



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : de Biochimie et Biologie
Cellulaire et Moléculaire

قسم : الكيمياء الحيوية و البيولوجيا
الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Application du programme de docking moléculaire Surfex pour la
mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la cyclooxygénase-2.**

Présenté par : BENDEHANE Rayene

Le : 11/06/2024

BENMEGHAMED Meriem

Jury d'évaluation :

Président : MOKRANI E.H. (Maitre de Conférences A - Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : TENIOU S. (Maitre de Conférences B - Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur(s) : GUENDOUZE A. (Maitre de Conférences B - Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire
2023 – 2024



Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout-puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à Madame **TENIOU S.**, Maître de Conférences B à l'Université Frères Mentouri - Constantine -1, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, ainsi que ses remarques constructives qui ont permis d'améliorer ce travail.*

*Nous exprimons ici notre profonde gratitude et nos sentiments de respect à Monsieur **MOKRANI E.H.**, Maître de Conférences A à l'Université Frères Mentouri - Constantine 1, c'est un honneur pour nous qu'il préside ce jury.*

*Nous adressons également tous nos remerciements à Madame **GUENDOUZE A.**, Maître de Conférences B à l'Université Frères Mentouri - Constantine 1, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail. Nous tenons à lui exprimer notre gratitude et notre profond respect.*



Dédicace

Je suis reconnaissant envers « le dieu » qui m'a guidé sur ce chemin inattendu. Je suis reconnaissant pour la force et la fatigue qui n'ont pas été vaines.

Je dédie ce travail

À mes chers parents pour leur amour et leur soutien indéfectible tout au long de mon parcours universitaire. Leurs encouragements, sacrifices et prières ont été précieux.

À ma chère sœur et mes chers frères pour leur amour et leur soutien inconditionnel.

Je souhaite également remercier toutes les personnes qui m'aiment, ma famille et mes amies qui ont partagé avec moi tous les moments émotionnels de la réalisation de ce travail.

Enfin, je suis reconnaissant envers tous les professeurs qui m'ont inspiré et encouragé tout au long de mes études.



Meriem





Dédicace

Avec tous mes sentiments d'amabilité et de joie, je dédie ce travail :

À mes chers parents, qui ont contribué à ma réussite grâce à leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible, leur patience, tous les sacrifices qu'ils ont faits et leurs précieux conseils. Pour toute leur aide et leur présence constante dans ma vie, je souhaite qu'ils reçoivent, à travers ce travail, aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de ma gratitude éternelle.

A mon cher frère, mon bras droit et mes amis, pour leurs encouragements, leur amour, leur aide, et leurs conseils, qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

À ma chère binôme, Meriem, pour sa compréhension et sa sympathie.

A tous les professeurs qui m'ont inspiré et encouragé tout au long de mon parcours d'études.



Rayene



Table des matières

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

Partie bibliographique

Chapitre I : Inflammation

1. Définition de l'inflammation.....	3
2. Etiologie de l'inflammation	3
2.1. Inflammation due à des agents transmissibles	3
2.2. Inflammation due à des agressions physiques ou chimiques.....	4
2.3. Inflammation due à des réactions immunitaires	4
2.4. Inflammation due à des nécroses tissulaires	4
3. Types de réaction inflammatoire	4
3.1. Inflammation aiguë	4
3.1.1. Phase vasculaire	5
3.1.2. Phase cellulaire	5
3.2. Inflammation chronique.....	6
4. Pathologies inflammatoires	7
4.1. Cancer	7
4.2. Polyarthrite rhumatoïde	7
4.3. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	7
4.4. L'asthme.....	8
4.5. Sclérose en plaques	8
4.6. Alzheimer.....	8
5. Exploration biologique de l'inflammation	9
5.1. Protéine C réactive (CRP).....	9
5.2. Vitesse de sédimentation (VS)	10
6. Traitements de l'inflammation	10
6.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	10
6.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	11
6.3. Anti-inflammatoires à base de plantes	11

Chapitre II : Cyclooxygénase-2

1. Définition de la cyclooxygénase-2	13
2. Structure de la cyclooxygénase-2.....	13

3.	Site actif de la cyclooxygenase-2	14
3.1.	Définition	14
3.2.	Acides aminés de site actif.....	14
4.	Structure des gènes COX-2	16
5.	Rôles Biologique de la COX-2.....	18

Chapitre III : Docking moléculaire

1.	Introduction	19
2.	Docking moléculaire	19
3.	Etapas de Docking moléculaire	20
4.	Utilisations du docking (applications).....	20
5.	Types du docking moléculaire.....	21
5.1.	Docking rigide	21
5.2.	Docking semi-flexible.....	21
5.3.	Docking flexible.....	21
6.	Outils du docking moléculaire	21
6.1.	Récepteur	22
6.2.	Ligands (chimiothèques).....	22
6.3.	Programmes du docking	22
7.	Principales classes d'interactions protéine-ligand.....	24
7.1.	Interactions ioniques	24
7.2.	Liaisons hydrogène	25
7.3.	Interactions de van der waals	25
7.4.	Interactions hydrophobes	26
7.5.	Interactions Pi-Pi (π - π stacking).....	27

Partie pratique

Chapitre IV : Matériel et méthodes

1.	Matériel	28
1.1.	Micro-ordinateur.....	28
1.2.	Logiciels et serveurs	28
1.2.1.	Surflex-Dock.....	28
1.2.2.	Open Babel.....	28
1.2.3.	Microsoft Excel 2016.....	29
1.2.4.	Biovia Discovery Studio	30
1.2.5.	Viewerlite 4.2	30

1.2.6. SwissADME	31
1.2.7. PreADMET	31
1.2.8. ADMETlab 2.0	32
1.3. Banque de données	33
1.3.1 Protein Data Bank (PDB).....	33
1.3.2 PubChem.....	33
2. Méthodes	34
2.1. Test de fiabilité du Surflex-Dock.....	34
2.1.1. Test RMSD.....	34
2.1.2. Analyse visuelle	34
2.2. Préparation de l'enzyme	35
2.3. Préparation du ligand de référence	35
2.4. Docking moléculaire par Surflex.....	35
2.4.1. Génération du protomol	35
2.4.2. Docking moléculaire	36
2.4.3. Calcul de RMSD	36
2.4.4. Optimisation du RMSD	36
2.5. Proposition de nouveaux inhibiteurs	36
2.6. Filtrage ADMET	37
2.6.1. Propriétés physico-chimiques	37
2.6.2. Propriétés pharmacocinétiques	38
2.6.3. Toxicité.....	39
 Chapitre V : Résultats et discussion	
1. Tests de fiabilité du programme de docking	42
1.1. Test RMSD.....	42
1.2. Analyse visuelle	43
1.3. Conclusion	44
2. Évaluation <i>in silico</i> des inhibiteurs naturels d'extraits du gingembre sur la COX-2.....	45
2.1. Relation entre les résultats du docking moléculaire et les données expérimentales.	45
2.2. Filtrage ADMET des trois molécules étudiées	46
2.3 Similaires	48
3. Filtrage ADMET des meilleurs inhibiteurs	49
3.1. Propriétés physico-chimiques	49
3.2. Propriétés pharmacocinétiques	50
3.3. Toxicité.....	51

4. Etude des interactions du cyclooxygénase-2 – inhibiteur	53
4.1. Etude d'interaction du composé 8-gingérol	53
4.2. Etude d'interaction du composé 4-gingérol	55
Conclusion et perspectives.....	58
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumés	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les principaux différences entre l'inflammation aigue et chronique.....	6
Tableau 02 : Inflammation et leur cancers apparentés.....	7
Tableau 03 : Marqueurs protéiques de la réponse inflammatoire (PRI).....	9
Tableau 04 : Les principaux programmes de docking moléculaire.....	23
Tableau 05 : les trois catégories de liaison hydrogène.....	25
Tableau 06 : les caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés.....	28
Tableau 07 : Valeurs de RMSD des 3 complexes étudiés et superpositions spatiales entre les poses des ligands donnés par rayon-X (coloré en rouge) et celles calculées par SurfleX (coloré en bleu).....	43
Tableau 08 : Résultats théoriques de l'affinité obtenue par SurfleX des trois molécules d'extrait de gingembre dans le site actif du COX-2 et leurs relations avec les données expérimentales (IC ₅₀).....	45
Tableau 09 : les résultats de filtrage ADMET des composés 6-shogaol, 10-shogaol et 8-gingerol à partir les serveurs ADMETlab 2.0 et PreADMET.....	47
Tableau 10 : Classement, numéro d'accension et affinité des huit meilleurs similaires....	48
Tableau 11 : Propriétés physico-chimiques des quatre meilleurs similaires.....	49
Tableau 12 : Propriétés pharmacocinétiques des meilleurs similaires à partir des serveurs SwissADME et ADMETlab 2.0.....	50
Tableau 13 : toxicité potentielle des quatre meilleurs similaires à partir des serveurs PreADMET et ADMETlab 2.0.....	52
Tableau 14 : Les liaisons établies par le composé 8-gingérol avec le site actif de la COX-2.....	54
Tableau 15 : Les liaisons établies par le composé 4-gingérol avec le site actif de la COX-2.....	57

Liste des figures

Figure 01 : Réaction inflammatoire provoquée par une épine plantée dans la peau.....	3
Figure 02 : les différentes étapes de la réaction inflammatoire aiguë.....	5
Figure 03 : Structure 3D de COX-2, code 5F1A.....	13
Figure 04 : Schéma présentant les différences structurales des deux COXs.....	15
Figure 05 : Site actif de la COX-2.....	16
Figure 06 : Structure des gènes de COX-1 et de COX-2 humains et représentation schématique de leurs transcrits (ARNm).....	17
Figure 07 : Sites de régulation transcriptionnelle dans la région promotrice du gène COX-2.....	17
Figure 08 : Représentation schématique du Docking moléculaire.....	19
Figure 09 : Principales étapes de docking.....	20
Figure 10 : Concept clé-serrure.....	21
Figure 11 : Interactions ioniques.....	24
Figure 12 : Exemple d'une liaison hydrogène.....	25
Figure 13 : Les interactions de Van der Waals.....	26
Figure 14 : Interaction hydrophobe.....	26
Figure 15 : les arrangements conformationnels entre deux cycles aromatiques.....	27
Figure 16 : Conversion de fichiers par le programme Open Babel.....	29
Figure 17 : Interface d'Excel.....	29
Figure 18 : Interface graphique de Biovia Discovery studio.....	30
Figure 19 : L'interface graphique de Viewerlite.....	30
Figure 20 : Interface graphique de serveur SwissADME.....	31
Figure 21 : Interface graphique de serveur PreADMET.....	32

Figure 22 : Interface graphique de serveur ADMETlab 2.0.....	32
Figure 23 : Page d'accueil de la Protein Data Bank (PDB).....	33
Figure 24 : Page d'accueil de la PubChem.....	34
Figure 25 : Schéma explicatif du déroulement d'un test d'Ames.....	40
Figure 26 : Résultats en pourcentage obtenus par Surfex à deux intervalles de RMSD (Å).....	42
Figure 27 : Mode d'interaction 2D (A) et 3D (B) du 8-gingérol avec le site actif de la COX-2.....	54
Figure 28 : Mode d'interaction 2D (A) et 3D (B) du 4-gingérol avec le site actif de la COX-2.....	56

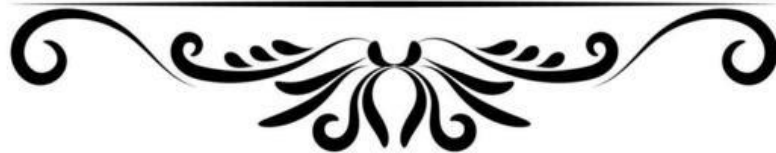
Liste des abréviations

3'-UTR	Partie 3' non traduite.
3D	Trois dimensions.
Å	Angström.
ADN	Acide Désoxyribonucléique.
ADNC	Acide désoxyribonucléique complémentaire.
AINS	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.
AIS	Anti-Inflammatoires Stéroïdiens.
AP-2	Protéine Activatrice 2.
Arg	Arginine.
ARN	Acides Ribonucléiques.
ARNm	Acides Ribonucléiques messenger.
ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination, Toxicité.
BBB	Blood-Brain Barrier.
COX	Cyclooxygénase.
CRE	Elément de Réponse à l'AMP Cyclique.
CRP	Protéine C Réactive.
CYP	Cytochromes P450.
E-box	Enhancer box.
GI	Gastro Intestinal.
His	Histidine.
IC₅₀	<i>50 % inhibitory concentration</i> (concentration inhibitrice 50)
IgG	Immunoglobuline G.
IL	Interleukine.
Ile	Isoleucine.
Kb	Kilobase.
Kcal.mol⁻¹	Kilocalorie par mole.
KDa	Kilo Dalton.
Leu	Leucine.
Log P	Coefficient de partage octanol/ eau.
LOX	Lipoxygénases.
LPS	Lipopolysaccharides.

MC	Maladie de Crohn.
MICI	Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin.
NF-κB	Facteur nucléaire de κ B.
NF-IL6	Facteur nucléaire de l'IL-6.
n.LF	Nombre de liaisons flexibles.
n.OHNH	Nombre de donneur d'hydrogène.
n.ON	Nombre d'accepteur d'hydrogène.
PCT	Procalcitonine.
PGs	Prostaglandines.
Phe	Phénylalanine.
PLA2	Phospholipase A2.
PM	Poids Moléculaire.
PR	Polyarthrite Rhumatoïde.
PRI	Protéines de la Réaction Inflammatoire.
RCH	Rectocolite Hémorragique.
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation.</i>
SEP	Sclérose En Plaques.
Ser	Sérine.
SNC	Système Nerveux Central.
Spl	Protéine de Spécificité 1.
TNF-α	Facteur de Nécrose Tumorale alpha.
TPSA	L'aire de la Surface Polaire.
Trp	Tryptophane.
Tyr	Tyrosine.
Val	Valine.
VS	Vitesse de Sédimentation.



Introduction générale



L'inflammation est un phénomène connu depuis longtemps, dès l'époque des Egyptiens. Le médecin romain Cornelius l'a défini il y a 2000 ans par les signes cardinaux suivants : la rougeur, l'œdème, la chaleur et la douleur. L'inflammation fait partie de la réponse immunitaire qui peut prévenir une infection en produisant et synthétisant des médiateurs chimiques pro-inflammatoires en réponse à des facteurs endogènes ou exogènes. Ce processus de production et de synthèse est bénéfique car il permet de maintenir l'intégrité de l'organisme (Okombe et Nzuzi, 2019). Lorsqu'une inflammation n'est pas contrôlée, elle peut entraîner une destruction des tissus ainsi que diverses réactions, notamment la douleur.

Cyclooxygénase-2 est l'enzyme clé qui catalyse la synthèse des prostaglandines et elle est impliqué dans de multiples voies de la réponse inflammatoire, la découverte du site actif de la COX-2 a conduit au développement de plusieurs médicaments ciblant cette enzyme.

Le traitement le plus utilisé implique des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et des glucocorticoïdes (Xuan-ke, et *al.*, 2021 ; Okombe et Nzuzi, 2019) Bien que ces molécules soient efficaces, elles sont souvent associées à des effets secondaires indésirables qui peuvent limiter leur utilisation à long terme (Kaipeng, Chao, et Jinti, 2023).

Certaines plantes ayant des propriétés anti-inflammatoires pourraient servir d'alternative dans le traitement des inflammations en raison de leur disponibilité et de leur moindre toxicité par rapport aux anti-inflammatoires traditionnels (Khalil, Sperotto, et Manfron, 2006).

Avec l'avancement de la technologie informatique et la création de structures 3D pour différentes cibles thérapeutiques, la bioinformatique, en particulier la modélisation par docking moléculaire, est rapidement devenue une partie intégrante de la recherche de nouveaux médicaments. Cette approche innovante consiste à prédire et simuler la position optimale d'un ligand à l'intérieur de son récepteur, ce qui est plus facile, plus rapide et moins coûteux que les méthodes expérimentales traditionnelles (Aurélien, 2015).

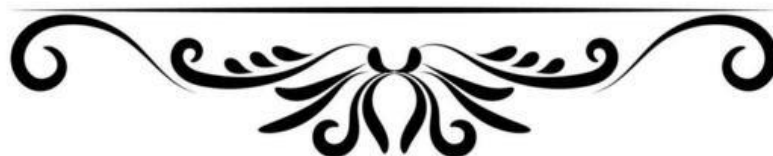
Dans cette situation, notre travail a porté sur la présentation des méthodes *in silico*. Notre premier objectif était d'évaluer la performance du programme de docking Surflex-dock utilisé dans cette étude, pour ce faire, nous avons effectué deux tests : le test RMSD et la visualisation. Dans un deuxième temps, nous avons cherché à identifier d'autres inhibiteurs de la cyclooxygénase-2, à partir d'un inhibiteur naturel.

Ce manuscrit englobe cinq (5) chapitres présentant les points suivants :

- Premier chapitre : des connaissances sur l'inflammation.
- Deuxième chapitre : traite l'enzyme cible Cyclooxygénase-2.
- Troisième chapitre : décrit le docking moléculaire et ses applications.
- Quatrième chapitre : regroupe le matériel et les méthodes utilisés dans notre étude.
- Cinquième chapitre : expose l'essentiel des résultats obtenus avec une discussion.
- Une conclusion et quelques perspectives clôtureront ce travail.

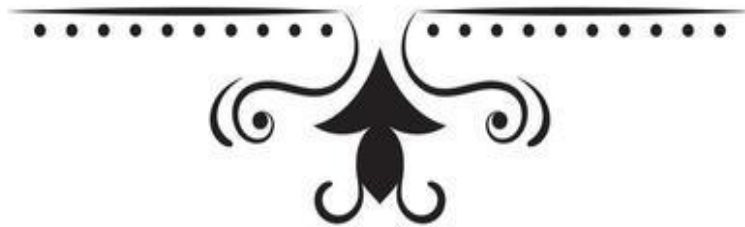


Partie bibliographique





Chapitre I : L'inflammation



1. Définition de l'inflammation

L'inflammation est un terme anciennement utilisé, issu du latin *inflammare*, qui signifie "enflammer" ou "brûler". Il est intéressant de faire une analogie avec le feu car, d'un point de vue téléologique, l'inflammation vise à s'enflammer de manière préventive afin de se protéger contre différentes menaces potentielles puis à s'éteindre spontanément une fois que la menace est neutralisée (Chiurchiù, Leuti, et Maccarrone, 2018). De manière plus étendue, on peut définir l'inflammation comme une réponse de protection qui implique l'activation des cellules immunitaires et non immunitaires en réponse à une agression telle qu'une infection, des substances toxiques, des cellules endommagées ou une irradiation, dans le but de rétablir l'équilibre des tissus (Hannoodie et Nasuruddin, 2022).

Si une inflammation survient, les globules blancs produisent des substances chimiques dans le sang ou les tissus concernés pour éliminer les agents pathogènes de l'organisme. L'émission de substances chimiques favorise une augmentation du flux sanguin vers la zone concernée, ce qui peut provoquer des rougeurs et de la chaleur. Une fuite de liquide dans les tissus est causée par certaines substances chimiques, ce qui peut entraîner un gonflement et une douleur (**Figure 01**) (Kreutzer, Deluca, et Bruce, 2018).

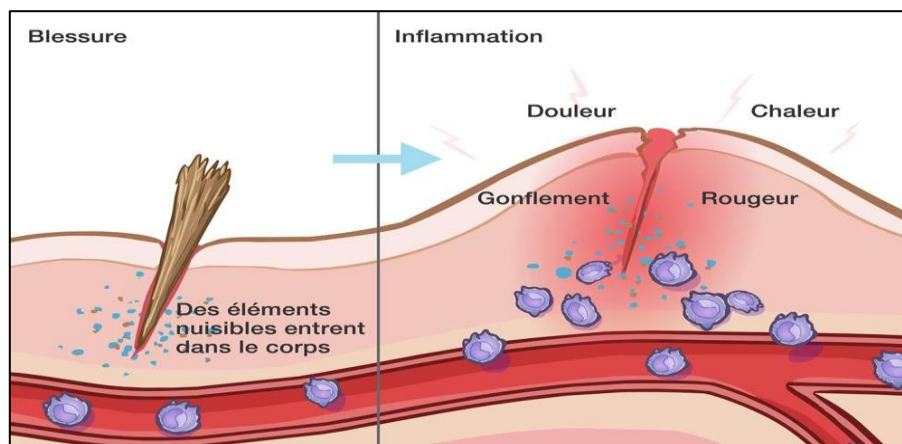


Figure 01 : Réaction inflammatoire provoquée par une épine plantée dans la peau (Parasuraman, 2018).

2. Etiologie de l'inflammation

2.1. L'inflammation due à des agents transmissibles

L'inflammation peut résulter d'une infection (liée à l'entrée d'organismes vivants pathogènes tels que des bactéries, des virus, des parasites ou des champignons) (Postiaux, 2016).

2.2. L'inflammation due à des agressions physiques ou chimiques

L'inflammation physique est causée par les traumatismes, les brûlures et les radiations, le froid. Toxines, caustiques et venins sont responsables de l'inflammation chimique (Lacavé-Lappalum, 2013).

2.3. L'inflammation due à des réactions immunitaires

L'inflammation peut être déclenchée par une réponse immunitaire suite à la réintroduction d'un antigène (allergènes) dans l'organisme, comme pollen, acariens, squames animales, champignon morsures et piqûres d'insectes (Hawinger et Zienkiewicz, 2019).

La mise en place de l'antigène entraîne une réponse rapide de l'IgG et la création de complexes antigène-anticorps (complexes immuns) qui peuvent stimuler l'activation du complément (Rosen et Geha, 2010).

2.4. L'inflammation due à des nécroses tissulaires

Les nécroses dues à un défaut de vascularisation provoquent une inflammation qui se produit par exemple dans l'infarctus du myocarde (Lacavé-Lappalum, 2013).

3. Les types de réaction inflammatoire

On peut distinguer deux types de réaction inflammatoire l'une aiguë et l'autre chronique.

3.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est une réaction locale, cellulaire et vasculaire, déclenchée par l'organisme lorsqu'un agent étranger arrive à franchir les barrières et à entrer à l'intérieur du corps (Coester, Denny et Coester, Valerie, 2020). Cette réponse immédiate, provoque l'activation des médiateurs inflammatoires et le recrutement de cellules inflammatoires sur le site de l'inflammation (**Figure 02**) (Abeysekera, Premakumara, Ratnasooriya, et Abeysekera, 2022).

Dans les conditions normales, l'inflammation aiguë peut disparaître spontanément ou avec un traitement. En revanche, des séquelles de la réaction peuvent exister si la destruction tissulaire est importante (Kanso, Khalil, Nouredine, et El-Makhour, 2021). Elle évolue en trois phases qui sont :

3.1.1. La phase vasculaire

Elle se fait suite à un signal de danger d'origine exogène ou endogène qui provoque la vasodilatation des vaisseaux, entraînant une augmentation locale de viscosité sanguine et la perméabilité vasculaire avec transsudation plasmatique (Parag, Ravindra, et shukla, 2015). Survient ensuite un œdème inflammatoire permettant l'apport des moyens de défenses jusqu'à la lésion et l'initiation du foyer inflammatoire (Allam-Ndoul, 2017).

3.1.2. La phase cellulaire

Elle est la seconde phase de la réaction inflammatoire aiguë. Elle correspond à un afflux extravasculaire de cellules de l'inflammation. On va retrouver des leucocytes, des polynucléaires neutrophiles puis des macrophages. Ces cellules vont permettre la phagocytose et la destruction de l'agent pathogène. Le foyer inflammatoire va, petit à petit, être nettoyé par l'élimination des débris cellulaires et tissulaires par les macrophages (Amalia, 2020).

3.1.3. La phase de résolution

Elle est la phase de réparation qui correspond à l'apoptose des polynucléaires neutrophiles. Il s'agit d'une mort physiologique de ces cellules après qu'elles aient exercé leur rôle (Amalia, 2020). Donc cette phase permettant un retour à l'homéostasie tissulaire (Calvino, 2021).

