdes.

L'analyse visuelle du complexe COX2-composé 42 (figure N°17 et 18) nous révèle une seule liaison hydrogène entre l'oxygène du cycle C de l'inhibiteur et le groupement OH du résidu Ser530 séparés par une distance de  $2.173\text{\AA}$ . Le complexe est stabilisé également par des interactions hydrophobiques avec les résidus, Tyr385, Leu531, Ala527, Tyr355, Ser553, Trp387, Leu384, Val523, Met522, Gly526 et Val349.



**Figure N° 17 :** Mode d'interaction du composé 42 dans le site actif de la COX-2.

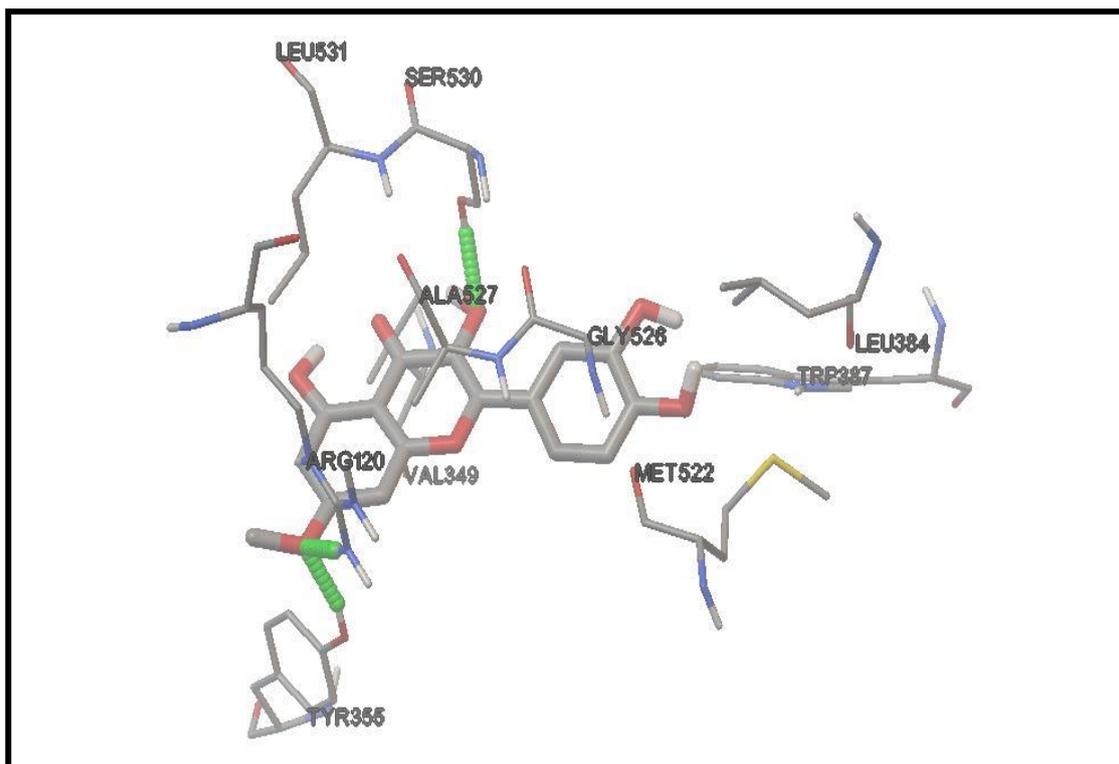


**Figure N° 18 :** Représentation schématique du mode d'interaction du composé 42 et la COX-2.

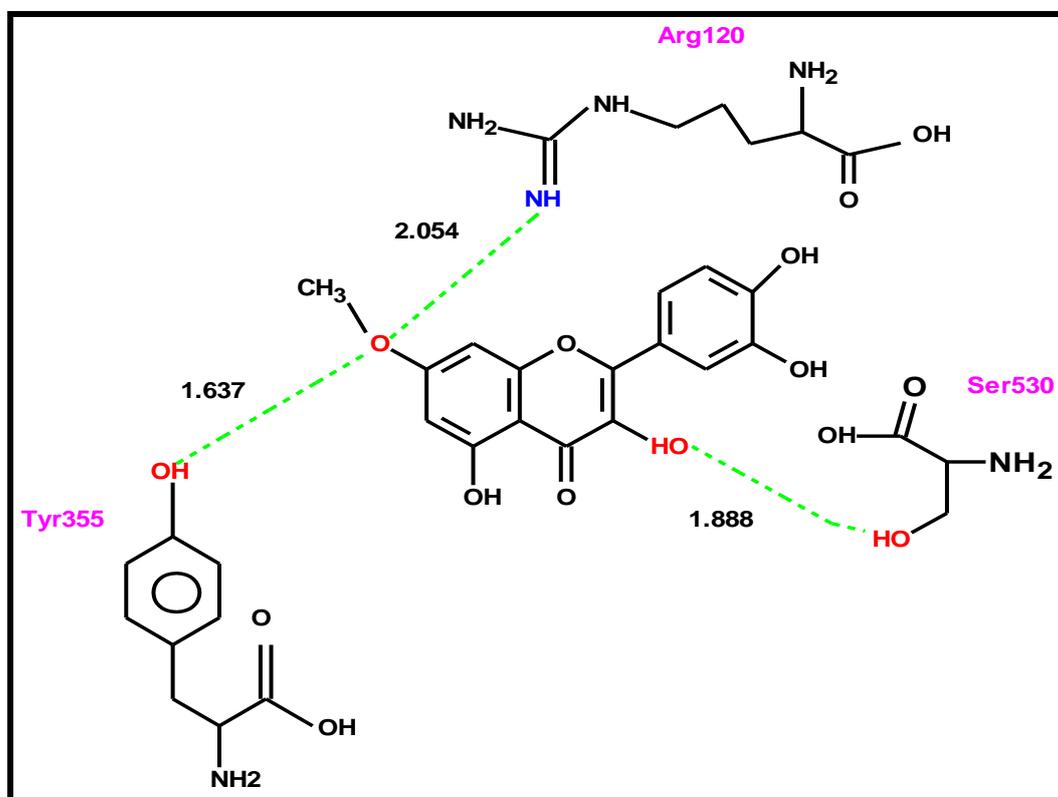
## 2.2. Composé 43 (Rhamnetin)

La simulation réalisée par AutoDock nous a permis d'évaluer l'énergie d'interaction entre le composé 43 et la COX2. Cette énergie s'évaluant à -7.08 Kcal/mol est significativement corrélée à l'activité inhibitrice de ce composé dont l' $IC_{50}$  est égal à 18.6 $\mu$ M.

L'analyse visuelle (voir figure N°19 et 20) montre que le composé 43 forme trois ponts hydrogène avec le site actif de la COX2. Le premier est formé entre l'hydroxyle porté par le C3 de l'inhibiteur et la fonction hydroxyle du résidu Ser530 (Comp43-C3-O---HO –Ser530 ;  $d=1.888\text{\AA}$ ). Les deux ponts hydrogène restants sont formés entre l'oxygène porté par le C7 de l'inhibiteur et les fonctions : amine du résidu Arg120 et hydroxyle du résidu Tyr355, avec des distances respectives de 2.054 $\text{\AA}$  et 1.637 $\text{\AA}$ . Il est important de souligner que le composé 43 est stabilisé, au sein du site actif de la COX-2, par plusieurs interactions hydrophobiques avec les résidus, Leu531, Ala527, Gly528, Leu384, Trp387, Met522, et Val349.



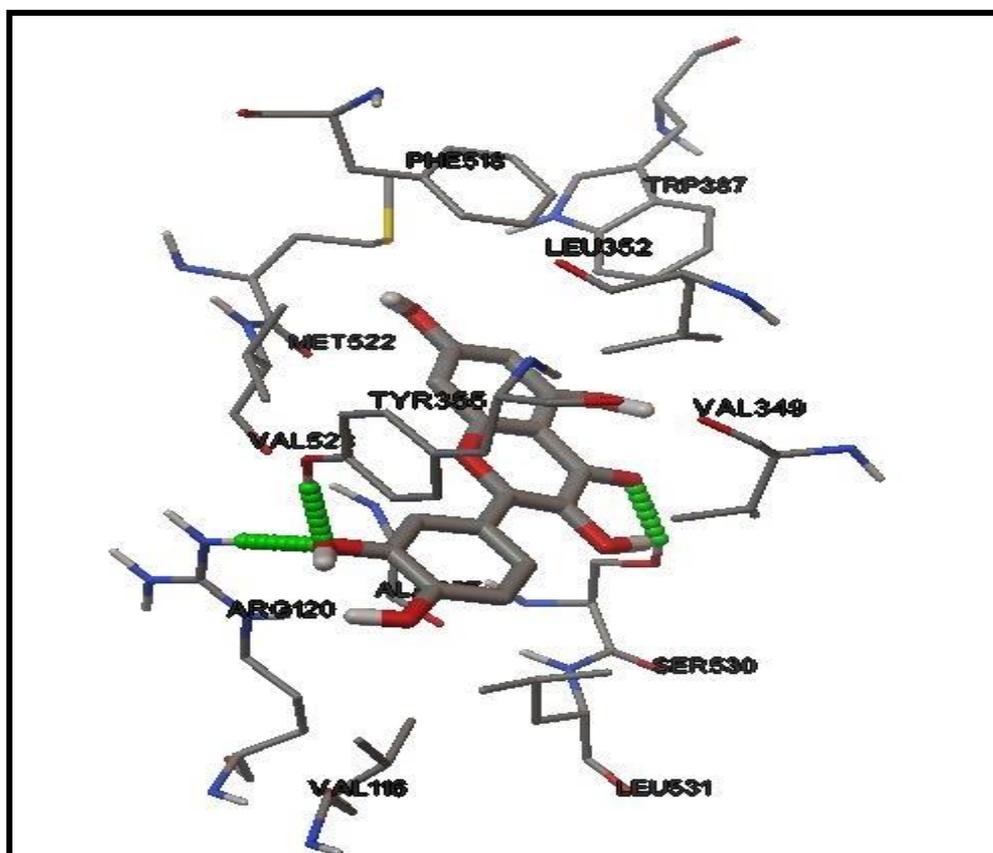
**Figure N° 19 :** Mode d'interaction du composé 43 dans le site actif de la COX-2.



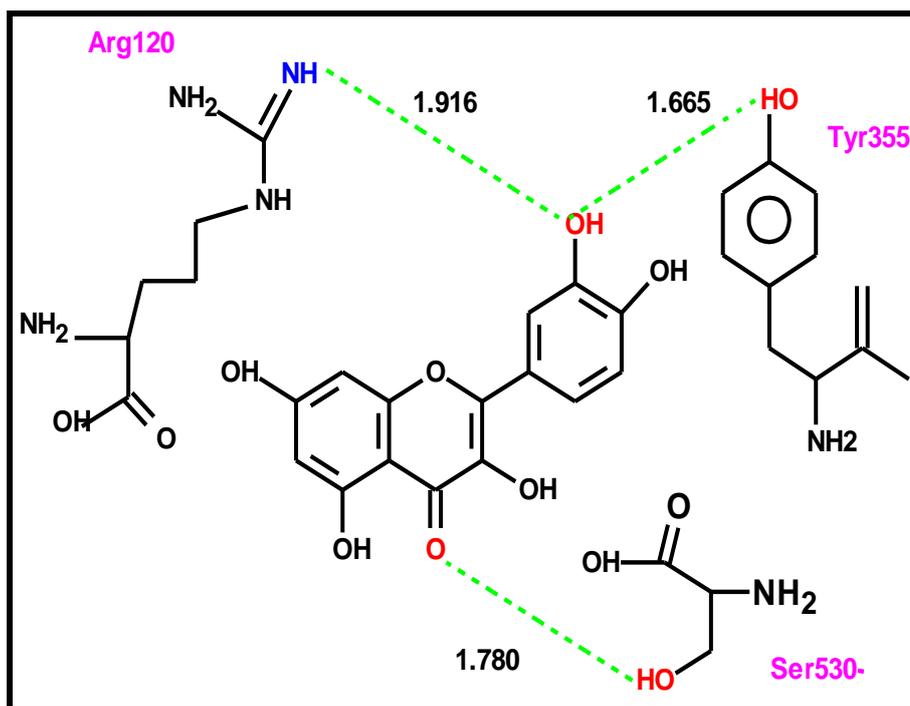
**Figure N° 20 :** Représentation schématique du mode d'interaction du composé 43 et la COX-2.

