

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار تليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT  
كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## *Mémoire*

*En vue de l'obtention du Diplôme de Master*

*Domaine : Science de la nature et de la vie (S.N.V)*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie appliquée*

## *Thème*

---

**Etude *in silico* de quelques molécules extraites de  
plantes médicinales sur la 5-lipoxygénase humaine**

---

**Présenté par :**

- ❖ BAKCHICHE Nesrine
- ❖ HADJ MAHAMMED Fatima Zohra

**Membre de jury :**

Président(e) : Pr. GOUZI Hicham  
Examineur : M. KRANTAR Kamel  
Promoteur : Dr. SIFI Ibrahim  
Co-promoteur : M<sup>me</sup> LAMRANI Meriem

**Promotion 2020/2021**

## *Remerciements*

Tout d'abord, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir aidé tout au long de nos années d'étude jusqu'à l'achèvement de ce travail.

Puis,

Au terme de ce travail, on tient à remercier notre cher encadreur M. Sifi; le père spirituel de la biochimie ainsi que notre co-encadreur Mme. Lamrani qui malgré les occupations et les responsabilités qu'ils assument, ils ont toujours eu le temps pour nous guider dans notre travail.

Nous tenons tout particulièrement à remercier notre collègue Djokhdem Nour El Houda et pour son aide précieuse à la réalisation de ce travail.

Nous remercions également les membres de jury qui ont bien voulu nous faire l'honneur de juger la qualité de ce travail et de formuler leurs remarques constructives.

Nos profonds remerciements à l'ensemble de personnes qui travaillent au niveau de la bibliothèque de la faculté surtout M. Aissa.

Nous souhaitons remercier chaleureusement les profs de notre département surtout le cœur de la biologie le professeur M. Gouzi, et señorita Docking professeur Mme Benarous, sans oublions de remercier nos collègues et nos amis pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

Finalement, nous adressons nos remerciements à nos familles pour leur amour, leur patience, et leurs sacrifices qui s'inscrivent à chaque page de ce document et toutes personnes qui nous ont aidé de près ou loin, directement ou indirectement

# Dédicace

♥ *Je remercie en premier lieu 'ALLAH' le Miséricordieux de ma avoir donné la force, Volonté, et la patience durant toutes mes années d'étude.*

♥ *A ma chère mère pour sa tendresse, son amour, son affection, sa patience, et ses valeureux conseils durant mes années d'études.*

♥ *A mon père pour son soutien, sa gentillesse, son aide et sa confiance et surtout pour sa noblesse infinie.*

♥ *À mes frères, et mes sœurs.*

♥ *Ames grands-parents sur tout ma chère grand-mère*

♥ *À mes tantes, mes oncles.*

♥ *À Tous mes amies, et mes collègues*

♥ *A notre cher encadreur M.sifi*

♥ *À tous mes enseignants durant les années des études.*

♥ *À que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin.*

*Fatima Zohra*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*À mes très chers parents*

*Qui m'ont soutenu et encouragé durant toute la période de*

*mes études et à qui je souhaite une longue vie,*

*À mes chers sœurs Et mes frères*

*À tous mes enseignants durant les années des études.*

*À que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin.*

*Nesrine*

## الملخص

الالتهاب هو نوع من الاستجابة الطبيعية التي تساعد في الدفاع ضد المحفزات المختلفة. إن استمرار هذه الاستجابة لفترة طويلة يسبب عدة أمراض. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو اختبار القدرة التثبيطية في السيليكو لبعض الجزيئات لطبيعية وبعض المثبطات التي أثبتت فعاليتها في المختبر مقارنة بالدواء الوحيد في السوق ، وقد أكدت نتائج الدوكينغ أن الجزيئات التي لديها أقل طاقة حرة مع معدل تكرار عالي هي صاحبة القدرة التثبيطية العالية

**الكلمات المفتاحية:** 5-لوكس, الدوكينغ الجزيئي, الالتهاب المزمن

## Résumé

L'inflammation c'est une sorte de réponse naturelle aide à défendre aux différents stimulus. la continuité de cette réponse pendant une longue durée provoque plusieurs maladies. Dans notre étude nous avons focalisé sur l'inhibition de la 5-LOX en tant qu'enzyme impliquée dans l'inflammation. Le but majeur de cette étude c'est de tester la capacité d'inhibition in silico des ligands naturels et certains inhibiteurs prouvant leur efficacité in vitro en comparaison avec le seul médicament mise en marché les résultats de docking ont confirmé que les molécules qui ont une énergie libre la plus faible avec un taux de répétition élevé ayant une capacité inhibitrice importante

**Mots clés :** 5-LOX, docking moléculaire, inflammation chronique

## Abstract

Inflammation is a kind of natural response that helps defend against different stimuli. The continuity of this response for a long period of time causes several diseases. In our study we focused on the inhibition of 5-LOX as an enzyme involved in inflammation. The main goal of this study is to test the inhibitory capacity in silico of natural ligands and certain triggers proving their effectiveness in vitro in comparison with the only drug on the market, the docking results have confirmed that the molecules which have a lowest free energy with high repetition rate having high inhibitory capacity

**Keywords:** 5-LOX, molecular docking, chronic inflammation.

# SOMMAIRE

<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTES DES FIGURES .....</b>	<b>IX</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>2</b>
<b>CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>4</b>
<b>1. GENERALITE SUR L'INFLAMMATION .....</b>	<b>5</b>
1.1. DEFINITION .....	5
1.2. ORIGINE .....	5
1.3. SYMPTOMES (CARACTERISTIQUES) .....	6
1.4. REGULATION.....	6
1.5. DIAGNOSTIC (ANALYSE MEDICALE) .....	10
1.6. TRAITEMENT .....	10
<b>2. GENERALITE SUR LA LIPOXYGENASE HUMAINE .....</b>	<b>12</b>
2.1. DEFINITION .....	12
2.2. DIVERSITE.....	12
2.3. STRUCTURE DE LA 5-LOX HUMAINE.....	14
2.4. VOIE METABOLIQUE.....	15
2.5. FONCTION (ROLE) BIOLOGIQUE .....	16
2.6. REGULATION DE L'ACTIVITE DE LA 5-LOX.....	17
2.7. LES INHIBITEURS DE LA 5-LOX.....	19
<b>CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>20</b>
<b>1. MATERIEL.....</b>	<b>21</b>
1.1. ORDINATEUR.....	21
1.2. LE RESEAU WEB.....	21
1.3. BANQUES DE DONNEE .....	21
1.4. PROGRAMMES UTILISES .....	22
<b>2. METHODES .....</b>	<b>24</b>
2.1. PREPARATION DES LIGANDS.....	24
2.2. AMARRAGE MOLECULAIRE .....	24
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>26</b>
<b>1. RESULTATS.....</b>	<b>27</b>
1.1. AMARRAGE MOLECULAIRE .....	27
1.2. PREDICTION DE PHARMACOCINETIQUE ET DE SIMILARITE MEDICAMENTEUSE PAR SWISSADME..	32
<b>2. DISCUSSION .....</b>	<b>33</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>45</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>47</b>

## Liste des abréviations

**GPL** : glycérophospholipide

**PLCA2** : phospholipase A2

**AA** : Acide Arachidonique (Arachidonate)

**LXA4** : lipoxine A4

**LXB4** : lipoxine B4

**PLAT** : Polycystine-1, Lipoxygénase, -Toxine

**CLP** : Coactosin-Like Protein

**FLAP** : Five Lipoxygenase Activating Protein

**ERK** : Extracellular signal Regulated Kinase

**MAPK** : Mitogen Activated Protein Kinase

**DAMP** : Damage Associated Molecular Pattern

**PAMP** : Adipocyte plasma membrane-associated protein

**TR** : taux de repitition

**DM** : docking moléculaire

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Complexité des médiateurs de l'inflammation.....	11
<b>Tableau 2</b> : Répartition de certains types de LOX dans le corps humain.....	14
<b>Tableaux.3</b> .Les résultats de l'étude de paramètre ADMET par la règle de lipinski.....	32

## Listes des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma représentant quelques exemples de facteurs déclenchant l'inflammation ( <b>Mathieu et Guimezanes., 2011</b> ).....	5
<b>Figure 2</b> : Schéma représentant les quatre signes cardinaux de l'inflammation.....	6
<b>Figure 3</b> : Les deux voies de signalisation des cellules inflammatoires dépendante in indépendante de l'acide arachidonique ( <b>Issa., et al.. 2006</b> ).....	7
<b>Figure 4</b> : Les étapes d'une inflammation locale (aigue).....	7
<b>Figure 5</b> : L'activation et l'inhibition de la réaction inflammatoire ( <b>Encyclopædia Universalis France</b> ).....	9
<b>Figure 6</b> : Métabolisme de l'acide arachidonique ( <b>Natarajan et Nadler., 2004</b> ).....	12
<b>Figure 7</b> : Les différentes positions d'insertion de l'oxygène par les lipoxygénases sur l'acide arachidonique (dessiné par le chemDraw).....	13
<b>Figure 8</b> : Organisation des gènes de lipoxygénase humain sur le chromosome 17 ( <b>Funk., 2002</b> ).....	13
<b>Figure 9</b> : Structure cristalline du 5-LOX ( <b>Gilbert et al, 2011</b> ).....	14
<b>Figure 10</b> : Formation de LTA4 par la 5-LOX.....	15
<b>Figure 11</b> : Activités catalytiques des LOX.....	16
<b>Figure 12</b> : Représentation de la structure 5-LOX composée d'un domaine de type C2 (vert) et d'un domaine catalytique (blanc). Les sites de phosphorylation de 5-LO comprennent Ser-271 (MAPKAP kinase 2 : magenta), Ser-523 (protéine kinase A : rouge) et Ser-663 (ERK2) ( <b>Boudreau., 2012</b> ). .....	18
<b>Figure 13</b> : Interface d'accueil du PDB.....	21
<b>Figure 14</b> : Interface d'accueil du PubChem.....	22
<b>Figure 15</b> : L'interface graphique AutoDock Tools v1.5.7.....	23
<b>Figure 16</b> : L'interface du Discovery Studio.....	23
<b>Figure 17</b> : L'interface graphique de SwissADME.....	24
<b>Figure 18</b> : Les résultats de l'amarrage moléculaire.....	27
<b>Figure 19</b> : Représentation des interactions 3D de Cembrene A obtenue par le logiciel Discovery Studio ...	28
<b>Figure 20</b> : Représentation des interactions 3D de Cembrene C obtenue par le logiciel Discovery Studio ...	28
<b>Figure 21</b> : Représentation des interactions 3D de Incensole obtenue par le logiciel Discovery Studio .....	29
<b>Figure 22</b> : Représentation des interactions 3D de Incensole Acetate obtenue par le logiciel Discovery Studio .....	29
<b>Figure 23</b> : Représentation des interactions 2D Zileuton à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio.....	30
<b>Figure 24</b> : Représentation des interactions 2D BI-665915 à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio.....	30
<b>Figure 25</b> : Représentation des interactions 2D Celecoxib à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio.....	30
<b>Figure 26</b> : Représentation des interactions 2D Curcumin à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio.....	31
<b>Figure 27</b> : Représentation des interactions 2D Darbufelone à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio.....	31

**Figure 28** : Représentation des interactions 2D Tepoxalin à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel  
Discovery Studio ..... 31

# *Introduction*

## INTRODUCTION

---

Les plantes médicinales sont des plantes souvent constituées de plusieurs « principe actif » utilisées depuis la préhistoire et qui sont aujourd'hui utilisées dans l'industrie pharmaceutique pour produire de nouveaux médicaments qu'ils ne s'accumulent pas dans l'organisme et leurs effets indésirables sont limités en comparaison avec les traitements chimiques de diverses maladies (**Borée., 2012**) telle que l'inflammation.

L'inflammation est un processus naturel aide à défendre le corps humain contre les agents pathogènes. Cependant, une inflammation chronique et incontrôlée peut entraîner des pathologies telles que l'athérosclérose, l'asthme et le cancer (**Poirier., 2019**) .... Donc l'inhibition des enzymes qui permettent la formation des substances responsables de l'inflammation telle que la lipoxygénase peut créer un nouveau traitement de ces maladies.

La lipoxygénase (LOX) est une enzyme responsable de la production de certaines substances inflammatoires (*eicosanoïdes*) telles que les leucotriènes qui sont issus de l'acides arachidonique par la voie de phospholipase A2 à partir des phospholipides membranaires (**Cransac.,1992**).

Aujourd'hui, il existe des médicaments qui inhibe la LOX mais malheureusement qui ont pas mal d'effets indésirables telle que tel que le médicament Zileuton (**Ganorkar., 2020**) ; un médicament anti-asthmatique que son utilisation provoque une toxicité hépatique (**Boudreau., 2012**).