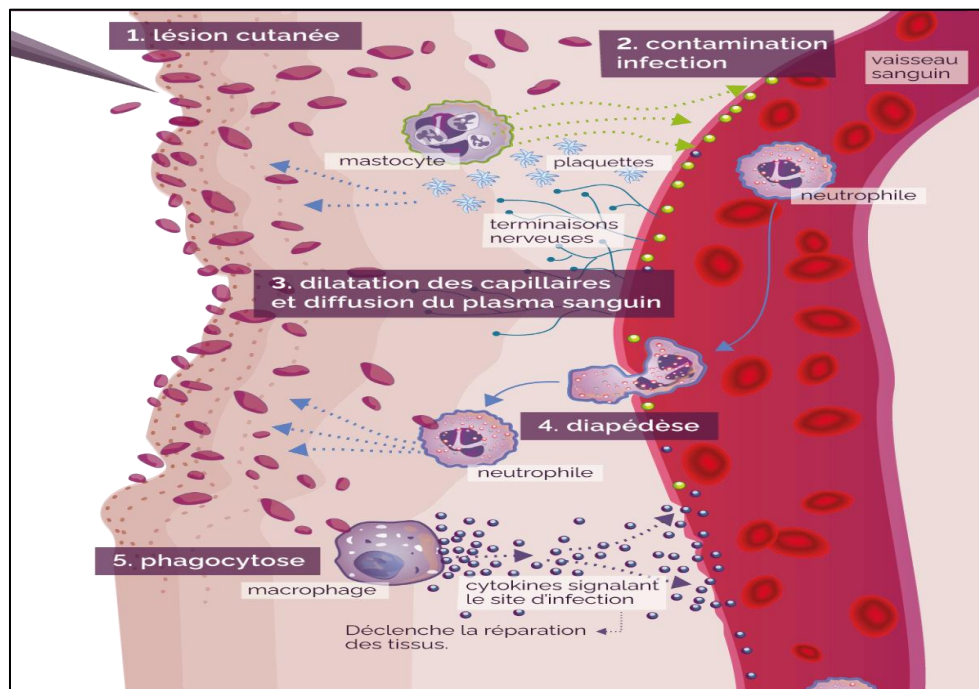


Figure 02 : les différentes étapes de la réaction inflammatoire aiguë (La réaction inflammatoire, s.d.).

3.2. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique, également connue sous le nom d'inflammation lente, dure de quelques mois à plusieurs années. De manière générale, l'étendue et l'impact de l'inflammation chronique dépendent de la cause de la blessure et de la capacité du corps à réparer et à surmonter la blessure (Pahwa, Goyal, Jialal, et Pankaj, 2023).

L'inflammation chronique se produit lorsque l'inflammation aiguë ne disparaît pas. Il a été démontré qu'une inflammation chronique persistante, dérégulée et non résolue joue un rôle crucial dans le développement et la progression de nombreuses maladies chroniques (Abeysekera, Premakumara, Ratnasooriya, et Abeysekera, 2022).

L'inflammation diffère considérablement si elle se manifeste de façon aiguë ou chronique. Ce petit tableau résume leurs principales différences :

Tableau 01 : Les principaux différences entre l'inflammation aiguë et chronique (Lefief-Delcourt et Proust-Millon, 2018).

Inflammation aiguë	Inflammation chronique
Elle est passagère, de courte durée.	Elle est de longue durée, chronique.
La cause de l'inflammation est externe (microbe, blessure, traumatisme...).	La cause de l'inflammation est entretenue par des médiateurs internes.
Elle est localisée, ciblée sur la partie du corps à défendre, soigner, réparer.	Elle peut être généralisée à l'ensemble du corps.
Elle se manifeste par des signes physiques : une douleur, un gonflement, une sensation de chaleur...	Elle est souvent sans signe apparent (même si certains symptômes peuvent l'évoquer). On dit qu'elle est « silencieuse ».
Elle est de forte intensité.	Elle est de faible intensité.
Elle se régule et disparaît naturellement.	Elle s'auto-entretient.
Elle vise la guérison, la réparation.	Elle provoque une maladie chronique.

4. Les pathologies inflammatoires

Les maladies inflammatoires sont un ensemble de troubles cliniques qui se distinguent par des réponses inflammatoires anormales (une inflammation chronique) comme facteur distinctif. (Afsar, 2011). Cette inflammation entraîne l'apparition de diverses affections, il existe différentes maladies humaines telles que le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires, La sclérose en plaques, les maladies pulmonaires, l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde, l'ostéoporose, les maladies neurodégénératives, la maladie d'Alzheimer et les maladies intestinales inflammatoires (kada, 2018).

4.1. Le cancer

Pathologiquement l'inflammation et le cancer sont liés causalement, il a été établi que presque tous les organes qui souffrent d'une inflammation chronique finiraient par avoir un risque accru de cancer (Cho, 2017).

Tableau 02 : Inflammation et leur cancers apparentés (Multhoff, Molls, et Radons, 2012).

Inducteur	Inflammation	Cancer
Virus de l'hépatite B \ C	Hépatite	Carcinome hépatocellulaire
Bactéries, calcul vésiculaires	Cholécystite	Cancer de la vésicule biliaire
Acide gastrique, alcool, tabac	Œsophagite	Adénocarcinome œsophagite
Lumière ultraviolette	Coup de soleil	Mélanome

4.2. La polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique qui affecte généralement les petites articulations des mains et des pieds, et dans laquelle le système immunitaire d'une personne attaque les tissus articulaires et probablement d'autres parties ou organes du corps pour des raisons inexplicables (Lombardi, 2023).

La polyarthrite rhumatoïde se caractérise par des cycles variables de rémissions et de rechutes et finit par induire une invalidité sévère (Zhang, et *al.*, 2018).

4.3. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) regroupent la rectocolite hémorragique (RCH) et la maladie de Crohn (MC) qui sont considérées comme des

pathologies multifactorielles, résultant de l'inflammation chronique le long de la muqueuse digestive ou sur des zones précises (Boukhatem et Belkadi , 2021). La rectocolite hémorragique affecte principalement le gros intestin, tandis que la maladie de Crohn peut toucher n'importe quelle partie du tube digestif (Falcone , 2020).

4.4. L'asthme

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires caractérisée par une hyperréactivité bronchique survenant sous l'influence intriquée de facteurs environnementaux et comportementaux délétères (Boinet et Claire, 2021), il provoque des symptômes respiratoires typiques qui varient en intensité et dans le temps (Meulemans , 2021).

L'asthme est considéré comme une condition chronique qui peut être maîtrisée, mais non guérie (Tétreault, 2023).

4.5. La sclérose en plaques

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie inflammatoire, neurodégénérative chronique et démyélinisante affectant le système nerveux central (SNC), où le système immunitaire est mis en cause (Alexia, 2019). C'est la première cause de l'handicap non traumatique chez l'adulte jeune (Hoballah, 2018). Elle est caractérisée par deux évènements : les poussées inflammatoires et la progression du handicap (Alexia, 2019).

4.6. Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative chronique qui se manifeste par la formation des plaques amyloïdes et d'enchevêtrements neurofibrillaires dans le cerveau. L'inflammation chronique des cellules immunitaire innées, telles que la microglie, les astrocytes et d'autres cellules du sang périphérique, est responsable de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. Les cytokines et les compléments (médiateurs inflammatoires) sont également associés à la cause de la maladie d'Alzheimer Bien que de nombreuses preuves établissent une corrélation entre l'inflammation anormale et la maladie d'Alzheimer, il n'existe actuellement aucun biomarqueur inflammatoire bien établi pour la maladie d'Alzheimer. De nombreux rapports ont démontré que l'apparition de la maladie est précédée d'une inflammation anormale. Il est donc possible de considérer des biomarqueurs inflammatoires périphériques non invasifs et facilement disponibles comme des biomarqueurs potentiels pour le diagnostic précoce de la maladie d'Alzheimer (Parc, Han, et Inhee, 2020).

5. Exploration biologique de l'inflammation

Les protéines de la réaction inflammatoire (PRI) varient au cours de celle-ci. Ces protéines sont dites « positives » si leur synthèse est stimulée par une augmentation de cytokines telles que l'interleukine (IL) IL-1, l'IL-6 et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α). D'autres protéines sont définies comme étant des PRI négatives car leur catabolisme est supérieur à leur synthèse. Ces protéines diminuent ainsi d'au moins 25 % au cours de la réaction inflammatoire (Coff, LADANG, et Gothot, 2022).

Tableau 03 : Marqueurs protéiques de la réponse inflammatoire (PRI) (Devaux, Kamel, Quignard, et Séronie-Vivien, 2023).

PRI positives	PRI négatives
La protéine C-réactive CRP	Albumine
Procalcitonine (PCT)	Transthyrétine (préalbumine)
Haptoglobine	Transferrine
Orosomucoïde	
Fibrinogène	
Ferritine	
Alpha-1 antitrypsine	
Alpha-1 antichymotrypsine	
Protéine sérique amyloïde A	
Fraction C3 du complément	

Parmi les principaux marqueurs biologiques à la recherche de syndrome inflammatoire de routine qui est demandés le plus souvent au laboratoire sont la vitesse de sédimentation (VS) et la protéine C réactive (CRP) pour diagnostiquer ou suivre l'évolution d'une inflammation (Boukhari, Hartani, et Boumesbah, 2019).

5.1. La protéine C réactive (CRP)

Le marqueur principal biologique dans le cadre d'une inflammation va être la « C-reactive protein » ou CRP. Il s'agit du dosage de la protéine C-réactive, protéine synthétisée par les hépatocytes au cours d'une réaction inflammatoire sous l'influence de différents médiateurs eux-mêmes impliqués dans l'inflammation (notamment les cytokines) (Amalia, 2020). La

demi vie biologique de la CRP est courte, de l'ordre de 6 à 8 heures, sa valeur normale est inférieure de 6 mg/L (Mazieres, 2023).

Une augmentation de la CRP indique la présence d'une affection inflammatoire, il n'existe pas de faux positif car n'y a pas de déficience congénital ou acquise de la CRP. Elle s'élève dans les affections inflammatoires, quelle que soit leur étiologie (Coulibaly et Coulibaly, 2019).

5.2. La vitesse de sédimentation (VS)

C'est un examen de laboratoire qui consiste à laisser sédimenter les hématies dans un tube vertical. On mesure la distance parcourue pendant une heure (parfois également 2 heures). La méthode de référence est la méthode de Westergreen (Christine Béné, Martiez Aguilar, et Lanse, 2018). La sédimentation des globules rouges est dépendante des caractéristiques morphologiques des hématies mais aussi des charges électrostatiques négatives qu'ils possèdent à leur surface. L'augmentation de certaines protéines de l'inflammation, dont le fibrinogène, inhibe ces charges négatives, favorise l'agrégation des hématies entre elles et augmente leur vitesse de sédimentation. La VS est un examen simple, peu coûteux, reproductible mais très peu spécifique (Mazières, Laroche, Arnoud, et Cantagrel, 2018).

6. Les traitements de l'inflammation

Les anti-inflammatoires est un groupe de médicaments qui vont agir contre l'inflammation à savoir : rougeur, douleur, chaleur, œdème. Ils agissent en bloquant la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation. Les médicaments anti-inflammatoires permettent de suspendre ou de ralentir le processus d'inflammation, d'en effacer ou d'en atténuer les manifestations cliniques, parfois même d'en guérir les lésions mais non d'en traiter la cause (Yakoubi, 2022). Ces molécules sont classées en anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS), anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et anti-inflammatoires à base des plantes.

6.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tels que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes (Mouffouk, 2019).

Malgré que les glucocorticoïdes représentent le traitement le plus efficace des maladies inflammatoires chroniques, l'administration prolongée de ces médicaments réduit la défense de l'organisme et provoque des perturbations métaboliques et endocriniennes.

Ces médicaments augmentent la production de la lipocortine (protéine anti-inflammatoire) inhibant ainsi la phospholipase A2 donc la libération de l'acide arachidonique. Par contre sur le plan cellulaire, 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 (Kernouf, 2019).

6.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens constituent une classe thérapeutique hétérogène regroupant plus de 40 molécules qui ont toutes trois propriétés communes : effet anti-inflammatoire, antipyrétique et antalgique (Belmin, Chassagne, et Friocourt, 2023).

Les AINS ont comme principal mode d'action l'inhibition de la synthèse des prostaglandines par le blocage d'une enzyme, la cyclo-oxygénase (COX), cet effet anti-prostaglandines explique l'action anti-inflammatoire, antalgique et antipyrétique des AINS (Scheen, 2022).

Les bons effets des AINS sont cependant limités par leurs effets indésirables graves, potentiellement mortels. Pendant le traitement par AINS, les patients sont à risque de toxicité gastro-intestinale et rénale, qui est connue depuis longtemps. De plus, une augmentation de la pression artérielle lors de l'administration d'AINS et le risque d'exacerbation de l'insuffisance cardiaque ont également été rapportés (Gyöngyösi, 2021). D'autres effets secondaires comme effets neurologiques ont été mentionnés (Riboulet, 2022).

6.3. Les anti-inflammatoires à base de plantes

Les plantes médicinales sont largement utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde pour traiter ou soulager de nombreuses maladies inflammatoires. Les propriétés anti-inflammatoires de ces plantes sont dues principalement à leur richesse en métabolites secondaires comme les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes, les stérols, les caroténoïdes, les vitamines (A, E et C) et les huiles essentielles (Kherbache, 2023). Certains parmi eux, possèdent une activité anti-inflammatoire et ont pour cibles particulières la COX-1 et -2, les lipoxgénases (LOX), la phospholipase A2 (PLA2), etc. Ces molécules présentent un intérêt

grandissant car elles offrent des avantages par rapport aux anti-inflammatoires classiques, avec moins d'effets secondaires (Diallo, 2019). Ceci explique notre choix pour cette classe.

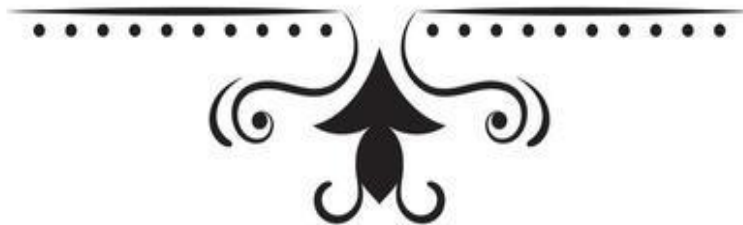
Dans notre étude, nous avons basé sur le gingembre comme inhibiteur naturel de la cyclooxygénase 2. Car de nombreuses études ont prouvé qu'il est l'une des plantes anti-inflammatoires les plus importantes.

6.3.1. Effet anti-inflammatoire du gingembre

Le gingembre est un rhizome de la plante (*Zingiber officinale*), utilisée depuis des milliers d'années comme additif alimentaire et agent aromatisant populaire dans le monde entier (Sahebkar, 2011). Cette plante possède une forte concentration de composés biologiques, principalement le gingérol, le shogaol, la zingérone et le paradol qui peuvent inhiber l'activité de la COX-2, ce qui réduit la production de prostaglandines inflammatoires (Attari, Ostadrahimi, Jafarabadi, Mehralizadeh, et Mahluji, 2016). En plus de cela, l'effet du gingembre ne se limite pas seulement à inhiber la COX-2, il est utilisé depuis l'antiquité pour ses propriétés antibiotiques, antioxydantes, anti-tumorigènes et anti-athéroscléroses. Il est également utilisé comme médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies telles que les rhumatismes et les troubles musculosquelettiques, les migraines, les maladies neurologiques et la constipation, dyslipidémie et diabète (Gholamreza, et *al.*, 2022).



Chapitre II : Cyclooxygénase-2



1. Définition de la cyclooxygénase-2

La cyclooxygénase-2 c'est une enzyme homodimères constitués de deux monomères de 70kDa, elle se compose de 604 acides aminés et trois domaines principaux : (i) domaine du facteur de croissance épidermique (EGF) (34 à 72 acides aminés), (ii) domaine de liaison membranaire (73 à 116 acides aminés) et (iii) domaine catalytique contenant les sites actifs COX et peroxydase. Diverses cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF, IL-1, IL-6 et les facteurs de croissance, les agents pathogènes (par exemple LPS) peuvent induit l'expression de COX-2. On trouve la COX-2 dans les cellules inflammatoires telles que les monocytes ou les fibroblastes, ainsi que dans les cellules endothéliales, elle est également régulièrement présente dans le cœur et les ovaires, où l'enzyme pourrait jouer un rôle dans l'ovulation (Ferrer, et *al.*, 2019).

2. Structure de la cyclooxygénase-2

La cyclooxygenase-2 est une protéine glycosylée, les séquences primaires de ces acides aminés varient de 603 (souris) à 604 (Homme) (González, et al., 2000). COX-2 et COX-1 Contient trois oligosaccharides riches en mannose, dont l'un aide repliement des protéines. Le quatrième oligosaccharide, présent uniquement dans la COX-2, régule sa dégradation (Rouzer et Marnett, 2009). Le site actif de l'enzyme COX-2 est plus grand, ce qui compatible avec la promiscuité du substrat de cette isoenzyme. Il est présent dans la membrane du réticulum endoplasmique et dans les feuillettes internes et externes de l'enveloppe nucléaire des monocytes, des cellules endothéliales et des fibroblastes. Toutefois, la COX-2 préfère se situer dans l'enveloppe nucléaire où elle exerce une activité plus élevée (Garavit et Anne, 2003).

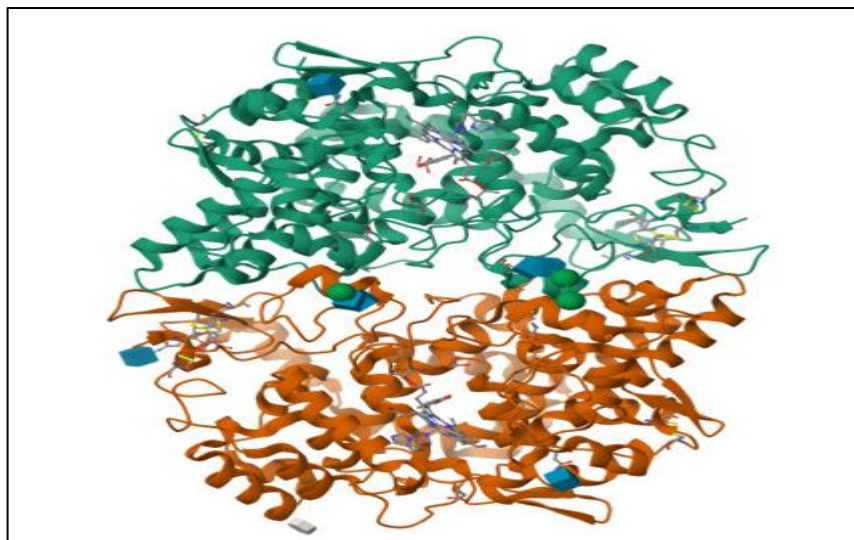


Figure 03 : Structure 3D de COX-2, code 5F1A.

3. Site actif de la cyclooxygénase-2

3.1. Définition

Le site actif de COX-2 est plus large (+25%) et plus volumineux (+17%) que celui de COX-1. De plus, COX-2 est plus flexible que COX-1 car elle peut exister sous plusieurs conformations (Jouzeau, Daouhars, Benani, et Netter, 2004).

COX-2 contient deux sites actifs, un pour la liaison à l'oxygène et un pour la liaison au substrat. Le site a une affinité élevée pour le substrat, parce que la nature chimique des acides aminés du site et leur arrangement spatial forment une région complémentaire à certains groupements de la molécule de substrat. De plus, cette enzyme est également connue pour interagir avec d'autres protéines et lipides, ce qui en fait un acteur clé dans les voies de signalisation cellulaire et indique son rôle important dans les processus biologiques (Howardell, 2006).

La découverte du site actif de la COX-2 a conduit au développement de plusieurs médicaments ciblant cette enzyme, comme les anti-inflammatoires (Marnett, Rowlinson, Goodwin, Kalgutkar, et Lanzo, 1999).

3.2. Les acides aminés de site actif

Bien que la COX-1 et la COX-2 soient d'origine chromosomique différente, elles présentent des structures tridimensionnelles presque superposables. Les deux isoenzymes présentent une différence majeure en raison d'un site cyclo-oxygénase plus vaste dans la COX-2 par rapport à la COX-1 (Hétu, 2008). Plusieurs travaux sur les inhibiteurs de ces enzymes ont montré l'importance dans le site catalytique des résidus **Arg120**, **Tyr385** et de **Ser530** (Rowlinson, et *al.*, 2003).

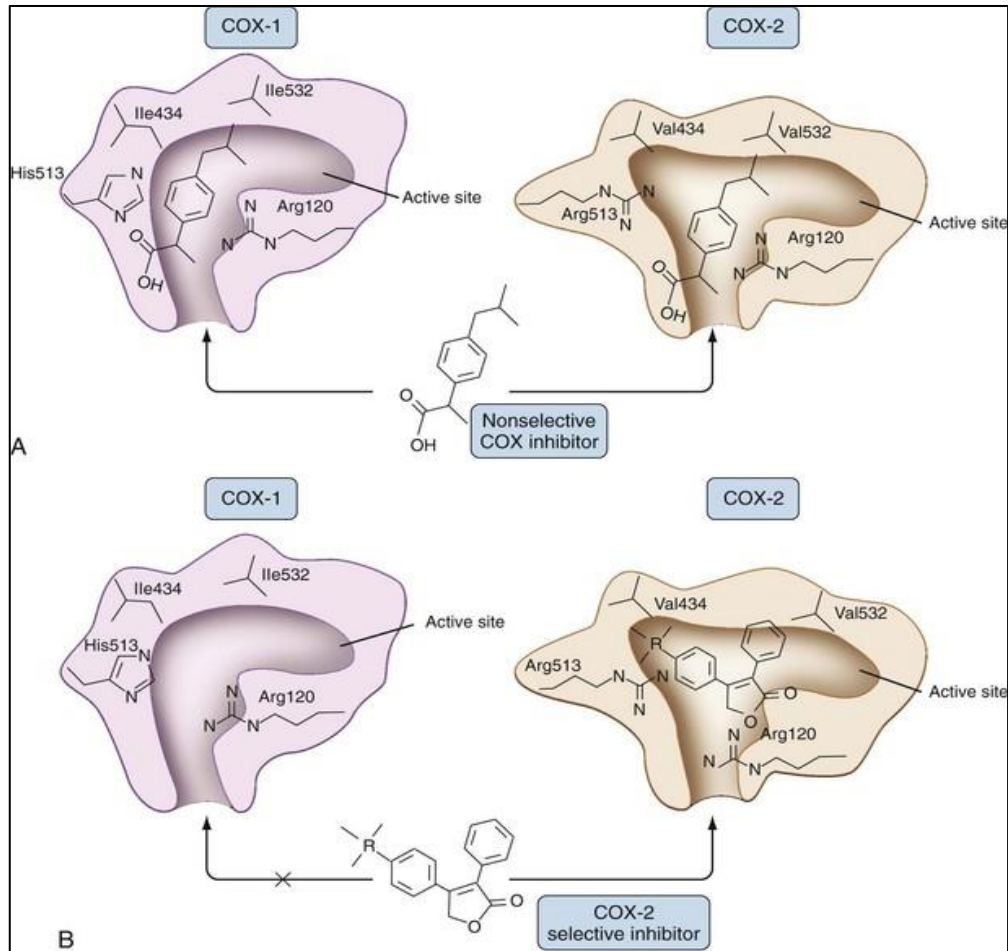


Figure 04 : Schéma présentant les différences structurales des deux COXs (Grosser, Fries, et FitzGerald, 2006).

En effet, la présence de deux résidus Valine en position 434 et 523 dans le site actif de la COX-2 (au lieu des deux résidus Ile 434 et 523 dans le cas de la COX-1), entraîne la disparition d'un groupement méthylène à chaque position.

Dans la position 523, le groupement Ile offre l'opportunité d'accéder à une nouvelle poche dans le site actif de la COX-2, qui joue un rôle essentiel dans la formation et la stabilité du complexe COX-2-acide arachidonique (Girgis, 2012). De la même manière, cette possible poche permet à la COX-2 d'être inhibée spécifiquement par certains AINS. Une autre étude menée par Llorens O, et *al* en 2002 révèle que le site actif de la COX-2 est subdivisé en trois régions essentielles :

La première étant une poche hydrophobe définie par Trp387, Phe518 et Leu384.

L'entrée du site actif est bordée par les résidus hydrophiles Arg120, Ser530, Tyr355.

La poche latérale numéro trois est bordée par His90, Val523 et Arg513 (voir **figure 05**) (Llorens, Perez, Palomer, et Mauleon, 2002).

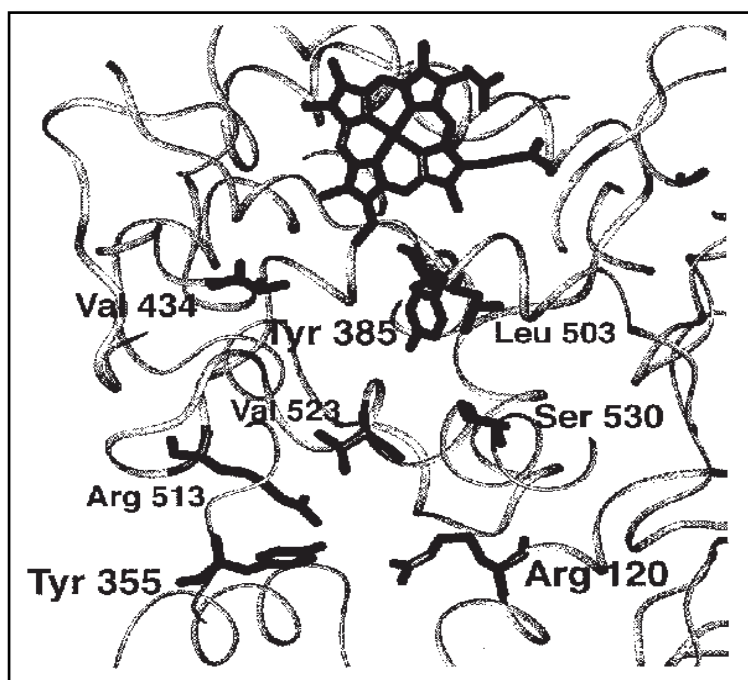


Figure 05 : Site actif de la COX-2 (Kalgutkar, 2005).