### 2.3. Composé 44 (quercétine)

Le docking avec AutoDock du composé 44 dans le site actif de la COX2 donne une énergie d'interaction de -7.16 Kcal/mol. Cette énergie se traduit par la présence de trois liaisons hydrogène dont la première est formée entre le carbonyle du cycle C de l'inhibiteur et la fonction hydroxyle du résidu Ser530 avec une distance de 1.780Å. L'oxygène porté sur le carbone C3' (cycle B) de l'inhibiteur établit, de son côté, deux liaisons hydrogène avec les fonctions : amine du résidu Arg120 ( $d=1.916$  Å) et hydroxyle du résidu Tyr355 ( $d=1.665$  Å) respectivement. De plus, On y observe des interactions hydrophobiques stabilisant l'emplacement du composé 44 au sen du site actif de la COX2, précisément au niveau des résidus Phe518, Trp387, Leu352, Val349, Leu531, Val116, Ala527, Val523 et Met523. (Figure N°21 et 22).



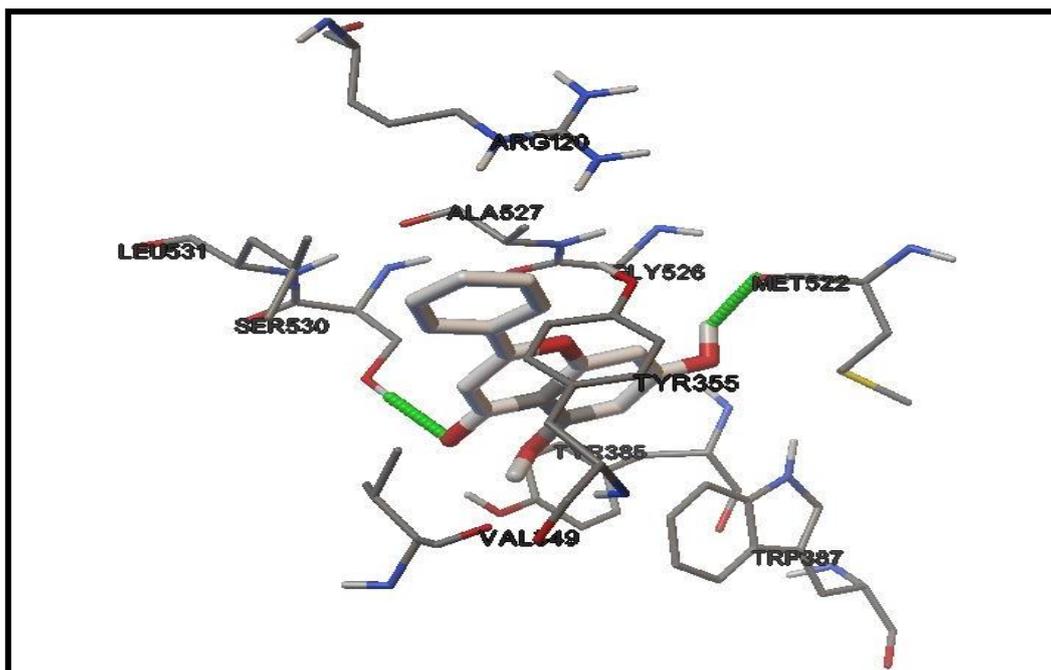
**Figure N° 21 :** Mode d'interaction du composé 44 dans le site actif de la COX-2.



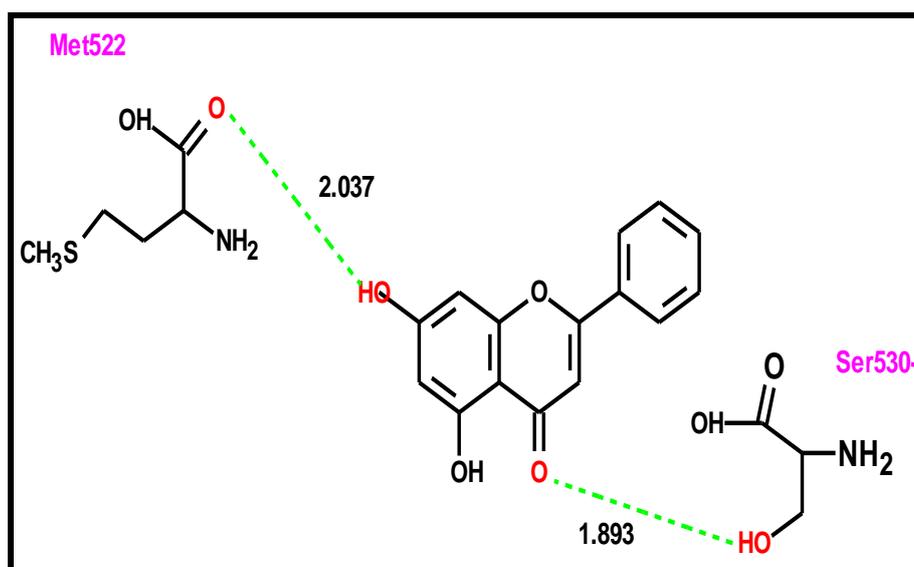
**Figure N° 22 :** Représentation schématique du mode d'interaction du composé 44 et la COX-2.

#### 2.4. Composé 45 (Chrysrine)

Avec une faible valeur de son  $IC_{50}$  ( $5\mu M$ ), le composé 45 est considéré comme un des meilleurs inhibiteurs de la COX-2 connus jusque là. Le docking moléculaire avec AutoDock de ce composé au sein du site actif de la COX-2 donne la meilleure énergie d'interaction soit ( $-7.66$  Kcal/mol). En effet, le complexe COX2-composé 45 est considéré comme celui le plus stable obtenu dans ce travail. L'analyse visuelle (figure N°23 et 24) montre que ce complexe est stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques entre l'inhibiteur et les résidus Arg120, Ala527, Gly520, Tyr355, Tyr385, Trp387, Leu531 et Val349. On note également la présence de deux liaisons hydrogène ; la première est formée entre le carbonyle du cycle C de l'inhibiteur et la fonction hydroxyle du Ser530, séparés par une distance de  $1.893$  Å. La deuxième liaison hydrogène a eu lieu entre l'hydroxyle porté sur le carbone C7 de l'inhibiteur et la fonction carboxyle du résidu Met522, avec une distance de  $2.037$  Å.



**Figure N° 23 :** Mode d'interaction du composé 45 dans le site actif de la COX-2.

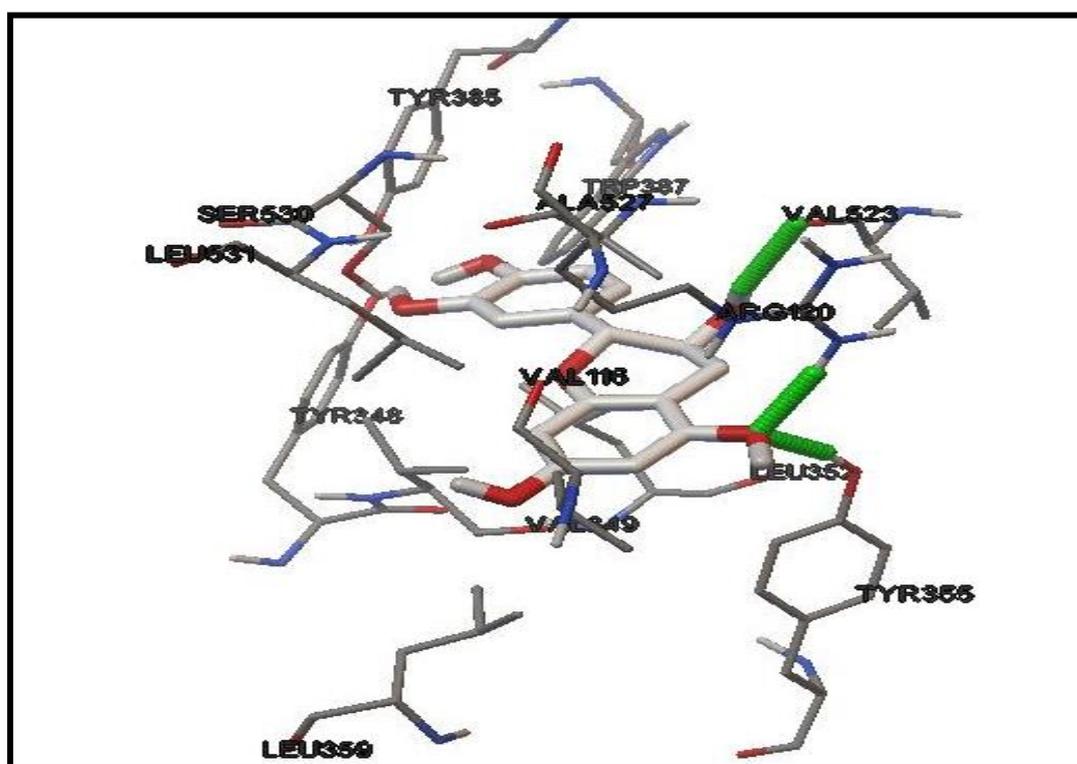


**Figure N° 24 :** Représentation schématique du mode d'interaction du composé 45 et la COX-2

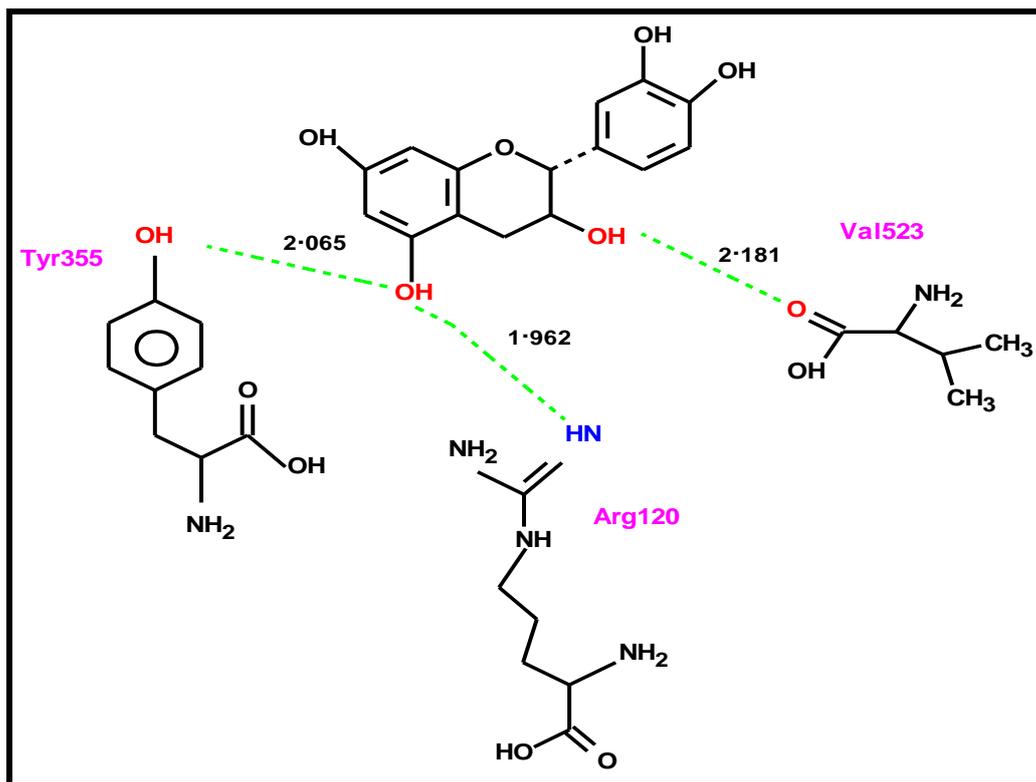
### 2.5. Composé 46 (Catéchine)

Avec la plus faible valeur de son  $IC_{50}$  ( $1.45\mu M$ ), le composé 46 (catéchine) est considéré comme le meilleur inhibiteur de la COX-2 appartenant à la famille de flavonoïdes. Le docking moléculaire de ce composé dans le site actif de la COX-2 donne l'une des meilleures énergies d'interaction obtenues soit  $-7.43 Kcal/mol$ .