Dans les laboratoires du département nous n'avons pas les moyens nécessaires qui permettent de faire une étude que soit in vitro ou in vivo donc nous n'avons que le choix de faire cette étude in silico.

L'objectif majeur de notre travail est de chercher et d'analyser la capacité d'inhibition in silico de la lipoxygénase humaine par quelques molécules extraites de plantes médicinales y-compris des composés phénoliques, des alcaloïdes, et des huiles essentielles afin de trouver un traitement contre l'inflammation sans ou moins d'effets secondaires.

## INTRODUCTION

---

Pour notre étude *in silico* de l'inhibition de la lipoxygénase humaine, nous avons sélectionné quelques molécules isolées à partir de plantes médicinales, pour cela nous avons abordé notre plan de mémoire en trois parties :

Une partie bibliographique comprend une généralité sur l'inflammation et sur la lipoxygénase humaine.

Une deuxième partie concerne le matériel et les méthodes qui mentionne les différents fichiers, bases des données et logiciels utilisés avec la succession des étapes pour réaliser la modalisation moléculaire (le docking).

Une troisième partie, c'est les résultats et discussion qui comprend les résultats obtenus avec leurs interprétations.

Enfin nous achèverons ce travail par une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

# **CHAPITRE I**

## ***Synthèse Bibliographique***

## 1. Généralité sur l'inflammation

### 1.1. Définition

L'inflammation est une sorte de réponse immunitaire innée quand il y a une ouverture d'une brèche dans les barrières externes telle que la peau ou les membranes de muqueuses par les agents pathogènes (Owen *et al.*, 2014)

L'inflammation peut être aiguë quand elle dure quelques jours seulement et qui est normalement bénéfique pour la guérison (Aymeric et Lefranc., 2009) ou bien chronique quand elle continue pendant un long temps (des mois vers des années) (Pahwa *et al.*, 2020) qui peut entraîner des pathologies telles que l'athérosclérose, l'asthme et le cancer (Poirier., 2019)

### 1.2. Origine

L'inflammation résulte de réponse innée provoquée par une infection, une lésion tissulaire, ou des substances délétères induit une cascade d'événements complexes impliquant l'activation des cellules résidentes notamment les macrophages et les cellules dendritiques pour phagocyter les agresseurs et pour libérer un grand nombre de médiateurs (Owen *et al.*, 2014) dont des cytokines comme CXCL8, l'IL-1, le TNF- $\alpha$ , et l'IL-6, des composés synthétisés à partir des phospholipides membranaires tel que le facteur activant les plaquettes, les leucotriènes et des prostaglandines. (Aymeric et Lefranc., 2009).

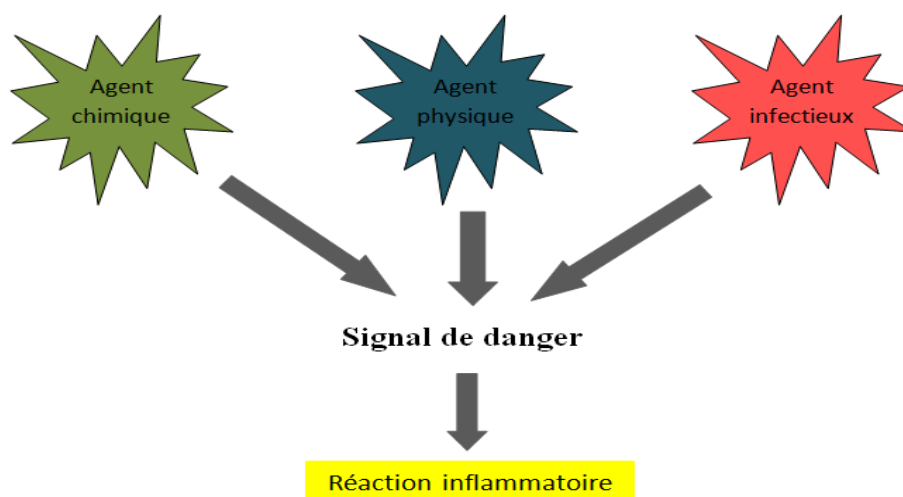


Figure 1 : Schéma représentant quelques exemples de facteurs déclenchant l'inflammation (Mathieu et Guimezanes., 2011)

### 1.3. Symptômes (caractéristiques)

Les symptômes d'une inflammation reflètent une augmentation du diamètre vasculaire (vasodilatation) aboutissant à une augmentation du volume sanguin locale. L'élévation du volume sanguin chauffe le tissu et le fait rougir. La perméabilité vasculaire augmente également, provoquant une fuite de fluide de vaisseaux sanguins, résultant en une accumulation de liquide (œdème) qui gonfle le tissu. Dans les heures suivantes, les leucocytes entrent dans les tissus par les vaisseaux sanguins locaux. Ces signaux généraux de la réponse inflammatoire reflètent l'activation des cellules tissulaires résidentes – macrophages, mastocytes, et cellules dendritiques – par les PAMP et les DAMP les incitant à libérer des chimiokines, des cytokines et d'autres médiateurs solubles à proximité de l'infection ou de la blessure. (Owen, J *et al.* 2014).

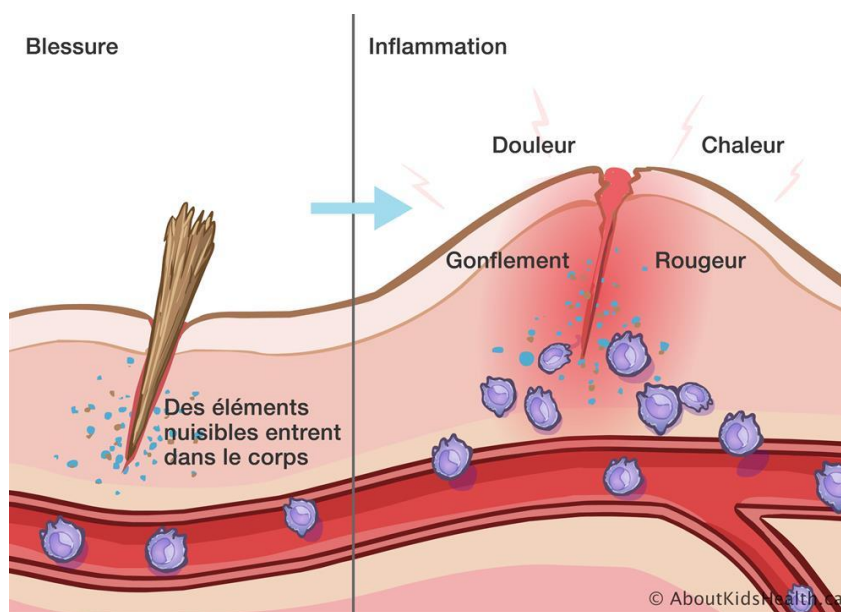


Figure 2 : Schéma représentant les quatre signes cardinaux de l'inflammation

### 1.4. Régulation

#### Stimulation

La réaction inflammatoire peut-être initiée comme réponse à un agent infectieux ou non en suivant soit la voie dépendante de l'arachidonate en produisant les eicosanoïdes par la voie de COX ou celle de LOX ou bien par la voie indépendante de l'arachidonate par les PPAR des cellules phagocytaires, le NF-KB ou par les iNOS comme montre la figure n.

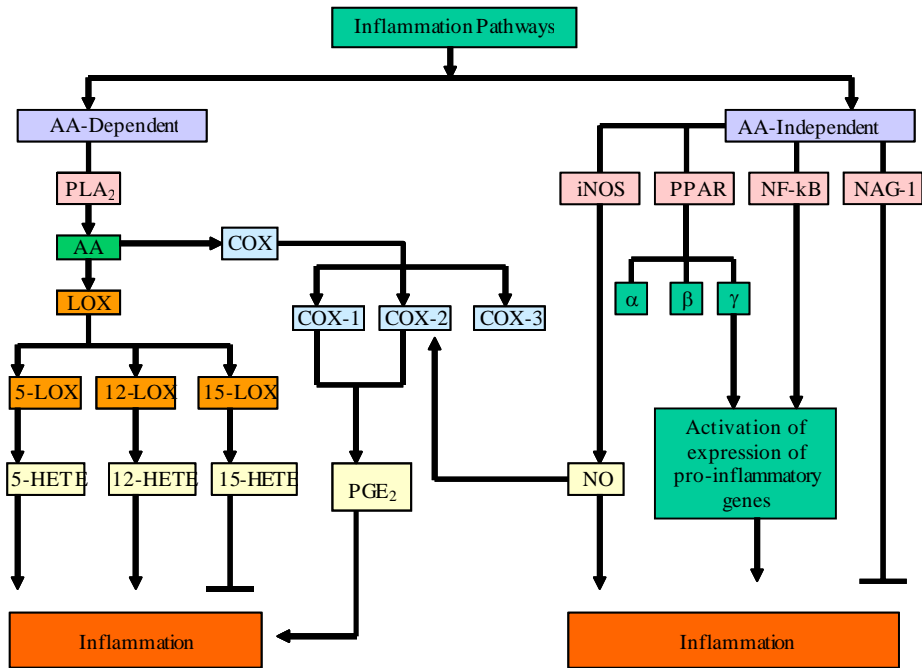


Figure 3 : Les deux voies de signalisation des cellules inflammatoires dépendante in indépendante de l'acide arachidonique (Issa., et al.. 2006)

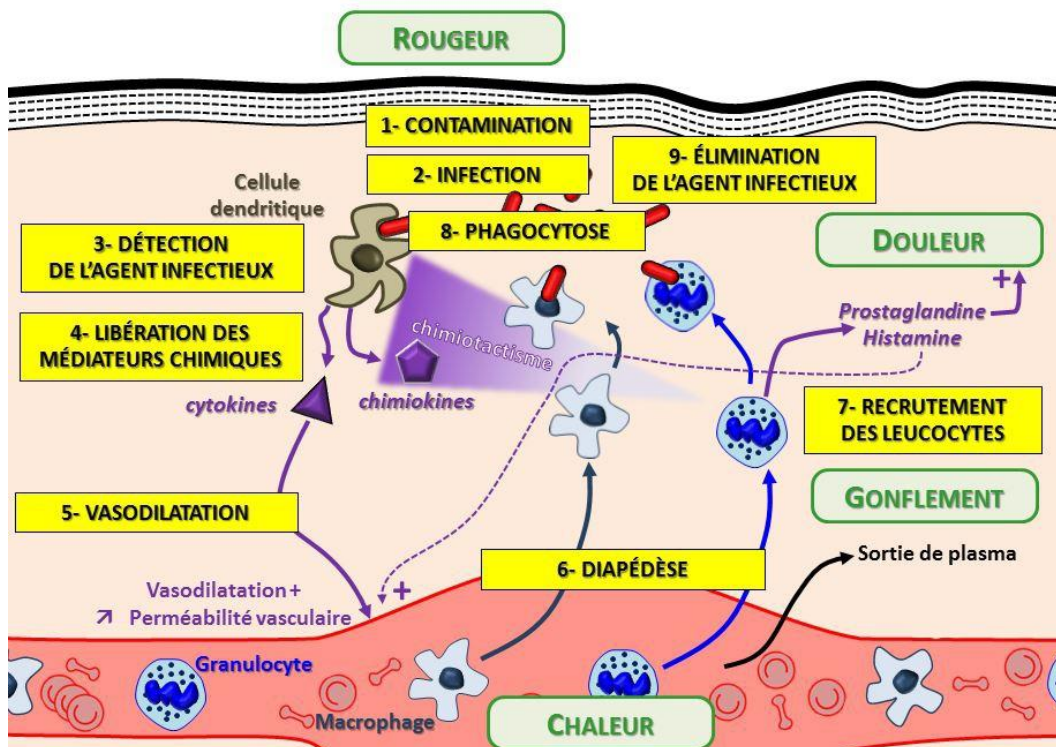


Figure 4 : Les étapes d'une inflammation locale (aigue)

## **Inhibition**

Il est critique que la réaction inflammatoire soit suivie par une phase de résolution qui activement contrôle la cessation de l'infiltration des neutrophiles, de l'activation et de l'accumulation des macrophages dans le but de revenir en état d'homéostasie (**Poirier., 2019**)

Cette résolution sera le retour au silence et aussi la préparation au réparation des tissus par un contrôle négatif impliquant des cellules et de différents médiateurs anti-inflammatoires (inhibiteurs) pour éviter un emballement de la réponse inflammatoire et limiter les dégâts occasionnés aux tissus. Parmi eux on trouve principalement : (**Espinosa et Chillet., 2010**)

- La sécrétion de cytokines anti-inflammatoires : IL-10, TGF- $\beta$ , et IL-1ra (antagoniste du récepteur IL-1).
- La production d'hormones anti-inflammatoires comme le cortisol et les dérivés de la pro-opiomélanocortine (ACTH,  $\alpha$ -MSH).