4. Structure des gènes COX-2

Le gène de la cyclooxygénase-2 a été découvert en 1991, comme un gène de réponse primaire. Il s'agit d'un gène compact (8,3kb), avec 10 exons et 9 introns, localisé sur le chromosome 1 chez l'homme (**Figure 06**). La séquence de son ADNC présente une homologie de 60% avec celle du gène non inductible (Daouphars, 2004 ; Tanabe et Tohnai, 2002).

Ce gène est inductible et se caractérise par la présence d'une boîte TATA qui se lie aux régulateurs de transcription, ainsi que par des sites de liaison pour plusieurs facteurs de transcription dans sa région promotrice, comme le motif NF-IL6, deux sites AP-2, trois sites Spl, deux sites NF- κ B, un motif CRE et une E-box expliquent la régulation complexe de l'expression de la COX-2 (**Figure 07**) (Hinz et Brune, 2002).

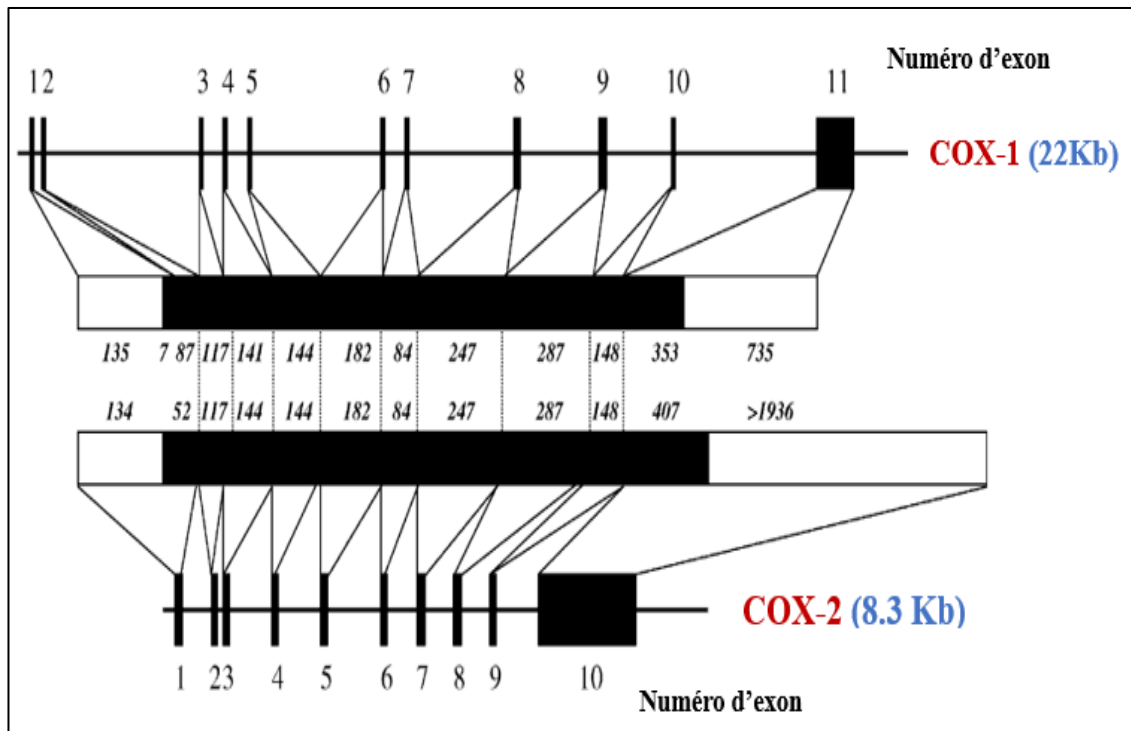


Figure 06 : Structure des gènes de COX-1 et de COX-2 humains et représentation schématique de leurs transcrits (ARNm) (Tanabe et Tohnaï, 2002).

L'exon le plus grand du gène COX-2 code pour la totalité de la région 3' non traduite (3'-UTR), qui contient 17 copies de la séquence ATTTA, intervenant dans l'instabilité des ARNs. La variation de l'ARNm de la forme inductible est 4,5 kb, 4kb et 2,8 kb, tandis que celui de la forme constitutionnelle est de 2,8kb (Daouphars, 2004).

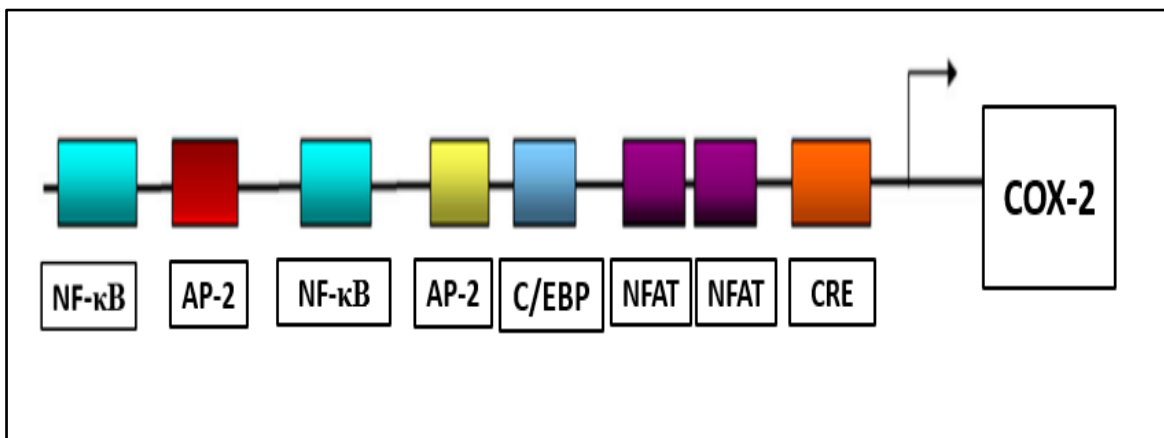


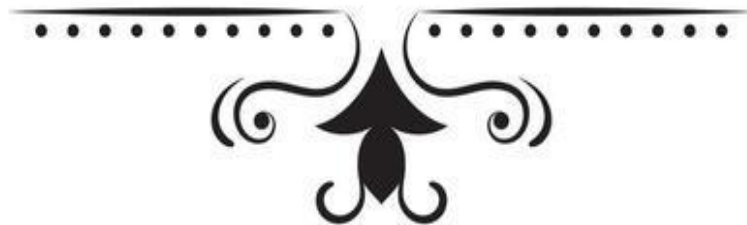
Figure 07 : Sites de régulation transcriptionnelle dans la région promotrice du gène COX-2 (Fuller, 2019).

5. Les Rôles Biologique de la COX-2

La forme induite de la COX-2 est principalement responsable de la formation de prostaglandines lors d'une inflammation. Les lipopolysaccharides et les cytokines inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 α et l'IL-1 β peuvent induire la COX-2, qui synthétise alors des prostaglandines pro-inflammatoires. L'IL-1 α induit l'expression de la phospholipase C et mobilise l'acide arachidonique, le substrat de la COX-2. En plus d'être la responsable de la synthèse des PGs liées à la douleur et à la fièvre, la COX-2 est également impliquée dans le développement du système cardiovasculaire, la polyarthrite rhumatoïde, la reproduction féminine, la régulation de la croissance cellulaire, la maladie d'Alzheimer, certaines fonctions immunologiques, l'apoptose et la prolifération et la croissance cellulaire normales et cancéreuses (Brunelle,2003).



Chapitre III : Docking moléculaire



1. Introduction

La découverte et le développement de nouveaux médicaments bioactives et non toxiques, de l'identification de la cible thérapeutique jusqu'à la dernière étape qui est l'autorisation de mise sur le marché, est un processus long et très coûteux (Empereur-Mot, 2017). Afin de diminuer le cout et le temps nécessaire pour la mise sur le marché d'un nouveau médicament, les compagnies pharmaceutiques font actuellement recours aux approches prédictives *in silico* dont le docking moléculaire. Cette méthode vise à prédire l'affinité d'un ligand au sein de sa cible thérapeutique, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales (Dalia, 2021).

2. Docking moléculaire

Le Docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire), est une approche *in silico* qui vise à prédire la structure d'un complexe formé par deux molécules dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand) (**figure 08**) (Bencheikh, 2023).

Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de simuler la conformation définie par la position et l'orientation relative la plus favorable du ligand au sein de son récepteur (Soudania, Bouachrine, Zaki, & Hadjadj, 2022).

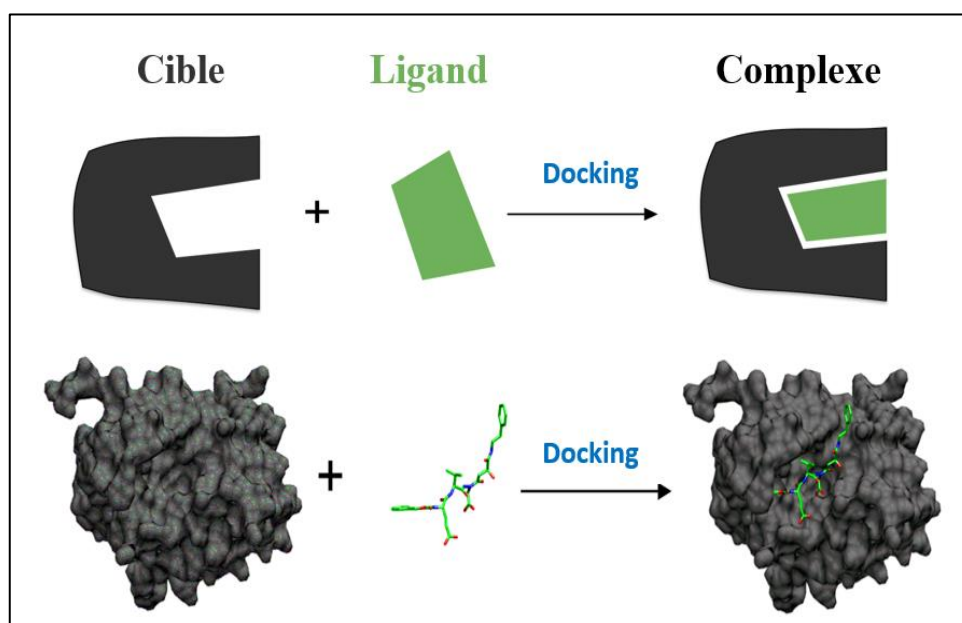


Figure 08 : Représentation schématique du Docking moléculaire (Poudyal, 2021).

3. Les étapes de Docking moléculaire

En principe, un programme de docking doit être capable de générer les modes de liaison attendus pour des ligands dont la position adoptée au sein du site actif est connue dans un temps raisonnable (**figure 09**). Pour cela, leur protocole est composé de deux étapes distinctes (Boucherit, 2020) :

- La première étape dite docking est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables (Lalout, 2016).
- La deuxième étape dite scoring est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et à attribuer un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score aidera à sélectionner la meilleure pose parmi toutes celles proposées (Bereksi reguig, 2021).

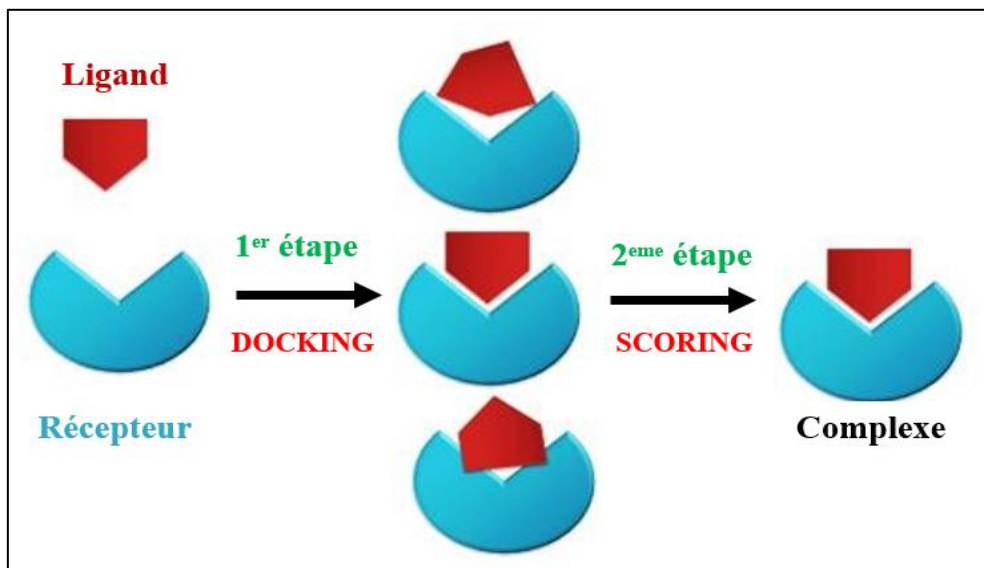


Figure 09 : Principales étapes de docking (Boucherit, 2020).

4. Utilisations du docking (applications)

Il existe deux applications primordiales au programme de docking.

- La première consiste à prédire les modes d'interaction ;
- La seconde utilisation est le parcours d'une banque de données afin d'en retirer les éléments les plus pertinents.

Pour chaque application, diverses techniques sont employées pour l'évaluation des performances de l'algorithme (Khensous, 2019).

5. Types du docking moléculaire

Il existe trois types de docking moléculaire :

5.1. Docking rigide

Le docking rigide, c'est la méthode la plus rapide et ancienne au cours duquel la protéine et le ligand sont tous deux traités comme entièrement rigides. Cette simplification s'apparente à considérer un modèle de liaison de type "serrure-clé" (Feddal-bouchebaba, 2018).

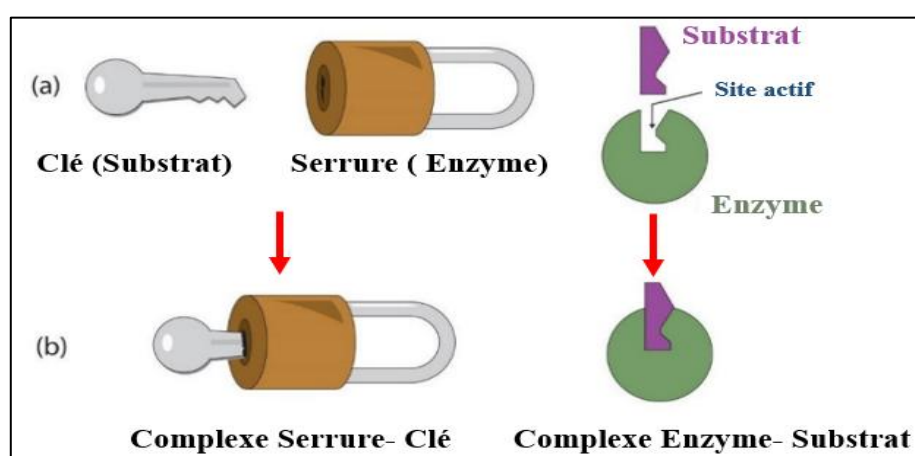


Figure 10 : Concept clé-serrure (Keval et Tejas, 2022).

5.2. Docking semi-flexible

Le docking semi-flexible, où seule la flexibilité du ligand est traitée, le récepteur restant rigide. C'est le type de docking le plus utilisé jusqu'à présent et permet d'obtenir des résultats plus précis (Chevrollier, 2019).

5.3. Docking flexible

Le docking flexible, qui considère à la fois la flexibilité du ligand et de façon partielle le récepteur. L'inconvénient majeur du docking flexible est le temps de calcul considérable (Jiyu, Ailing, et Zhang, 2019).

6. Outils du docking moléculaire

Les éléments indispensables pour réaliser un Docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire souvent de nature protéique appelé : cible, une collection de

ligands appelée chimiothèque et un programme qui prédit la conformation la plus favorable des ligands au sein du récepteur étudié (Mokrani E. H., 2020).

6.1. Récepteur

Les Structures tridimensionnelles de diverses cibles thérapeutiques sont disponibles via la banque de données *Protein Data Bank* (PDB) ; qui est accessible gratuitement en ligne (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Il s'agit d'une grande archive de données structurales 3D des macromolécules biologiques : (protéines, ADN, ARN ...etc.). Elle contient des milliers de structures protéiques déterminées expérimentalement par cristallographie aux rayons X, par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou par la microscopie électronique (Stefaniu, 2019).

Cependant, il n'est pas rare que la structure expérimentale 3D de la cible ne soit pas disponible. Afin de surmonter ce problème, des méthodes de prédiction informatique, telles que la modélisation comparative, peut être utilisées pour obtenir la structure tridimensionnelle des protéines. (Torres, Sodero, Jofily, et Silva-Jr, 2019)

6.2. Ligands (chimiothèques)

Le choix du ligand est une étape très importante afin de réussir le docking moléculaire. Ainsi, la structure 3D d'un ligand donné est obtenue par deux moyens :

- Le premier moyen, consiste à utiliser des ligands obtenus à partir de la littérature, qu'on peut dessiner, optimiser et sauvegarder dans différents formats (pdb, mol, mol2, SDF....etc.) à l'aide des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Marvin, Arguslab, Titan, Sybyl...etc.
- Le second moyen, consiste à consulter des banques de données de ligands (chimiothèques), qui fournissant un nombre très important de structures 3D de ligands prêts pour le docking. Parmi les chimiothèques les plus utilisés, nous pouvons citer : la Chimiothèque Nationale Française, PubChem, ZINC....etc (Mokrani E. h., 2020).

6.3. Programmes du docking

6.3.1. Vue générale

Le docking moléculaire a pour objectif essentielle de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Initié au début des années 1980, ce domaine s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de produits biologiquement actifs (Bouchagra, 2018).

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et Molegro virtuel Docker (MVD). Les principaux programmes de docking moléculaire sont résumés ci-dessous (**tableau 04**).

Tableau 04 : Les principaux programmes de docking moléculaire (Merzoug, 2018).

Nom	Editeur	Site internet
AutoDock	Institut de recherche Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	Université de California-San Francisco	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Glide	Schrodinger	http://www.schrodinger.com/products/glide.html
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Gold	Centre de données	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html
FDS	Université de Southampton	http://www.southampton.ac.uk/
PLANTS	Université de Konstanz	http://www.uni-konstanz.de/
QXP	Novartis Pharmaceuticals Corporation	http://www.novartis.com/

6.3.2. Surflex-Dock

Pour réaliser le présent travail de recherche, nous avons utilisé le programme Surflex-Dock.

Ce programme utilise un protomol afin de décrire le site de docking (Qiao, et *al.*, 2022). Le protomol est construit à partir de trois sondes différentes :

- C = O représentant les accepteurs de liaison hydrogène ;
- NH représentant les donneurs de liaison hydrogène ;

– CH₄ représentant les zones hydrophobes.

Surflex-Dock dispose d'un algorithme de fragmentation incrémentation appelé « algorithme de Hammerhead », car dans un premier temps la molécule à docker est fragmentée en parties rigides et en liaisons flexibles. Par la suite, les parties rigides sont positionnées en premier et le ligand est reconstruit de proche en proche, explorant différentes conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles (Mokrani E. H., 2020).

Le fragment associé au meilleur score de docking est utilisé comme tête pour la reconstruction de la molécule entière. La pose est optimisée localement pour s'adapter au mieux au récepteur (Bouvier, 2010).

7. Les principales classes d'interactions protéine-ligand

Au niveau du site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec l'architecture protéique. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles (Guibedj, 2019).

7.1. Interactions ioniques

Les interactions ioniques sont des interactions fortes, attractives entre un groupement chargé négativement et un groupement chargé positivement (**figure 11**) et de distance inférieure à 4.5 Å. L'énergie de ces liaisons reste très importante de l'ordre de 10 Kcal.mol⁻¹ et elles stabilisent fortement les structures tridimensionnelles au cœur des protéines (Hammad, 2020).

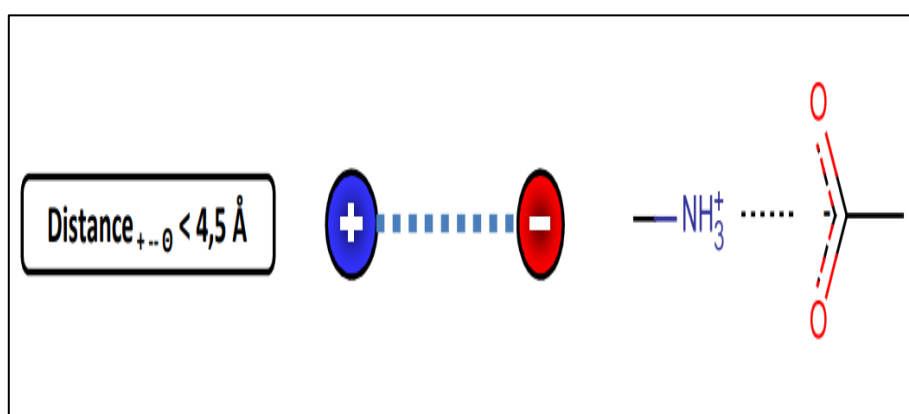


Figure 11 : Interactions ioniques (Boudjedir, 2022).

7.2. Liaisons hydrogène

La liaison hydrogène est une liaison faible faisant intervenir un atome d'hydrogène qui se forme entre deux groupements un groupement électro-négatif accepteur d'hydrogène (O, N ou F) et un groupement électro-négatif donneur d'hydrogène (OH, NH ou FH) (Athmani, 2020).

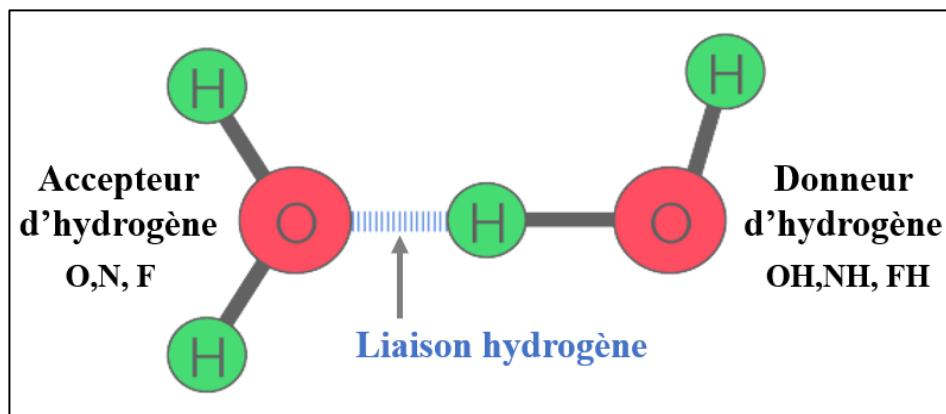


Figure 12 : Exemple d'une liaison hydrogène (Jacques, 2024).

Les liaisons hydrogène peuvent être classées dans les trois catégories suivantes (**Tableau 05**) :

Tableau 05 : les trois catégories de liaison hydrogène (Boudjedir, 2022).

Longueur (Å)	Angle (°)	Energie (kcal/mol)	Description
2.2 à 4.0	90 à 150	0.24 à 1	Faible intensité
1.5 à 3.2	130 à 180	1 à 4	Liaison modérée
1.2 à 2.5	175 à 180	4 à 10	Liaison forte

7.3. Interactions de van der waals

Elles résultent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive pour des distances de 2 à 4 Å. Les forces de van der Waals sont généralement faibles. Leur nombre élevé va produire au total une force importante (Kathleen, et *al.*, 2017 ; Kawai, et *al.*, 2016).

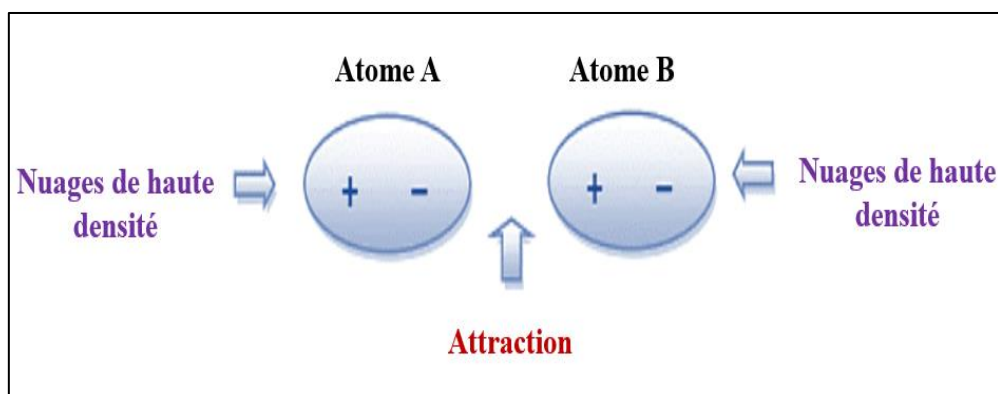


Figure 13 : Les interactions de Van der Waals (Guibedj, 2019).