Le complexe formé (figure N° 25 et 26) est stabilisé par trois liaisons hydrogène. La première est formée entre la fonction carboxyle du résidu Val523 et l'hydroxyle en position C3 de l'inhibiteur (Comp46-C3-OH---OOC-Val523;  $d=2.181\text{\AA}$ ). Comme le montre la figure 25, l'hydroxyle lié au carbone C5 de l'inhibiteur établit deux liaisons hydrogène ; la première est avec le groupement amine du résidu Arg120 (Comp46-C5-O---HN-Arg120 ;  $d=1.962\text{\AA}$ ) quant à la deuxième, elle est formée avec le groupement hydroxyle du résidu Tyr355 (Comp46-C5-O---HO-Tyr355 ;  $d=2.065\text{\AA}$ ). Il faut également souligner l'intervention des résidus Tyr385, Trp387, Arg120, Leu352, Val349, Leu359, Tyr348, Leu531 et Ser530 dans la stabilité de ce complexe en favorisant la formation de nombreuses interactions hydrophobiques.



**Figure N° 25 :** Interactions entre le composé 46 et le site actif de la COX-2.



**Figure N° 26 :** Représentation schématique du mode d'interaction du composé 46 et la COX-2.

### 2.5. Filtrage ADME/Tox

Dans notre travail, il était très important de compléter cette étude par l'application de la méthode de filtre ADME qui est basée sur la règle de 5 de Lipinski [74], afin de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des cinq flavonoïdes étudiés précédemment. Rappelons que la règle de Lipinski a été appliquée en utilisant le serveur Molinspiration [71]. Les résultats sont montrés dans le tableau N°5.

**Tableau N° 5:** Critères de la règle de Lipinski pour les inhibiteurs étudiés.

	Composé42	Composé43	Composé44	Composé45	Composé46
PM	270.24	316.265	302.238	254.241	290.271
AH	5	7	7	4	6

<b>DH</b>	3	4	5	2	5
<b>LR</b>	1	2	1	1	1
<b>Log P</b>	2.268	2.217	1.68	2.943	1.369

PM = Poids Moléculaire.

AH = Accepteur d'Hydrogène (O et N).

DH = Donneur d'Hydrogène (OH et NH).

LR = Liaison rotatable.

Log P = coefficient de partage octanol/eau.

Le tableau montre que les cinq flavonoïdes étudiés répondent parfaitement à la règle de Lipinski. Conformément aux résultats de Lipinski., et *al* (1997) [74] ces molécules sont capables de présenter une activité biologique sans avoir des problèmes d'absorption par voie oral.

## 2.6. Conclusion

L'étude par docking moléculaire nous a permis de compléter les données expérimentales des cinq flavonoïdes reconnus jusque là pour leur activité inhibitrice envers la COX-2. Les résultats obtenus par AutoDock montrent clairement que la catéchine et la chryisine, avec des valeurs très faibles de leur énergie d'interaction, se présentent comme les meilleurs inhibiteurs de la COX-2 appartenant à cette famille de molécule. Une étude *in silico* plus poussée et approfondie pourrait conduire à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs encore plus affins envers la COX-2.

## 3. proposition de nouveaux inhibiteurs de la COX-2

### 3.1. Criblage virtuel d'une collection de flavonoïdes issus de la littérature

Malgré que les flavonoïdes représentent le plus grand groupe de composés polyphénoliques, la littérature nous ne révèle que cinq molécules dont l'activité inhibitrice (IC<sub>50</sub>) envers la COX-2 a été testée. En regard des publications et des références

bibliographiques énoncées dans ce contexte, pas mal d'extraits de plantes riches en flavonoïdes se sont avérés efficace pour lutter contre les maladies inflammatoires. [75-79] L'indentification chimique des constituants de ces extraits fait ressortir environ 50 flavonoïdes possédant cette éventuelle activité biologique. Les cibles et les mécanismes d'action de la plupart de ces molécules ne sont malheureusement pas encore publiés.

Dans l'espoir de mettre en évidence de nouveaux flavonoïdes plus puissants envers la COX2, nous avons trouvé intéressant de tester *in silico* par AutoDock l'activité inhibitrice de ces molécules reconnues pour leur effet anti-inflammatoire. Les résultats sont présentés dans le tableau N°6.

**Tableau N°6 :** Energie d'interaction envers la COX2 des flavonoïdes testés

Ref	Nom des flavonoïdes	Score (Kcal/Mole)
1	3-hydroxy flavone	-7.96
2	Azaleatin	-7.91
4	Ficetin	-7.52
5	Galangin	-7.52
6	Luteolin	-7.98
7	Gossypetin	-6.67
8	Kaempferide	-7.66
9	Kaempferol	-7
10	Isorhamnetin	-7.45
11	Apigenin	-7.70
12	Neptin	-6.99
13	Myricetin	-6.85
14	Natsudaïdain	-7.72
15	Baicalein	-7.74
16	Pachypodol	-8.00
17	Rhamnasin	-7.84
18	Scutallarein	-6.66
19	Wogonin	-7.53
20	Naringenin	-7.42
21	Hespérétin	-8.23
22	Emodin	-7.19
23	Aloe-emodin	-7.80
24	Peonidol	-8.10
25	Butéïne	-8.12
26	Acacétine	-7.97
27	Diosmétol	-8.45
28	Triticine	-8.10
29	Baicalin	-6.40

30	Procyanidin	-6.38
31	Prodelphenidine	-6.17
32	3-methoxyl quercegetine	-6.93
33	337-trimethoxy quercetine	-8.09
34	Ac cafeique	-4.79
35	Alizarine	-7.46
36	C11033	-7.35
37	Cannabinol	-5.76
38	Cirsimartine	-7.72
39	Epicathechine	-7.25
40	Eriodictyol	-7.83
41	Exuletol	-5.99
42	Gualazuline	-7.20
43	Malvidol	-8.20
44	Phynylbutazone	-7.33
45	Psoraline	-6.99
46	Scopoletin	-6.20
47	Taxifolin	-7.83
48	Techtochrysine	-7.64
49	Morin	-7.90
50	Diosmetin	-7.55

La majorité des flavonoïdes testés par le programme AutoDock possèdent une énergie d'interaction comparable à celle des ligands initiaux. Parmi les 50 flavonoïdes testés, l'Hespéretine et Diosmetol se caractérisent par les plus faibles Scores d'énergies d'interactions s'évaluant à -8.23 Kca/mol et -8.45 Kcal/mol respectivement.

Tenant en compte la marge d'erreur du programme AutoDock (2 Kcal/mol), les résultats de ce test s'avèrent non satisfaisants car aucune amélioration significative de l'énergie d'interaction n'a été observée. C'est la raison pour laquelle nous avons fait recours à la méthode du criblage virtuel d'une grande collection de molécules chimiques.

### 3.2. Criblage virtuel de similaires chimiques

Dans la perspective d'améliorer davantage l'énergie d'interaction vis-à-vis de la COX-2, nous avons tenté de tester *in silico* par AutoDock l'activité inhibitrice de deux collections de similaires chimiques, en prenant comme structure de départ, l'Hespéretine et la Diosmétol.

Il est à signaler que les molécules cibles du criblage virtuel ont été obtenues en consultant la banque *PubChem* (banque de données américaine de molécules chimiques gratuitement accessibles *via* Internet (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)) [80].

### 3.2.1. Criblage virtuel d'une collection des similaires de l'Hespérétine

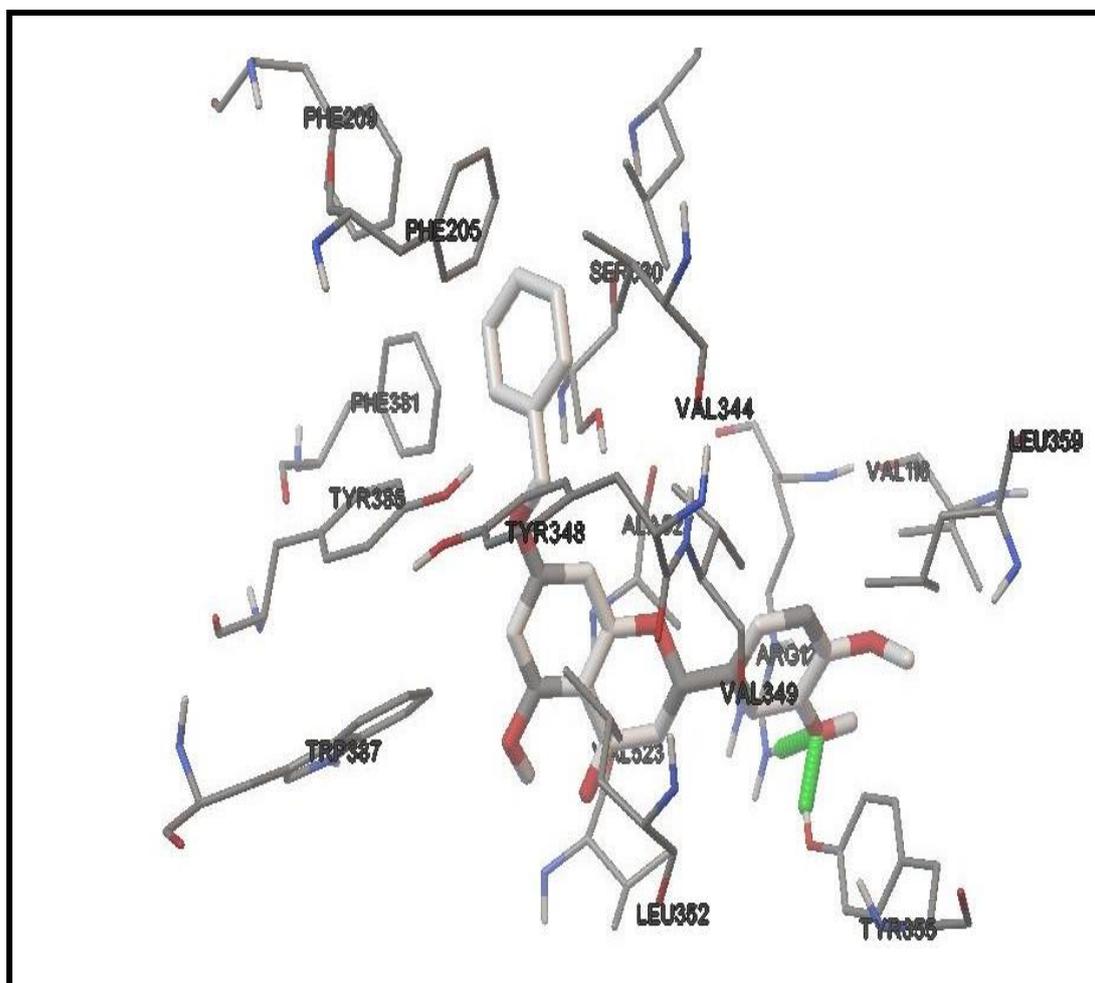
En prenant comme structure de départ l'Hespérétine, la *PubChem* nous propose 957 similaires avec un taux de similarité allant jusqu'au 95%. Dans notre travail, nous avons réalisé un criblage virtuel d'une collection de composés comprenant 300 similaires. A l'issue de ce test, il ressort que 70 composés présentent une énergie d'interaction inférieure à celle de l'Hespérétine (-8.23Kcal/mol), composé de départ.