La production d'anti-protéases comme certaines protéines de la phase aigüe ( $\alpha$ 1-antitrypsine), les inhibiteurs de métalloprotéases aux (TIMP) et les inhibiteurs de sérine protéases (serpines) (**Espinosa et Chillet., 2006**).

Le schéma ci-dessous récapitule la régulation de l'inflammation en présentant les cytokines pro-inflammatoires (en rouge), tandis que les cytokines inhibitrices anti-inflammatoires qui contrôle l'intensité de la réponse (en bleu), les protéines de la phase aiguë produites surtout par le foie et les glucocorticoïdes produites par les glandes cortico-surrénales.

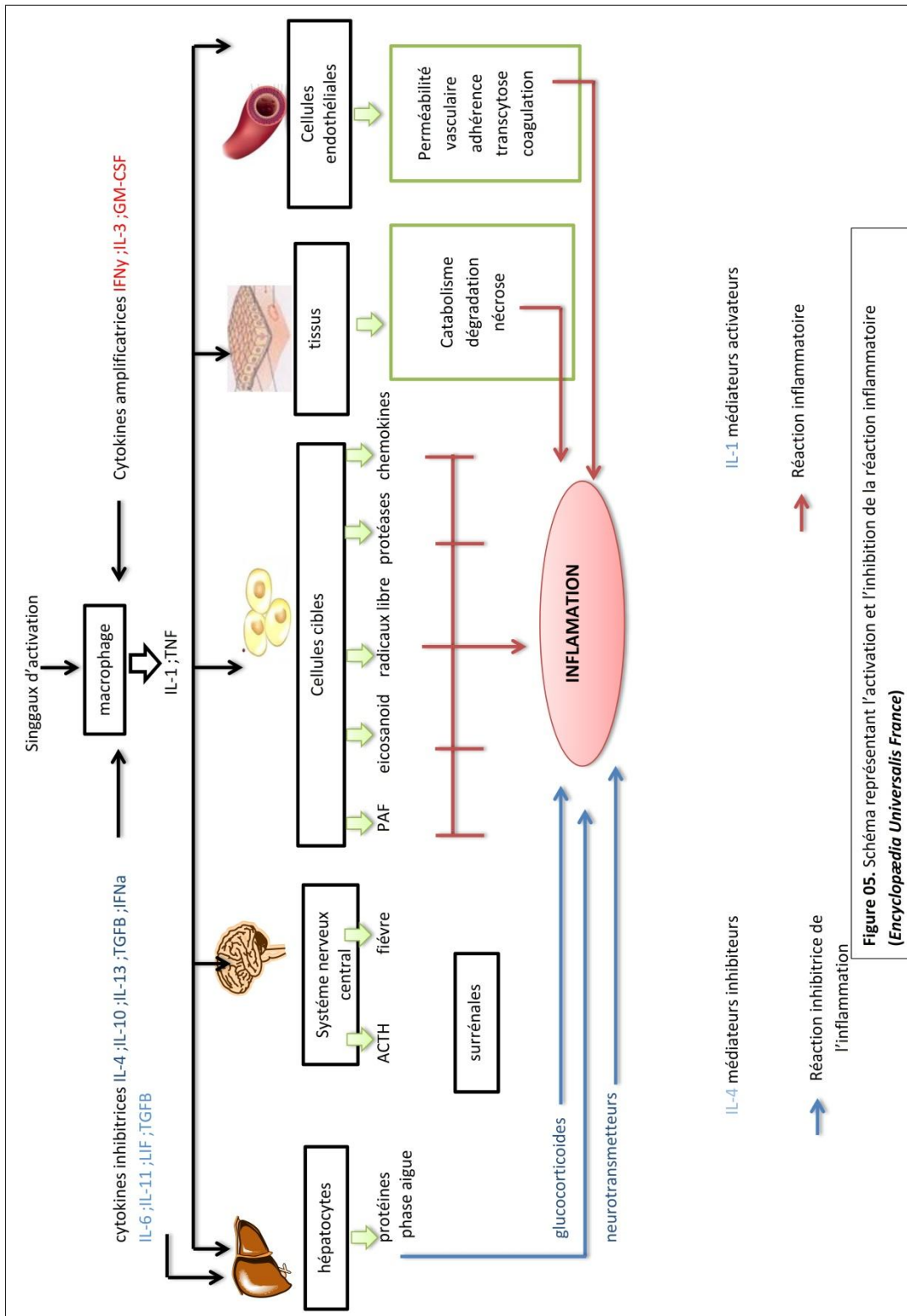


Figure 05. Schéma représentant l'activation et l'inhibition de la réaction inflammatoire (*Encyclopædia Universalis France*)

Figure 5 : L'activation et l'inhibition de la réaction inflammatoire (*Encyclopædia Universalis France*)

Si l'agent pathogène est neutralisé via l'immunité adaptative deux autres sous populations de lymphocytes T4 sont impliquées pour contrôler la réponse inflammatoire :

- Th 17 est le lymphocyte qui entretient l'inflammation et complète ainsi le rôle des cellules du système immunitaire inné
- Trég est le lymphocyte qui intervient plus tardivement et permet le retour au calme (**Mathieu et Guimezanes., 2011**).

### **1.5. Diagnostic (analyse médicale)**

Une inflammation est d'abord diagnostiquée cliniquement par l'observation de ses symptômes caractéristique (la douleur, la chaleur, le gonflement et la rougeur) et s'il est nécessaire il faut compléter par une prise de sang à la recherche des marqueurs de l'inflammation telle que :

- La vitesse de sédimentation (VS supérieure à 10mm)
- Le taux de certaines protéines de la phase aigüe (par exemple CRP supérieure à 5mg/l)
- Le taux de la procalcitonine.
- La NFS (Numération Formule Sanguine) (**Espinosa et Chillet., 2006**).

### **1.6. Traitement**

Une inflammation non résolue pendant une longue durée quelle que soit son origine peut déclencher des problèmes peut-être plus nocif que son origine lui-même comme la figure ci-dessous montre donc il faut la traiter pour diminuer le risque d'apparition de ces maladies chroniques.

Le traitement de l'inflammation délétère est basée sur l'empêchement des étapes clés de son déclenchement qui permettent la formation des substances responsables de cette dernière en utilisant des anti-inflammatoires qui vise à diminuer ces symptômes (**Espinosa et Chillet., 2006**) tels que :

- Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les corticoïdes qui bloquent la phospholipase A2, des cytokines inflammatoires, du monoxyde d'azote, et des protéases. (**Espinosa et Chillet., 2006**)
- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui bloquent les cyclo-oxygénases en empêchent la formation des prostaglandines tel que l'ibuprofène et l'aspirine qui

favorise en outre la synthèse des anti-inflammatoires comme les lipoxines. (Espinosa et Chillet., 2006)

- Les inhibiteurs de la lipo-oxygénase tel que Zileuton qui est commercialisé sous le nom «Zyflo.» pour le traitement de l'asthme (Prasher., 2019)
- Des anticorps monoclonaux dirigés contre une cible spécifique de la réaction inflammatoire comme l'anti-TNF tel que l'infliximab (Rémicade®) qui est un anticorps monoclonal chimérique et l'adalimumab (Humira®) qui est un anticorps monoclonal humain. (Gueudry et Bodaghi., 2015).

**Tableau 1 :** Complexité des médiateurs de l'inflammation

<b>Complexité des médiateurs de l'inflammation</b>	
Famille de médiateurs	Médiateurs
<b>Pro-inflammatoires</b>	
<b>Amines et peptides</b>	Histamine, sérotonine, bradykinine
<b>Cytokines pro-inflammatoires</b>	IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-15, IL-18, IL-22, IL-23, IL-32, IL-33, IL-36, IFN $\gamma$ , TNF, lymphotoxine- $\alpha$
<b>Chémokines</b>	CCL-1 à 17, CXCL1 à 17, CXCL-1 à 28, XCL1 & 2, CX3CL1
<b>Médiateurs lipidiques de l'inflammation</b>	Prostaglandines, leucotriènes, platelet activating factor (PAF)
<b>Radicaux libres et produits dérivés</b>	Anion superoxyde (O $_2^-$ ), monoxyde d'azote (NO), peroxy-nitrite (ONOO $^-$ ), eau oxygénée (H $_2$ O $_2$ ), acide hypochloreux (HOCl)
<b>Protéases</b>	Elastase, plasmine, collagénase, cathepsine G, hydrolases acides, métalloprotéinases, sérine-protéase
<b>Activation du complément</b>	Anaphylatoxines C3a et C5a
<b>Neuromédiateurs pro-inflammatoires</b>	Substance P, noradrénaline
<b>Anti-inflammatoires</b>	
<b>Protéines de la phase aiguë de l'inflammation</b>	Protéine C-réactive (CRP), sérum amyloïde A, $\alpha$ -1-glycoprotéine acide, $\alpha$ -1-antitrypsine, $\alpha$ -1-antichymotrypsine, haptoglobine, fibrinogène
<b>Hormones</b>	Glucocorticoïdes
<b>Cytokines anti-inflammatoires</b>	IL-4, IL-10, IL-13, IL-25, IL-27, IL-35, IL-37, INF $\alpha$ , TGF $\beta$
<b>Inhibiteurs spécifiques de cytokines</b>	IL-1Ra, récepteurs solubles de l'IL-1 et du TNF, IL-18 binding protein
<b>Neuromédiateurs anti-inflammatoires</b>	Acétylcholine, adrénaline, vasoactive intestinal peptide, $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone
<b>Médiateurs lipidiques de résolution</b>	Protectines, résolvines, marésines, lipoxines
Abréviations : IL- : interleukines ; IL1Ra : antagoniste du récepteur de l'IL-1 ; IFN : interféron ; TGF $\beta$ : transforming growth factor- $\beta$ ; TNF : tumornecrosis factor	

## 2. Généralité sur la lipoxygénase humaine

### 2.1. Définition

Selon la nomenclature officielle, les lipoxygénase ou LOX font partie de la famille des oxydoréductases qui incorporent deux atomes d'oxygène (EC 1.1.1.12) sur un substrat. (Alberti., 2013) bref, ils sont des dioxygénases.

Les lipoxygénases sont des enzymes présentes chez tous les eucaryotes et les procaryotes qu'ayant comme substrat des acides gras insaturés libres donnant comme produits vers la fin de la voie X (oxylipines) (Palmieri-Thiers., 2008)

Chez l'humain, l'acide arachidonique est le substrat nécessaire de la lipoxygénase pour la production d'une variété de médiateurs lipidiques inflammatoires, entres autres les leucotriènes (LTs). (Boudreau., 2010).

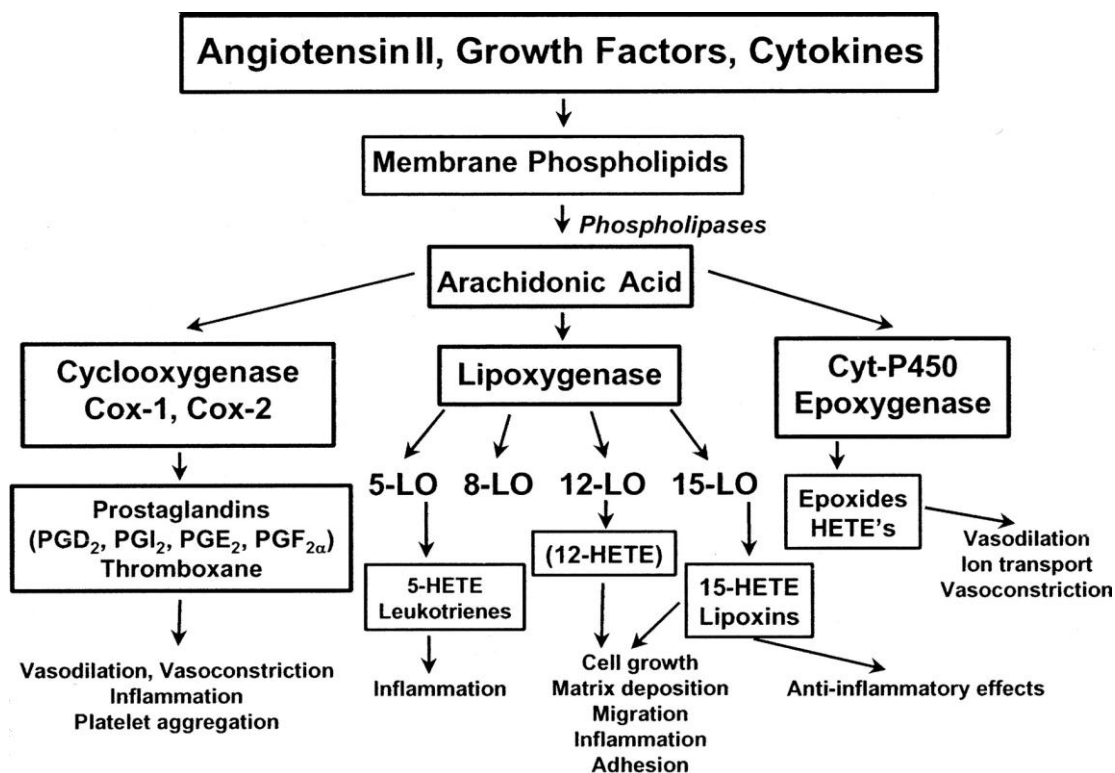
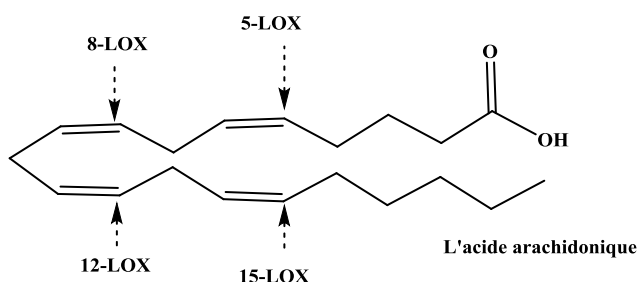