7.4. Interactions hydrophobes

Les substances hydrophobes sont des molécules ou un groupe d'atomes non polaires qui ne sont pas capables de former des liaisons hydrogènes et ne peuvent pas s'hydrater. Elles ont la tendance à se rassembler de façon à minimiser les contacts avec l'eau. Les molécules d'eau se réorganisent alors autour de ces substances hydrophobes de manière à minimiser l'énergie de l'ordre 7 Kcal mol⁻¹. Cet effet hydrophobique a d'importantes influences sur la conformation et la stabilité des molécules. Il existe divers types d'interactions hydrophobiques ; on peut citer celles qui se forment entre un cycle aromatique et les atomes d'un autre cycle, d'un amide ou des groupements méthyle. Des études sur l'interaction protéine-ligand ont montré que ce type d'interaction est le plus fréquent (Boudjedir, 2022).

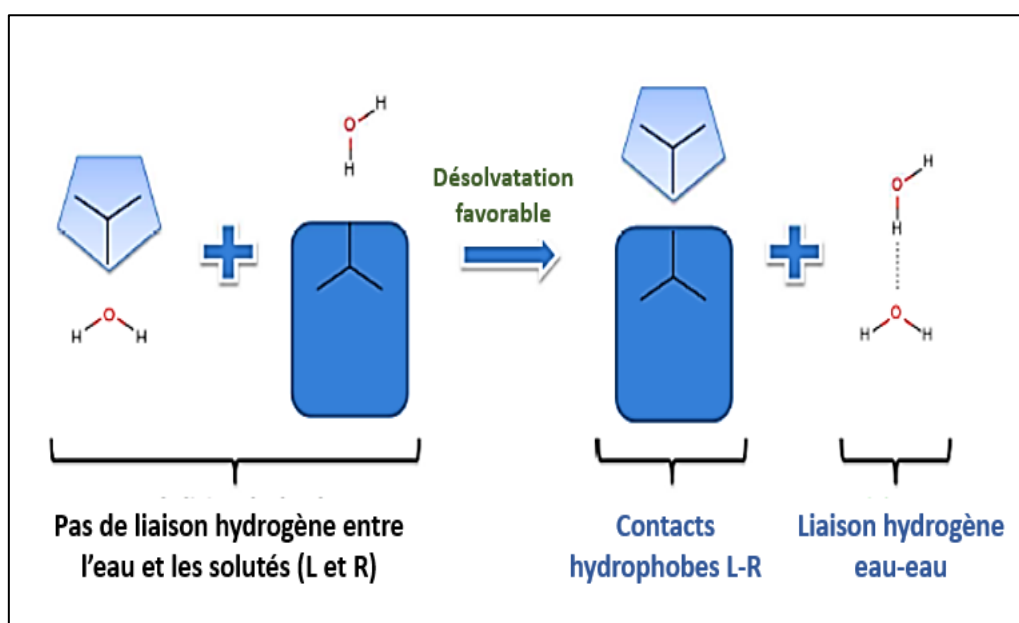


Figure 14 : Interaction hydrophobe (Hoffer, 2013).

7.5. Interactions Pi-Pi (π - π stacking)

π - π stacking (également appelé interaction aromatique) c'est un cas particulier des interactions hydrophobiques qui se forme entre deux cycles aromatique un cycle aromatique du ligand et un cycle aromatique de la protéine.

Il existe trois types de positionnement entre deux cycles aromatiques qui sont représentés dans la figure 15.

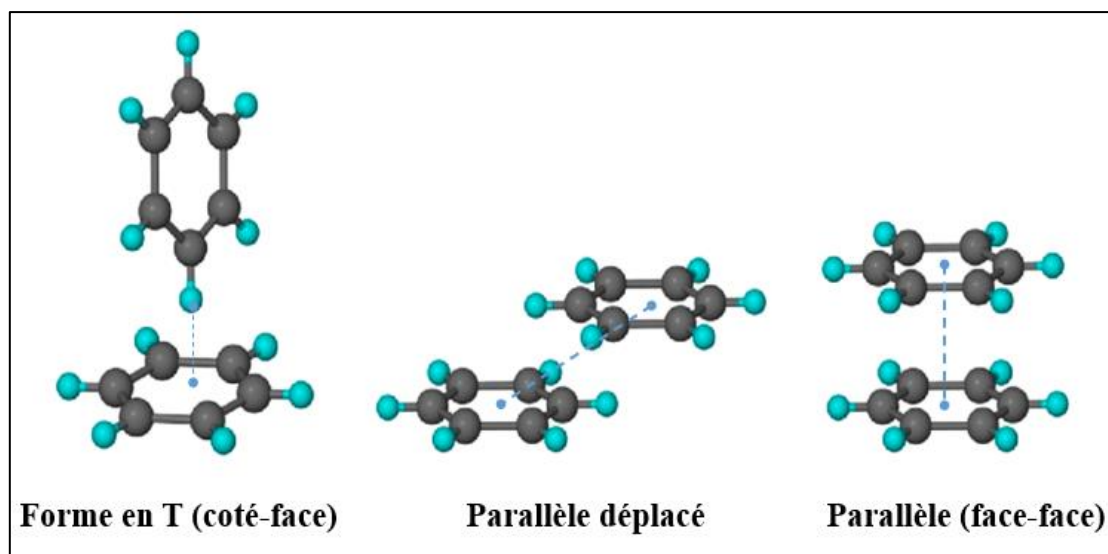


Figure 15 : les arrangements conformationnels entre deux cycles aromatiques (Ranjit, Naba, et Binoy, 2019).

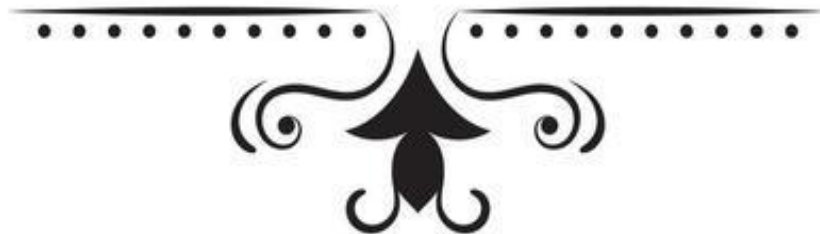


Partie pratique





Chapitre IV : Matériel et méthodes



1. Matériel

1.1. Micro-ordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé des programmes installés sur deux micro-ordinateurs (DELL, HP) offrant les capacités suivantes :

Tableau 06 : les caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés.

Caractéristiques	Micro-ordinateur DELL	Micro-ordinateur HP
La Ram (mémoire)	8192 MB	8192 MB
Processeur	Intel(R) Core(TM) i7-7600U CPU @ 2.80 GHz	Intel(R) Core(TM) i5-6200U CPU @ 2.30 GHz
Système d'exploitation	Windows 10 Professionnel 64 bits	Windows 10 Professionnel 64 bits

1.2. Logiciels et serveurs

Nous avons fait appel à plusieurs programmes et serveurs pour réaliser le présent travail, à savoir :

1.2.1. Surflex-Dock

Tous les calculs de docking moléculaire ont été réalisés par la version 1.3 du programme Surflex-Dock. C'est l'un des programmes d'amarrage moléculaire les plus réussis et rapides. Il est largement utilisé et capable d'ancrer des ligands dans un environnement composé d'acides aminés avec une bonne précision (Jain, 2003).

1.2.2. Open Babel

Open Babel version 2.3.2 est un programme libre principalement utilisé pour faire la conversion des fichiers en plusieurs formats. Les formats de fichier que Open Babel prend en charge comprennent : SDF, MOL, MOL2, PDB, SMI, XYZ...etc. (O'Boyle, et *al.*, 2011).

Un exemple de conversion est mentionné dans la figure 16.

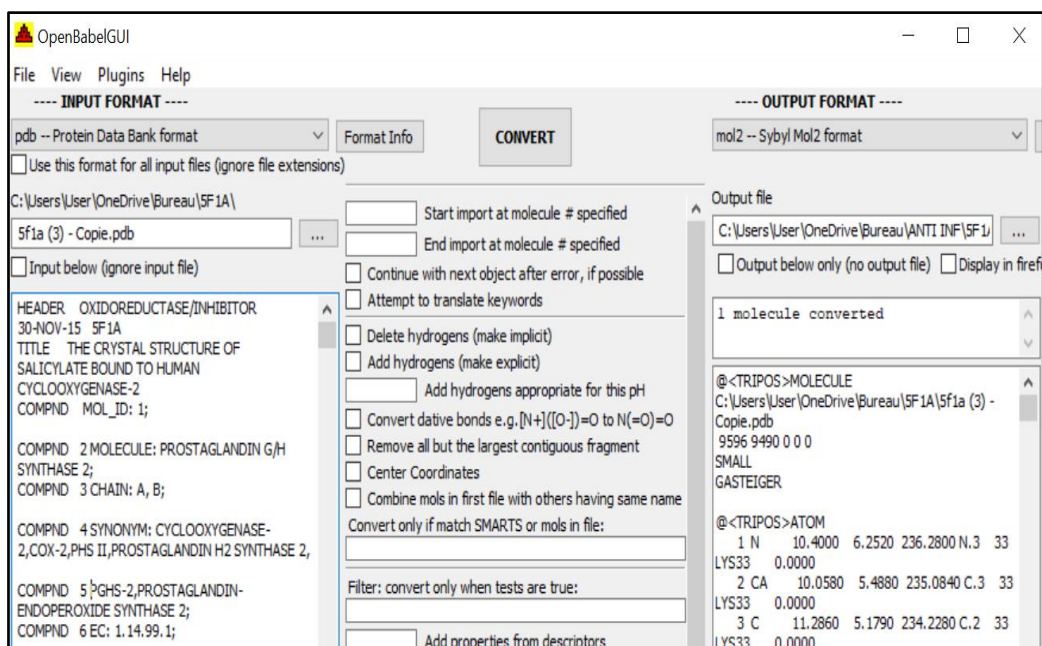


Figure 16 : Conversion de fichiers par le programme Open Babel.

1.2.3. Microsoft Excel 2016

Excel est l'un des logiciels de la suite bureautique Microsoft Office qui a été utilisé pour présenter, organiser et tracer les tableaux ainsi que le cercle relatif du teste de fiabilité RMSD.

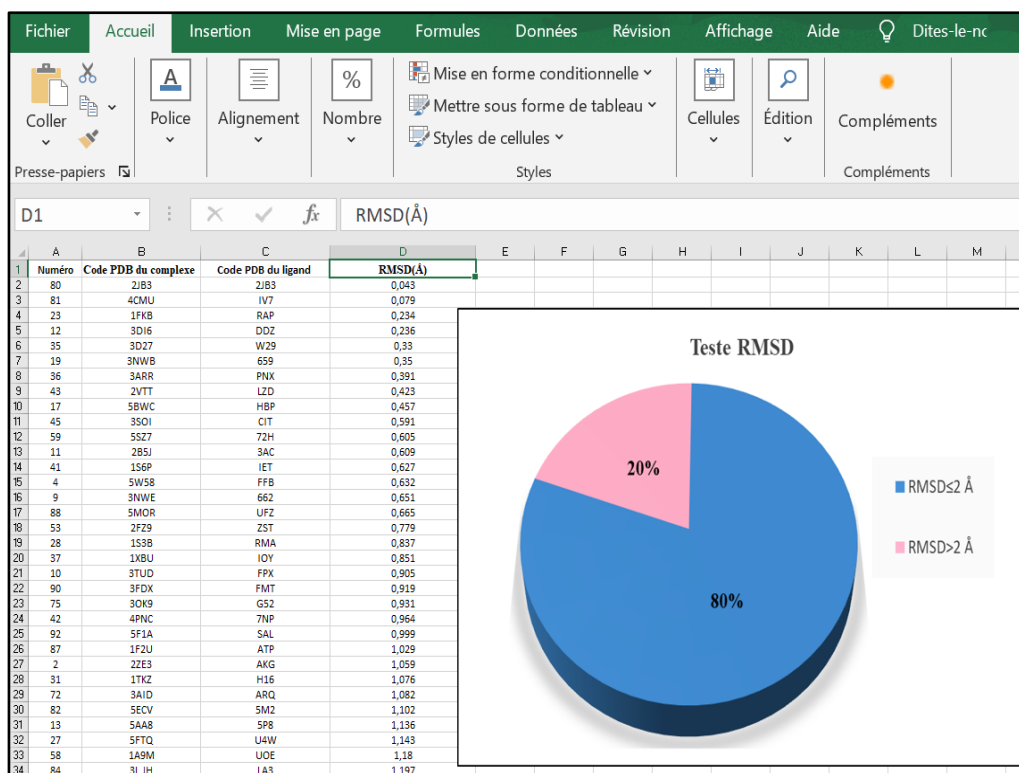


Figure 17 : Interface d'Excel.

1.2.4. Biovia Discovery Studio

Un outil de représentation visuelle qui permet d'analyser en détail les interactions entre le ligand de référence et les autres inhibiteurs choisis dans le site actif de la cible thérapeutique (Biovia Discovery Studio 2020 Client 20.1, s.d.).

Nous l'avons employé dans notre étude afin de représenter et d'analyser les interactions entre la COX-2 et ses inhibiteurs.

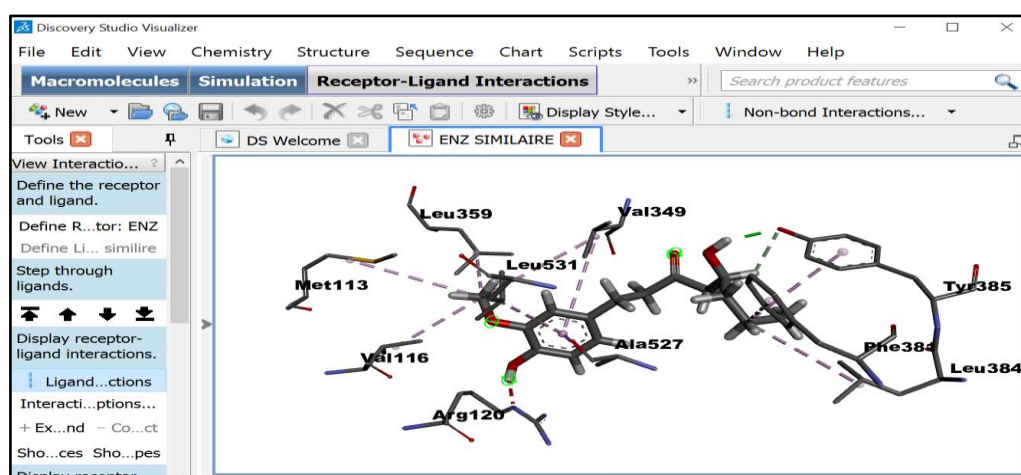


Figure 18 : Interface graphique de Biovia Discovery studio.

1.2.5. Viewerlite 4.2

Viewerlite s'agit d'un logiciel libre de visualisation qui offre la possibilité d'afficher en 3D la structure d'une molécule biologique. Il est utilisé afin de représenter visuellement les interactions entre les divers inhibiteurs et le site actif de l'enzyme étudiée (ViewerLite, s.d.).

Nous l'avons utilisé dans notre étude afin de représenter et d'analyser les résultats de test de fiabilité RMSD.

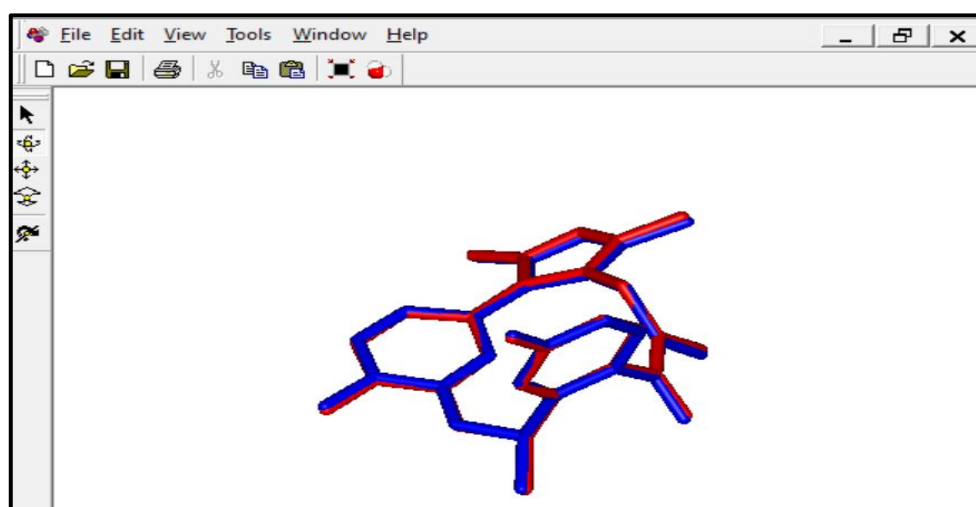


Figure 19 : L'interface graphique de Viewerlite.

1.2.6. SwissADME

C'est un serveur, gratuit et en ligne : via le site <http://www.swissadme.ch/>. Il suffit d'introduire le format SMILES du composé ou de construire sa structure pour avoir toutes les informations.

Ce serveur permettant de calculer des descripteurs physicochimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la compatibilité avec la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour soutenir la découverte de médicaments (SwissADME, s.d.).

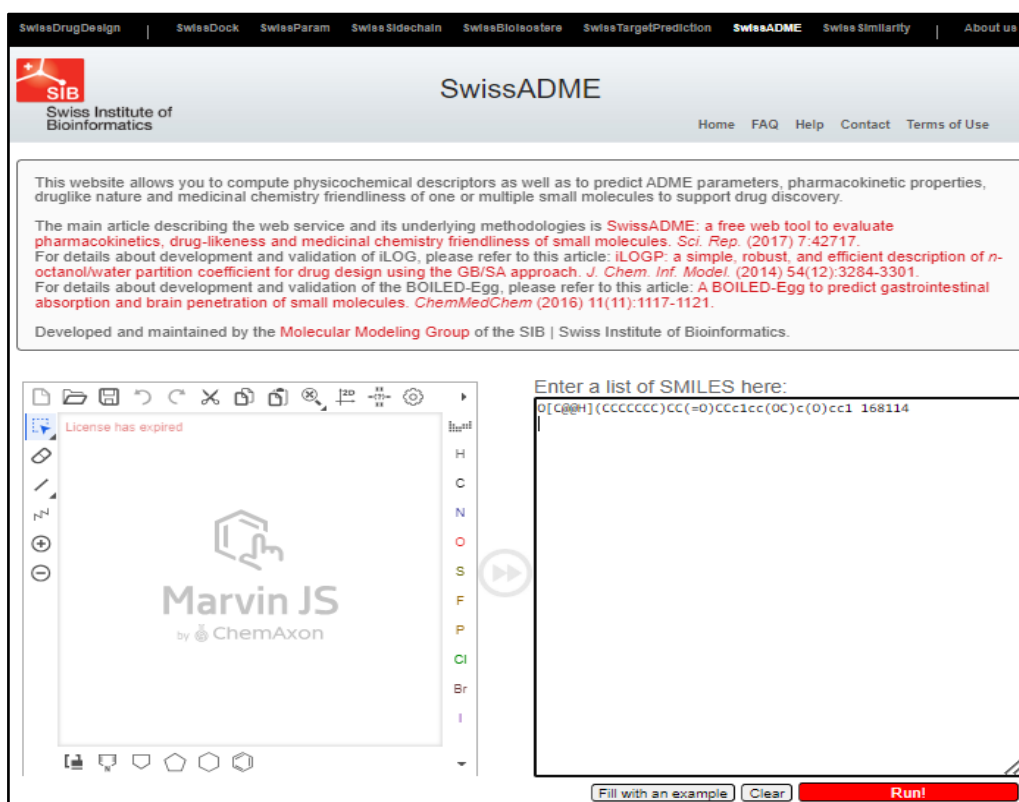


Figure 20 : Interface graphique de serveur SwissADME.

1.2.7. PreADMET

C'est un serveur en ligne, via le lien : <https://preadmet.bmdrc.kr/>. Il fournit des informations concernant l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) d'un composé chimique.

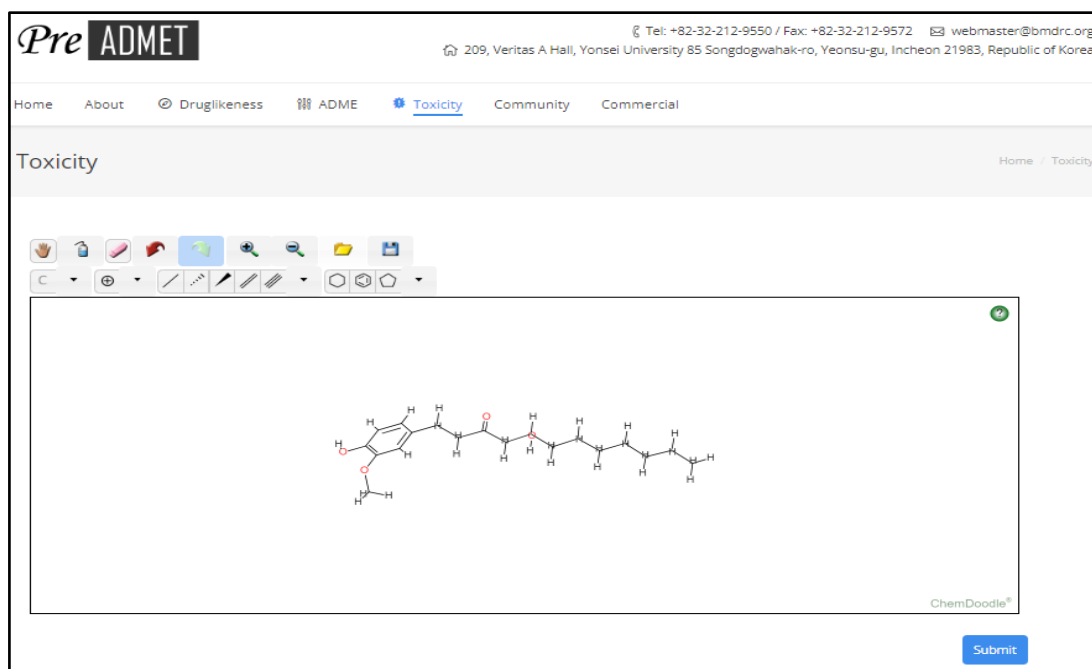


Figure 21 : Interface graphique de serveur PreADMET.

1.2.8. ADMETlab 2.0

C'est une version améliorée d'ADMETlab, couramment utilisée pour évaluer de manière systématique les propriétés ADMET, ainsi que certaines propriétés physicochimiques et conviviales de la chimie médicinales.

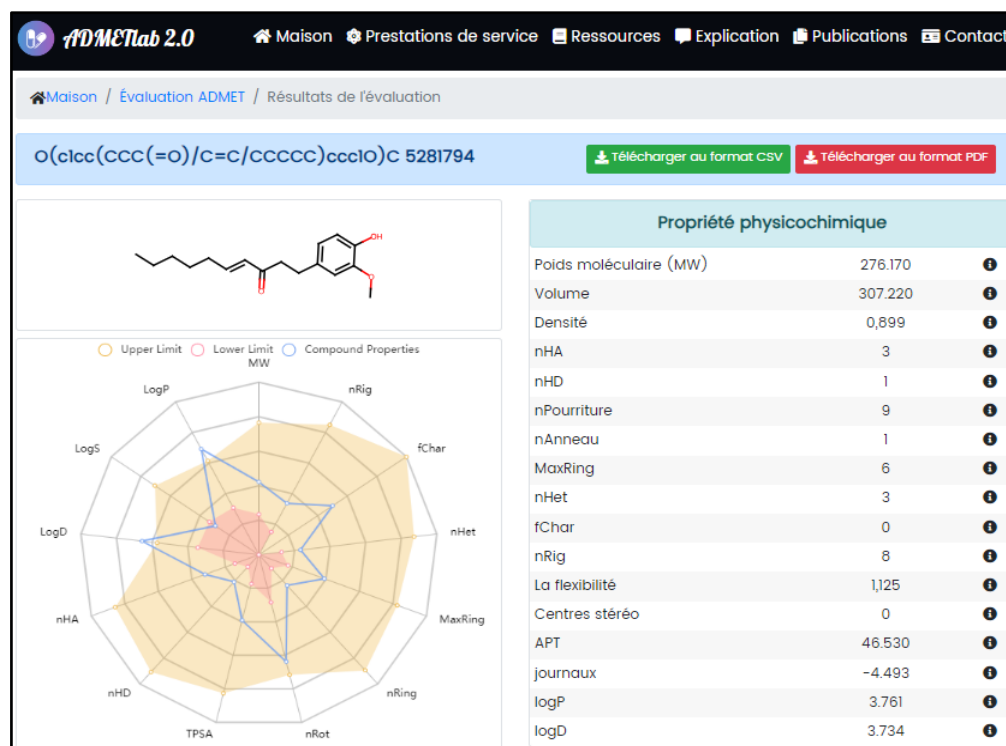


Figure 22 : Interface graphique de serveur ADMETlab 2.0.

1.3. Banque de données

Nous avons consulté deux bases de données pour la réalisation de cette étude : la PDB et la PubChem.