**Tableau N°7 :** Résultats de l'énergie d'interaction des meilleurs similaires

N° de la molécule dans la collection	Numéro d'accèsion	$\Delta G$ Score AutoDock (Kcal/mol)	Nombre de Liaisons H
1	CID_72281	-8.23	4
111	CID_5398358	-9.14	2
112	CID_5399092	-9.18	2
113	CID_5401075	-9.16	4
120	CID_9817274	-9.36	4
144	CID_9879854	-8.70	4
148	CID_11036041	-8.55	5
150	CID_11294269	-8.96	0
152	CID_11351463	-9.25	2
159	CID_13963918	-8.30	2
160	CID_13964547	-8.82	4
161	CID_13964548	-8.45	3
162	CID_13964550	-8.37	4
168	CID_14466293	-8.26	4
169	CID_14471815	-8.62	3
170	CID_15222911	-8.39	3
171	CID_15693659	-8.68	3
172	CID_15693661	-8.64	4
174	CID_15895373	-8.51	0
178	CID_23786424	-8.32	1
179	CID_24754925	-8.42	0
182	CID_24987042	-8.89	3
185	CID_25267158	-9.28	4

187	CID_42608033	-8.67	1
191	CID_44323578	-8.42	3
198	CID_44432252	-8.69	3
203	CID_44443275	-8.32	0
207	CID_44446832	-8.30	3
212	CID_44562555	-8.71	1
218	CID_44589346	-8.69	1
220	CID_44610309	-8.76	1
222	CID_44610311	-9.04	4
224	CID_44610313	-8.88	3
226	CID_44610476	-8.68	2
228	CID_46871614	-8.45	3
230	CID_46881076	-9.38	3
231	CID_46881083	-8.27	3
232	CID_51034186	-8.80	2
243	CID_71450492	-8.99	2
246	CID_71459546	-8.27	2
247	CID_71461294	-9.88	3
<b>245</b>	<b>CID_71459545</b>	<b>-10.12</b>	<b>2</b>
260	CID_5488643	-8.69	4
262	CID_9951473	-8.51	4
266	CID_11267045	-8.29	4
270	CID_13917825	-9.05	3
271	CID_15385487	-8.33	4
272	CID_15625549	-8.42	2
273	CID_15814159	-8.68	3
276	CID_19049238	-8.91	5
277	CID_19049244	-8.89	4
280	CID_19049254	-8.95	4
284	CID_19065216	-8.72	2
285	CID_19065240	-8.86	2
286	CID_19065246	-8.63	2
289	CID_20522557	-8.66	3
294	CID_24208771	-8.41	2
297	CID_53819694	-8.78	1
298	CID_53819695	-8.40	4
299	CID_54073202	-8.90	2
300	CID_54106909	-9.14	2
301	CID_54279185	-9.33	3
302	CID_54403428	-9.11	3
303	CID_54535026	-9.37	2
306	CID_58584269	-8.45	2
308	CID_58743104	-8.50	5
311	CID_59838295	-8.50	2
313	CID_59838300	-8.35	2
314	CID_59897189	-8.93	1

Le tableau N°7 montre que le composé 245 dont le numéro d'accèsion CID\_7145954, se présente comme un inhibiteur plus puissant et plus sélectif envers la COX-2, car présentant le meilleur score d'énergie obtenu dans ce travail soit -10.12Kcal/mol. Le mode d'interaction de ce composé avec la COX-2 a été étudié avec AutoDock. En effet, L'hydroxyle porté sur le C5' de l'inhibiteur forme deux liaisons hydrogène avec les fonctions : amine du résidu Arg120 (comp245-C5'-O...HN-Arg120; d=1.771 Å) et hydroxyle du résidu Tyr355 (comp245-C5'-O...HO-Tyr355 ;d=1.748 Å). Ainsi, le positionnement du composé 245 est maintenu et stabilisé au site actif de la COX-2 via de nombreuses interactions hydrophobiques, précisément au niveau des résidus Phe381, Phe209, Leu534, Phe205, Val344, Tyr348, Val349, Leu352, Leu359, Val349, Leu352, Val116, Val523, Ala527, Trp387 et Tyr385.



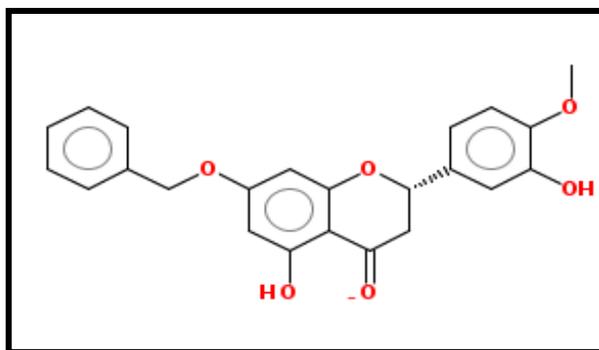
**Figure N° 27** : Interactions entre le composé 245 et le site actif de la COX-2.

Avant de proposer le composé 245 comme étant un nouveau inhibiteur plus puissant de la COX-2, il était indispensable de compléter son étude par l'application de la règle de 5 de Lipinski permettant de nous renseigner sur ses propriétés pharmacocinétiques (ADME). Les résultats sont présentés dans le tableau N°8.

**Tableau N° 8 :** Propriétés physicochimiques du composé 245 proposé.

	Composé 245
PM	392.407
AH	6
DH	2
LR	5
Log P	4.06

Les résultats du tableau N°8, indiquent que le composé 245 répond parfaitement à la règle de Lipinski. On peut donc le proposer comme étant un nouveau inhibiteur théoriquement plus puissant et plus sélectif envers la COX-2.



**Figure N° 28 :** Structure du composé 245

### 3.2.2. Criblage virtuel d'une collection de similaires de la diosmétel

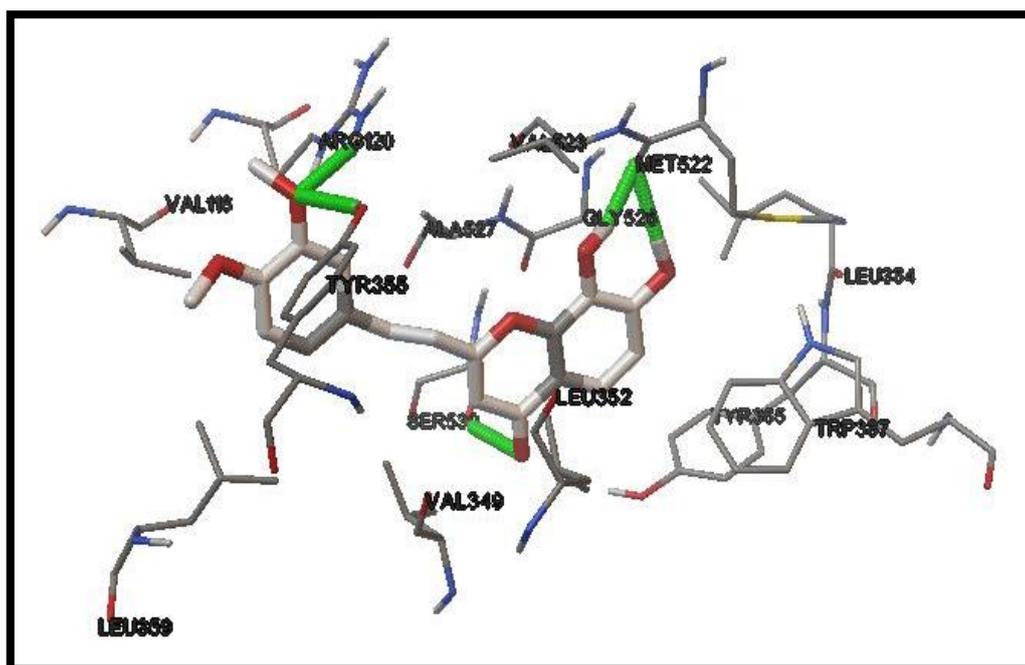
Le deuxième criblage virtuel que nous avons réalisé était porté sur une collection de similaires chimiques de la Diosmétel comprenant 300 molécules et présentant un taux de similarité allant jusqu'au 95%. Seuls, les similaires ayant présenté un meilleur score d'énergie envers la COX2 ont été retenus et présentés dans le tableau N°9.

**Tableau N°9** : Résultats de l'énergie d'interaction des meilleurs similaires.

N° de la molécule dans la collection	Numéro d'accèsion	$\Delta G$ Score AutoDock (Kcal/mol)	Nombre de Liaisons H
112	CID_627207	-8.72	4
119	CID_5378518	-8.48	2
120	CID_5469524	-8.45	3
127	CID_12591026	-9.01	3
131	CID_13713416	-8.64	1
132	CID_13713417	-8.75	1
137	CID_14873670	-8.99	3
146	CID_14873680	-8.74	2
153	CID_14873687	-8.51	2
155	CID_14873689	-9.17	0
160	CID_14873695	-8.60	1
161	CID_14873696	-8.63	1
175	CID_14873679	-8.53	1
196	CID_320054	-8.62	4
184	CID_44312488	-8.71	0
212	CID_5381799	-9.60	4
215	CID_5459196	-8.80	3
224	CID_9944144	-8.50	5
226	CID_10636768	-8.52	5
227	CID_10979411	-8.84	3
234	CID_14235163	-8.50	3
256	CID_44593603	-8.49	3
<b>258</b>	<b>CID_45257217</b>	<b>-9.74</b>	<b>5</b>
259	CID_45257240	-8.89	0
260	CID_46228135	-8.69	2
261	CID_46228152	-8.90	4
263	CID_71653040	-8.99	2
291	CID_5379265	-8.60	2
293	CID_5381798	-9.23	4
294	CID_5381920	-8.89	4
311	CID_9879854	-8.56	0
323	CID_11165774	-8.92	2
325	CID_11222782	-8.51	1
333	CID_11750982	-9.28	2
343	CID_13964547	-8.70	4

Parmi les similaires qui figurent dans le tableau N°9, il ressort que le similaire N°258 (CID\_45257217) présente la plus basse énergie d'interaction soit - 9.74Kcal/mol. L'analyse visuelle de son mode d'interaction avec le site actif de la

COX2 (figure N°29) montre que cette énergie se traduit par la présence de cinq ponts hydrogène entre le similaire et le site actif de la COX2. Le premier est formé entre le groupement hydroxyle du résidu Ser530 et l'oxygène porté par le C4 de l'inhibiteur, séparés par une distance de 2.017Å. Deux autres ponts hydrogène sont observés entre l'hydroxyle porté par le C5' de l'inhibiteur et les fonctions : hydroxyle du résidu Tyr355 (comp258-C5'-O...HO-Tyr355; d=2.988 Å) et amine du résidu Arg120 (comp258-C5'-O...NH-Arg120; d=1.991 Å). Enfin, la fonction carboxylique du résidu Met522 établit avec l'inhibiteur deux liaisons hydrogène ; précisément au niveau des hydroxyles portés sur les C7 et C8 avec des distances respectives de 1.6Å et 1.196Å. Il est également important de noter que ce composé (similaire N°258) est stabilisé au site actif de la COX2 par des interactions hydrophobiques qu'il forme avec les résidus Val116 , Ala527, Val523, Gly526, Tyr355, Leu384, Leu352 , Trp387, Trp385, Val349, Ser530 et Leu359.



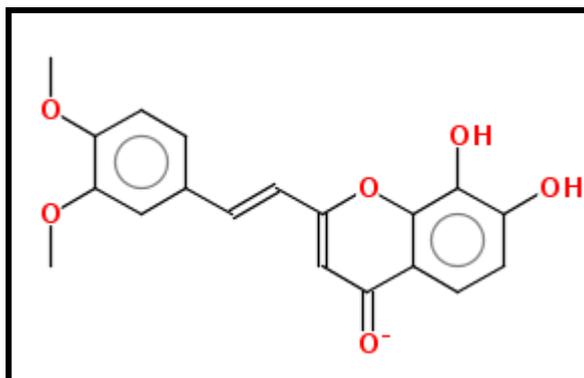
**Figure N° 29** : Interactions entre le composé 258 et le site actif de la COX2.

L'activité inhibitrice du composé 258 étant hypothétique, il était indispensable de compléter son étude par l'application de la méthode de filtre ADME/Tox, basée sur la règle de 5 de Lipinski. Les résultats de ce test sont présentés dans le tableau N°10.

**Tableau N° 10** : Propriétés physicochimiques du composé 258.

	Composé 258
PM	340.331
AH	6
DH	2
LR	4
Log P	3.31

A l'issue de ce test, le composé 258 répond parfaitement à la règle de Lipinski. En se référant particulièrement à son Log P parfaitement dans les normes, il apparaît que ce composé peut se dissoudre dans les phases aqueuses de l'organisme et traverser les membranes lipidiques pour parvenir à son lieu d'action.

**Figure N° 30** : Structure du composé 258.

Conclusion

Ce travail qui est axé sur la modélisation moléculaire par docking avec AutoDock, a pour but essentiel de développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la COX-2, cible enzymatique impliquée dans les phénomènes de l'inflammation.