Figure 6 : Métabolisme de l'acide arachidonique (Natarajan et Nadler., 2004)

### 2.2. Diversité

Pour l'humain, les LOXs sont principalement divisés en quatre types : 5-LOX, 8-LOX, 12-LOX et 15-LOX, selon leur capacité à insérer les atomes de l'oxygène dans la position pertinente de l'acide arachidonique. La voie 5-LO conduit à la formation de 5 (S) -

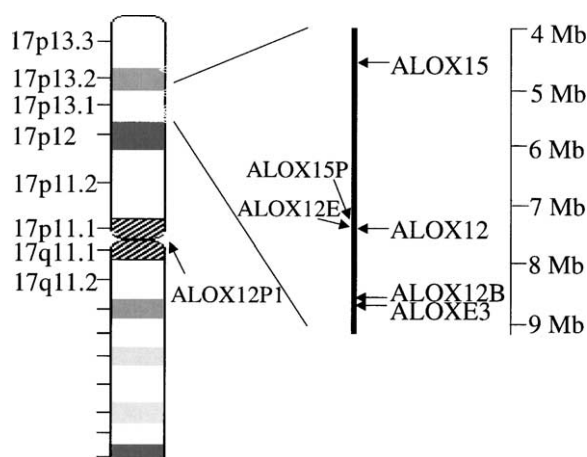
HETE et de leucotriènes. Les 12- et 15-LO peuvent former des 12 (S) et 15 (S) -HETE à partir de l'acide arachidonique. (Natarajan et Nadler., 2004)



**Figure 7 :** Les différentes positions d'insertion de l'oxygène par les lipoxygénases sur l'acide arachidonique (dessiné par le chemDraw)

La diversité au niveau des protéines logiquement est la résultante d'une diversité au niveau des gènes codant ces protéines. Ces gènes sont généralement de taille similaire (7-21 kb) et se trouvent sur le bras court du chromosome 17 dans un intervalle de 3 à 4 Mb, à l'exception du gène de la 5-lipoxygénase (*ALOX5*) qui est beaucoup plus grand (environ 82 kb) et se trouve sur un chromosome distinct (humain 10q11.2) (Funk., 2002) avec 14 exons. (Boudreau.,2012).

Les six gènes fonctionnels de LOX qui codent pour 6 différents isoformes de LOX au niveau de chromosome 17 (Kuhn *et al.*, 2015) sont montrés dans la figure 09



**Figure 8 :** Organisation des gènes de lipoxygénase humain sur le chromosome 17 (Funk., 2002)

Les LOX humaines existent sous formes de différents types codés par différents gènes et même localisés au niveau de différents sites au niveau de l'organisme comme montre le tableau 2.

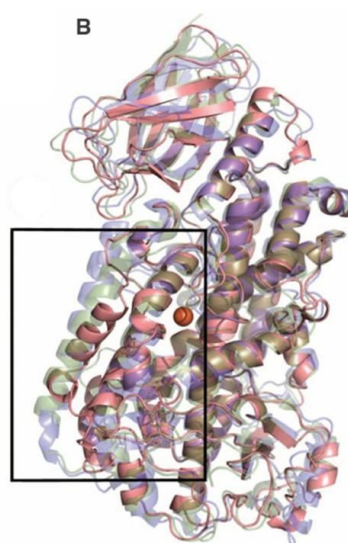
**Tableau 2** : Répartition de certains types de LOX dans le corps humain

L'enzyme	Sa localisation
La 12/15-LOX (15-LOX1)	niveaux élevés dans les globules rouges immatures, dans les éosinophiles et dans les cellules épithéliales des voies respiratoires (Kühn et O'Donnell., 2006) Des niveaux d'expression très faibles pour les leucocytes polymorphonucléaires, les macrophages alvéolaires, les cellules vasculaires, l'utérus, le système reproducteur masculin et les lésions athérosclérotiques (Kühn et O'Donnell., 2006) Les monocytes sanguins n'expriment pas la 12/15-LOX dans la circulation (Kühn et O'Donnell., 2006)
La 5-lipoxygénase	Elle est exprimée majoritairement par les leucocytes, soit chez les monocytes/macrophages, éosinophiles, neutrophiles, basophiles, cellules dendritiques, mastocytes ainsi que les cellules B. (Boudreau., 2010) Les plaquettes, les erythrocytes, les cellules endothéliales et les cellules T n'expriment pas la 5-LOX (Boudreau., 2010)

### 2.3. Structure de la 5-LOX humaine

La 5-LOX humaine est une protéine de 673 acides aminés qui a un domaine N-terminal (acides aminés 1-114) (Boudreau., 2012) consiste d'un baril  $\beta$  composé de deux brins antiparallèle de quatre feuillets  $\beta$  (Poirier., 2019). et un domaine C-terminal (acides aminés 121-673), composé de plusieurs hélices (Boudreau., 2012) , et caractérisé par la présence d'un atome de fer ancré par les acides aminés His-372, His-550 et Ile-673, Asn-554 et His-367 et aussi trois motifs kinases susceptibles à une phosphorylation ; Ser271, Ser523 et Ser663 (Poirier., 2019)

L'arrangement des feuillets  $\beta$  s'agit d'une caractéristique typique des membres de la famille PLAT (Polycystine-1, Lipoxygénase, -Toxine) Donc, on la considère « C2-Like » qui contient des résidus en boucles pouvant liés plusieurs ligands, typiquement les phospholipides membranaires, le  $Ca^{2+}$  et la Coactosin-Like Protein (CLP) (Poirier., 2019).



**Figure 9** : Structure cristalline du 5-LOX (Gilbert et al, 2011)

## 2.4. Voie métabolique

- La voie de la lipoxycgénase comme les deux autres voies de l'arachidonate (la cycloxygénase -1 et 2- et la cyt-P450) commence par l'activation de phospholipases qui se fait par la stimulation d'un récepteur situé à la surface de la cellule et est accompagné par une mobilisation de calcium. (Cransac., 1992)
- La PLA2 hydrolyse l'AA (C<sub>20</sub>: $\Delta$ 4, n-6) estérifié en position *sn*-2 des GPL membranaires (Poirier., 2019) en causant son détachement (clivage ou libération) des phospholipides membranaires.
- Dans le cas de la 5-LOX la réaction catalysée par ce type de LOX est initiée par la formation de l'acide 5(S)-hydroperoxy-6-trans-8,11,14-cis-eicosatétraénoïque (5-HpETE) tout en passant par les étapes suivantes :
  - La perte d'un atome d'hydrogène et par conséquent la création d'un radical libre au carbone-7 de l'AA libre.
  - L'électron célibataire migre ensuite vers la liaison double et réagit avec un atome d'oxygène pour former un radical peroxyde au carbone-5.
  - L'oxydation du Fe<sup>2+</sup> au Fe<sup>3+</sup> du site catalytique de la 5-LO fournit un électron et forme par conséquent un anion peroxyde qui est finalement protoné en hydroperoxyde.
- Le 5-HPETE(5(S)-hydroperoxy-6-trans-8,11,14-cis-eicosatétraénoïque) une fois formé va être réduit en 5-HETE ou bien subir une réaction de déshydratation toujours par la 5-LOX qui conduit à la formation de leucotriène-A<sub>4</sub>, qui à son tour peut être converti en leucotriènes divers et variés selon l'enzyme qu'il rencontre .

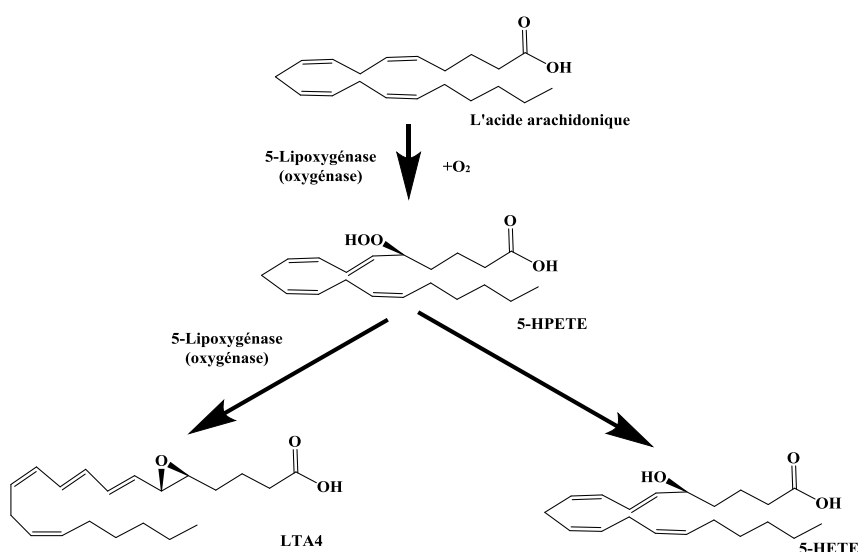


Figure 10 : Formation de LTA<sub>4</sub> par la 5-LOX

Les LT ont différents rôles biologique, mais principalement le LTB4 induit une chimiotaxie des phagocytes et la libération d'effecteurs antimicrobiens, alors que les cystéinyl leucotriènes (LTC4, LTD4 et LTE4) induisent la bronchoconstriction et la perméabilité vasculaire (Poirier., 2019). La figure 12 récapitule les étapes de la synthèse de ces produits dans les sites d'inflammation dans les vaisseaux sanguins.

**Remarque :** Les LOX peuvent synthétiser plus que les n-HETE et les LT autres dérivés de l'AA telle que la lipoxine A4 (LXA4) et la lipoxine B4 (LXB4) sont des pouvant exercer une puissante activité anti-inflammatoire (Poirier., 2019). Les LOX peuvent synthétiser ces médiateurs par deux voies métaboliques ; Premièrement, la 12-lipoxygénase (12-LO) de plaquettes peut convertir le LTA4 provenant des neutrophiles en lipoxine via le processus de 17 biosynthèses transcellulaires. Le deuxième mécanisme biosynthétique implique l'oxygénation séquentielle de l'AA par la 15-lipoxygénase (15-LO) et la 5-LO, suivie d'une hydrolyse enzymatique (Poirier., 2019).