1.3.1 Protein Data Bank (PDB)

La structure tridimensionnelle de la COX2 a été retirée à partir de la banque de données PDB. Cette banque de données représente une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques protéines essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN (RCSB Protein Data Bank, s.d.).

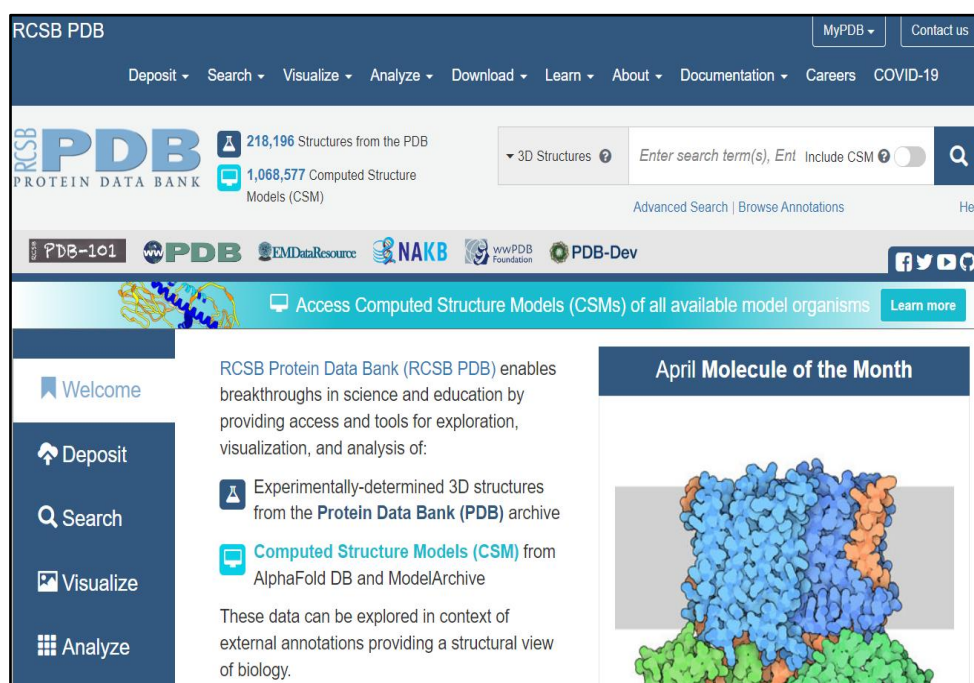


Figure 23 : Page d'accueil de la Protein Data Bank (PDB).

1.3.2 PubChem

Pubchem C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (*le National Center for Biotechnology Information*). C'est la plus grande collection au monde d'informations chimiques librement accessibles. Elle nous permet de rechercher des produits chimiques par nom, formule moléculaire, structure et autres identifiants ; et trouver des informations concernant ces molécules comme leur propriétés chimiques et physique, des activités biologiques, des informations sur la sécurité et toxicité, des citations de la littérature, des brevets et plus encore (PubChem, s.d.).



Figure 24 : Page d'accueil de la PubChem.

2. Méthodes

2.1. Test de fiabilité du Surflex-Dock

Avant de commencer l'étude *in silico* de l'inhibition de la COX-2 par docking moléculaire, il a été essentiel d'évaluer le programme Surflex-Dock en termes de fiabilité ou de performance. Nous avons réalisé deux tests de fiabilité dans cette situation :

- L'écart quadratique moyen ou le RMSD (*Root Mean Square Deviation*).
- L'analyse visuelle.

2.1.1. Test RMSD

La principale utilisation du test par RMSD est de vérifier la performance d'un protocole de docking d'un ligand développé par le logiciel de docking et sa pose réelle déterminée expérimentalement. Une simulation par docking moléculaire est considérée fiable lorsque la valeur du RMSD est inférieure ou égale à 2 Å. Au-delà de cette limite, la prédiction est jugée inappropriée (Eric et Zhang, 2019).

Dans notre étude, nous avons effectué le test RMSD sur 100 complexes triés de manière aléatoire de la PDB. Le logiciel Surflex-Dock a été utilisé pour calculer les valeurs de RMSD.

2.1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape supplémentaire du test RMSD qui permet de vérifier visuellement si la pose simulée d'un ligand se superpose à sa pose expérimentale de référence. Dans notre étude, la visualisation a été effectuée à l'aide du logiciel Viewerlite 4.2.

2.2. Préparation de l'enzyme

La structure tridimensionnelle de la protéine cyclooxygénase-2 faisant l'objet de notre étude, a été téléchargée sous format pdb à partir de la banque de données PDB sous le code 5F1A où elle existe sous forme de complexe lié à un inhibiteur, défini avec une résolution de 2.38 Å.

La structure du complexe 5F1A est un homodimère contenant deux chaînes (A et B). Pour faciliter le travail de docking, nous avons éliminé la chaîne B, les molécules d'eau et l'autre ligand manuellement afin de conserver que la structure de la chaîne A de l'enzyme. Ensuite, nous l'avons enregistrée sous format pdb, puis convertie au format mol2 à l'aide du programme Open Babel.

2.3. Préparation du ligand de référence

Le ligand (SAL) a été séparé de son complexe après l'élimination de la protéine, les molécules d'eau et les autres ligands, puis a été sauvegardé sous format pdb. Comme pour la protéine, la conversion au format mol2 est nécessaire pour le docking via Surflex.

Le ligand (SAL) a été utilisé pour déterminer le site actif de l'enzyme (génération du protomol).

2.4. Docking moléculaire par Surflex

Le docking moléculaire a été effectué en utilisant le programme Surflex-dock, et différentes étapes sont nécessaires :

2.4.1. La génération du protomol

Cette étape correspond à l'identification du site actif par la construction d'une pseudo-molécule appelée protomol. Pour la réaliser nous avons utilisé la commande suivante :

```
Surflex-dock proto ligand.mol2 proteine.mol2 pl
```


2.4.2. Le docking moléculaire

Cette étape exige le fichier de la protéine, le ligand ainsi que le protomol généré lors de la première étape. Elle sert à réaliser le docking en fournissant les dix (10) meilleures positions de chaque ligand au sein du site actif étudié, classées par ordre décroissant et leur score (Final-0, Final-1...Final-9). Surfex donne par défaut les dix meilleures affinités en M^{-1} . La commande nécessaire pour réaliser cette étape est :

```
Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protéine.mol2
```

2.4.3. Calcul de RMSD

Pour calculer le RMSD, nous avons utilisé la commande suivante :

```
Surflex-dock rms ligand.mol2 final-0.mol2
```

2.4.4. Optimisation du RMSD

C'est une étape supplémentaire qui permet d'optimiser la valeur du RMSD. Pour la réaliser, nous avons utilisé la commande suivante :

```
Surflex-dock oprms ligand.mol2 final-0.mol2
```

2.5. Proposition de nouveaux inhibiteurs

Dans l'espoir de développer des nouveaux inhibiteurs plus puissants de la COX-2, nous sommes basés sur une étude expérimentale réalisée par van Breemen qui a prouvé que les trois dérivés naturels du gingembre : 6-Shogaol, 10-Shogaol et 8-Gingerol qui sont des inhibiteurs puissants sur COX-2. Nous avons réalisé un docking moléculaire de ces composés envers la COX-2 dans le but d'établir une relation entre les résultats du docking moléculaire et les données expérimentales, et afin de développer de nouveaux inhibiteurs théoriques plus

puissant de notre enzyme, Le composé 8-Gingerol a été utilisé comme structure de départ pour obtenir une petite chimiothèque de molécules similaires via la PubChem. La banque de données a proposé 65 similaires de notre structure de départ avec un taux de similarité de 99%. Ces derniers ont été téléchargés en 3D sous format sdf puis les convertis au format mol2 par le logiciel Open Babel.

2.6. Filtrage ADMET

Les principales raisons de l'échec du développement des médicaments sont les propriétés physico-chimiques, la pharmacocinétique et la toxicité des composés candidats. Ainsi, un médicament candidat doit être facile à administrer et atteindre sa cible en concentration adéquate afin d'être efficace. On sait que l'évaluation de l'absorption, de la distribution, du métabolisme, de l'excrétion et de la toxicité (ADMET) doit être effectuée dès que possible. (Xiong, et *al.*, 2021)

Dans ce contexte, nous avons terminé notre étude en prédisant *in silico* les caractéristiques ADMET des inhibiteurs les plus efficaces obtenus, ce qui est une étape cruciale dans l'étude.

2.6.1. Propriétés physico-chimiques

Depuis plus d'un siècle, les caractéristiques physico-chimiques des composés sont employées afin de prédire ou d'évaluer les mécanismes pharmacocinétiques (Wilson, 2016).

- **Règle de Lipinski**

Lipinski a établi un ensemble de règles en 1997 pour évaluer la biodisponibilité d'un composé par voie orale en se basant sur sa structure bidimensionnelle. Ces règles relatives aux caractéristiques physico-chimiques ont été établies suite à l'examen de 2245 médicaments disponibles ou en cours de développement (Boucherit, Chikhi, Mokrani, et Merzoug, 2013).

D'après cette règle, les substances qui ne répondent pas à au moins trois des cinq critères suivants peuvent entraîner des difficultés d'administration orale :

- a. Possèdent une masse moléculaire inférieure ou égale à 500 daltons.
- b. Ont un coefficient de partition octanol/eau (logP) ou une lipophilie compris entre -2 et 5.
- c. Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (OH et NH) doit être inférieur ou égal à 5.
- d. Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (O et N) doit être inférieur ou égal à 10.
- e. Le nombre des liaisons flexibles doit être inférieur ou égal à 15 (Chagas, Moss, et Alisaraie, 2018).

Log P : l'une des caractéristiques les plus connues est la lipophilie, généralement définie comme le rapport entre l'octanol et l'eau. La diffusion passive à travers la membrane cellulaire, la solubilité, l'interaction avec les récepteurs, le métabolisme et la toxicité sont liés à cette caractéristique (Karlgrén et Bergström, 2015).

- **Règle de Veber**

Outre les recherches de lipinski, des recherches menées par Veber et ses collaborateurs en 2002 indiquent que les composés qui répondent aux deux critères suivants ont généralement une biodisponibilité orale satisfaisante :

- a. L'aire de surface polaire de la molécule (TPSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$.
- b. Le nombre de liaison à libre rotation ≤ 10 (Veber, et *al.*, 2002).

- **Solubilité dans l'eau**

Le processus de solubilité consiste à dissoudre un soluté dans un solvant aqueux afin de créer une solution homogène. Il s'agit d'un des critères essentiels d'un médicament pour qu'il puisse pénétrer dans le sang jusqu'à l'organe cible afin d'obtenir une réponse thérapeutique (Raunio, Kuusisto, Juvonen, et Pentikainen, 2015).

- **Accessibilité à la synthèse**

Il est crucial d'évaluer l'accessibilité synthétique d'un composé lors du processus. Dans certaines situations, les composés conçus *in silico* ne peuvent pas être utilisés pour la conception des médicaments. L'accessibilité à la synthèse permet d'avoir une idée de la faisabilité de l'étape d'optimisation d'un hit (Fukunishi, Kurosawa, Yoshiaki, et Nakamura, 2014).

Dans notre étude, nous avons mesuré l'accessibilité à la synthèse chimique en utilisant des valeurs. Allant de 1 (synthétisation extrêmement simple) à 10 (synthétisation extrêmement complexe).

2.6.2. Propriétés pharmacocinétiques

- **L'absorption gastro-intestinale**

Il est essentiel d'étudier les mécanismes de perméabilité intestinale des médicaments pour le développement de produits pharmaceutiques oraux. Afin qu'un médicament puisse être absorbé, pénètre dans le sang et atteindre sa cible, il doit être capable de traverser le système digestif (Dahlgren et Lennernäs, 2019). La barrière intestinale a une superficie d'environ 400

m² et elle est composée d'une couche monocellulaire avec des cryptes et des villosités. Elle joue un rôle dans le métabolisme, la digestion et l'immunité. La traversée de cette barrière est assurée par des mécanismes passifs ou actifs (Dahlgren et Lennernäs, 2019 ; Peterson et Artis, 2014).

- **La barrière hémato-encéphalique (BHE)**

Le système nerveux central est séparé du sang par une barrière perméable hautement sélective, appelée BHE ou BBB (*Blood-Brain Barrier*) (Abanoub, Plitman, Senthil, Venkatraghavan, et Chowdhury, 2023). Cette barrière joue un rôle crucial dans la régulation du milieu interne du cerveau. Il est nécessaire que les médicaments qui agissent dans le système nerveux central traversent la BHE. On a développé les paramètres moléculaires appelés « règle de cinq » afin de simplifier les prédictions de la pénétration à la BHE. Ce sont eux qui contribuent à évaluer la capacité des molécules à traverser la BHE (Allam, 2020).

- **Inhibition des cytochromes P450**

Les cytochromes P450 (CYP) sont des enzymes ubiquitaires impliquées dans le métabolisme hépatique des composés endogènes ou exogènes tels que les médicaments. La dégradation des médicaments est principalement catalysée par les cytochromes CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 et CYP3A4. Il existe des médicaments capables d'inhiber le métabolisme du CYP, ce qui entraîne des interactions médicamenteuses (Raunio, Kuusisto, Juvonen, et Pentikainen, 2015). Cela cause une diminution du métabolisme des autres molécules métabolisées par les isoformes inhibées, augmentant ainsi leur concentration plasmatique, prolongeant leurs effets thérapeutiques et potentiellement déclenchant des effets indésirables, voire même toxiques.

2.6.3. Toxicité

Plusieurs approches *in silico* ont été développées afin de prédire la toxicité et les effets secondaires de la nouvelle substance. Plusieurs tests tels que le test d'Ames (pouvoir mutagène), la cancérogénicité, la toxicité aigüe...etc.

Pour évaluer la toxicité potentielle, on utilise le serveur PreADMET ADMETlab 2.0 (Mokrani E. h., 2020).

- **Le test d'Ames**

L'un des tests les plus couramment employés pour l'identification des substances mutagènes est le test de mutation bactérienne reverse (test d'Ames). Les sous-tests parallèles de ce test

impliquent l'exposition de chaque souche bactérienne testée de *Salmonella typhimurium* à la substance d'intérêt. Toutes les souches présentent une mutation distincte dans un gène essentiel à la production de l'histidine (His^-) nécessaire à leur développement. La substance d'intérêt est considérée comme un mutagène si elle permet à la cellule mutée de synthétiser l'histidine (His^+) nécessaire pour se développer dans un milieu de culture dépourvu de cette substance (Levy, et *al.*, 2019).

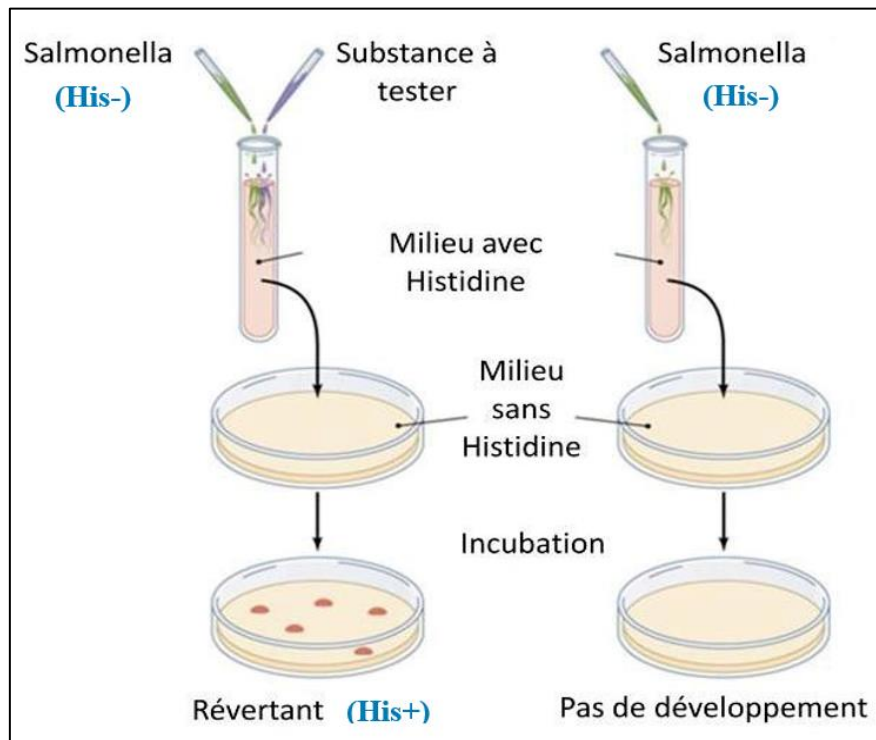


Figure 25 : Schéma explicatif du déroulement d'un test d'Ames (Goujon, 2015).

- **Le teste de cancérogénicité**

Les études s'appuient actuellement sur les données des essais biologiques sur la cancérogénicité chez deux espèces de rongeurs, le rat et la souris, afin de prédire si une substance ou un produit donné a un pouvoir carcinogène pour l'homme. (Goodman et Wilson, 1991 ; Johnson, 2012).

- **Le test d'inhibition du gène hERG**

Le test hERG utilisé pour éviter les conséquences néfastes sur le cœur (Garrido, Lepailleur, Mignani, Dallemagne, et Rochais, 2020).

Le gène hERG (*human Ether-à-go-go-Related Gene*) code pour un canal potassique voltage dépendant qui fait sortir le potassium de la cellule. Le dysfonctionnement ou le blocage de ce canal provoque des fibrillations pouvant aller jusqu'à l'arrêt cardiaque

(Stergiopoulos, Tsopelas, et Valko, 2021), d'où l'importance de connaître pour nos composés leur capacité d'inhiber ce canal.

- **Les tests de toxicité aiguë**

Les tests de toxicité aiguë permettent d'évaluer l'intensité à laquelle une molécule peut causer des dommages à un être vivant. On effectue généralement ces tests sur divers organismes aquatiques tels que :

- **Le test de la toxicité aiguë sur les algues**

Grace à ce test, il est possible d'évaluer la toxicité persistante des eaux en inhibant la croissance des différentes espèces d'algues, telles que (*Chlorella vulgaris*, *Selenastrum caprinrtum* et *Scenedesmus subspicatus*) (Zeman, 2008).

- **Le test de la toxicité aiguë de Daphnia**

Daphnia magna est un crustacé planctonique de petite taille. Il s'agit d'un des organismes modèles les plus fréquemment employés afin d'évaluer la toxicité d'une variété de médicaments. La taille du corps, le cycle de vie court, la fécondité élevée et la reproduction parthénogénétique sont autant d'avantages qu'elle offre (Tkaczyk, Bownik, Jaroslaw, Krzysztof, et Brygiga, 2021).

- **Le test de la toxicité aiguë sur le Medaka**

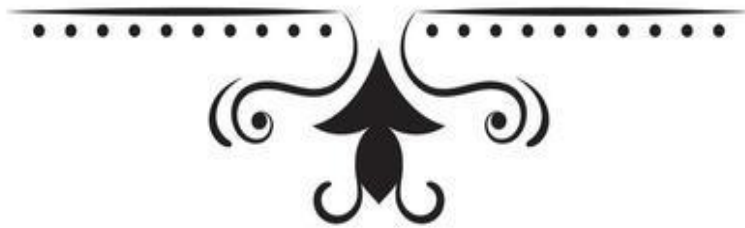
Les tests de toxicité utilisent le medaka japonais (*Oryzias latipes*), un petit poisson d'eau douce, depuis plus de 50 ans. Ils sont extrêmement résistants, sont peu sujets à des maladies, peuvent supporter de grandes latitudes en termes de salinité et de température et ils sont simples à cultiver en laboratoire (Padilla, et al., 2009). Elle convient à l'évaluation de l'œstrogénicité des substances perturbatrices du système endocrinien (Kang, et al., 2002).

- **Le test de toxicité aiguë de Minnow**

Le poisson *Pimephales promelas* est couramment employé dans de nombreuses études de recherche sur des sujets tels que l'évaluation de la toxicité aiguë. Ces petits poissons sont simples à cultiver en laboratoire. Leur cycle de vie est plutôt court, avec des centaines d'œufs avec des taux de fécondation et d'éclosion élevés (Zha, Wang, Wang, et Ingersoll, 2007).



Chapitre V : Résultats et discussion



1. Tests de fiabilité du programme de docking

L'étude *in silico* de l'inhibition de la COX-2 par docking moléculaire nécessite une évaluation préalable de la performance du programme Surflex-dock, en faisant appel à deux tests :

- Le test RMSD.
- L'analyse visuelle.

1.1. Le test RMSD

Dans notre travail, le test de fiabilité du programme Surflex par le RMSD, a été réalisé en utilisant 100 complexes protéines-ligands pris d'une façon aléatoire à partir de la PDB. Ce teste consiste à calculer la distance entre la position d'un ligand simulée par le logiciel et celle de référence (expérimentale). Les prédictions sont jugées fiables si les valeurs de RMSD sont inférieures ou égales à 2 Å (Eric et Zhang, 2019).

Les résultats du test RMSD pour les 100 complexes sont illustrés dans l'annexe 1 et dans la figure 26.

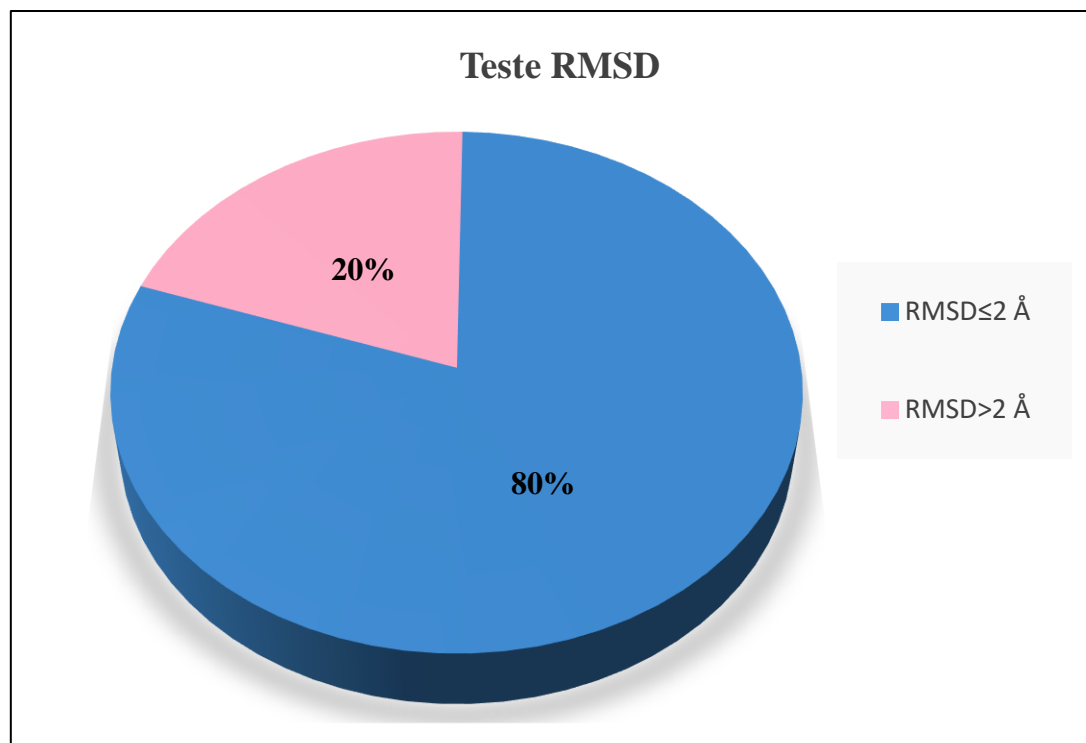


Figure 26 : Résultats en pourcentage obtenus par Surflex à deux intervalles de RMSD (Å).

Il ressort de la figure 26 que 80% des complexes présentent des valeurs de RMSD inférieurs ou égales à 2 Å, alors que seulement 20% des valeurs sont supérieures à 2 Å. Ces résultats sont corroborés et en accord avec le travail de Chikhi. A et Bensegueni. A (2008) (Chikhi et Bensegueni, 2008), qui révèlent un taux de RMSD de 63% inférieurs ou égales à 2 Å ce qui prouve la fiabilité du programme Surflex.

Pour confirmer les résultats de ce test, une analyse visuelle de la superposition des géométries des ligands a été réalisée.

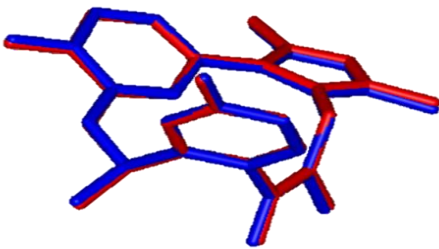
1.2. L'analyse visuelle

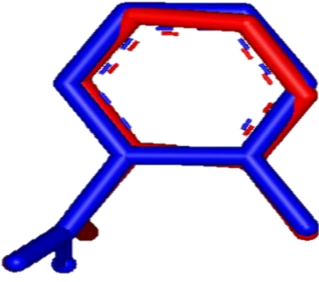
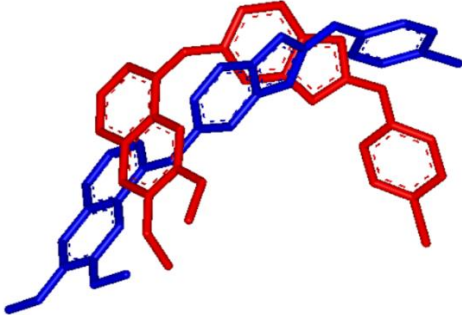
L'analyse visuelle par Viewerlite 4.2 faisant suite au test RMSD est aussi une étape essentielle pour juger la performance du programme Surflex. Elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD.