Grâce aux trois critères différents, nous avons testé dans un premier temps la performance du programme AutoDock utilisé dans cette étude. Le premier test consiste à calculer la déviation quadratique moyenne ou RMSD (Root-Mean-Square Derivation) du modèle conçu par AutoDock vis-à-vis de la structure cristallographique. Sur l'ensemble de 100 complexes tirés arbitrairement de la *PDB*, 85% ont présenté un RMSD inférieur à 2 Å. L'application de ce test sur les huit complexes COX2-inhibiteur disponibles dans la *PDB* a donné à chaque fois un RMSD parfaitement dans les normes. Ces résultats ont été ensuite confortés par une analyse visuelle montrant la superposition entre les modèles des ligands simulés par AutoDock et ceux déterminés expérimentalement. Le dernier test consiste à déterminer le coefficient de corrélation linéaire existant entre les énergies d'interaction théoriques ( $\Delta G$ ) de 46 inhibiteurs de la COX-2 et les valeurs de leur  $IC_{50}$  déterminées expérimentalement. Avec un coefficient de corrélation égal à 0.67, des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å et une bonne superposition des ligands simulés et expérimentaux, ces tests nous apportent la preuve que le programme AutoDock est hautement performant et peut être utilisé en toute confiance pour simuler les interactions COX-2-flavonoïdes objet de notre travail.

Dans la perspective de développer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la COX-2, nous nous sommes servis des cinq flavonoïdes issus de la littérature et reconnus pour leur effet inhibiteur vis-à-vis de la COX-2. La reconstruction de ces complexes par docking avec AutoDock nous a permis d'évaluer leur énergie d'interaction et de faire ressortir la catéchine et chryisine comme meilleurs inhibiteurs appartenant à la famille de flavonoïdes, avec des énergies d'interactions respectives de -7.43 Kcal/mol et -7.66 Kcal/mol.

Dans une troisième partie, nous avons tenté de développer de nouveaux inhibiteurs de la COX-2 présentant une activité inhibitrice plus élevée que les meilleurs inhibiteurs naturels (catéchine et chryisine). Pour cela, nous avons réalisé un criblage virtuel par AutoDock sur une collection de molécules contenant 50 flavonoïdes issus de la littérature et reconnus pour leur effet anti-inflammatoire. Ce

criblage fait ressortir l'Hespéretine et Diosmétol comme des inhibiteurs potentiels et plus puissants envers la COX-2, avec des énergies d'interactions s'évaluant à -8.25 Kcal/mol et -8.45 Kcal/mol respectivement. En tenant compte de la marge d'erreurs de 2 Kcal/mol tolérée par AutoDock, aucune amélioration significative de l'énergie d'interaction n'a été notée. Raison pour laquelle nous avons fait recours à une autre approche par criblage virtuel d'une plus grande collection de molécules chimiques. En prenant comme structure de départ l'Hespéretine et la diosmétol, 600 similaires chimiques ont été obtenus via la *PubChem*. Par docking avec AutoDock de cette collection, le composé CID- 71459545 (similaire de l'Hespéretine) et le composé CID\_45257217 (similaire de la Diosmétol) présentent les meilleures énergies d'interaction envers la COX-2 obtenues dans ce travail (-10.12 Kcal/mol et -9.74Kcal/mol respectivement).

Enfin, l'application de la règle de 5 de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME des composés CID\_45257217 et CID- 71459545 qui se présentent comme des inhibiteurs sélectifs et plus puissants envers la COX-2.

En termes de perspectives, ce travail pourra être complété par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* afin de confirmer les résultats théoriques réalisés *in silico*.

# Références bibliographiques

- [1] Hoffer L. Développement et validation du logiciel S4MPLE: Application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du Fragment-Based Drug Design. Thèse de doctorat d'université: chimoinformatique. Strasbourg: Université de Strasbourg. France. 2013. 149p.
- [2] Meslamani J. Développement de nouvelles méthodes de criblage in silico en chémogénomique. Thèse de doctorat d'université: chimoinformatique. Strasbourg : Université de Strasbourg. France. 2012. 250p.
- [3] Logiciels libres pour le criblage moléculaire [En ligne] [http://www.researchgate.net/profile/Jerome\\_Pansanel/publications](http://www.researchgate.net/profile/Jerome_Pansanel/publications). Consulté le: [16-04-2014].
- [4] Achiwa H., Yatabe Y., Hida T. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in primary, resected lung adenocarcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 1999; **5**: 1001-1005.
- [5] Girgis H.K. Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens: une vieille classe innovante pour le traitement du traumatisme crânien. Thèse de doctorat d'université : Pharmacologie. Paris: Université Paris Descartes. France. 2012. 164p.
- [6] Liang X., Wu L., Wang Q., Hand T., Bilak M., McCullough L., et Andreasson, K. Function of COX-2 and prostaglandins in neurological disease. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2007; **33**: 94-9.
- [7] Keck G. Toxicité et effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Etude des cas rapportés au CNITV. *Recueil de Medecine Veterinaire*. 1992; **168**: 615-620.
- [8] Lelong H., Ly C., Blacher J. Risque cardiovasculaire des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Médecine des maladies métaboliques*. 2012; **6**: 19-24.
- [9] Vecka M., Prokeš L., Tvrzická E., Karpaš K., Pernický A., Pflieger R et al. Anti-inflammatory effect of flavonoids from Comfort-G and the changes in arachidonic acid metabolism. *chimical chemistry metabolism*. 2008; **16**: 27–32.
- [10] Zerbato M. Intérêt du dosage par micro méthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse de doctorat d'université : Faculté de pharmacie. Nancy I : Université Henri Poincaré. France. 2010. 73p.

[11] Rousselet M.C., Vignaud J.M., Hofman P., Chatelet F.P. Inflammation et pathologie inflammatoire [Enligne] medidacte.timone.univmrs.fr/webcours/umvf/.../chapitre3/chapitre3.htm. Consulté le: [10-02-2014].

[12] Baranger K. Développement d'une stratégie thérapeutique anti-inflammatoire en pathologie pulmonaire basé sur l'administration d'anti-protéase. Thèse de doctorat d'université : Sciences de la Vie et de la Santé. Tours : Université François Rabelais. Tours. 2008. 185p.

[13] Dinel A. Impact de l'inflammation à bas bruit associée à l'obésité sur l'établissement des troubles de l'humeur et de la cognition. Thèse de doctorat d'université : Les Sciences et les Technologies au service de l'Homme et de l'environnement : Université Bordeaux 1. France. 2008. 287p.

[14] Peigné S. Contact de bon usage et arrêts des traitements par immunothérapie : état des lieux dans le service de rhumatologie du centre hospitalier du mans. Thèse de doctorat d'université : Département Pharmacie : Université D'Angers. France. 2013. 107p.

[15] Arbez N. Etude des effets des peptides amyloïdes : du fonctionnement de la synapse aux modifications du cytosquelette dans l'apoptose neuronale. Thèse de doctorat d'université : Biologie de vieillissement. Paris : Université René Descartes.France. 2005. 181p.

[16] Mannic T. VE-cadhérine dans l'inflammation et le cancer : Phosphorylation et clivage. Thèse de doctorat d'université : Biologie cellulaire. Grenoble : Université Joseph Fourier Grenoble 1. France. 2009. 166p.

[17] Gower-Rousseau C. Epidémiologie des Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin en France : apport du Registre EPIMAD. Thèse de doctorat d'université : Santé publique. Lille : Université Lille.France. 2012. 133p.

[18] Devaux D. Utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens en chimiothérapie anti-cancéreuse actualités. Thèse de doctorat d'université : La faculté de médecine de Créteil : Ecole Nationale Vétérinaire D'Alfort. France. 2008. 93p.

[19] Henzen C. Traitement aux glucocorticoïdes : risques et effets secondaires. *Forum Médical Suisse*. 2003; **19**: 442-446.

- [20] Cisse M I. Utilisation des associations anti-inflammatoires antalgiques dans le service de chirurgie orthopédique et de traumatologie à l'Hôpital Gabriel Touré. Entre Juillet 2003 et Janvier 2004. A propos de 130 cas. Thèse de doctorat d'université : Médecine de Pharmacie et D'Odonto- Stomatologie. Bamako : Université de Bamako. Mali. 2004-2005. 107p.
- [21] Hellal M. Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones dérivées de l'azélastine : Synthèses et activités anti-cytokine. Thèse de doctorat d'université : Pharmacochimie. Strasbourg : Université Louis Pasteur (Strasbourg I).France. 2007. 306 p.
- [22] Bridoux A. Conception, Synthèse et Evaluation pharmacologique de  $\gamma$ -carolines, Inhibiteurs potentiels de 5-lipoxygénase et de cyclooxygénases. Thèse de doctorat d'université : Pharmacochimie. Lille : Université de Lille 2- droit & santé. France. 2005. 199p.
- [23] Grandin M. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, utilisation et conseils dans la pratique officinale quotidienne. Document étayé par une analyse d'ordonnances d'une pharmacie rurale. Thèse de doctorat d'université : Pharmacie : Université Angers. France. 2013. 144p.
- [24] Benedicte B. Les inhibiteurs spécifiques de la cyclooxygénase 2 ; utilisation cliniques et perspectives thérapeutique : Faculté de pharmacie .Nante : université de Nantes. France 2003. 184p.
- [25] Copeland R.A ., Williams J.M ., Giannaras J.; Nurenberg S., Covington M ., Pinto D et *al.* Mechanism of selectiv inhibition of the isoform of prostaglandin G/H Shyntase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1994; **91**: 11202-11206.
- [26] Xie W.L., Chipman J.G., Robertson D.L., Erikson R.L., Simmons D.L. Expression of a mitogenresponsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1991; **88**: 2692-2696.
- [27] Mitchell J.A., Akarasereenont P., Thiemermann C., Flower R.J., Vane J.R. Selectivity of non steroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and

inducible cyclooxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993; **17**: 145-162.

[28] Dubois R.N., Abramson S.B., Crofford L., Gupta R.A., Simon L.S., Vande Putte L.B., et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *The FASEB Journal*. 1998; **12** :1063-73.

[29] Boothe D.M. The pathogenesis and pharmacologic control of inflammation. *Veterinary Medicine*. 1989; **84**: 856-866.

[30] Hinz B., Brune K. Cyclooxygenase-2-10 years later. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2002; **300**: 367-375.

[31] Kurumbail R.G., Kiefer J.R., Marnett L.J. Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition. *Journal - Current Opinion in Structural Biology*. 2001; **11**: 752-760.

[32] Chandrasekharan N.V., Simmons D.L. The cyclooxygenases. *Genome Biology*. 2004; **5**: 241-7.

[33] Garavito R.M., Malkowski M.G., Dewitt D.L. The structures of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2002; **68-69**: 129-152.

[34] Picot D., Loll P.J., Garavito R.M. X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. *Nature Journal*. 1994; **367**: 243-249.

[35] Rome L.H., Lands W.E.M. Structural requirements for time-dependent inhibition of prostaglandin biosynthesis by anti-inflammatory drugs: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1975; **72** : 4863-4865.

[36] Girgis H.K. Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens : une vieille classe innovante pour le traitement du traumatisme crânien. Thèse de doctorat d'université : Pharmacologie. Paris : Université Paris Descartes. France. 2012.164p.

[37] Llorens O., Perez J., Palomer A., Mauleon D. Differential binding mode of Diverse cyclooxygenase inhibitors. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 2002; **20**: 359-371.

[38] Grosser T., Fries S. A., Fitzgerald G., Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. *The Journal of Clinical Investigation*. 2006; **116**: 4-15.

[39] Lipsky P.E., Brooks P., Crofford L.J. Unresolved Issues in the Role of Cyclooxygenase-2 in Normal Physiologic Processes and Disease. *Archives of Internal Medicine*. 2000; **160**: 913 – 920.

[40] Vane J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature - New Biology*. 1971; **231**: 232-235.

[41] Derrier M., Mercatello A. Place des anti-inflammatoires non stéroïdiens en période périopératoire. Intérêt et limites. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 1997; **16**: 498-520.

[42] Code W. NSAIDs and balanced analgesia. *Canadian Journal of Anesthesia*. 1993; **40**: 401-5.

[43] Beziere N. Optimisation du concept d'inhibition de Cyclooxygénase dans le traitement du cancer de la prostate .Thèse de doctorat d'université : Sciences du Médicament. Lille : Université De Lille 2 – Droit Et Santé .France . 2008.192p.