## 2.5. Fonction (rôle) biologique

Les LOX sont des enzymes multifonctionnelles qui présentent plusieurs activités catalytiques liées au métabolisme d'oxygénation des acides gras insaturés. Les différentes activités catalytiques et les principaux produits d'oxygénation qui en résultent sont montrés dans la figure 13

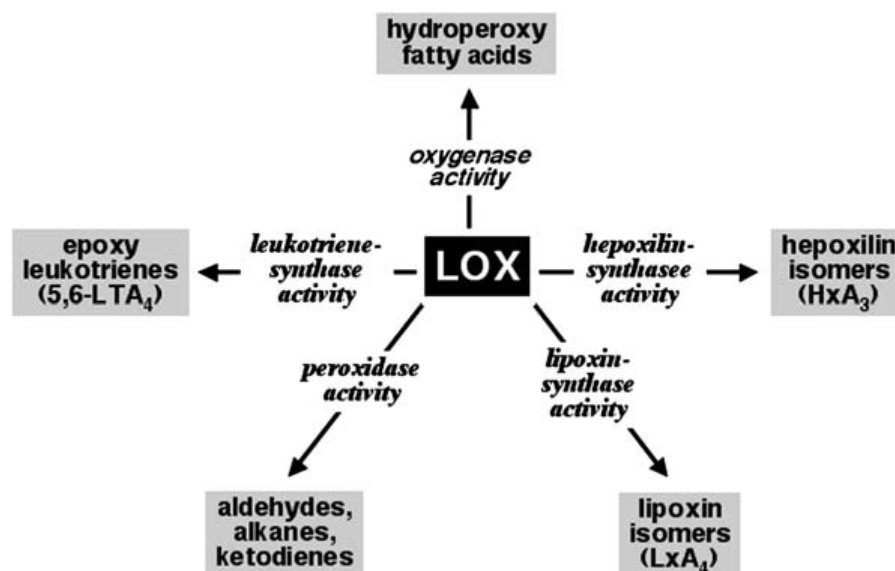


Figure 11 : Activités catalytiques des LOX

Les LOX humaines sont un type d'enzymes responsables du métabolisme de l'AA afin de synthétiser des médiateurs dans les sites d'inflammation dans les vaisseaux sanguins qu'ayant des effets anti-inflammatoires tels que les lipoxines qui sont des inhibiteurs de l'infiltration des neutrophiles, et des activateurs du recrutement de macrophages non-inflammatoires ou pro-inflammatoires comme la 5-lipoxygénase qu'est principalement exprimée par les leucocytes et qui joue un rôle central dans la réaction immunitaire car elle est la première enzyme engagée pour la biosynthèse de leucotriènes (LT) qui médient les réactions inflammatoires c'est pour cela le développement des inhibiteurs de la 5-LOX est accepté pour le traitement de maladies pertinentes telles l'asthme et l'athérosclérose (**Poirier., 2019**).

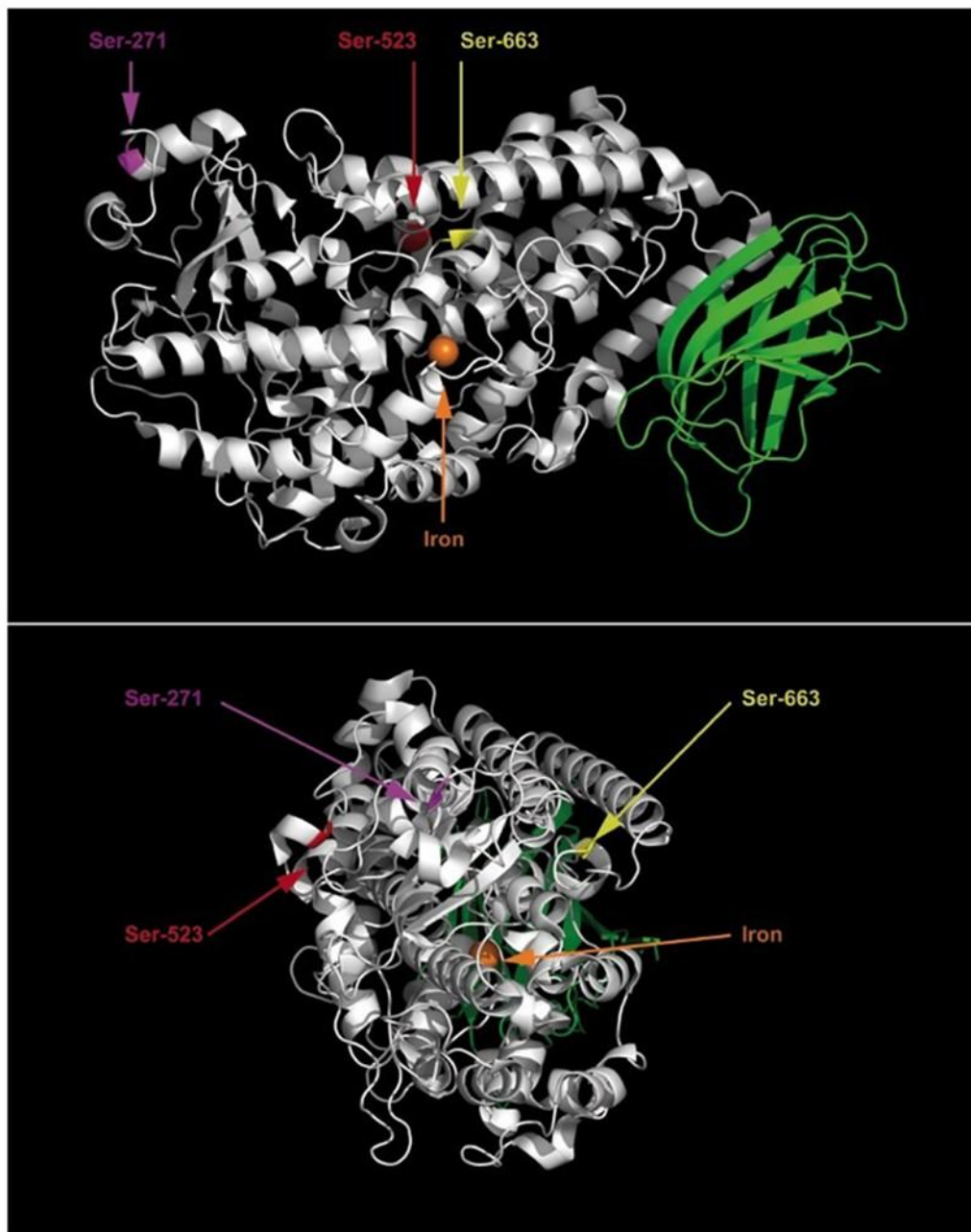
## **2.6. Régulation de l'activité de la 5-LOX**

### **Activation**

L'activation de la voie 5-LOX suite à une stimulation d'un récepteur situé à la surface de la cellule nécessite un certain nombre de facteurs pour stimuler cette activation tel que le Ca<sup>2+</sup>, l'ATP, la phosphorylation... etc.

Ca<sup>2+</sup> se lie au domaine C2 like de la 5-LO de manière réversible avec un K<sub>d</sub> de 6-9 M qui est bien corrélé avec la concentration de Ca<sup>2+</sup> nécessaire (1-2 μM) requise pour une activation complète de la 5-LOX purifié . Plus spécifiquement, les acides aminés Asn-43, Asp-44 et Glu-46 forment le site de liaison pour Ca<sup>2+</sup> (**Boudreau.,2012**).

La phosphorylation de 5-LOX produite dans la région C-terminale de la protéine, au niveau de trois motifs kinases précédemment mentionnés ; Ser-271 par P38 Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK), Ser-523 par la PKA et Ser-663 par Extracellular Signal Regulated Kinase (ERK) qui peut-être une résultante de plusieurs facteurs par exemple La p38 MAPK est activée par des stress cellulaires et des cytokines inflammatoires et par conséquence induit la formation des produits de la 5-LOX (**Poirier., 2019**).



**Figure 12 :** Représentation de la structure 5-LOX composée d'un domaine de type C2 (vert) et d'un domaine catalytique (blanc). Les sites de phosphorylation de 5-LO comprennent Ser-271 (MAPKAP kinase 2 : magenta), Ser-523 (protéine kinase A : rouge) et Ser-663 (ERK2) (Boudreau., 2012).

Il a été démontré que l'ATP stimule la 5LOX brute et même lorsque le  $Ca^{2+}$  était très faible ou absent, montrant que l'effet de l'ATP sur le 5LOX ne dépend pas du  $Ca^{2+}$ . Dans la cellule, la majeure partie de l'ATP se lie au  $Mg^{2+}$ , et il est apparu qu'un complexe  $MgATP^{2-}$  pourrait remplacer l'ATP en tant que facteur d'activation 5LOX (Rådmark., 2002).

## **Inhibition**

L'inhibition de la 5-LOX est la méthode la plus complète de la suppression des LT et lipoxines de la cellule ou les systèmes animaux par rapport aux diverses stratégies antagonistes car elle bloque l'action de l'ensemble des médiateurs puissants obtenus à partir de LTA4 (**Bell et Harris., 1999**).

Au cours des années passées de nombreux inhibiteurs de la 5-LOX ont été étudiés et qu'ils peuvent-être classés en inhibiteurs directes de la 5-LOX et inhibiteurs indirectes de la 5-LOX (inhibiteurs du FLAP –Five Lipoxygenase Activating Proein-)(**Hu et Ma., 2018**). La plupart de ces candidats potentiels ont échoué en raison d'un manque d'efficacité dans les études cliniques ou en raison d'effets secondaires graves (**Feißt et al., 2009**). Dans notre mémoire on va voir brièvement les inhibiteurs directs du 5-LOX en tant qu'inhibiteurs spécifiques et non spécifiques, puis on verra les inhibiteurs du FLAP.

### **2.7. Les inhibiteurs de la 5-LOX**

#### *Les inhibiteurs non spécifiques*

Les inhibiteurs non spécifiques inhibent la 5-LOX par une interaction sur d'autre domaine que le site actif. Un exemple de ces inhibiteurs l'hyperforine qui inhibe directement la catalyse de 5-LOX en interagissant avec les fonctions régulatrices du domaine C2-LIKE (**Feißt et al., 2009**).

#### *Les inhibiteurs spécifiques (Compétitifs)*

Les inhibiteurs spécifiques inhibent la 5-LOX par une interaction sur le site actif. Ces inhibiteurs peuvent être classés en trois groupes: (1) les composés redox-actifs qui réduisent le Fer du site actif, (2) les chélateurs de Fer, et (3) les inhibiteurs du type non-redox qui interfèrent probablement avec les sites putatifs liant les acides gras (**Feißt et al., 2009**).

# **CHAPITRE II**

## ***Matériel et Méthodes***

## 1. Matériel

### 1.1. Ordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur ayant une RAM de 8,00 GO et un processeur i5 de la 5<sup>ème</sup> génération, sous Windows 10 Education.

### 1.2. Le réseau WEB

Le réseau internet a été très utile dans notre étude pour l'obtention des complexes protéiques (protéine-ligand), des composés similaires ainsi que pour la simulation des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de nos meilleurs inhibiteurs (**Zemouri et Dehamchi., 2019**).

### 1.3. Banques de donnée

#### 1.3.1. Protein Data Bank

La majorité des structures protéiques sont disponibles via la PDB « Protein Data Bank ». C'est la plus grande base de données de structures 3D des macromolécules biologiques (protéines, ADN, ARN ...etc.) (<http://www.pdb.org>). Elle a été créée en 1971 au Brookhaven National Laboratory. Les structures 3D que propose cette banque sont accessible gratuitement pour les utilisateurs. Un grand nombre de structures d'une même molécule avec ou sans ligand permet d'avoir une information pertinente. Actuellement, la PDB compte plus de 152.000 structures macromoléculaires biologiques dont plus de 141 000 sont des protéines.

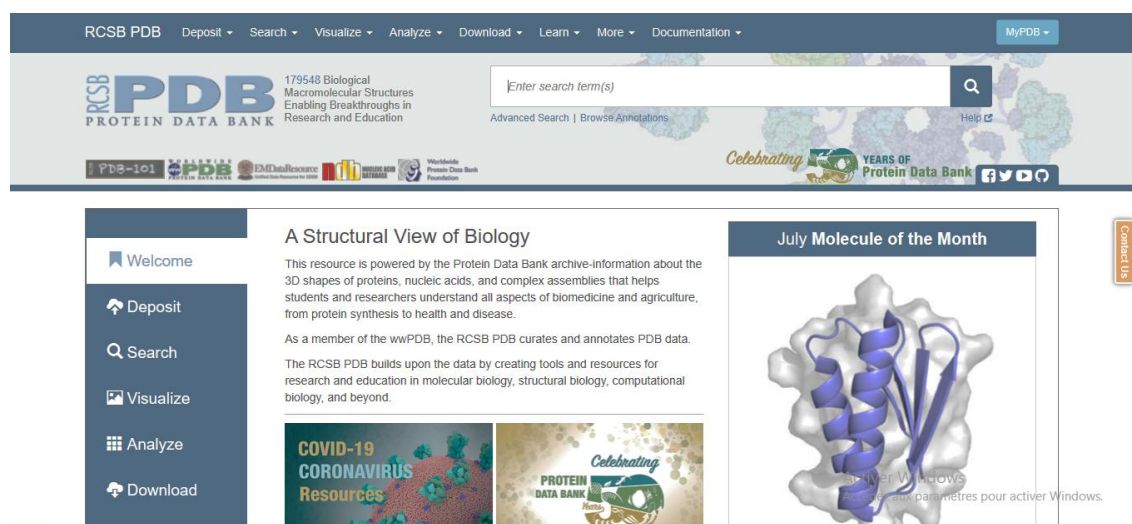


Figure 13 : Interface d'accueil du PDB

### 1.3.2. Pubchem

Est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis, sous l'autorité de la National Institutes of Health (NCI). Actuellement, la PubChem répertorie plus de 97.000.000 composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental,...etc. Cette chimiothèque est consultée gratuitement via une interface utilisateur Web : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