Dans notre cas, nous avons choisi à partir du tableau de l'annexe 01 trois complexes ayant des valeurs de RMSD différents. Le RMSD obtenu avec le premier et le deuxième complexe (4CMU, 5F1A) étaient inférieur à 2 Å alors que le troisième (4FNY) était supérieur à cette valeur seuil (voir tableau 07).

La comparaison de la conformation expérimentale qu'on retrouve dans la PDB de ces complexes (colorées en rouge) avec les conformations calculées par le logiciel Surflex-dock (colorées en bleu), est montrée dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Valeurs de RMSD des 3 complexes étudiés et superpositions spatiales entre les poses des ligands donnés par rayon-X (coloré en rouge) et celles calculées par Surflex (coloré en bleu).

Code du complexe	Code du ligand	RMSD (Å)	Figure
4CMU	IV7	0,079	

5F1A	SAL	0.999	
4FNY	I3K	3,172	

Dans le cas du complexe 4CMU, l'analyse visuelle montre une superposition maximale entre la pose du ligand IV7 simulée par surflex (colorée en bleu) et celle de référence (colorée en rouge) déterminée expérimentalement par cristallographie qu'on trouve dans la PDB. Alors que l'analyse visuelle de complexe 5F1A montre une bonne superposition entre la pose de ligand SAL (colorée en bleu) et celle de référence (colorée en rouge). Les deux complexes ayant une valeur de RMSD inférieure à 2Å. Dans le cas du complexe 4FNY pour lequel nous avons obtenu une valeur de RMSD dépassant le seuil de 2 Å, l'analyse visuelle montre que la pose du ligand I3K obtenue de la PDB (colorée en rouge) ne présente aucune superposition avec celle simulé par surflex (colorée en bleu).

1.3. Conclusion

A la lumière des résultats obtenus avec le test RMSD et l'analyse visuelle, nous pouvons conclure que le programme Surflex-dock est hautement performant pour une étude *in silico* de l'inhibition de la COX-2.

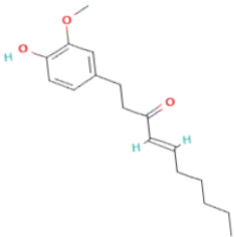
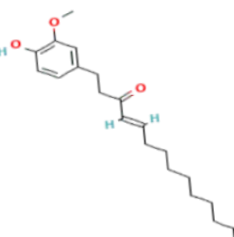
2. Évaluation *in silico* des inhibiteurs naturels d'extraits du gingembre sur la COX-2

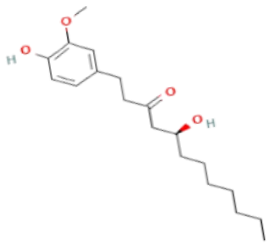
2.1. La relation entre les résultats du docking moléculaire et les données expérimentales

Le but principal de ce travail est la mise en évidence d'une éventuelle action inhibitrice exercée par trois composés d'extrait de gingembre sur la COX-2 en utilisant les approches de modélisation par docking moléculaire, et d'étudier les interactions établies entre enzyme et son inhibiteur, afin de compléter les travaux *in vitro* de van Breemen et al (2011) (van Breemen, Tao, et Wenkui, 2011).

Les résultats du docking des trois molécules d'extrait de gingembre (6-shogaol, 10-shogaol et 8-gingérol) dans le site actif de la COX-2 sont représentés dans le tableau 08. Dans le but d'établir une relation entre les résultats du docking moléculaire et les données expérimentales, nous avons reporté dans un même tableau les valeurs théoriques des affinités et les IC_{50} obtenus *in vitro*.

Tableau 08 : Résultats théoriques de l'affinité obtenue par Surflex des trois molécules d'extrait de gingembre dans le site actif du COX-2 et leurs relations avec les données expérimentales (IC_{50}).

Composé	Structure	IC_{50} (μM)	Affinité (M^{-1})
6-shogaol		2.1	3.27
10-shogaol		7.5 ± 0.6	2.81

8-gingérol		10	2.43
-------------------	---	----	------

Les résultats de l'affinité obtenue par Surflex-dock seront trouvés dans l'annexe 03.

Le tableau 08 montre que le score d'affinité de 6-shogaol (3.27 M^{-1}) est meilleur que celui de 10-shogaol (2.81 M^{-1}) et 8-gingérol (2.43 M^{-1}). Ce résultat révèle que les scores d'affinité des trois molécules s'accordent parfaitement avec les résultats expérimentaux des IC_{50} obtenus dans des tests *in vitro* par van Breemen et al (2011).

Pour sélectionner et développer un composé en un médicament, il ne suffit pas de se fier uniquement à son affinité avec l'enzyme, il est également primordial que ses propriétés pharmacocinétiques soient efficaces et qu'il ne soit pas toxique.

C'est pour cette raison nos résultats obtenus ont été complétés par l'étude des propriétés pharmacocinétiques et toxiques de chaque molécule étudiée (voir le tableau 09).

2.2. Filtrage ADMET des trois molécules étudiées

Il ressort du tableau 09 que les composés 6-shogaol, 10-shogaol et 8-gingérol peuvent traverser la barrière gastro-intestinale pour atteindre la circulation sanguine. De plus, les trois molécules peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique donc peuvent atteindre le système nerveux central, à l'exception du composé 6-shogaol qui inhibe potentiellement les 4 isoenzymes des cytochromes P450 sauf CYP 3A4, le composé 8-gingérol inhibe 1 parmi 5 isoenzymes des cytochromes P450. Enfin, le composé 10-shogaol a été prédit d'avoir un effet inhibiteur vis-à-vis de 3 parmi les 5 isoformes des cytochromes P450. Il convient de mentionner que les cytochromes P450 sont responsables du métabolisme de la plupart des médicaments dans le foie. Les trois molécules leurs demi-vie est courte.

Les résultats de la toxicité, montrent que le composé 6-shogaol a montré des risques positifs en toxicité respiratoire, corrosion oculaire, cancérogénicité et des risques médium pour la sensibilisation cutanée. Le composé 10-shogaol a montré des risques positifs en toxicité respiratoire, corrosion oculaire, et en sensibilisation cutanée.

En revanche le composé 8-gingérol ne provoque aucun risque, seulement des risques moyens pour la toxicité respiratoire et la sensibilisation cutanée.

Tableau 09 : les résultats de filtrage ADMET des composés 6-shogaol, 10-shogaol et 8-gingérol à partir des serveurs ADMETlab 2.0 et PreADMET.

Phase	Paramètre	6-shogaol	10-shogaol	8-gingérol
Absorption	GI absorption	Elevée	Elevée	Elevée
Distribution	BBB	Oui	Oui	Oui
Métabolisme	CYP1A2	Oui	Oui	Oui
	CYP2C19	Oui	Non	Non
	CYP2C9	Oui	Non	Non
	CYP2D6	Oui	Oui	Non
	CYP3A4	Non	Oui	Non
Elimination	t ½	0.861	0.925	0.887
Toxicité	Toxicité respiratoire	Positive	Positive	Risque medium
	Corrosion oculaire	Positive	Positive	Négative
	Cancérogénicité	Positive	Négative	Négative
	Sensibilisation cutanée	Risque medium	Positive	Risque medium
	Toxicité aiguë par voie orale chez les rats	Négative	Négative	Négative
	Test AMES	Non mutagène	Non mutagène	Non mutagène
	Test d'inhibition de hERG	Négative	Négative	Négative
	H-HT	Négative	Négative	Négative

En conclusion, le 8-gingérol a présenté des profils ADMET favorables, pour une application biologique, en tant que candidat médicament. En revanche les résultats de la toxicité potentielle des composés 6-shogaol et 10-shogaol ont montré que ces derniers présentent des profils non favorables.

2.3 Les similaires

Dans l'espoir de développer des nouveaux inhibiteurs plus puissants de la COX-2, l'inhibiteur 8-gingérol a été choisie comme molécule de départ, pour une étude de 65 similaires avec un taux de similarité 99%, proposé à partir de la banque de données PubChem. Le docking moléculaire par le programme Surflex-dock de ces similaires avec la COX-2 fait ressortir 37 composés (56.92% du total des similaires) ayant une affinité bien meilleure que celle du composé de départ 8-gingérol qui, à titre de rappel, égale à 2.43 M^{-1} .

Le numéro d'accèsion, le classement et le score de docking de ces composés prometteurs sont illustrés dans l'Annexe 2. Seuls, les résultats des huit meilleurs similaires, classés par leur affinité sont représentés dans le tableau N°10.

Tableau 10 : Classement, numéro d'accèsion et affinité des huit meilleurs similaires.

Composé	Code CID	Affinité (M^{-1})
C1	138454478	4.53
C2	168115	4.32
C3	5275726	4.32
C4	46901319	4.27
C5	137432147	4.14
C6	86067887	4.10
C7	166124497	4.04
C8	5275725	4.01

Il ressort du tableau 10 que les composés C1, C2, C3 et C4 se présentent comme meilleurs inhibiteurs de la COX-2 avec des scores respectifs de 4.53, 4.32, 4.32 et 4.27 M⁻¹.

3. Filtrage ADMET des meilleurs inhibiteurs

3.1. Propriétés physico-chimiques

Nous avons prédit les paramètres physico-chimiques des quatre meilleurs similaires en utilisant le serveur SwissADME.

Tableau 11 : Propriétés physico-chimiques des quatre meilleurs similaires.

Propriétés	C1	C2	C3	C4
Formule	C17H26O4	C21H34O4	C21H34O4	C15H22O4
PM (g/mol)	294.4	350.49	350.49	266.33
Log P	2.727	4.62	4.62	2.28
n.ON	4	4	4	4
n.OHNH	2	2	2	2
n.LF	10	14	14	8
TSPA	66.76 Å ²	66.76 Å ²	66.76 Å ²	66.76 Å ²
Règle de Lipinski	Validé	Validé	Validé	Validé
Règle de Veber	Validé	Non validé	Non validé	Validé
Solubilité dans l'eau	Soluble	Moyennement soluble	Moyennement soluble	Soluble

Accessibilités à la synthèse	2.51	3.26	3.26	2.59
-------------------------------------	------	------	------	------

Les résultats du tableau 11 montrent que le poids moléculaire des quatre composés ne dépasse pas 500 g/mol, facilitant ainsi leur pénétration dans les membranes biologiques. Les deux composés C1 et C4 sont en parfait accord avec les règles de Lipinski et Veber, ce qui indique qu'ils peuvent être pris par voie orale, que ce n'est pas le cas des deux autres composés (C2 et C3), qui s'écartent de la règle de Veber en raison de la présence de plus de 10 liaisons flexibles. De plus, ces deux composés sont moyennement solubles dans l'eau, contrairement aux deux molécules C1 et C4, qui peuvent se dissoudre dans les milieux aqueux tels que le sang pour atteindre leur site d'action. Le dernier critère étudié est l'accessibilité à la synthèse et dans notre cas, les quatre composés indiquent qu'ils peuvent être synthétisé chimiquement, cette évaluation étant basée sur des chiffres allant de 1 (facile à synthétiser) jusqu'à 10 (difficile à synthétiser).

3.2. Propriétés pharmacocinétiques

Pour obtenir une vision la plus complète possible des caractéristiques ADME des quatre meilleurs similaires, il était nécessaire d'évaluer les propriétés pharmacocinétiques via les deux serveurs SwissADME et ADMETlab 2.0.

Tableau 12 : Propriétés pharmacocinétiques des meilleurs similaires à partir des serveurs SwissADME et ADMETlab 2.0.

Propriétés	C1	C2	C3	C4
GI absorption	Élevée	Élevée	Élevée	Élevée
BBB	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP1A2	Oui	Oui	Oui	Non
CYP2C19	Non	Non	Non	Non
CYP2C9	Non	Non	Non	Non

CYP2D6	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP3A4	Non	Oui	Oui	Non
t_{1/2} (Half-Life)	0.927	0.823	0.823	0.925

- **Absorption**

Toutes les molécules ont une perméabilité gastro-intestinale élevée. Ces composés peuvent donc traverser la barrière gastro-intestinale pour arriver au sang avec une concentration thérapeutique efficace.

- **Distribution**

Selon les résultats du test BBB, les quatre composés présentent une capacité à franchir la barrière hémato-encéphalique.

- **Métabolisme**

Ces isoenzymes de cytochrome P450 jouent un rôle très important dans le métabolisme des médicaments. D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que le cytochrome CYP3A4 est inhibé par toutes les molécules étudiées, par contre, nous avons remarqués l'absence d'inhibition des cytochromes CYP2C19 et CYP2C9 par ces dernières. Nous avons observé également que toutes les molécules inhibent CYP1A2 à l'exception de la molécule C4, par ailleurs le cytochrome CYP3A4 inhibe par les deux similaires C2 et C3.

- **Excrétion**

La demi-vie ($t_{1/2}$) équivaut au temps qu'il faut pour que la concentration sanguine d'un médicament diminue à la moitié. Ce test montre que toutes les molécules possèdent un temps de demi-vie court.

3.3. Toxicité

Les serveurs PreADMET et ADMETlab 2.0 ont été utilisés pour simuler la toxicité potentielle des composés d'intérêt. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 13.

Tableau 13 : toxicité potentielle des quatre meilleurs similaires à partir des serveurs PreADMET et ADMETlab 2.0.

Test	C1	C2	C3	C4
Test d'Ames	Non mutagène	Non mutagène	Non mutagène	Non mutagène
hERG inhibitors	Risque faible	Risque faible	Risque faible	Risque faible
Cancérogénicité pour les souris	Négative	Négative	Négative	Négative
Cancérogénicité pour les rats	Négative	Négative	Négative	Négative
H-HT	Non toxique	Non toxique	Non toxique	Non toxique
Algae-at.	0.0128751	0.00363078	0.00363078	0.0258096
Daphnia-at.	0.0616625	0.0117833	0.0117833	0.182241
Medaka-at.	0.00587688	0.00025129	0.00025129	0.046247
Minnow-at.	0.00907974	0.000331235	0.000331235	0.0452168
Sensibilité cutanée	Risque medium	Positive	Positive	Négative
Toxicité respiratoire	Risque medium	Risque medium	Risque medium	Négative

Les résultats du tableau 13 montrent que les quatre similaires n'ont pas un effet mutagène c'est-à-dire qu'ils ne changent pas le matériel génétique. Cependant, il a été prédit que toutes ces molécules n'ont aucun effet cancérigène sur les souris et les rats. En ce qui concerne le test d'inhibition du gène hERG, aucun risque n'a été démontré pour les quatre composés. Toutes les molécules n'ont aucun pouvoir toxique sur le foie. De plus, les résultats obtenus des tests de toxicité aiguë sur les différentes espèces aquatiques étaient prometteurs pour tous

les composés. Toutefois, on a un risque medium sur la peau par le composé C1, et un effet positif par les deux composés C2 et C3. La molécule C4 n'a aucune sensibilité cutanée. De plus, Les molécules C1, C2 et C3 peuvent provoquer un risque moyen dans le cas de la toxicité respiratoire, par contre la molécule C4 ne provoque aucun problème respiratoire.

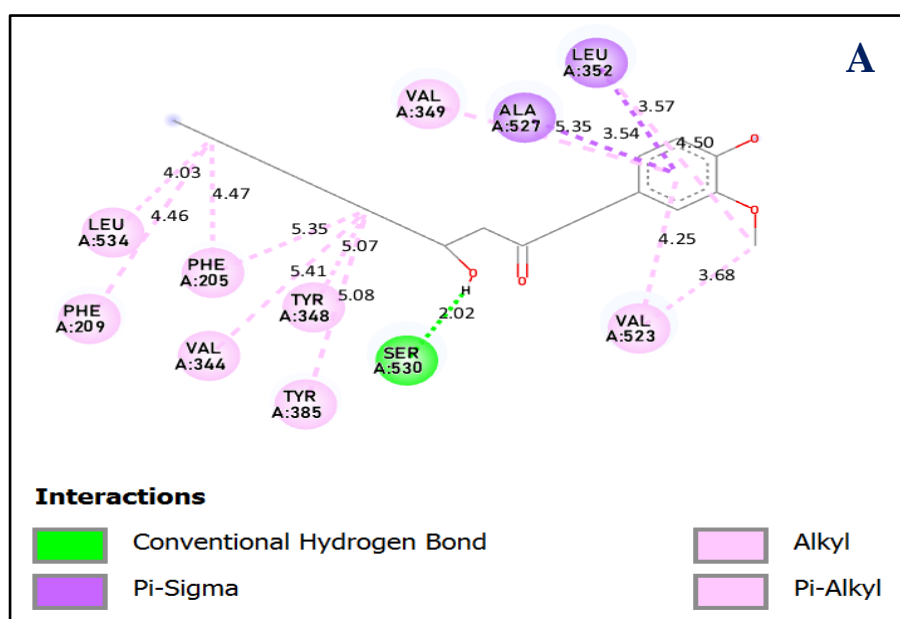
En conclusion, l'étude théorique que nous avons menée sur l'inhibition de la COX-2 fait ressortir la molécule C4 (4-gingérol) comme nouvel inhibiteur de cette enzyme, présentant ainsi un profil ADMET favorable pour une application biologique.

4. Etude des interactions du cyclooxygénase-2 – inhibiteur

Afin de compléter notre étude, une étude des interactions des composés 8-gingérol et son similaire 4-gingérol a été réalisé envers l'enzyme COX-2.

4.1. Etude d'interaction du composé 8-gingérol

Le composé 8-gingérol se présente comme inhibiteur naturel de la COX-2 obtenu dans cette étude avec un score de 2.43 M^{-1} . L'analyse visuelle montre la présence d'une seule liaison hydrogène conventionnelle formée entre ce composé et l'acide aminé Ser530 de la COX-2. De plus, il y a deux liaisons de type pi-sigma avec Ala527 et Leu352. Le complexe COX-2–8-gingérol est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques, dont deux de type alkyl impliquant les résidus Phe205, Phe209, Val344, Tyr348, Val349, Tyr385, Val523, Leu534 (**Figure 27**).



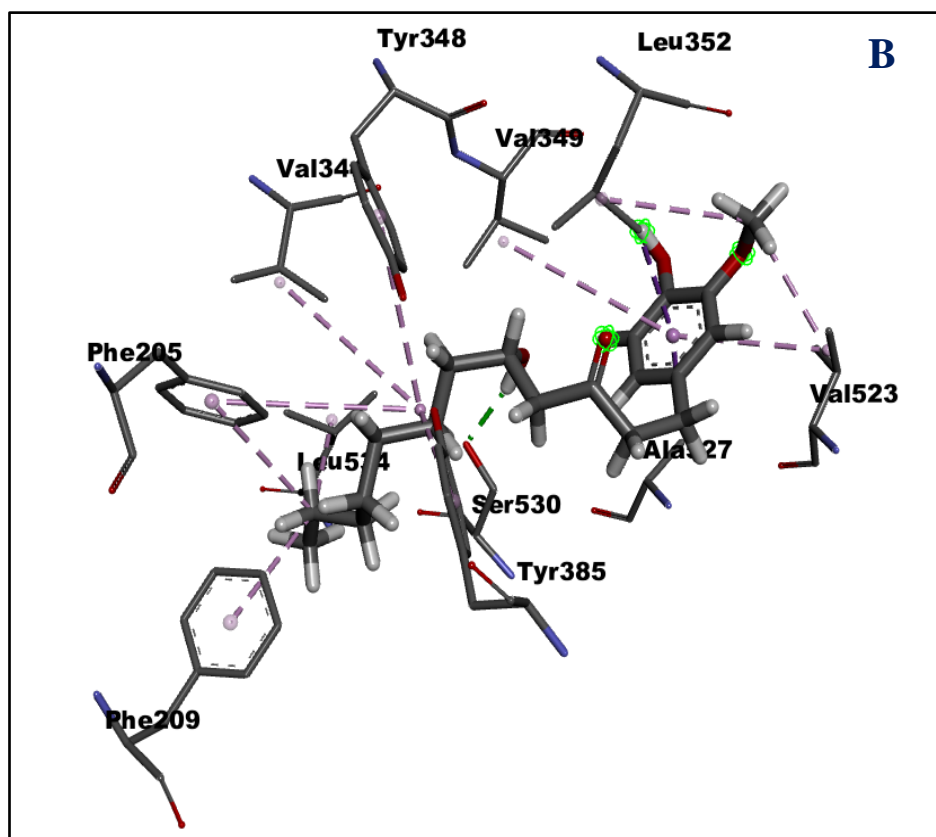


Figure 27 : Mode d'interaction 2D (A) et 3D (B) du 8-gingérol avec le site actif de la COX-2.

Les détails de ces interactions sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 14 : Les liaisons établies par le composé 8-gingérol avec le site actif de la COX-2.

Liaison	Interaction	Type	Distance (Å)
1	O (N° 1)H (N° 43) de l'AA : Ser530	Conventional Hydrogen Bond	2.02
2	Cycle benzénique.....l'AA : Ala527	Pi-sigma	3.54
3	Cycle benzénique.....l'AA : Leu352	Pi-sigma	3.57
4	C (N°23)l'AA : Leu352	Alkyl	4.50
5	C (N°23)l'AA : Val523	Alkyl	3.68
6	C (N°5)l'AA : Val344	Alkyl	5.41

7	C (N°13)l'AA : Leu534	Alkyl	4.03
8	Cycle benzénique.....l'AA : Val349	Pi-alkyl	5.35
9	C (N°5)l'AA : Tyr385	Pi-alkyl	5.08
10	C (N°5)l'AA : Tyr348	Pi-alkyl	5.07
11	Cycle benzéniquel'AA : Val523	Pi-alkyl	4.25
12	C (N°5)l'AA : Phe205	Pi-alkyl	5.35
13	C (N°13)l'AA : Phe205	Pi-alkyl	4.47
14	C (N°13)l'AA : Phe209	Pi-alkyl	4.46

4.2. Etude d'interaction du composé 4-gingérol

Le composé 4-gingérol se présente comme le meilleur similaire obtenu dans cette étude, avec une affinité de $4,27 \text{ M}^{-1}$, nettement meilleure que celle de la molécule de départ, le 8-gingérol, qui a un score de $2,43 \text{ M}^{-1}$. L'analyse visuelle montre que le 4-gingérol est bien positionné dans le site actif de l'enzyme, se traduisant par la formation d'une seule liaison hydrogène conventionnelle entre ce composé et l'acide aminé Tyr385 de la COX-2. De plus, une seule interaction de type unfavorable donateur-donneur est formée avec Arg120 et une seule interaction de type carbone-hydrogène avec Tyr385, alors que le 8-gingérol ne présente pas ces deux derniers types d'interactions spécifiques. En outre, il y a une seule liaison de type pi-sigma avec Ala527, tandis que le 8-gingérol forme deux liaisons de type pi-sigma avec Ala527 et Leu 352. Le complexe COX-2-4-gingérol est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques, dont deux de type alkyl impliquant les résidus Phe381, Val349, Val116, Tyr385, Leu531, Leu359, Leu384 et Met113 (**Figure 28**).