[44] Kurumbail R.G., Stevens A.M., Gierse J.K., McDonald J.J., Stegeman R.A., Pak J.Y., et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature journal*. 1996; **384**: 644-648.

[45] Warner T.D., Giuliano F., Vojnovic I., Bukasa A., Mitchell JA., Vane JR. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999; **96**: 7563-7568.

[46] Rao P., Knaus E.E. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008; **11**: 81-110.

- [47] Vane J. R., Bakhle Y. S., Botting R. M. cyclooxygenases 1 and 2. *Pharmacology & Toxicology*. 1998; **38**: 97–120.
- [48] Blobaum A.L., Marnett L.J. Structural and Functional Basis of Cyclooxygenase Inhibition. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2007; **50**: 1425-1441.
- [49] Jouzeau J.V.; Daouphars M.; Benani A.; Netter P .Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2004; **28**: 7-17.
- [50] Goldenberg M.M. Celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clinical Therapeutics*. 1999; **2**: 1497-513.
- [51] Clemett D., Goa K.L.celecoxib: a review of its use in osteoarthritis, rheumatoid arthirise and acute pain. *Drug*. 2000; **59**: 957-980.
- [52] Iwalewa E.O., Mcgaw L.J., Naidoo V., Eloff J.N. Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*. 2007; **6**: 2868-2885.
- [53] Reducing inflammation with diet and supplements:the Story of Eicosanoid Inhibition [En ligne] <http://www.itmonline.org/arts/lox.htm> Consulté le: [26-03-2014].
- [54] Vanamala J., Leonardi T., Patil B.S., Taddeo S.S., Murphy M.E., Pike L.M et al. Suppression of colon carcinogenesis by bioactive compounds in grapefruit. *Carcinogenesis*. 2006; **27**:1257–65.
- [55] Cheong E., Ivory K., Doleman J., Parker M.L., Rhodes M. Johnson I.T Synthetic and naturally occurring COX-2 inhibitors suppress proliferation in a human oesophageal adenocarcinoma cell line (OE33) by inducing apoptosis and cell cycle arrest. *Carcinogenesis*. 2004; **25**: 1945-1952.
- [56] Mutoh M., Takahashi M., Fukuda K., Komatsu H., Enya T., Matsushima-Hibiya Y. Suppression by Flavonoids of Cyclooxygenase-2 Promoter-dependent Transcriptional Activity in Colon Cancer Cells: Structure-Activity Relationship.

*Japanese Journal of Cancer Research*. 2000; **91**: 686–691.

[57] Mokrani E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 75p.

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

[59] Criblage virtuel par docking moléculaire [En ligne] *bioinfo-pharma.u-strasbg.fr/labwebsite/publications/paper99.pdf*. Consulté le [16/04/2014].

[60] Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Orléans : Université d'Orléans. France. 2007. 176p.

[61] Fortuné A. Techniques de Modélisation Moléculaire Appliquées à l'Etude et à L'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance. Thèse de doctorat d'université : Sciences du médicament. Grenoble : université Joseph Fourier - Grenoble I. France. 2006. 168p.

[62] Krid A. Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Thèse de magister d'université : chimie theorique. Constantine: Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2008. 75p.

[63] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat d'université :Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2007. 76p.

[64] Fischer E. Einfluss der Configuration auf die wirkung der Enzyme. *Ber*. 1894. **27** :2985–2993.

[65] Asses Y. Conception par modélisation et criblage *in silico* d'inhibiteurs du récepteur c-Met. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Nancy I : Université Henri Poincaré. France. 2011.137p.

[66] Bouchrit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de mycobacteriumtuberculosis par diverses molécules. Thèse de magister : Technologies des explorations biochimiques. Constantine : université Mentouri. Algérie. 2012. 70p.

[67] Bessadok M.A. La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique Structurale. Paris : université pierre et marie curie. France.2011. 189p.

[68] Brut M. Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : Les Modes Statiques. Thèse de doctorat d'université : Nanophysique. Paris : Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. 2009. 123.

[69] Morris G. M., Goodsell D. S., Halliday R. S., Huey R., Lindstrom W., Hart W. E., et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*. 1998; **19**: 1639-1662.

[70] Miteva M.A., Violas S., Montes M., Gomez D., Villoutreix B. O. FAF-Drugs: free ADME/tox filtering of compound collections. *Nucleic Acids Research*. 2006 ; **34** : 738–744.

[71] Molinspiration. [En ligne]. <http://www.molinspiration.com/>. Consulté le : [25/05/2014].

[72] Chikhi A., Bensegueni A. Docking Efficiency Comparison of Surflex, a Commercial Package and Arguslab, a Licensable Freeware. *Journal of Computer Science and Systems Biology*. 2008; **1**: 081-086.

- [73] Gabb J., Jackson R. M., Sternberg M. J. E. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. 1997; **272**: 106-120.
- [74] Lipinski C. A., Lombardo F., Domini B. W., Feney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997; **23**: 3-25.
- [75] Chirumbolo S. The Role of Quercetin, Flavonols and Flavones in Modulating Inflammatory Cell Function. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*. 2010; **9**: 000-000
- [76] Ana G.L., Eva G., Ana V., Mauricio A.R., Jose A.M. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammatory. Resersh*. 2009; **58**: 537–552.
- [77] Hadj Salem J. Extraction, Identification, Caractérisation Des Activités Biologiques De Flavonoïdes De Nitraria Retusa Et Synthèse De Dérivé Acyles De Ces Molécules Par Voie Enzymatique.Thèse de doctorat d'université : Procédés Biotechnologiques Et Alimentaire. Nancy : Ecole Nationale Supérieure D'agronomie et des Industries Alimentaires. France. 2009. 218p.
- [78] Bouziane M. Caractérisation structurale de quelques molécules organiques dans la plante : Cotula cinerea de la région de Ouargla. Thèse de Magister d'université : Chimie Organique Appliquée. Ouargla :Université De Ouargla. Algérie. 2002. 49p.
- [79] Formules et illustrations du cours de pharmacognosie. [En ligne] [webpeda.ac-montpellier.fr/wspc/ABCDORGA/.../HETEROSIDES.htm](http://webpeda.ac-montpellier.fr/wspc/ABCDORGA/.../HETEROSIDES.htm)consulté le [08/04/2014].
- [80] National Center For Biotechnology Information. (NCBI). PubChem [En ligne] Date de création 2004.<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. consulté le : [30/04/2014].

# Annexes

**Annexe 1 : Tableau RMSD de 100 complexes.**

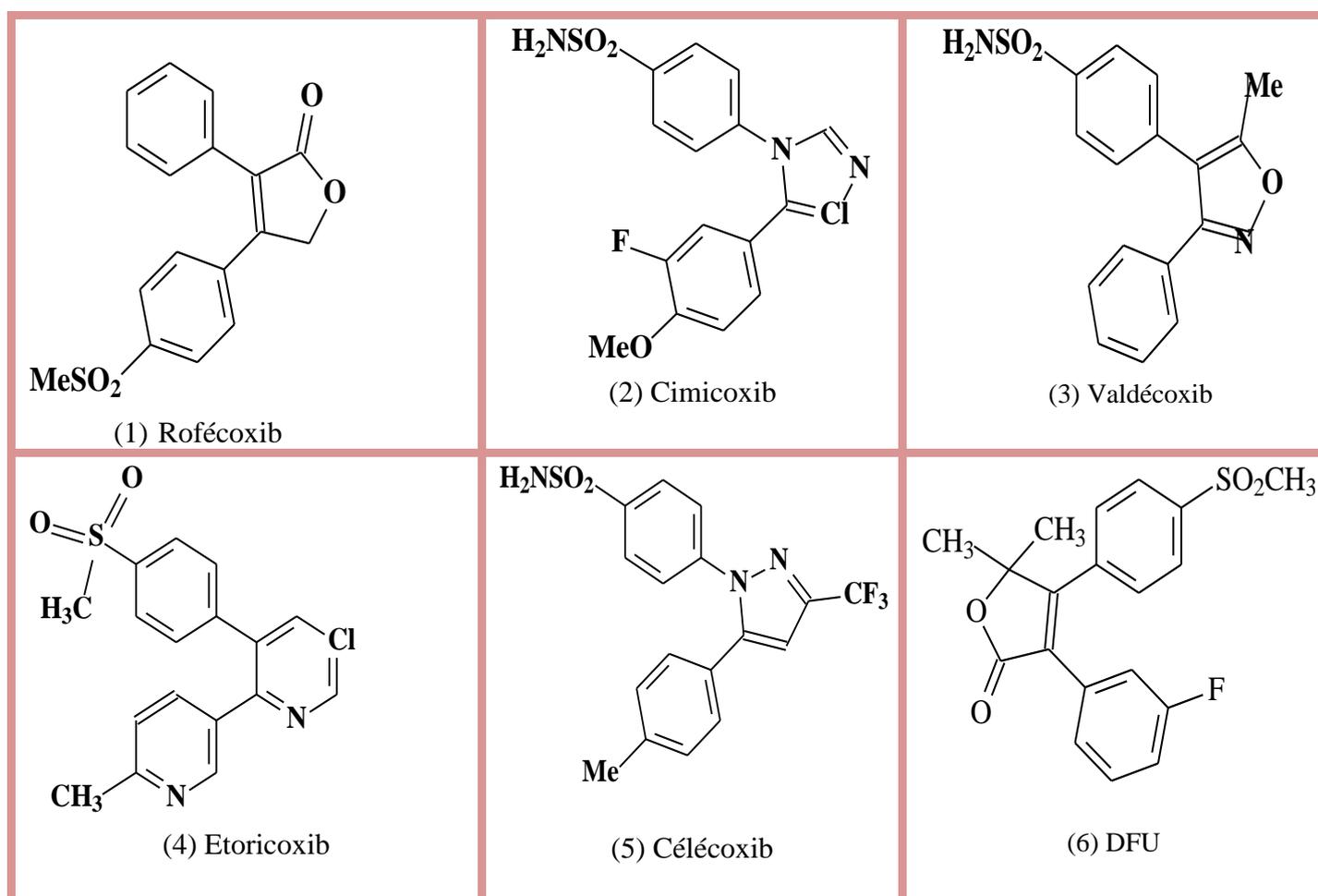
CODE PDB	RMSD
1CX2	1.57
2AW1	1.11
3LN1	0.98
3MQE	3.06
3NT1	0.70
3PGH	0.71
3Q7D	0.49
3QMO	3.39
3RR3	1.31
4COX	0.89
6COX	0.78
4FM5	1.15
4LLZ	0.65
4M10	0.76
4M11	1.09
1EQG	0.88
1EQH	1.20
1HT5	1.31
1HT8	1.21
3KK6	0.70
3N8W	0.73
3N8X	1.00
3N8Y	0.25
3N8Z	0.82
4O1Z	1.23
1R4Z	1.64
1NO3	0.40
3ICW	1.34
4GXN	2.77
4LIP	1.07

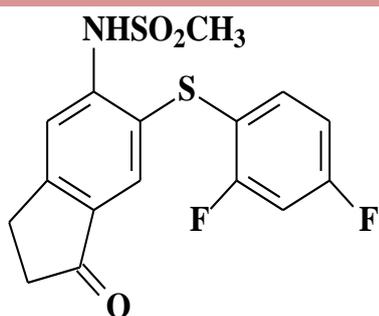
4GL5	0.54
4GL7	0.61
1LOX	0.95
3RDE	1.33
2X7S	1.24
2X7T	1.38
1N8Q	1.07
2X7U	1.33
3S7S	0.68
1JNQ	1.71
2POM	1.33
3BKK	1.55
2JFF	3.50
2WJP	3.41
3RUX	1.16
3V7C	1.50
3V7R	1.81
3V7S	1.51
3V8K	0.58
3V8L	1.42
3ZM5	0.57
3ZM6	0.65
4EEQ	0.65
4JSC	1.26
4LH6	0.34
4LH7	1.08
1O5A	1.36
1O5C	1.43
1O5E	0.98
1VIJ	4.22
1VIK	3.36
1AQ1	1.17