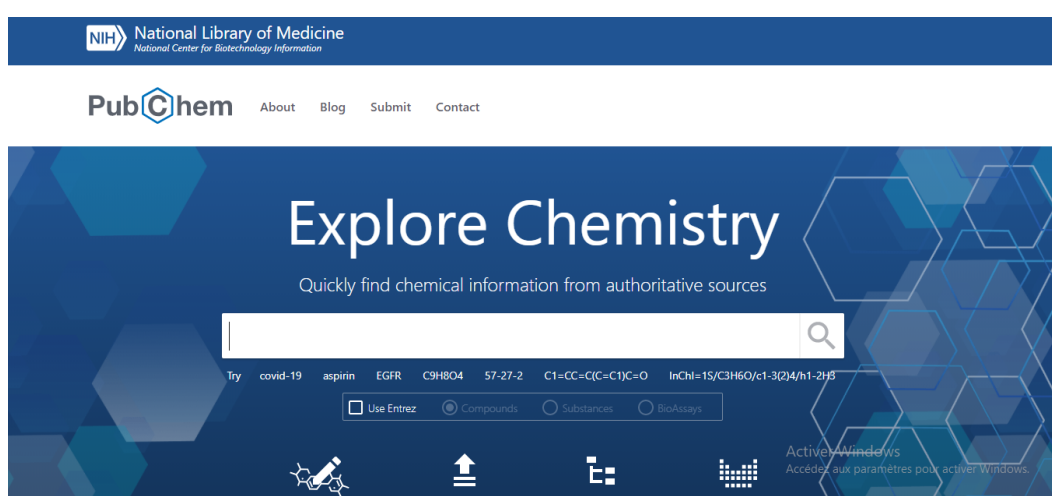


Figure 14 : Interface d'accueil du PubChem

## 1.4. Programmes utilisés

### 1.4.1. AutoDock

Nous avons choisi d'utiliser L'AutoDock parmi plus de 30 logiciels de docking qui sont actuellement disponibles, qui est un programme de docking moléculaire destinés à prédire la conformation la plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur. Ce logiciel est distribué avec une suite d'outils graphiques pour préparer les expériences de criblage virtuel, ainsi que plusieurs tutoriels, améliorant ainsi son accessibilité (Laribi et Rabahi, 2017).

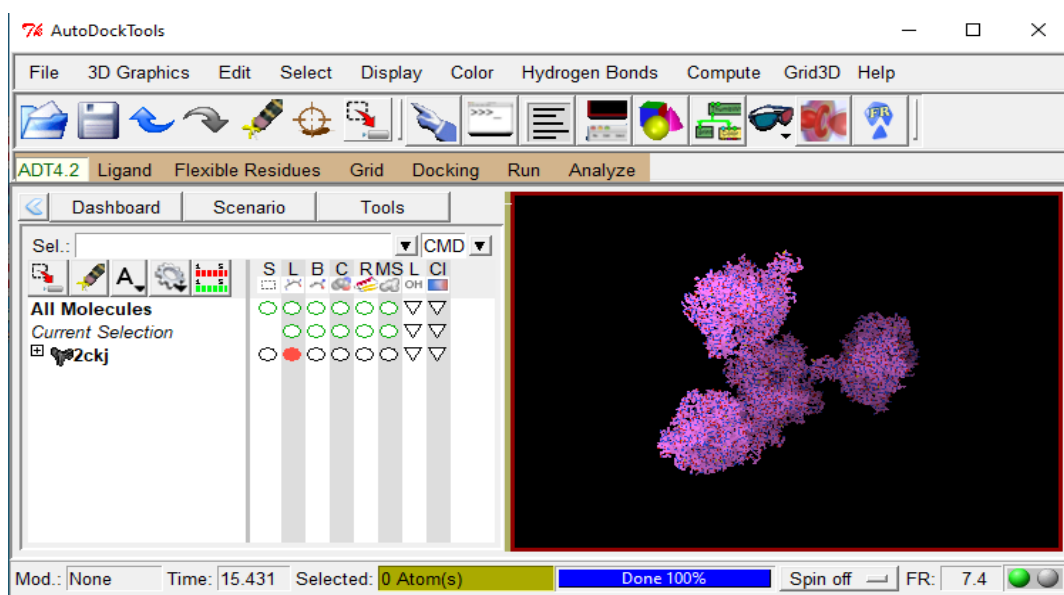


Figure 15 : L'interface graphique AutoDock Tools v1.5.7

### 1.4.2. Discovery Studio

La programme Discovery Studio version (21.1.0.20298) a été utilisé pour générer les diagrammes d'interactions Enzyme-inhibiteurs simplifiant l'analyse visuelle.

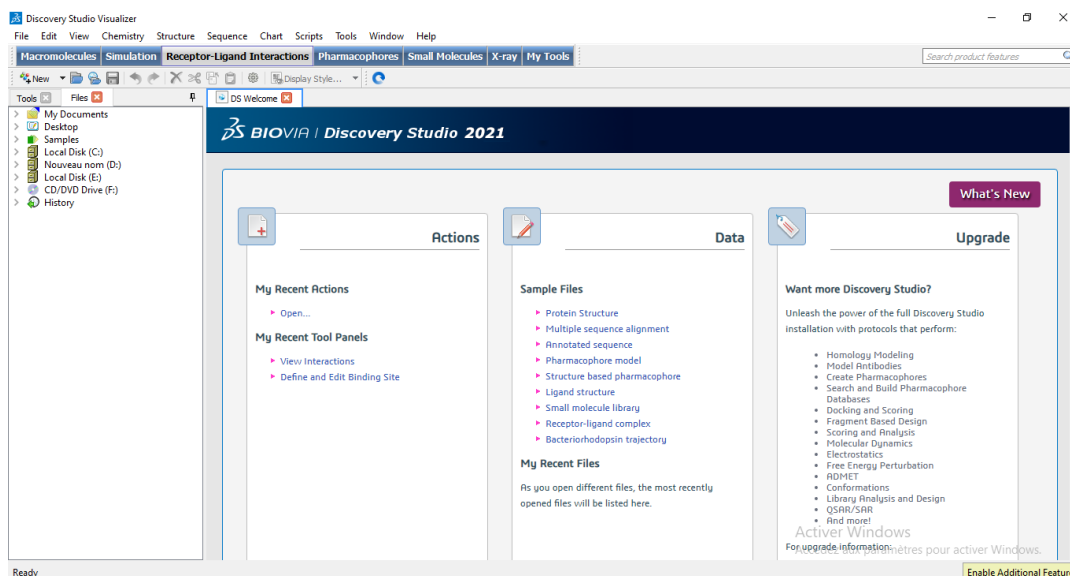


Figure 16 : L'interface du Discovery Studio

### 1.4.3. SwissADME

L'abréviation ADMET représente les concepts pharmacocinétiques suivants : l'absorption, la distribution, la métabolisation, l'excrétion et Toxicité. Ce sont des critères qui décrivent la disposition d'une molécule bioactive dans un organisme. Ils expriment les concentrations du produit dans les différents tissus et système circulatoire de l'organisme.

Les résultats obtenus par ces critères permettent d'analyser la performance et l'efficacité d'un produit afin de juger sa capacité à devenir un médicament et son intérêt à poursuivre son développement pour des études cliniques. On-peut-consulter-ce-serveur-via-le-lien : /http://www.swissadme.ch/

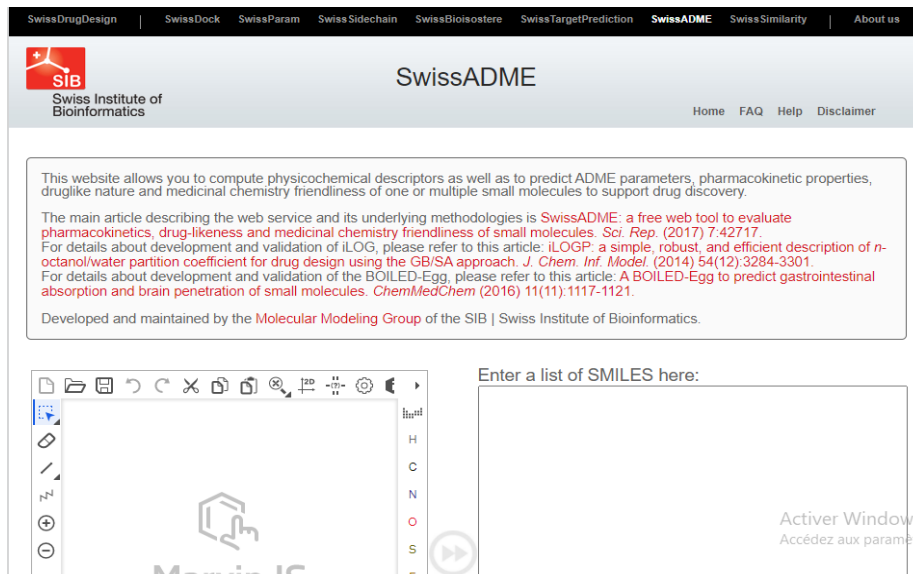


Figure 17 : L'interface graphique de SwissADME

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation des ligands

Les structures 3D des ligands, des inhibiteurs, et ainsi celle du médicament téléchargé de la banque des données PubChem sont assemblées avec le logiciel Discovery Studio. Toutes ces molécules sont montrées dans le tableau suivant.

### 2.2. Amarrage moléculaire

Le docking moléculaire consiste à rechercher le mode d'interaction le plus favorable d'une petite molécule ou ligand avec une cible d'intérêt thérapeutique comme un récepteur ou une enzyme telle que la 5-LOX humaine dans notre cas. L'amarrage moléculaire effectué dans notre travail est de type ligand-protein docking en particulier un docking spécifique autrement dit nous avons déterminé les paramètres de notre grid box de manière qu'il couvre les acides aminés de site actif avec un minimum d'espace libre pour un docking le plus possible spécifique.

La 5-LOX est constituée de 2 chaînes A et B. Dans notre étude, seule la chaîne A a été prise en compte car elle renferme dans son site actif un ligand qui est l'acide arachidonique donc le box a été placé au milieu de son site actif (généralement on trouve

au milieu de la protéine) avec une grille de 26 x 28 x 32 et points de grille  $x=17.125$ ,  $y=-74.578$ , et  $z=-36.082$ . Le nombre de tours de docking était de 10 et les conformations finales étaient de 10. toutes ont été bien traitées. Les conformations préférées étaient celles de la plus fiable énergie de fixation dans le site actif. Enfin les résultats de docking générés ont été directement chargés dans le logiciel Discovery Studio.

Le site actif de l'enzyme (CODE : 3V99) est constitué de 20 acides aminés tel que Ala603, Ala606, et Asn407.... Nous avons amarré les ligands, les inhibiteurs, et le médicament dans la 5-lypoxgénase pour étudier les interactions possibles au sein du site actif.

# **CHAPITRE III**

## ***Résultats et Discussion***

## 1. Résultats

### 1.1. Amarrage moléculaire

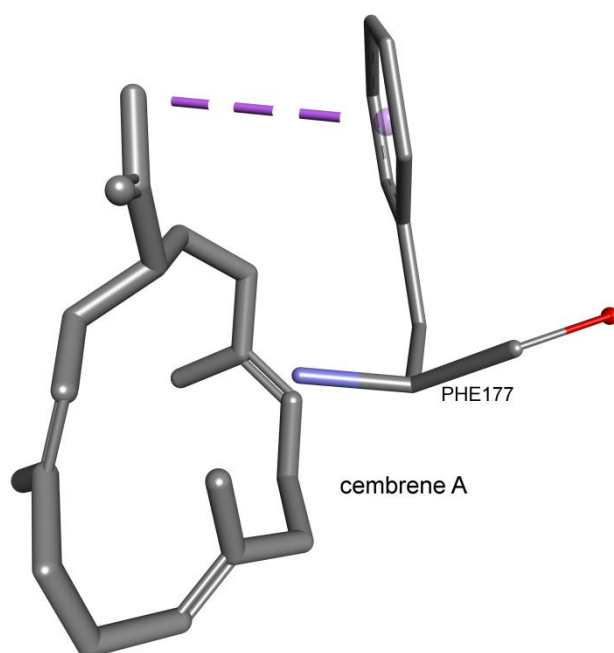
Afin de définir la nature des interactions entre inhibiteur-enzyme, nous avons réalisé des expériences sur le docking des composés étudiés dans le site actif de l'enzyme (3V99) avec le programme AutoDock Vina. Nous avons sélectionné la meilleure pose d'amarrage pour chaque inhibiteur, lié au nombre de répétitions et du type d'interaction existant dans 10 solutions.