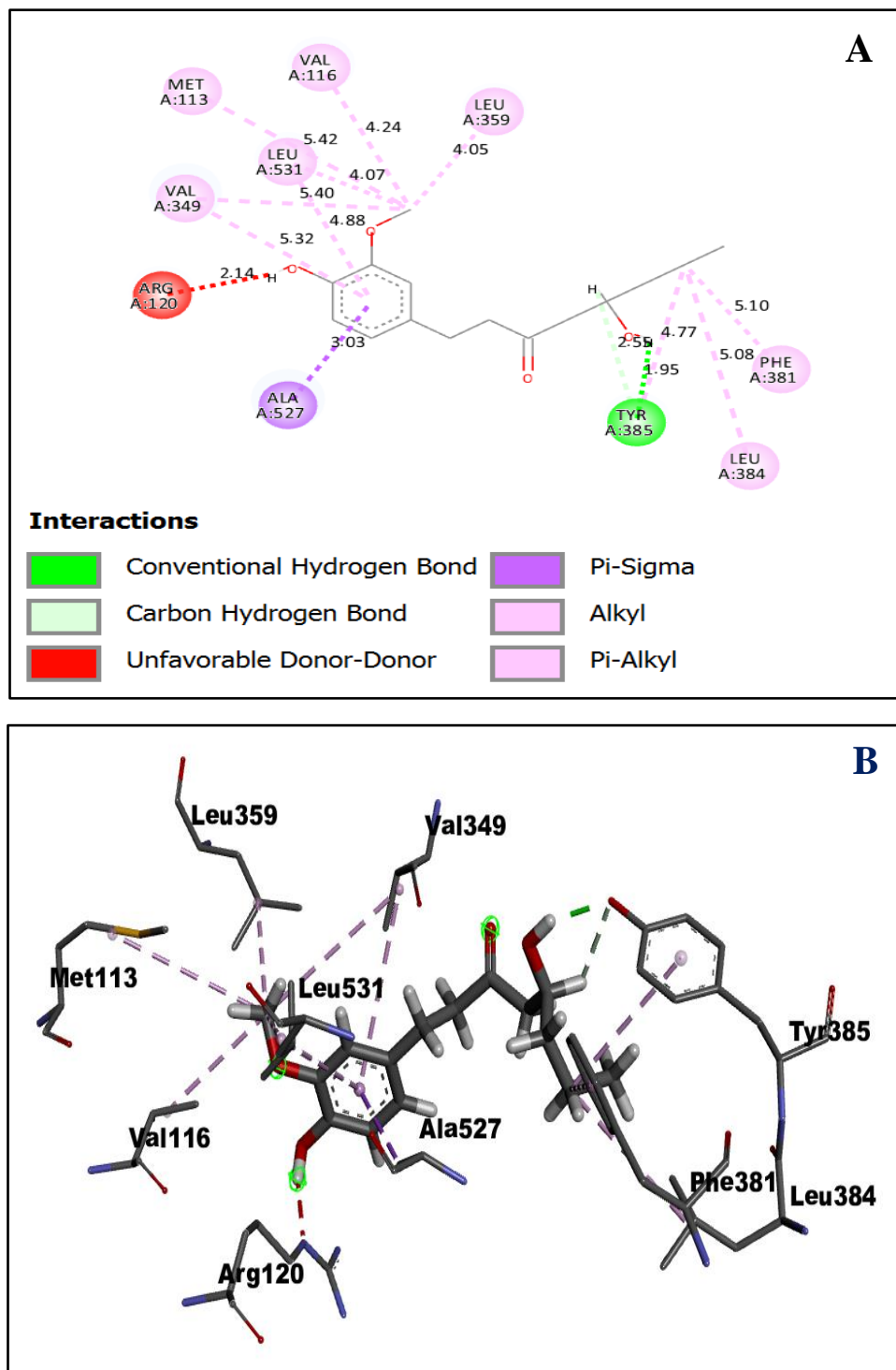


Figure 28 : Mode d'interaction 2D (A) et 3D (B) du 4-gingérol avec le site actif de la COX-2.

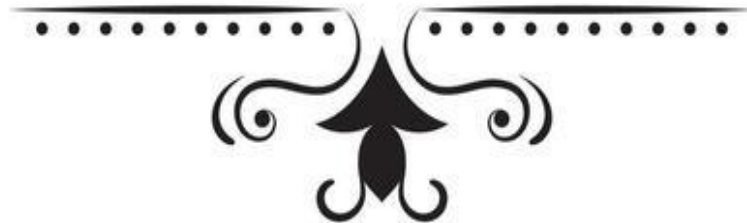
Les détails de ces interactions sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 15 : Les liaisons établies par le composé 4-gingérol avec le site actif de la COX-2.

Liaison	Interaction	Type	Distance (Å)
1	O (N°1)H (N°34) de l'AA : Tyr385	Conventional Hydrogen Bond	1.95
2	H (N°20)l'AA : Tyr385	Carbon Hydrogen Bond	2.55
3	O (N°4)H (N°28) de l'AA Arg120	Unfavorable Donor-Donor	2.14
4	Cycle benzéniquel'AA : Ala527	Pi-sigma	3.03
5	C (N°10)l'AA : Phe381	Pi-alkyl	5.10
6	C (N°10)l'AA : Tyr385	Pi-alkyl	4.77
7	C (N°19)l'AA : Val349	Alkyl	5.40
8	C (N°19)l'AA : Met113	Alkyl	5.42
9	C (N°10)l'AA : Leu384	Alkyl	5.08
10	C (N°19)l'AA : Val116	Alkyl	4.24
11	C (N°19)l'AA : Leu359	Alkyl	4.05
12	Cycle benzéniquel'AA : Leu531	Alkyl	4.07
13	Cycle benzéniquel'AA : Val349	Pi-alkyl	5.32
14	C (N°19)l'AA : Leu531	Pi-alkyl	4.88



Conclusion et perspectives



L'objectif principal de notre travail était de développer *in silico* par docking moléculaire des nouveaux inhibiteurs de l'enzyme cyclooxygénase-2 qui est une cible thérapeutique pour le traitement des maladies inflammatoires.

Dans cette perspective, nous avons tenté tout d'abord d'évaluer la fiabilité du programme Surflex via deux tests. Le premier consiste à calculer l'écart quadratique moyen ou RMSD qui permet d'évaluer la déviation de la pose du ligand simulée par Surflex-Dock vis-à-vis de celle déterminée expérimentalement de 100 complexes protéine-ligand tirés arbitrairement via la PDB. Les résultats montrent que 80% des valeurs RMSD sont inférieures ou égales à 2 Å, ce qui est parfaitement convenable aux normes. Ce test a été conforté par une analyse visuelle menée sur les complexes 4CMU et 5F1A ayant présentés les valeurs de RMSD de 0,079 et 0,999Å respectivement. Il en ressort une bonne superposition des poses des ligands simulées par le logiciel vis-à-vis de celles de référence. Ces deux tests nous apportent la preuve que le programme Surflex (le programme de docking moléculaire) est hautement performant et peut être utilisé en toute fiabilité pour simuler les interactions entre l'enzyme COX-2 et les inhibiteurs étudiés.

Afin de compléter les études *in vivo* de Van Breemen et al (2011), nous avons évalué *in silico* l'affinité des trois inhibiteurs naturels (6-shogaol, 10-shogaol et 8-gingérol) envers l'enzyme COX-2, et d'étudier la pharmacocinétique et la toxicité potentielle de ces trois composés. Le composé 8-gingérol a été choisi, avec une valeur d'IC₅₀ de 10 µM et une affinité de liaison à l'enzyme de 2,43 M⁻¹.

Afin d'améliorer davantage l'affinité avec l'enzyme COX-2, 65 similaires de 8-gingérol avec un taux de similarité 99 % ont été modélisés par docking moléculaire. 37 composés ont donné les meilleurs scores avec des valeurs supérieures à 2.43 M⁻¹.

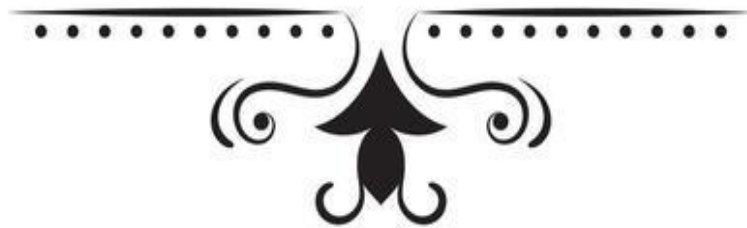
Dans ce travail, nous nous sommes limités aux 4 similaires ayant enregistré les meilleurs scores d'affinité (C1:4.53, C2:4.32, C3:4.32 et C4:4.27 M⁻¹) dont nous avons étudié leurs propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et la toxicité par les serveurs SwissADME, ADMETlab 2.0 et PreADMET. Le similaire C4 (4-gingérol) a présenté des profils ADMET favorables, pour une application biologique, en tant que candidat médicament.

A la fin, nous avons réalisé l'étude d'interaction du composé 8-gingérol et le meilleur composé suggéré (4-gingérol), par la visualisation de ses types de liaisons établies entre lui et l'enzyme cible.

Étant donné que notre étude ici est encore en cours, il sera nécessaire de mener une étude expérimentale supplémentaire *in vitro* et/ou *in vivo* afin de vérifier les résultats théoriques obtenus *in silico*.



Références bibliographiques



A

- Abanoub, A. R., Plitman, E., Senthil, P., Venkatraghavan, L., et Chowdhury, T. (2023). Effects of Anesthetic Agents on Blood Brain Barrier Integrity : A Systematic Review. *Journal of Neurological Sciences*. **50**(6), 1.
- Abeysekera, W. P., Premakumara, G., Ratnasooriya, W., et Abeysekera, w. (2022). Anti-inflammatory, cytotoxicity and antilipidemic properties : novel bioactivities of true cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) leaf. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. **22**(01), 2.
- Afsar, A. (2011). An overview of inflammation : mechanism and consequences. *Frontiers in Biology*. **6**(4), 274-281.
- Alexia, L. (2019). Sclérose en plaques : la maladie et les avancées thérapeutiques. Thèse Doctorat. Université de Caen Normandie. France. 3p.
- Allam, L. (2020). Conception et évaluation des molécules anticancéreuses par approches *in silico*. Inhibition des kinases AKT1 et LMTK3., Thèse Doctorat. Université Mohammed V. Rabat. Maroc. 202p.
- Allam-Ndoul, B. (2017). Études "omiques" du phénomène inflammatoire associé à l'obésité. Thèse Doctorat. Québec. Canada. Université Laval. 11p.
- Amalia, L. (2020). Inflammation de bas grade : impact dans les maladies cardiovasculaires et prévention micronutritionnelle. Thèse Doctorat. Université de Caen Normandie. France. 12p.
- Athmani, A. S. (2020). Etude par modélisation moléculaire des interactions intermoléculaires dans le système : p-phenylènediamine / acide 3,5-dinitrosalicylique. Thèse Doctorat. Université 8 Mai 1945 Guelma. Algérie. 8p.
- Attari, V. E., Ostadrahimi, A., Jafarabadi, M. A., Mehralizadeh, S., et Mahluji, S. (2016). Changes of serum adipocytokines and body weight following Zingiber officinale supplementation in obese women : a RCT. *European Journal of Nutrition*. **55**(6), 2129–2136.
- Aurélien, G. (2015). Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse Doctorat. Université Joseph Fourier. Grenoble, France.

B

- Belmin, J., Chassagne, P., & Friocourt, P. (2023). *Gériatrie pour le praticien*. 3^{ème} éd. France : Elsevier Masson SAS.
- Bencheikh, B. (2023). Criblage *in silico* des inhibiteurs du SARS-CoV-2 par Docking moléculaire et QSAR. Thèse Doctorat. Université 8 Mai 1945 Guelma. Algérie. 18p.
- Bereksi reguig, M. (2021). Etude phytoécologique de l'habitat de quelques caelifères (orthoptères) suivie par une étude *in silico* de la lutte biologique contre *Dociostaurus maroccanus* principale espèce rencontrée dans la région Sud-Ouest de Tlemcen. Thèse Doctorat. Université Tlemcen., Algérie. 185p.
- Bivia Discovery Studio 2020 Client 20.1. [En ligne] <https://biovia-discovery-studio-2020-client.software.informer.com/20.1/>. Consulté le [29-4-2024].
- Boinet, T., et Claire, L. (2021). L'asthme chez l'adulte. *Actual Pharm.* **60**(603), 13-17.
- Bouchagra, S. (2018). Modelisation des interactions proteine-petites molecules : etude de la relation structure – fonction dans le cas des lipases. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar- Annaba. Algérie. 74p.
- Boucherit, H. (2020). Recherche *in silico* de nouveaux composés bioactifs et applications à l'inhibition de la méthionine aminopeptidase. Thèse Doctorat. Université Frères Mentouri - Constantine 1. Algérie. 32p.
- Boucherit, H., Chikhi, A., Mokrani, E. H., & Merzoug, A. (2013). L'amarrage moléculaire : une nouvelle approche pour lutter contre le développent de la tuberculose. *Rev. Microbiol. Ind. San. et Environn.* **7**(2), 133-149.
- Boudjedir, A. (2022). Etude structurale sur le mode d'inhibition de l'enzyme Topoisomérase 1 responsable de la prolifération de cellules cancéreuses. Thèse Doctorat. Universite Badji Mokhtar - Annaba. Algérie.
- Boukhari, A. H. (2019). Etude de la corrélation entre la vitesse de sédimentation des hématies et la protéine C réactive dans la recherche d'un syndrome inflammatoire. [En ligne] <https://www.researchgate.net/publication/>. Consulté le [5-4-2024].

- Boukhatem, M., et Belkadi, A. (2021). Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : quelle place pour la phyto-aromathérapie ? *Algerian Journal of Health Sciences*. **3**(3), 60.
- Bouvier, G. (2010). Etude d'inhibiteurs de l'intégrase du VIH-1 par RMN et modélisation moléculaire. Thèse Doctorat. Université Pierre et Marie Curie. Paris. France. 48p.
- Brunelle, M. (2003). Expression et régulation de la cyclooxygénase-2 dans les cellules mammaire canines normales et néoplasiques *in vitro*. Thèse Doctorat. Université de Montréal. Montréal. Canada.

C

- Calvino, B. (2021). Resolution phase of inflammation, an active phase orchestrated by the role of proresolving mediators : Resolvins, protectins, and maresins. *Douleurs : Évaluation - Diagnostic - Traitement*. **22**(5–6), 219-231.
- Chagas, C. M., Moss, S., et Alisaraie, L. (2018). Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions : Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International journal of pharmaceutics*. **549**(1-2), 134. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.07.046>
- Chevrollier, N. (2019). Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Thèse Doctorat. Université Paris-Saclay. Paris. France. 39p.
- Chikhi, A., et Bensegueni, A. (2008). Docking Efficiency Comparison of Surflex, a Commercial Package and Arguslab, a Licensable Freeware. *Journal of Computer Science and Systems Biology*. **1**(1), 82.
- Chiurchiù, V., Leuti, A., et Maccarrone, M. (2018). Bioactive Lipids and Chronic Inflammation : Managing the Fire Within. *Frontiers en Immunology*. **9**(38), 1.
- Cho, C. H. (2017). *Therapeutic Targets for Inflammation and Cancer. Dans Novel Therapies for Digestive Diseases*. 1^{ère} éd. Singapore : World Scientific. 1p.
- Christine Béné, M., Martiez Aguilar, P., et Lanse, D. (2018). *Guide des analyses en hématologie*. France : Elsevier Masson. 23p.
- Coester, Deny, et Coester, Valerie. (2020). *Les secrets d'une bonne immunité*. France : Albine Michel.

Coff, C., LADANG, A., et Gothot, A. (2022). Les marqueurs biologiques de l'inflammation : faisons le point. *Med Liege*. **77**(5-6), 258.

Coulibaly, O., et Coulibaly, O. N. (2019). Apport de la protéine C- réactive dans les pathologies infectieuses chez les enfants de 0 à 15 ans. Thèse Doctorat. Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako. Bamako. Mali. 17p.

D

Dahlgren, D., et Lennernäs, H. (2019). Intestinal Permeability and Drug Absorption : Predictive Experimental, Computational and *In Vivo* Approaches. *Pharmaceutics*, **11**(8), 411.

Dalia, F. (2021). Etude des principales plantes médicinales aromatiques utilisées traditionnellement en infectiologie respiratoire dans le nord-est algérien. Thèse Doctorat. Université Salah Boubnider Constantine 3. Constantine, Algérie, 180p.

Daouphars, M. (2004). Mécanismes d'action des AINS en relation avec la prolifération cellulaire et l'apoptose. Thèse Doctorat. Université Henri Poincaré-Nancy 1. Nancy. France.

Déroulement d'un test d'Ames. (2006). [En ligne] https://www.researchgate.net/figure/Deroulement-dun-test-dAmes-Copyright-C-2006-Pearson-Education-Inc_fig3_285061897. Consulté le [10-5-2024].

Devaux, S., Kamel, S., Quignard, J., et Séronie-Vivien, S. (2023). *Biochimie-Physiologie Physiopathologie*. 1^{ère} éd. France : Elsevier Masson.

Diallo, I. (2019). Potentiels anti-oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de *Lentinula edodes* (Shiitake) sous différentes conditions de culture. Thèse Doctorat. Université Montpellier. France. 51p.

E

Empereur-Mot, C. (2017). Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité and Screening Explorer. Thèse Doctorat. Université des sciences appliquées et des arts de la Suisse méridionale (SUPSI). Paris. 26p.

Eric, W. B., et Zhang, Y. (2019). DockRMSD : an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *Journal of Cheminformatics*. **11**(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>

F

Falcone, M. (2020). Maladies inflammatoires chroniques des intestins, proposition d'outils d'aide à la dispensation. Thèse Doctorat. Université d'Aix Marseille. France. 17p.

Feddal-bouchebaba, S. (2018). Etude structural et conception *in silico* de molécules présentant un profil anti-inflammatoire. Thèse Doctorat. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene. Bab Ezzouar. Algérie. 60-61p.

Ferrer, M. D., Busquets-Cortés, C., Capó, X., Tejada, S., Tur, J. A., Pons, A., et Sureda, A. (2019). Cyclooxygenase-2 Inhibitors as a Therapeutic Target in Inflammatory Diseases. *Current medicinal chemistry*. **26**(18), 3225–3241.

Fukunishi, Y., Kurosawa, T., Yoshiaki, M., et Nakamura, H. (2014). Prediction of Synthetic Accessibility Based on Commercially Available Compound Databases. *Journal of Chemical Information and Modeling*. **54**(12), 3259.

Fuller, B. (2019). Role of PGE-2 and Other Inflammatory Mediators in Skin Aging and Their Inhibition by Topical Natural Anti-Inflammatoires. *Cosmetics*. **6**(1), 6.

G

Garavit, R. M., et Anne, M. M. (2003). The Structure of Mammalian Cyclooxygenases. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*. 32, p. 184.

Garrido, A., Lepailleur, A., Mignani, S. M., Dallemagne, P., et Rochais, C. (2020). hERG toxicity assessment: Useful guidelines for drug design. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **195**(112290), 113. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112290>

Gholamreza, A., Aghajani, M., Salehi, M., Najafgholizadeh, A., Keshavarzpour, Z., et Pourmasoumi, M. (2022). The effects of ginger supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in adults : A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Herbal Medicine*. **22**, 2.

- Girgis, H. (2012). Anti-inflammatoires non stéroïdiens : une vieille classe innovante pour le traitement du traumatisme crânien ? Thèse Doctorat. Université René Descartes. Paris. Français.
- González, M., Jiménez, B., Berciano, M., González-Sancho, J. M., Caelles, C., Lafarga, M., et Muñoz, A. (2000). Glucocorticoids antagonize AP-1 by inhibiting the Activation/ phosphorylation of JNK without affecting its subcellular distribution. *The Journal of cell biology*. **150**(5), 1199-1207. <https://doi.org/10.1083/jcb.150.5.1199>
- Goodman, G., et Wilson, R. (1991). Predicting the carcinogenicity of chemicals in humans from rodent bioassay data. *Environmental Health Perspectives*. **94**, 196.
- Goujon, E. (2015). Etude de la toxicité de la sulcotrione et de ses produits de photo dégradation. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. France. 156p.
- Grosser, T., Fries, S., et Garret, A. (2006). Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition : therapeutic challenges and opportunities. *The Journal of clinical investigation*. **116**(1), 4–15. <https://doi.org/10.1172/JCI27291>
- Guibedj, D. (2019). Les complexes métalliques du methoxyphenyl N-sulfamoyloxazolidinone avec Cu(II) et Co(II): Mise en évidence, études par DFT/B3LYP (B2PLYP) et docking moléculaire. Thèse Doctorat. Université 8 Mai 1945 Guelma. Algérie. 66p.
- Gyöngyösi, A., Verner, V., Bereczki, I., Kiss-Szikszai, A., Zilinyi, R., Tószaki, Á., Bak, I., Borbás, A., Herczegh, P., et Lekli, I. (2021). Basic Pharmacological Characterization of EV-34, a New H₂S-Releasing Ibuprofen Derivative. *Molecules*. **26**(3),1.

H

- Hammad, S. (2020). Conception par bioinformatique et modelisation moleculaire de nouvelles molecules bioactives dans le domaine du cancer. Thèse Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou (UMMTO). Tizi-ouzou. Algérie, 131p.
- Hannoodee, S., et Nasuruddin, D. N. (2022). *Acute Inflammatory Response*. StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556083/>
- Hawinger, J., et Zienkiewicz, J. (2019). Decoding inflammation, its causes, genomic responses, and emerging countermeasures. *Scandinavian journal of Immunology*. **90**(6), 2.

- Hétu, P. O. (2008). Rôle de la cyclo-oxygénase-2 constitutive dans la synthèse des prostaglandines et caractérisation de ses relations avec les prostaglandines synthèses terminales. Thèse Doctorat. Université de Montréal. Montréal. Canada.
- Hinz, B., & Brune, K. (2002). Cyclooxygenase-2–10 Years later. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2(300), 367-375.
- Hoballah, N. (2018). La sclérose en plaques : histoire, physiopathologie et thérapeutiques actuelles. Thèse Doctorat. Université Grenoble Alpes. Grenoble. France. 16p.
- Hoffer, L. (2013). Développement et validation du logiciel S4MPLE : application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design. Thèse de Doctorat. Université de Strasbourg. France. 16p.
- Howardell, M. (2006). Trends in COX-2 Inhibitor Research. Nova Biomedical. New York. Etats-Unis.

J

- Jacques, R. S. (2024). Sommes-nous (tous) immortels ? [En ligne] <https://www.agoravox.fr/tribune-libre/article/sommes-nous-tous-immortels-253109>. Consulté le [5-4-2024].
- Jain, N. A. Surflex: fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2003; 46 (4): 499-511.
- Jiyu, F., Ailing, F., et Zhang, L. (2019). Progress in molecular docking. *Quantitative Biology*. 7(2), 85. <https://doi.org/10.1007/s40484-019-0172-y>
- Johnson, D. (2012). Estimating Human Cancer Risk from Rodent Carcinogenicity Studies : The Changing Paradigm for Pharmaceuticals. *Journal of Drug Metabolism and Toxicology*. 3(6), 3-5. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7609.1000e114>
- Jouzeau, J. Y., Daouphars, M., Benani, A., et Netter, P. (2004). Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*. 28(3),7-17. [https://doi.org/10.1016/s0399-8320\(04\)95274-8](https://doi.org/10.1016/s0399-8320(04)95274-8)

K

- Kang, I. J., Yokota, H., Oshima, Y., Tsuruda, Y., Yamaguchi, T., Maeda, M., Imada, N., Tadokoro, H., et Honjo, T. (2002). Effect of 17beta-estradiol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*. **47**(1), 72.
- kada, S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse doctorat. Université Ferhat abbas Sétif 1. Algérie. 6-11p.
- Kaipeng, J., Chao, Q., et Jinti, L. (2023). Cyclooxygénase-2 prostaglandin E2 pathway : A key player in tumor-associated immune cells. *Chiara Focaccetti*. **13**(1099811), 1.
- Kalgutkar, A. (2005). Selective cyclooxygenase-2 inhibitors as non-ulcerogenic anti-inflammatory agents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. **9**(7), pp. 831-849.
<https://doi.org/10.1517/13543776.9.7.831>
- Kanso, F., Khalil, A., Noureddine, H., et El-Makhour, Y. (2021). Therapeutic perspective of thiosemicarbazones derivatives in inflammatory pathologies : A summary of in *vitro*/in *vivo* studies. *International Immunopharmacology*. **96**, 2.
- Kathleen, M., David, A., Harper, H. A., Victor, W., Peter, K., & weil, A. (2017). *Biochimie de Harper*. 6^{ème} éd. Belgique : De Boeck Supérieur. 8p.
- Kawai, S., Foster, A. S., Björkman, T., Nowakowska, S., Björk, J., Canova, F. F., Gade, L. H., Jung, T. A., et Meyer, E. (2016). Van der Waals interactions and the limits of isolated atom models at interfaces. *Nature communications*. **7**(11559), 1-7.
- Kernouf, N. (2019). Effet des extraits de *Capparis spinosa* sur la production des médiateurs inflammatoires des neutrophiles et des monocytes. Thèse Doctorat. Université Ferhat abbas Sétif 1. Algérie .21p.
- Keval, R., et Tejas, G. (2022). Basics, types and applications of molecular docking : A review. *IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology*. **7**(1), 13.
<https://doi.org/10.18231/j.ijcaap.2022.003>
- Khalil, N. M., Sperotto, J. S., et Manfron, M. P. (2006). Antiinflammatory activity and acute toxicity of *Dodonaea viscosa*. *Fitoterapia*. **77**(6), 479.
- Khensous, G. (2019). Docking Moléculaire. Thèse Doctorat. Université des sciences et de la technologie d'oran Mouhamed Boudiaf. Oran. Algérie. 41p.

Kherbache, A. (2023). Activités anti-inflammatoires et antioxydantes d'extraits de *Helichrysum stoechas* (L.) Moench. Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Sétif. Algérie. 11p.

Kreutzer, J., Deluca, J., et Bruce, C. (2018). *Encyclopedia of Clinical Neuropsychology*. 2^{ème} éd. New York London : Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-79948-3>

L

La réaction inflammatoire. [En ligne] <https://www.maxicours.com/se/cours/la-reaction-inflammatoire/>. Consulté le [26-3-2024].

Lacavé-Lappalum, J.-V. (2013). Réponse immunitaire induite par l'irradiation colorectale : manipulation thérapeutique des « toll like receptors ». Thèse d Doctorat. Université Pierre et Marie-Curie. Paris. France. 27p.

Lalout, W. n. (2016). Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules : Cas de la Maladie de Parkinson. Thèse Doctorat. Université Abou bekr Belkaid de Tlemcen. Tlemcen. Algérie. 46p.