1EV1	1.02
1QIT	1.12
3G0C	0.76
3G0D	0.65
3N0T	0.62
3QBJ	1.83
4G1F	0.38
3PGL	3.89
3QCJ	1.32
3QCL	0.60
4J51	1.68
2Q7M	2.63
1O5F	1.42
1UZE	1.13
2X8Z	0.35
2X91	0.99
2X93	1.23
2JFH	2.70
3E7A	1.03
3BKL	1.71
2X94	1.47
1R50	1.58
1T8I	0,85
4GLW	2.46
4GLX	0.70
1EC3	2,50
1SEU	0,88
2X94	1,72
8A3H	0,79
1CK6	1,32
2IIV	0,73
2OLE	1,66

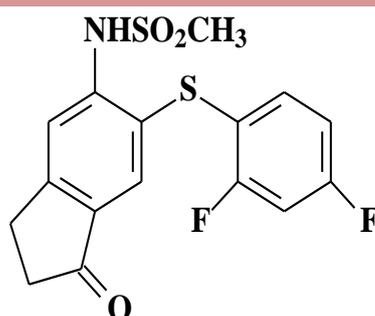
1QBT	2,15
3VH9	2,61
1GNN	1,94
1TCX	1,50
2BPY	2,74
2BQV	1,45

**Annexe 2** : Structures des inhibiteurs de COX 2 utilisés dans l'étude de la régression linéaire.

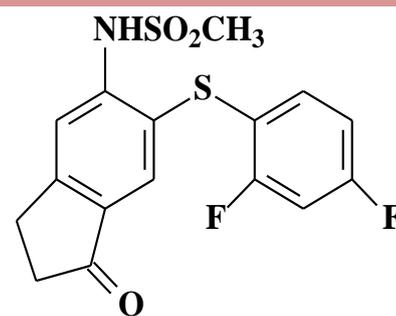




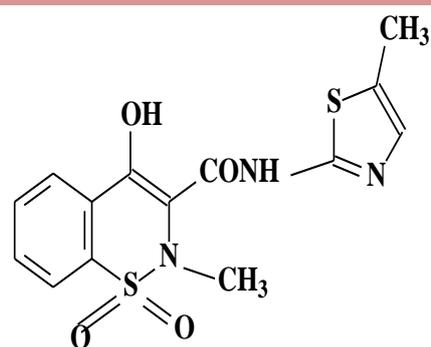
(7) L-745,337



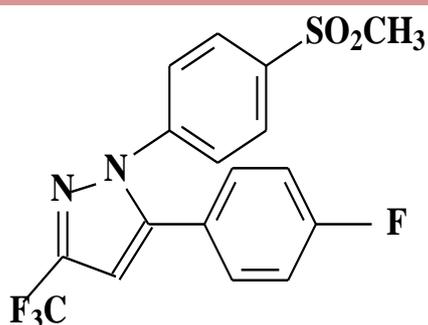
(8) NS-398



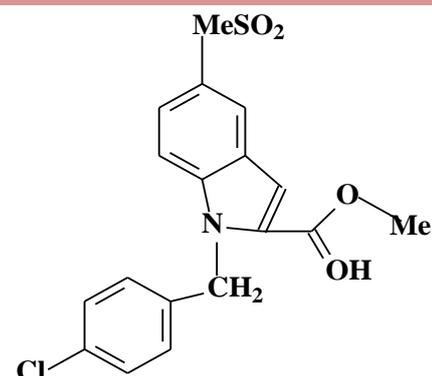
(9) Nimesulide



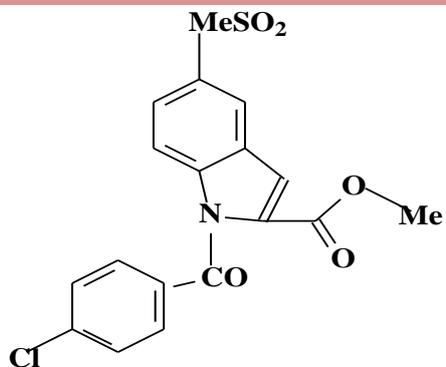
(10) Meloxicam



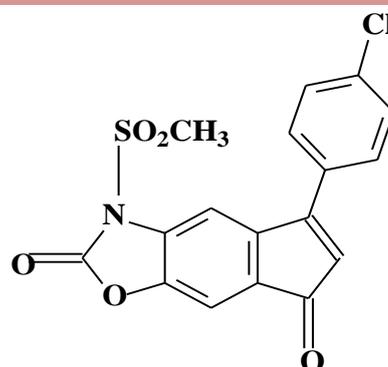
(11) SC-58125



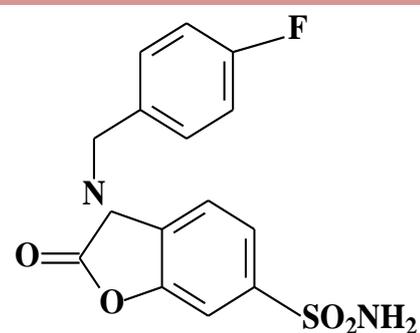
(12) dérivé d'indométacine 1



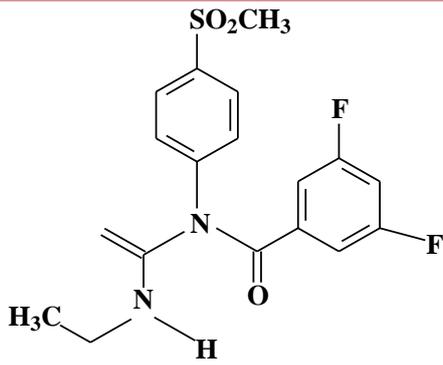
(13) dérivé d'indométacine 2



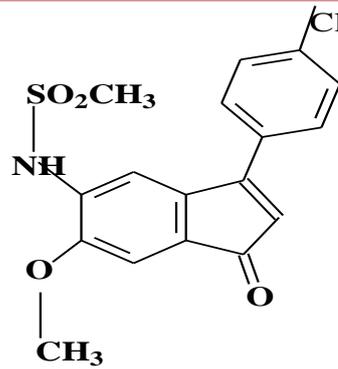
(14) CHP 42



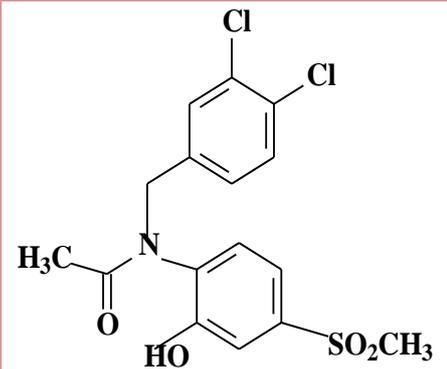
(15) CHP 164



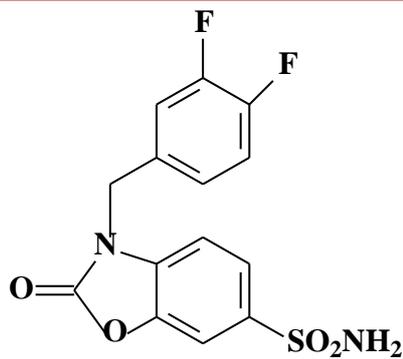
(16) PCH 46



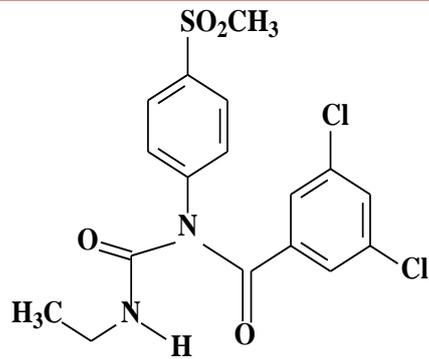
(17) PCH 50



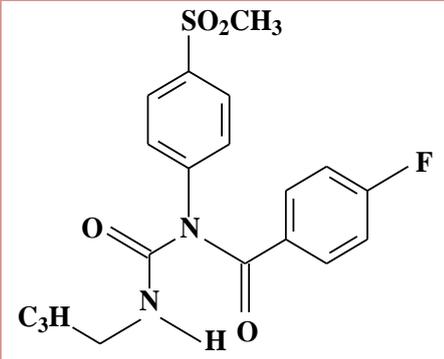
(18) PCH 52



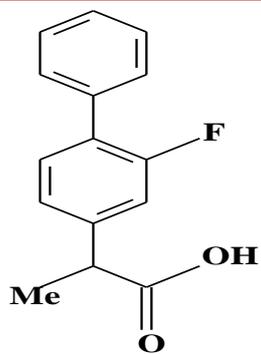
(19) PCH 57



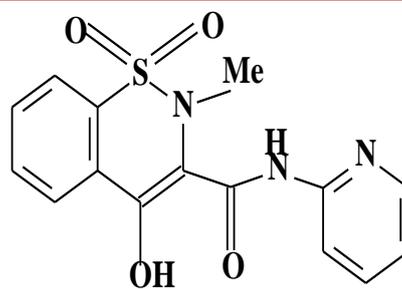
(20) PCH 67



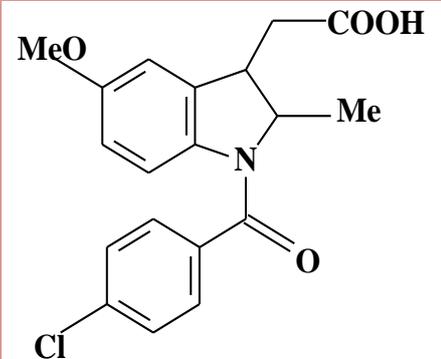
(21) PCH 76



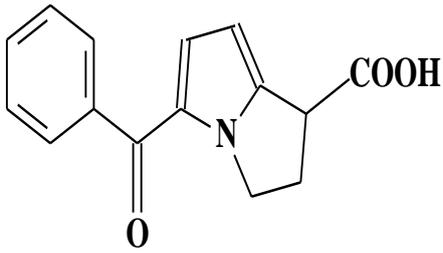
(22) Flurbiprofène



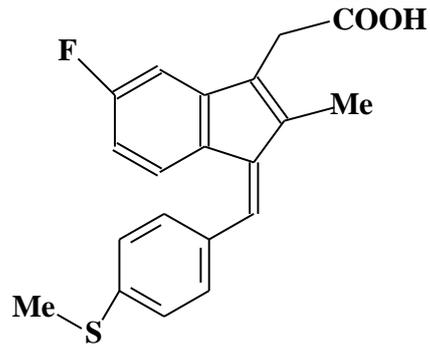
(23) Piroxicam



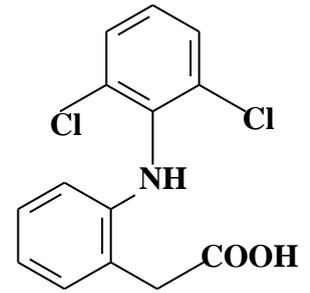
(24) Indométacine



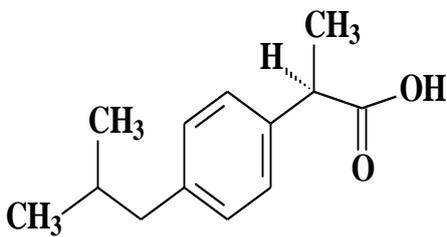
(25) Kétorolac



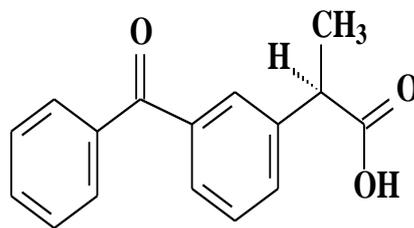
(26) Sulindacsulfide



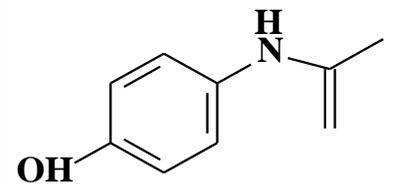
(27) Diclofénac



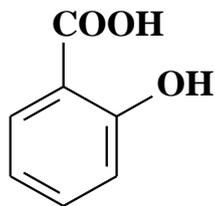
(28) Ibuprofène



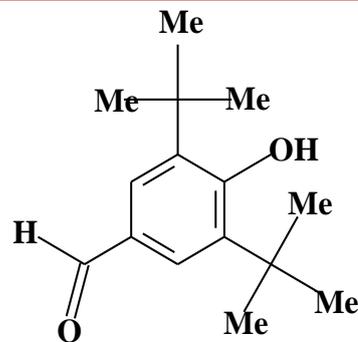
(29) Kétoprofène



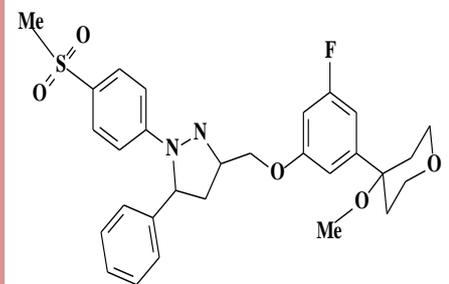
(30) Paracétamol



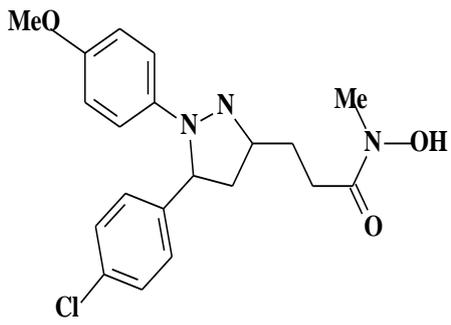
(31) Acide salicylique.



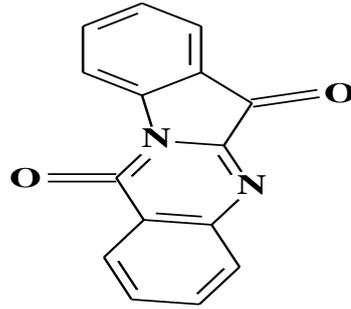
(32) S-2474



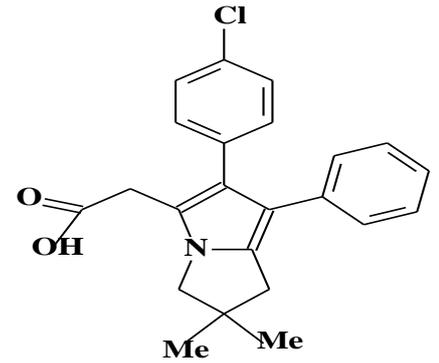
(33) Aliox 18



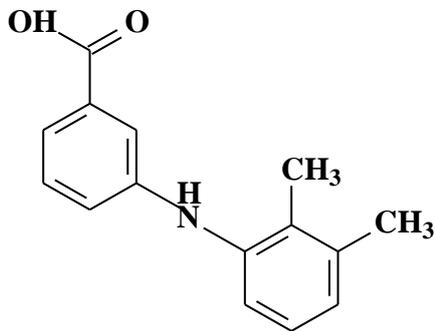
(34) Tépoxaline



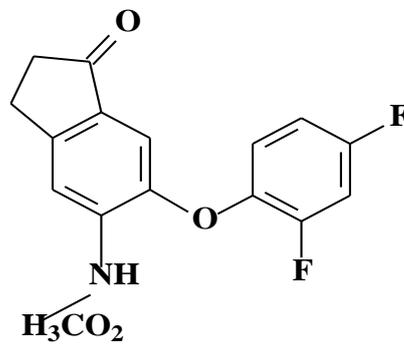
(35) Tryptanthrine



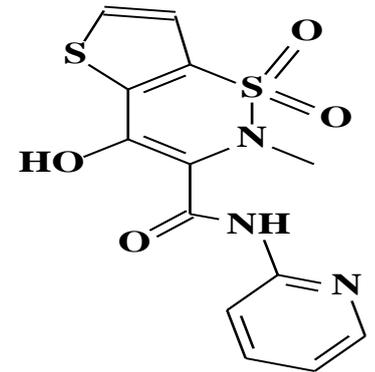
(36) Licofénone



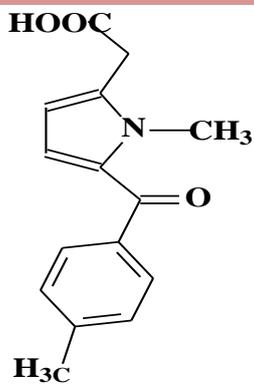
(37) Acide méfénamique.



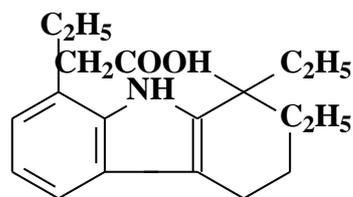
(38) Flosulide



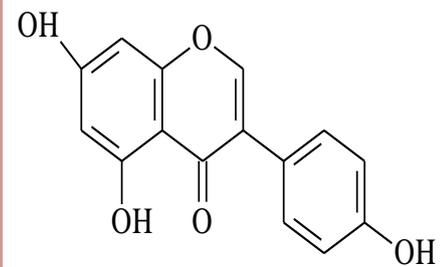
(39) Ténoxicam



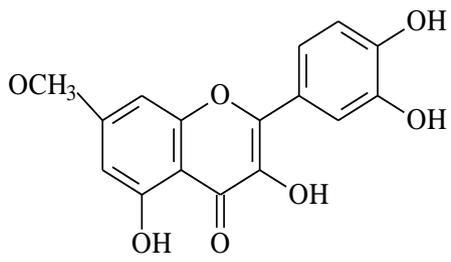
(40) Ténoxicam.



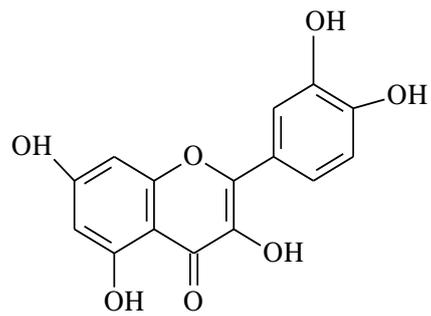
(41) Etodolac



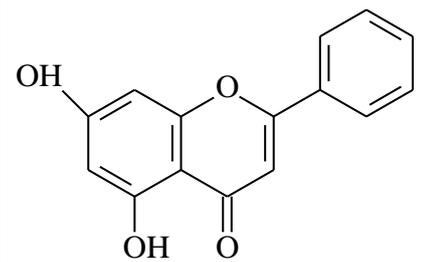
(42) Genistein



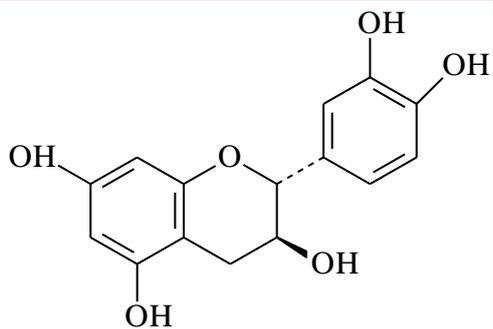
(43) Rhamnetin.



(44) Quercétine.



(45) Chrysin.



(46) Catéchin.

# Résumés

**Résumé :**

Pour contourner les limites du criblage expérimental, une nouvelle approche alternative basée principalement sur des techniques informatiques a été envisagée : c'est le criblage virtuel par docking moléculaire. Cette approche permet de modéliser les interactions entre une protéine et des milliers de candidats moléculaires. Dans notre travail, nous avons utilisé le programme AutoDock afin de concevoir de nouveaux inhibiteurs naturels de la cyclooxygénase-2 (COX-2) ; cible thérapeutique impliquée dans divers pathologies inflammatoires. L'évaluation de l'énergie d'interaction des flavonoïdes envers la COX-2 fait ressortir la chryisine comme meilleur inhibiteur naturel de l'enzyme en question, avec une énergie d'interaction égale à -7.66 kcal/mol. Par la suite, nous avons réalisé un criblage virtuel d'une collection de 600 composés issus de la *PubChem* (similaires de flavonoïdes). A l'issue de ce criblage, les composés CID\_71459545 (similaire de l'Hesperetin) et CID-45257217 (similaire de la diosmétel) sont de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus sélectifs et affins envers la COX-2 avec de très faibles valeurs de leur énergie d'interaction s'évaluant à -10.12 Kcal /mol et -9.74 Kcal/mol respectivement. L'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimique de ces nouvelles molécules.

**Mots clés:** AutoDock, docking moléculaire, cyclooxygénase-2, flavonoïdes, Energie d'interaction.

## Abstract

To overcome the limitations of the experimental screening, a new alternative approach based primarily on information technology has been considered: the virtual screening by molecular docking. This approach allows to model the interactions between a protein and thousands of molecular candidates. In our work, we used the AutoDock program to develop new natural inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2); therapeutic target involved in various inflammatory pathologies. The evaluation of the interaction energy of flavonoids towards COX-2 highlighted chrysin as best natural inhibitor of the enzyme in question, with an energy of interaction equal to  $-7.66$  kcal / mol. Thereafter, we conducted a virtual screening of a collection of 600 compounds from the PubChem (like flavonoids). At the end of this screening, the compounds CID\_71459545 (similar of hesperetin) and CID-45,257,217 (similar to the diosmétel) are novel and more selective affinity towards the theoretically COX-2 inhibitors with very low values of energy of interaction in evaluating  $-10.12$  kcal / mol and  $-9.74$  kcal / mol respectively. The application of the rule of Lipinski tells us positively on the physico-chemical properties of these new molecules.

**Keywords:** AutoDock, Molecular docking, cyclooxygenase-2, flavonoids, Energy interaction.

## الملخص

طريقة Docking تعتبر من الطرق الأكثر استعمالاً في ميدان الكيمياء الصيدلانية لاكتشاف وعرض أدوية جديدة عن طريق غربلة آلاف المركبات اتجاه بروتين مستهدف معين. استعملنا في هذا العمل برنامج الرص الجزيئي AutoDock لإيجاد مثبطات طبيعية جديدة لإنزيم سيكلوأكسجيناز-2 الذي يتسبب في ظهور عدة أمراض التهابية. سمحت لنا غربلة 600 مركب (فلافونويد) اتجاه هذا الإنزيم باقتراح المركب المشابه للهسبرتين (CID-71459545) و المركب المشابه للديوسميتول (CID-45257217) كمثبطين جديدين محتملين للسيكلوأكسجيناز-2 ، مع تسجيل طاقتي ارتباط تقدران ب - 10.12 ك كال/مول و - 9.74 ك كال/مول على التوالي. إن تطبيق قاعدة Lipinski على هذين المثبطين يؤكد تميزهما بخصائص فيزيوكيميائية تمكنهما من ممارسة نشاطهما البيولوجي بصفة عادية.

## الكلمات المفتاحية :

AutoDock ، الرص الجزيئي، سيكلوأكسجيناز-2، فلافونويد، طاقة الارتباط.

**Thème : Contribution à la mise en évidence de nouveaux anti-inflammatoires par docking moléculaire**

**Résumé :**

Pour contourner les limites du criblage expérimental, une nouvelle approche alternative basée principalement sur des techniques informatiques a été envisagée : c'est le criblage virtuel par docking moléculaire. Cette approche permet de modéliser les interactions entre une protéine et des milliers de candidats moléculaires. Dans notre travail, nous avons utilisé le programme AutoDock afin de concevoir de nouveaux inhibiteurs naturels de la cyclooxygénase-2 (COX-2) ; cible thérapeutique impliquée dans divers pathologies inflammatoires. L'évaluation de l'énergie d'interaction des flavonoïdes envers la COX-2 fait ressortir la chryisine comme meilleur inhibiteur naturel de l'enzyme en question, avec une énergie d'interaction égale à -7.66 kcal/mol. Par la suite, nous avons réalisé un criblage virtuel d'une collection de 600 composés issus de la *PubChem* (similaires de flavonoïdes). A l'issue de ce criblage, les composés CID\_71459545 (similaire de l'Hesperetin) et CID-45257217 (similaire de la diosmétel) sont de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus sélectifs et affins envers la COX-2 avec de très faibles valeurs de leur énergie d'interaction s'évaluant à -10.12 Kcal /mol et -9.74 Kcal/mol respectivement. L'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimique de ces nouvelles molécules.

**Mots clés:** AutoDock, docking moléculaire, cyclooxygénase-2, flavonoïdes, Energie d'interaction.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Biologie Appliquée et Santé.

**Devant le jury :**

**Président :** Mr. BENSEGUENI A.

Pr. Université Constantine 1.

**Rapporteur :** Mr. MOKRANI E.H.

M.A.B. Université Constantine 1.

**Examineur :** Mme. TENIOU S.

M.A.B. Université Constantine 1.