Lefief-Delcourt, A., et Proust-Millon, L. (2018). *Le grand livre de l'alimentation anti-inflammatoire*. France.

Levy, D. D., Zeiger, E., Escobar, P. A., Hakura, A., van der Leede, B. M., Kato, M., Moore, M. M., et Sugiyama, K. I. (2019). Recommended criteria for the evaluation of bacterial mutagenicity data (Ames test). *Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis*. 848(403074), 2.

Llorens, O., Perez, J. J., Palomer, A., et Mauleon, D. (2002). Differential binding mode of diverse cyclooxygenase inhibitors. *Journal of molecular graphics and modelling*. **20**(5), 359–371. [https://doi.org/10.1016/s1093-3263\(01\)00135-8](https://doi.org/10.1016/s1093-3263(01)00135-8)

Lombardi, S. (2023). *Régime Anti-Inflammatoire*. Norderstedt Allemagne : Books on Demand.

M

Marnett, L. J., Rowlinson, S. W., Goodwin, D. C., Kalgutkar, A. S., et Lanzo, C. A. (1999). Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition. *The Journal of biological chemistry*. **274**(33), 22903–22906.

- Mazières, B., Laroche, M., Arnoud, C., et Cantagrel, A. (2018). *Rhumatologie pour le praticien*. France : Elsevier Masson.
- Mazieres, B. (2023). *Rhumatologie Orthopide*. France : Elsevier Masson.
- Merzoug, A. (2018). Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition de la peptidase déformylase. Thèse Doctorat. Université Frères Mentouri Constantine 1. Constantine. Algérie. 20-21p.
- Meulemans, H. (2021). Le traitement de l'asthme et les nouvelles approches thérapeutiques de prise en charge. Thèse Doctorat. Université de Bordeaux. Bordeaux. France. 9p.
- Mokrani, E. H. (2020). Identification par criblage virtuel et analyses biologiques de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Thèse Doctorat. Université Frères Mentouri Constantine 1. Constantine, Algérie,
- Mokrani, E. h. (2020). Introduction et rappels bibliographique. [En ligne] https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2020/cours_docking-MOKRANI.pdf. Consulté le [13-4-2024].
- Mouffouk, C. (2019). Evaluation des activités biologiques et étude de la composition chimique de la plante *Scabiosa stellata L.* Thèse Doctorat. Université de Batna 2. Batna. Algérie. 25p.
- Multhoff, G., Molls, M., et Radons, J. (2012). Chronic inflammation in cancer development. *Frontiers in immunology*, **2**(98),2.

O

- O'Boyle, N. M., Banc, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., et Hutchison, G. R. (2011). Open Babel : An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*. **3**(33), 1-2. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
- Okombe, E., et Nzuzi, M. (2019). Etude de l'activité antibactérienne (*in vitro*) des Extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (*Allium Sativum L.*). *Journal of Applied Biosciences*. **141**, 14419 – 14425. <https://dx.doi.org/10.4314/jab.v141i1.7>

P

- Padilla, S., Cowden, J., Hinton, D., Bonny, Y., Sheran, L., Rodney, J., Doris, W. T. (2009). Use of medaka in toxicity testing. *Current Protocols in Toxicology*. **1**(1).

- Pahwa, R., Goyal, A., Jialal, I., et Pankaj, B. (2023). Chronic Inflammation. [En ligne] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>. Consulté le [22-3-2024].
- Parag, J., Ravindra, P., et shukla, s. (2015). *Inflammation : Natural Resources and Its Applications*. 1^{ère} éd. India : Springer. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2163-0>
- Parasuraman, S. (2018). Pathophysiology inflammation and repair. [En ligne] <https://fr.slideshare.net/ParasuramanParasuraman/pathophysiology-inflammation-and-repair#6>. Consulté le [8-4-2024].
- Parc, J. C., Han, S. H., et Inhee, M. J. (2020). Peripheral Inflammatory Biomarkers in Alzheimer's Disease : a brief review. *BMB reports*. **53**(1), 10-19.
- Peterson, L. W., & Artis, D. (2014). Intestinal epithelial cells : regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature reviews. Immunology*. **14**(3), 141.
- Postiaux, G. (2016). *kinésithérapie et bruits respiratoires: Nouveau Paradigme*. Nourrisson, *Enfant, Adulte*. 1^{ère} éd. Paris : Bruxelles-Belgique.
- Poudyal, B. (2021). Molecular Docking Technique. *National Journal of Pharmaceutical Sciences*. **1**(1), 9.
- PubChem. [En ligne] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le [17-4-2024].

Q

- Qiao, X., Xian, L., Paul, R., Jin, L., Wenxiao, P., Jianjie, F., et Aiqian, Z. (2022). Evaluation of the binding performance of flavonoids to estrogen receptor alpha by Autodock, Autodock Vina and Surflex-Dock. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **233**(113323), 2. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113323>

R

- Ranjit, T., Naba, k., et Binoy, K. (2019). La nature et les applications des interactions π - π : une perspective. *Crystal Growth Design*. **19**(2), 524.
- Raunio, H., Kuusisto, M., Juvonen, R., et Pentikainen, O. (2015). Modeling of interactions between xenobiotics and cytochrome P450 (CYP) enzymes, *Frontiers in Pharmacology*. *Frontiers in Pharmacology*. **6**(123), 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00123>
- RCSB Protein Data Bank. [En ligne] <https://www.rcsb.org/>. Consulté le [17-4- 2024].

- Riboulet, V. (2022). Intervention pharmaceutique lors de la délivrance d'ains en automédication. Thèse Doctorat. Université Clermont Auvergne UFR de pharmacie. Beaumont. France. 46p.
- Rosen, F., et Geha, R. (2010). *A clinical companion*. 1^{ère} éd. Bruxelles : De Boeck supérieur.
- Rouzer, C. A., et Marnett, L. J. (2009). Cyclooxygenases: Structural and functional insights. *Journal of Lipid Research*. 50, 29-33. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800042-JLR200>
- Rowlinson, S.W., Kiefer J.R., Prusakiewicz J.J., Pawlitz J.L., Kozak K.R., Kalgutkar A.S., Stallings W.C., Kurumbail R.G., Marnett L.J. 2003. A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *J. Biol. Chem.* 278, 45763-45769
- S**
- Sahebkar, A. (2011). Potential efficacy of ginger as a natural supplement for nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology*. **17**(2), 271-272.
- Scheen, A. (2022). Les médicaments anti-inflammatoires : des anciens classiques aux biothérapies et inhibiteurs de JAK. *Med Liege*. **77**(5-6), 400.
- Soudania, W., Bouachrine, M., Zaki, H., et Hadjadj, F. Z. (2022). Docking moléculaire de 2-chloroéthyl nitroso sulfamides à potentiel anticancéreux cytotoxique alkylant. *RHAZES : Chimie Vert et Appliquée*. **15**, 24.
- Stefaniu, A. (2019). *Molecular Docking and Molecular Dynamics*. London : Intechopen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.77898>
- Stergiopoulos, C., Tsopeles, F., et Valko, K. (2021). Prediction of hERG inhibition of drug discovery compounds using biomimetic HPLC measurements. *ADMET DMPK*. **9**(3), 192.
- SwissADME. [En ligne] <http://www.swissadme.ch/>. Consulté le [17-4- 2024].
- Tanabe, T., et Tohnai, N. (2002). Cyclooxygenase isozymes and their gene structures and expression. *Journal of Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, **68**(69), 97.
- Tétréault, C. (2023). Prise en charge de l'asthme chez les enfants et les adultes. Québec : Institut national d'excellence en santé. 14p.

Tkaczyk, A., Bownik, A., Jaroslaw, D., Krzysztof, K., et Brygiga, s. (2021). *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals. *The Science of the Total Environment*. **763**(9), 21. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143038>

Torres, P. H., Sodero, A. C., Jofily, P., et Silva-Jr, F. (2019). Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *International Journal of Molecular Sciences*. **20**(18), 1.

V

van Breemen, R. B., Tao, Y., et Wenkui, L. (2011). Cyclooxygenase-2 inhibitors in ginger (*Zingiber officinale*). *Fitoterapia*. **82**(1), 5. doi : 10.1016/j.fitote.2010.09.004

Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., et Kopple, K. D. (2002). Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. **45**(12), 2615. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>

ViewerLite. [En ligne] https://viewerlite.software.informer.com/4.2/#google_vignette. Consulté le [29-4- 2024].

W

Wilson, A. G. (2016). *New Horizons in Predictive Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 1^{ère} éd. London : Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600013>

X

Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., Hsieh, C., Yin, M., Zeng, X., Wu, C., Lu, A., Chen, X., Hou, T., et Cao, D. (2021). ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic acids research*. **49**(1), 9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab255>

Xuan-ke, j., Sailaja, V. M., Gui, H., Kun-Yan, W., Chun-Hua, S., Jian-Ying, Z., et Kai-Juan, W. (2021). Genetic variant of cyclooxygénases-2 in gastric cancer : More inflammation and susceptibility. *World Journal Gastroenterol*. **27**(28), 4653-4666.

Y

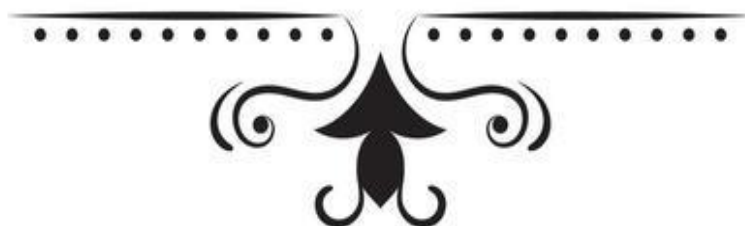
Yakoubi, M. (2022). Etude de la composition chimique et l'activité anti-inflammatoire de l'huile. Thèse Doctorat. Université Mustapha Stambouli. Mascara. Algérie. 37-38p.

Z

- Zeman, F. (2008). Toxicité d'un mélange binaire sur la daphnie *Daphnia magna*. Thèse de doctorat. Université Montpellier 2. Montpellier 2. France.
- Zha, J., Wang, Z., Wang, N., et Ingersoll, C. (2007). Histological alternation and vitellogenin induction in adult rare minnow (*Gobiocypris rarus*) after exposure to ethynylestradiol and nonylphenol. *Chemosphere*. **66**(3),488–495.
- Zhang, W. H., Yang, W. M., Ying, H. Q., Xu, Y. M., Zhang, J., Min, Q. H., et Wang, X. z. (2018). Two new inflammatory markers associated with disease activity score-28 in patients with rheumatoid arthritis : Albumin to fibrinogen ratio and C reactive protein to albumin ratio. *International Immunopharmacology*. **62**, 293.



Annexes



Annexe 01 : Liste des 100 complexes et leur RMSD utilisés pour tester le programme Surflex.

Numéro	Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD (Å)
1	2JB3	BE2	0,043
2	4CMU	IV7	0,079
3	1FKB	RAP	0,234
4	3DI6	DDZ	0,236
5	3D27	W29	0,330
6	3NWB	659	0,350
7	3ARR	PNX	0,391
8	2VTT	LZD	0,423
9	5BWC	HBP	0,457
10	3SOI	CIT	0,591
11	5SZ7	72H	0,605
12	2B5J	3AC	0,609
13	1S6P	IET	0,627
14	5W58	FFB	0,632
15	3NWE	662	0,651
16	5MOR	UFZ	0,665
17	2FZ9	ZST	0,779
18	1S3B	RMA	0,837
19	1XBU	IOY	0,851
20	3TUD	FPX	0,905
21	3FDX	FMT	0,919
22	3OK9	G52	0,931
23	4PNC	7NP	0,964
24	5F1A	SAL	0,999
25	1F2U	ATP	1,029
26	2ZE3	AKG	1,059

27	1TKZ	H16	1,076
28	3AID	ARQ	1,082
29	5ECV	5M2	1,102
30	5AA8	5P8	1,136
31	5FTQ	U4W	1,143
32	1A9M	UOE	1,180
33	3L JH	LA3	1,197
34	4WK7	3PQ	1,198
35	4CLJ	5P8	1,199
36	3NW9	637	1,231
37	1F0Q	EMO	1,241
38	5A6H	OE2	1,266
39	4WKI	3PW	1,325
40	3LQL	LDT	1,340
41	2WDY	COA	1, 350
42	1W5X	BE5	1,372
43	1BQM	HBY	1,380
44	1IEI	ZES	1,391
45	2DUX	ZST	1,391
46	5MTE	BB2	1,395
47	5WBE	63X	1,404
48	3WWH	PLP	1,445
49	3G5E	Q74	1,449
50	3HYG	99	1,450
51	2DUX	ZST	1,460
52	4WKE	3PU	1,471
53	1MSM	JE2	1,477
54	1B6M	PI6	1,481
55	4AMB	YQY	1,494
56	4ERW	STU	1,505

57	4FNZ	NZF	1,525
58	1ODY	LP1	1,532
59	3WZD	LEV	1,533
60	1JR4	CL4	1,553
61	3HY7	97	1,561
62	7DGO	HEM	1,597
63	3M8Q	DJZ	1,619
64	1R5J	AO1	1,656
65	5AKK	1P8	1,692
66	3B8Z	294	1,704
67	2BQV	A1A	1,726
68	2RJQ	BAT	1,730
69	2ACQ	G6P	1,753
70	1EF3	FID	1,761
71	2FZ9	ZST	1,761
72	2DCC	77B	1,775
73	2YI7	BZ8	1,787
74	3TUB	FPU	1,817
75	3TUC	FPW	1,850
76	6AAH	9T6	1,865
77	3M8P	65B	1,913
78	3GI5	K62	1,919
79	2GG5	U19	1,948
80	2HI4	BHF	1,981
81	4CM6	AOB	2,003
82	2BPY	3IN	2,025
83	1WIT	BN2	2,030
84	3OXX	DR7	2,137
85	2BAN	357	2,169

86	1FKO	EFZ	2,179
87	7BTT	F8R	2,211
88	4EIN	NOH	2,277
89	3URX	UDR	2,291
90	4LXJ	LAN	2,326
91	1BOB	ACO	2,357
92	4FNX	GOL	2,358
93	3GHT	LDT	2,404
94	2B45	EPE	2,452
95	4FSK	GPA	2,596
96	2EVM	FC2	2,835
97	5TFX	7B1	2,947
98	1QF4	RPD	3,151
99	4FNY	I3K	3,172
100	5WQA	J20	15,582

Annexe 02 : Tableau des 65 composés similaires issu de la PubChem avec leur affinité.

Composé	Code CID	Affinité (M ⁻¹)
1	138454478	4.53
2	168115	4.32
3	5275726	4.32
4	46901319	4.27
5	137432147	4.14
6	86067887	4.10
7	166124497	4.04
8	5275725	4.01
9	9943598	3.96
10	44559528	3.93
11	102510965	3.62
12	442793	3.61
13	3473	3.61
14	156738618	3.61
15	162261591	3.61
16	162841215	3.58
17	162841216	3.58
18	162847016	3.57
19	134130173	3.53
20	12310197	3.47
21	11482504	3.47
22	59305567	3.42
23	90942	3.36
24	11023711	3.36
25	166124495	3.36
26	60056883	3.32
27	9883640	3.32
28	15839352	3.32
29	71103175	3.32
30	124356394	3.28

31	162887657	3.25
32	134404463	3.23
33	163097038	3.23
34	58915707	3.18
35	95049193	3.18
36	13734015	3.13
37	5317596	3.06
38	16289971	2.96
39	129864191	2.94
40	13734016	2.94
41	92281456	2.90
42	163097039	2.90
43	14440533	2.89
44	162990284	2.81
45	101793196	2.70
46	24826452	2.63
47	162881112	2.62
48	162887658	2.61
49	168114	2.43
50	11472344	2.29
51	11771257	2.29
52	70304694	2.29
53	139644932	1.85
54	10936235	1.60
55	23786427	1.67
56	140205264	1.15
57	167053566	-65.99
58	165365126	-66.97
59	5317599	-102.02
60	118547702	-102.61
61	14440530	-102.61
62	24826453	-113.92

63	101623717	-114.56
64	24826530	-127.18
65	101623718	-127,57

Annexe 03 : Résultats de l'affinité des trois composés de gingembre obtenu par le programme Surfex-dock.

6-shogaol

```
conf -2.62] final-0: 3.27 (crash -1.78 (self -0.44))
final-1: 2.55 (crash -2.48 (self -0.88))
final-2: 2.51 (crash -1.71 (self -0.30))
final-3: 2.50 (crash -2.02 (self -0.29))
final-4: 2.40 (crash -2.51 (self -0.48))
final-5: 2.35 (crash -1.48 (self -0.77))
final-6: 2.33 (crash -2.45 (self -0.33))
final-7: 2.20 (crash -1.53 (self -1.05))
final-8: 2.12 (crash -2.52 (self -0.44))
final-9: 1.88 (crash -2.19 (self -0.37))
```

10-shogaol

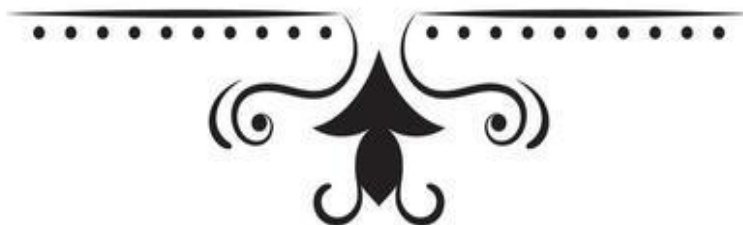
```
nf -0.50] [ret_conf -7.21] final-0: 2.81 (crash -3.34 (self -0.80))
final-1: 2.79 (crash -2.31 (self -0.62))
final-2: 2.70 (crash -3.39 (self -1.20))
final-3: 2.70 (crash -3.61 (self -1.39))
final-4: 2.55 (crash -3.56 (self -1.05))
final-5: 1.62 (crash -4.37 (self -1.18))
final-6: 1.61 (crash -3.91 (self -0.84))
final-7: 1.58 (crash -4.29 (self -1.59))
final-8: 1.22 (crash -4.50 (self -0.62))
final-9: 1.15 (crash -5.10 (self -1.21))
```

8-gingérol

```
f -0.23] [ret_conf -0.87] final-0: 2.43 (crash -2.94 (self -1.02))
final-1: 2.21 (crash -3.70 (self -2.29))
final-2: 1.78 (crash -3.59 (self -0.93))
final-3: 1.64 (crash -3.97 (self -1.20))
final-4: 1.64 (crash -3.50 (self -1.54))
final-5: 1.47 (crash -3.77 (self -2.09))
final-6: 1.45 (crash -3.00 (self -1.34))
final-7: 1.39 (crash -3.01 (self -0.99))
final-8: 1.28 (crash -4.53 (self -2.06))
final-9: 1.25 (crash -4.43 (self -1.72))
```



Résumés



Résumé

La Cyclooxygénase-2 (COX-2) est une enzyme cible par plusieurs médicaments utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires. Des études scientifiques ont démontré que certains composés d'extraits du gingembre ont la capacité d'inhiber cette enzyme.

En utilisant des méthodes de modélisation moléculaire, notamment le docking moléculaire avec le programme Surflex-dock, nous avons réalisé une évaluation théorique de l'affinité via la cyclooxygénase-2 et des propriétés pharmacocinétiques et de la toxicité de trois composés dérivés du gingembre : 8-gingérol, 10-shogaol et 6-shogaol. Le composé 8-gingérol a été choisi, avec une affinité de liaison à l'enzyme de $2,43 \text{ M}^{-1}$.

Pour rechercher théoriquement des molécules plus efficaces que le 8-gingérol sur la base des techniques de docking, nous avons étudié l'affinité de 65 molécules similaires avec un taux de similarité de 99% téléchargées depuis PubChem. Parmi les 65 composés, les résultats ont montré que 37 composés avaient une meilleure affinité de liaison que l'inhibiteur de référence (8-gingérol).

Les résultats de l'étude prédictive sur les propriétés physico-chimiques, la pharmacocinétique et la toxicité potentielle des quatre meilleurs inhibiteurs nous ont permis de proposer le composé 4-gingérol (CID 46901319) comme nouvel inhibiteur de la cyclooxygénase-2.

Mots clés : Cyclooxygénase-2, Docking Moléculaire, Affinité, 8-gingérol et Surflex-dock.

Abstract

Cyclooxygenase-2 (COX-2) is an enzyme targeted by several medicines used in the treatment of inflammatory diseases. Scientific studies have shown that some compounds extracted from ginger have the ability to inhibit this enzyme. Using molecular modeling methods, specifically molecular docking with the Surflex-dock program, we conducted a theoretical assessment of the affinity, pharmacokinetic properties, and toxicity of three ginger-derived compounds : 8-gingerol, 10-shogaol, and 6-shogaol. The compound 8-gingerol was chosen, with a binding affinity to the enzyme of 2.43 M^{-1} .

To theoretically search for molecules more effective than 8-gingerol based on docking techniques, we studied the affinity of 65 similar molecules with a 99% similarity rate downloaded from PubChem to evaluate their affinity towards COX-2. Among the 65 compounds, the results showed that 37 compounds had better and more binding affinity than the reference inhibitor (8-gingerol).

The predictive study results on the physicochemical properties, pharmacokinetics, and potential toxicity of the best four inhibitors allowed us to propose the compound (CID 46901319) 4-gingerol as a new inhibitor of cyclooxygenase-2.

Keywords : Cyclooxygenase-2, molecular docking, affinity, 8-gingerol, Surflex-dock.

الملخص

انزيم الأكسدة الحلقية-2 هو انزيم مستهدف من طرف عدة أدوية تستعمل في علاج الأمراض الإلتهابية. أثبتت الدراسات العلمية أن بعض المركبات المستخلصة من الزنجبيل لها القدرة على تثبيط هذا الإنزيم.

باستعمال طرق النمذجة الجزيئية docking moléculaire بالأخص برنامج Surflex-dock ، قمنا بتقييم نظري للجاذبية والخصائص الحركية الدوائية والسمية لثلاثة مركبات مستخلصة من الزنجبيل و المتمثلة في : 8-gingérol ، 6-shogaol ، 10-shogaol ، حيث تم اختيار المركب 8-gingérol الذي له جاذبية للإنزيم بقيمة $2.43 M^{-1}$.

من أجل البحث نظريا حسب تقنية الالتحام عن جزيئات أكثر فعالية من 8-gingérol ، تمت دراسة جاذبية 65 جزيئة مماثلة بمعدل تشابه 99% تم تنزيلها من Pubchem ، من أجل تقييم تقاربها نحو COX-2 ، من بين 65 مركب أظهرت النتائج أن 37 مركب تجاذب وترابط أفضل وأكثر من المثبط المرجعي (8-gingérol) .

سمحت لنا نتائج الدراسة التنبؤية للخصائص الفيزيوكيميائية، الحركية الدوائية والسمية المحتملة لأفضل أربع مثبطات بإقتراح المركب 4-gingérol (CID 46901319) كمثبط جديد لأنزيم الأكسدة الحلقية-2.

الكلمات المفتاحية: انزيم اكسدة الحلقية-2، الالتحام الجزيئي، الجاذبية، 8-gingérol ، Surflex-dock.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : BENDEHANE Rayene

BENMEGHAMED Meriem

Application du programme de docking moléculaire Surflex pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la cyclooxygénase-2.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée.

La Cyclooxygénase-2 (COX-2) est une enzyme cible par plusieurs médicaments utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires. Des études scientifiques ont démontré que certains composés d'extraits du gingembre ont la capacité d'inhiber cette enzyme.

En utilisant des méthodes de modélisation moléculaire, notamment le docking moléculaire avec le programme Surflex-dock, nous avons réalisé une évaluation théorique de l'affinité via la cyclooxygénase-2 et des propriétés pharmacocinétiques et de la toxicité de trois composés dérivés du gingembre : 8-gingérol, 10-shogaol et 6-shogaol. Le composé 8-gingérol a été choisi, avec une affinité de liaison à l'enzyme de $2,43 \text{ M}^{-1}$.

Pour rechercher théoriquement des molécules plus efficaces que le 8-gingérol sur la base des techniques de docking, nous avons étudié l'affinité de 65 molécules similaires avec un taux de similarité de 99% téléchargées depuis PubChem. Parmi les 65 composés, les résultats ont montré que 37 composés avaient une meilleure affinité de liaison que l'inhibiteur de référence (8-gingérol).

Les résultats de l'étude prédictive sur les propriétés physico-chimiques, la pharmacocinétique et la toxicité potentielle des quatre meilleurs inhibiteurs nous ont permis de proposer le composé 4-gingérol (CID 46901319) comme nouvel inhibiteur de la cyclooxygénase-2.

Mots clés : Cyclooxygénase-2, Docking Moléculaire, Affinité, 8-gingérol, Surflex-dock.

Laboratoires de recherche : laboratoire de Biochimie Appliquée Université Constantine 1 Frères Mentouri.

Président du jury : Dr MOKRANI E.H. (MC(A) – Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr TENIOU S. (MC(B) - Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur(s) : Dr GUENDOUE A. (MC(B) - Université Constantine 1 Frères Mentouri).