D'après le docking moléculaire, nous pouvons dire qu'un inhibiteur est compétitif seulement s'il interagit avec deux acides aminés catalytiques du site actif, incompétitif s'il interagit avec un ou deux acides aminés catalytiques du site actif mais l'interaction est avec des liaisons non covalentes (hydrogènes et hydrophobes), alors que pour le non compétitif ; s'il interagit avec un seul acide aminé catalytique du site actif et un seul type d'interaction (soit hydrogène ou hydrophobe), ce qui nous avons confirmé à cette analyse.

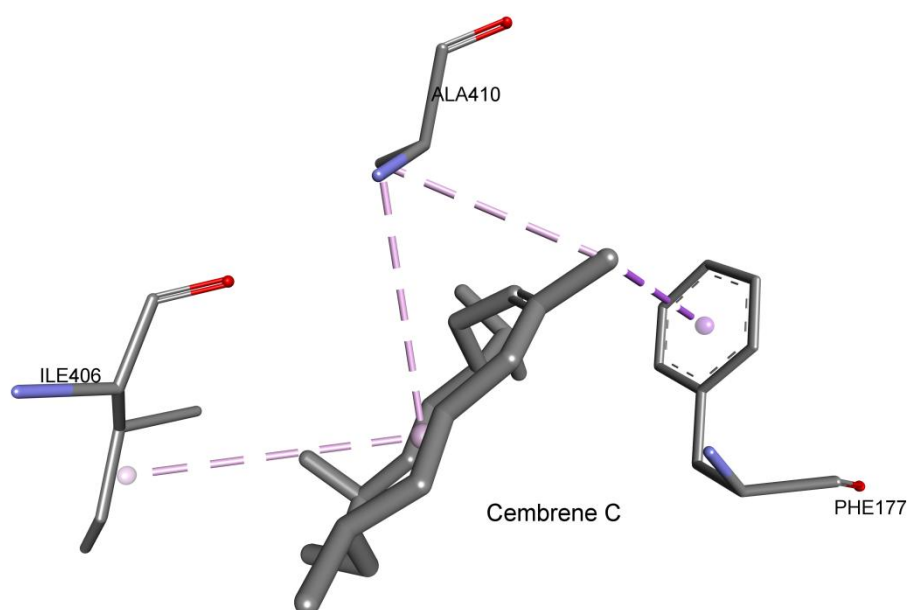
A travers cette étude, nous détaillons le type d'interactions pour le médicament *Zileuton* comme référence. Les résultats de docking liés au nombre de solutions obtenues sont présentés dans le tableau 18. Les meilleures positions réalisées par le discovery sont montrées dans les figures (19 - 28).

**Figure 18** : Les résultats de l'amarrage moléculaire

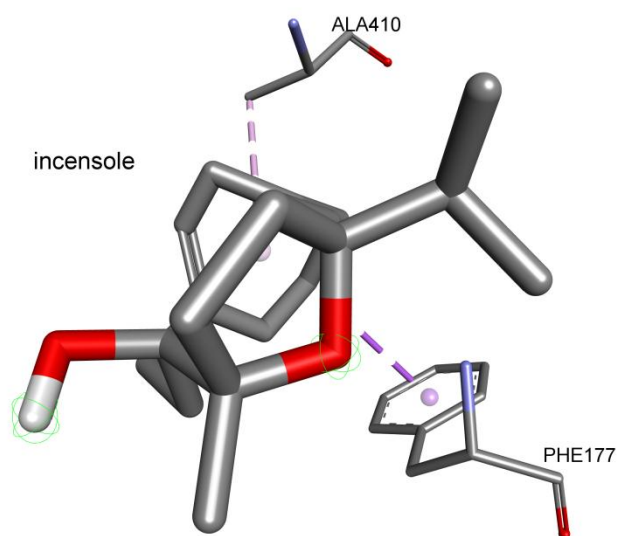
Le ligand	Taux de répétition (%)	Les aa impliqués	Nombre de liaisons	Types d'interactions	Distance des liaisons hydrogènes (a)	Energie libre
Cembrene A	100	Phe177	1	Hydrophobe	3,91	-7.5
Cembrene C	100	Phe177,Ala410,Ile406	4	Hydrophobe	3,806	-7.7
Incensole	70	Phe177,Ala410	2	Hydrophobe	3,837	-7.5
Incensole acetate	90	Phe177,Ala410	2	Hydrophobe	4,703	-7.6
Zileuton	100	His372 ,Ile406,Lys409,HIS 550,Val671	3 3	Hydrophobe Hydrogène	2,416	-6.2
BI-665915	40	HIS372,HIS550,ASN554,PHE555,TYR558,ALA606,LEU607,SER608,GLN609	6 6	Hydrophobe Hydrogène	2.394	-8.3
Celecoxib	90	ILE406,PHE610,ALA672, GLU614,LEU607,GLU557, PHE555,ASN554	6 5	Hydrophobe Hydrogène	2.248	-7.8
Curcumin	0	HIS367,LEU368,HIS372,PHE177,ALA410	5 1	Hydrophobe Hydrogène	3.669	-7.4
Darbufelone	100	ASN554,LYS409	1 1	Hydrophobe Hydrogène	1.930	-7



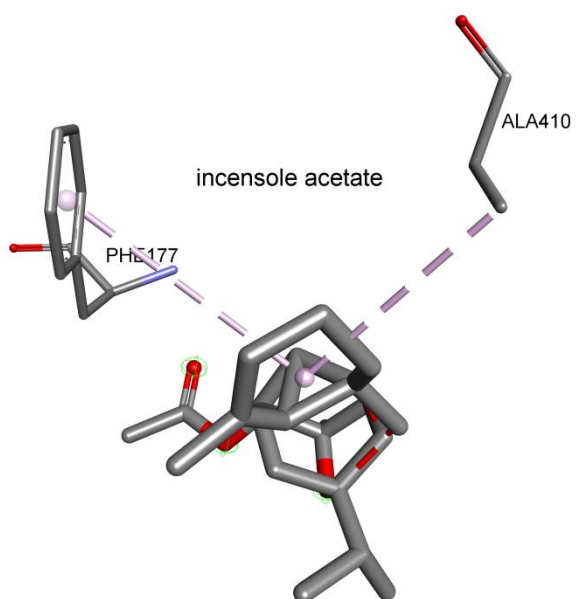
**Figure 19** : Représentation des interactions 3D de Cembrene A obtenue par le logiciel Discovery Studio



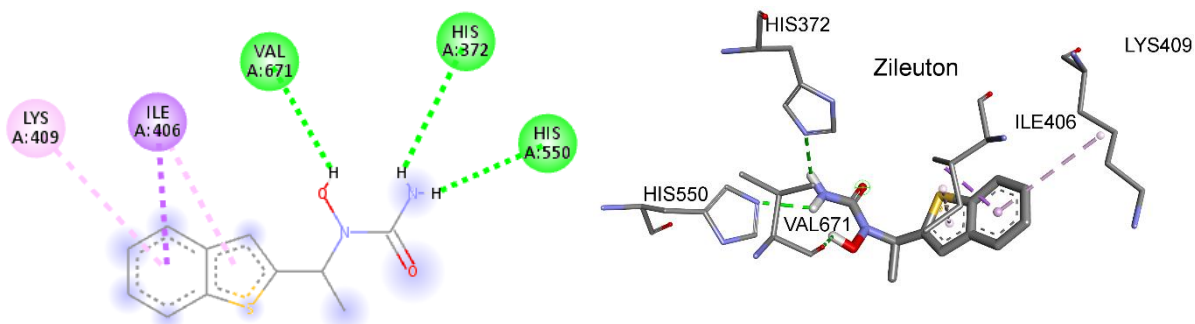
**Figure 20** : Représentation des interactions 3D de Cembrene C obtenue par le logiciel Discovery Studio



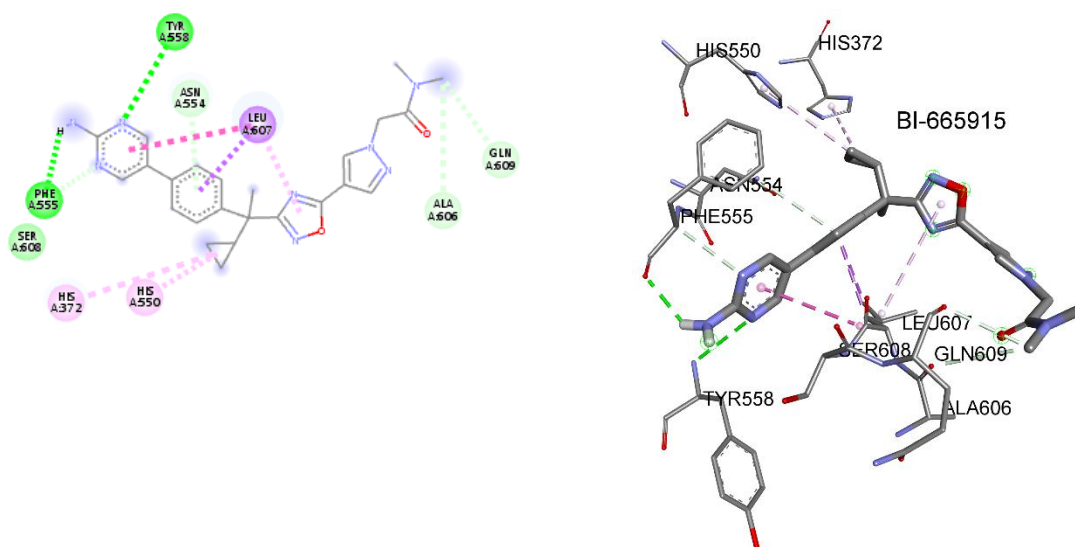
**Figure 21** : Représentation des interactions 3D de Incensole obtenue par le logiciel Discovery Studio



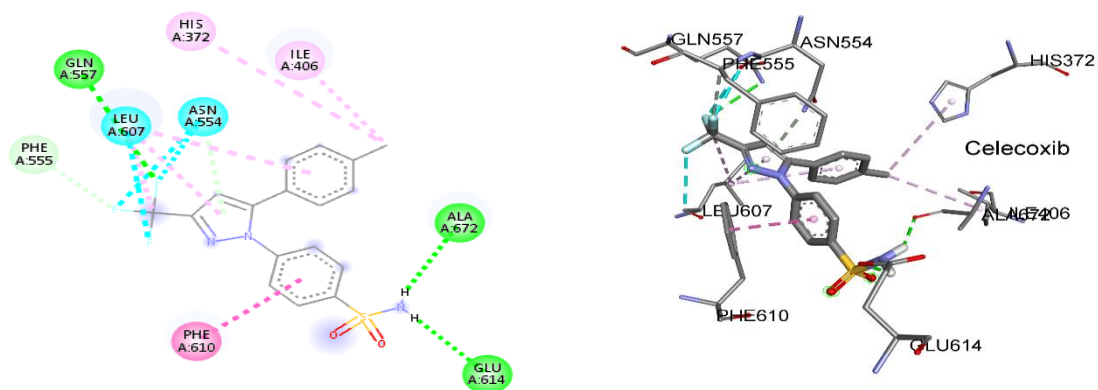
**Figure 22** : Représentation des interactions 3D de Incensole Acetate obtenue par le logiciel Discovery Studio



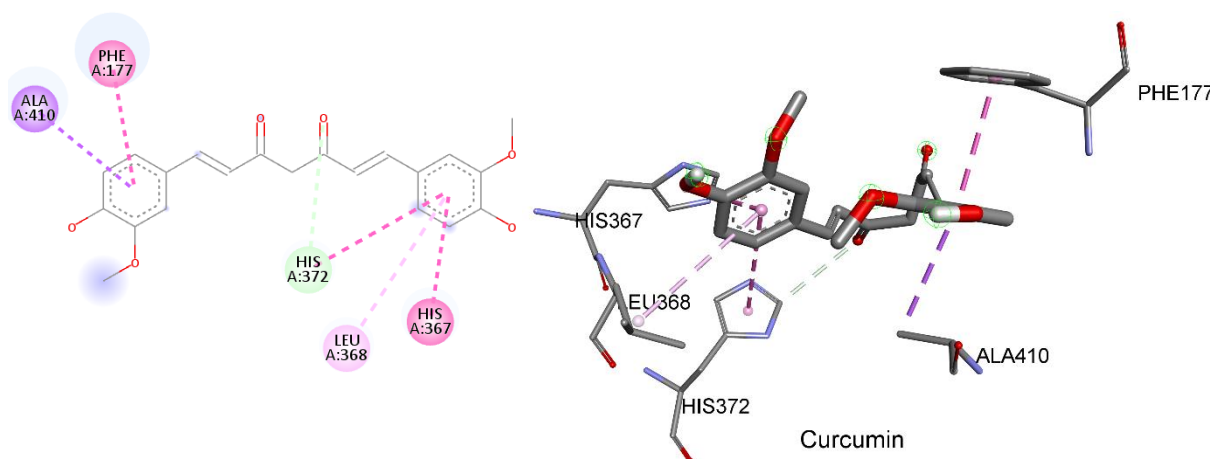
**Figure 23 :** Représentation des interactions 2D Zileuton à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio



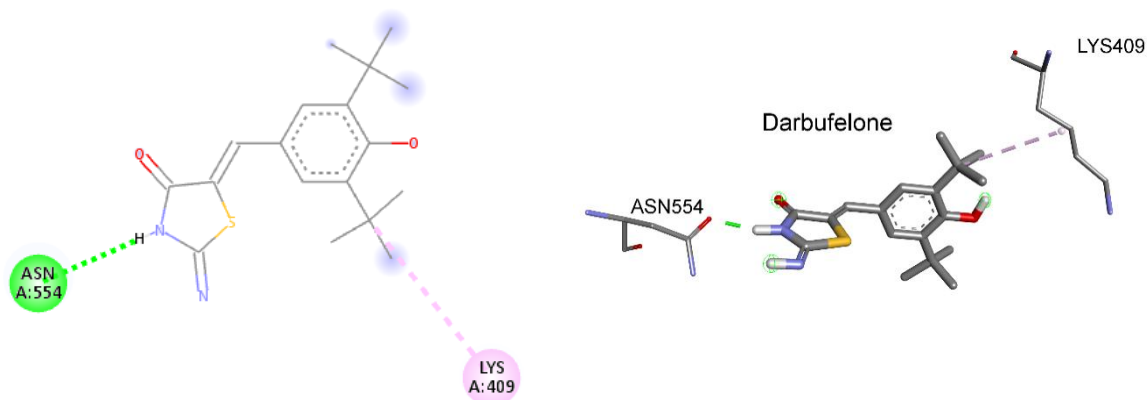
**Figure 24 :** Représentation des interactions 2D BI-665915 à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio



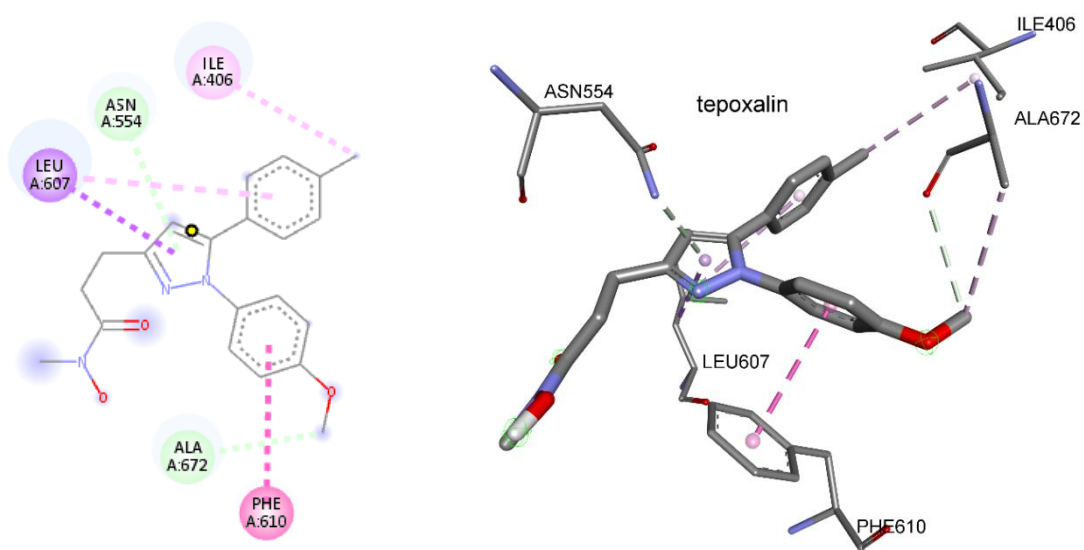
**Figure 25 :** Représentation des interactions 2D Celecoxib à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio



**Figure 26 :** Représentation des interactions 2D Curcumin à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio



**Figure 27 :** Représentation des interactions 2D Darbufelone à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio



**Figure 28 :** Représentation des interactions 2D Tepoxalin à gauche et 3D à droite obtenue par le logiciel Discovery Studio

## 1.2. Prédiction de pharmacocinétique et de similarité médicamenteuse par SwissADME

Les propriétés pharmacocinétiques et la prédiction de la similarité médicamenteuse des composés ont été réalisées par SwissADME version en ligne et les données sont présentées dans le tableau ci-dessous. Selon les propriétés pharmacocinétiques, le Camphen C ont montré Absorption gastro-intestinale faible à l'exception des Inhibiteurs (BI-665915, celcoxib, Darbulfelon, et Tepoxalin) qui a une absorption élevée. Tous les composés n'ont pas de perméabilité sauf, Darbulfelon, et Tepoxalin, cependant, la plupart d'entre eux ont montré une inhibition des isomères du cytochrome P450 (CYP1A2 et CYP2D6).

La ressemblance avec la drogue la prédiction a également été réalisée en fonction des règles de Lipinski, Ghose et Veber sélectionnées et du score de biodisponibilité.

La règle de cinq a montré qu'il n'y avait que tous les composés répondant aux critères d'évaluation de l'effet médicamenteux (tableau 3). Selon le processus de sélection avec Ghose, les règles ont montré que l'inhibiteur, Celcoxib et le ligand Camphen C ont été rejetés avec une violation. Cependant, le dépistage processus avec les règles de Veber, tous les composés répondent aux critères d'évaluation de la similarité des médicaments.

	Pharmacokinetics						Druglikeness			
	GI absorption	BBB permeant	P-gp substrate	CYP 1A2 inhibitor	CYP 2D6 inhibitor	Log $K_p$ (skin permeation)	Lipinski	Ghose	Veber	Bioavailability Score
Celecoxib	High	NO	NO	Yes	NO	-6.21 cm/s	Yes; 0 violation	No; 1 violation: WLOGP>5.6	Yes	0,55
Tepoxalin	High	Yes	NO	Yes	NO	-6.25 cm/s	Yes; 0 violation	Yes	Yes	0,55
Darbulfelone	High	Yes	NO	NO	NO	-6.09 cm/s	Yes; 0 violation	Yes	Yes	0,55
Bi665915	High	NO	Yes	Yes	NO	-7.17 cm/s	Yes; 0 violation	Yes	Yes	0,55
Camphen c	Low	NO	NO	NO	NO	-2.95 cm/s	Yes; 1 violation: MLOGP>4.15	No; 1 violation: WLOGP>5.6	Yes	0,55

**Tableaux.3.** Les résultats de l'étude de paramètre ADMET par la règle de lipinski .

## **2. Discussion**

Nous avons étudié le mécanisme d'action des molécules extraites de plantes médicinales sur la 5-LOX, notamment le type d'interactions et les acides aminés impliqués ; les résultats prédits montrent une inhibition significative par le ligand : Cembrene C et les inhibiteurs: BI-665915, Celecoxib Darbufelone, Tepoxalin Darbufelone avec d'interactions hydrophobes/hydrogène.

L'inhibiteur BI-665915 ( $C_{24}H_{26}N_8O_2$ , 458.5g/mol) à intègre dans le site actif avec les acides aminés HIS 372 ; HIS 550 ; ASN 554 ; ALA 606 ; LEU 607, de 5-lox, forme aussi des interactions hydrophobes hydrogène (6 liaison hydrophobe et 6 liaison hydrogène) avec un temps R100% et une énergie d'interaction de -8,3 (kcal/mol).

L'inhibiteur Tepoxalin, à intègre dans le site actif avec les acides aminés ILE406, ASN554, LEU607 de 5-lox, forme aussi des interactions hydrophobes hydrogène (5 liaison hydrophobe et 2 liaison hydrogène), avec un temps R100% et une énergie d'interaction de -7.9 (kcal/mol).

L'inhibiteur Celecoxib( $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$ ,381.4g/mol) est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS). Inhibiteur à intègre dans le site actif avec les acides aminés LEU607, ASN554 de 5-lox, forme aussi des interactions hydrophobes hydrogène (5 liaison hydrophobe et6 liaison hydrogène), avec un temps R90% et une énergie d'interaction de -7,8 (kcal/mol).

L'inhibiteur Darbufelone ( $C_{18}H_{24}N_2O_2S$ ,332.5g/mol), est un médicament anti-inflammatoire a des effets anticancéreux dans le cancer du poumon. L'inhibiteur Darbufelone à intègre dans le site actif avec l'acide aminé ASN554 de 5-lox forme aussi des interactions hydrophobes hydrogène (1 liaison hydrophobe et1 liaison hydrogène) avec un temps R 100% et une énergie d'interaction de -7,0 (kcal/mol).

Le Cembrene C à intègre dans le site actif avec l'acide aminés ILE406 de 5-lox et forme aussi des interactions hydrophobes (5 liaison hydrophobe) aussi avec un temps R 100% et une énergie d'interaction de -7 ,7 (kcal/mol).

Le Zileuton à intègre dans le site actif avec les acides aminés Ile406, HIS550, de 5-lox .forme aussi des interactions hydrophobes hydrogène (3 liaison hydrophobe et3 liaison hydrogène ) avec un temps 100% et une énergie d'interaction de – 6,2 (kcal/mol).

# *Conclusion*

L'inflammation chronique est phénomène nocif qui menace la santé des patients partout en provoquant d'autres maladies chronique telles que les maladies cardio-vasculaires et l'asthme

Le traitement de l'inflammation ça peut être par l'inhibition des ces enzymes clés telle la 5-LOX dans notre cas dans notre étude .le choix des inhibiteurs à étudier selon leurs capacité anti-inflammatoire bien connue .

Les résultats de DM et de teste ADME montre que seul le Le ligand cembrene C et Inhibiteurs (BI-665915,celocoxib , darburfelon, et Tepoxalin) Ont une capacité inhibitrice importante .

Dans ce travail, notre but était de chercher et d'analyser la capacité et le type d'inhibition in silico de 5-LOX humaine par quelques molécules extraites de plantes médicinales. Nous avons trouvé par les résultats obtenus in silico que Le ligand cembrene C et Inhibiteurs (BI-665915,celocoxib , darburfelon, et Tepoxalin) ont un potentiel puissant d'inhibition de la 5-LOX .

L'amarrage moléculaire est un outil essentiel en biologie moléculaire structurale et en conception de médicaments assistée par ordinateur. Le but de l'amarrage protéine-ligand est de prédire le ou les modes de liaison prédominants d'un ligand avec une protéine de structure tridimensionnelle connue.

Ces résultats sont prouvés par l'étude bioinformatique en déterminant le mécanisme d'inhibition et les interactions effectuées avec les acides aminés du site actif de la 5-LOX.

Des études supplémentaires sur les composés ci-dessus et des études in vitro et in vivo sont nécessaires pour développer des entités chimiques potentielles pouvant être utilisées en clinique dans la prévention et le traitement de l'inflammatoires et les maladies chroniques associés.

À travers ce travail, nous proposons de chercher d'autres molécules qui peuvent avoir des effets inhibiteurs de la 5-LOX, dans le but de trouver des traitements plus efficaces, moins d'effet secondaires et facile à administrer pour les patients.

Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour des applications de ces inhibiteurs en santé pour le traitement de certaines maladies où l'inhibition de la 5-LOX est nécessaire.

# *Références Bibliographique*

- Alberti, J. C. (2013). *Etude du mécanisme catalytique de la lipoxigénase 1 d'olive* (Doctoral dissertation, Université Pascal Paoli).
- Aymeric, J. L., & Lefranc, G. (2009). *Immunologie humaine*. De Boeck Supérieur.
- Bell, Randy L., and Richard R. Harris. "The enzymology and pharmacology of 5-lipoxygenase and 5-lipoxygenase activating protein." *Clinical reviews in allergy & immunology* 17.1-2 (1999): 91-109.
- Bensegueni, A., A. Chikhi, and M. Bencharif. "novel high affinity inhibitors based on the chemical modifications of 3, 4 dihydroxy benzoic acid: docking simulations on lipoxygenase." *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies* (2007): 69-73.
- Borée, D. (2012). Atlas illustré des plantes médicinales et curatives.
- Boudreau, L. (2010). *Identification de variants protéiques de la 5-lipoxygénase humaine chez les leucocytes et leurs effets sur la production de métabolites de l'acide arachidonique*. Faculté des sciences, Département de chimie-biochimie, Université de Moncton.
- Boudreau, Luc. "Contrôle physiologique et pharmacologique de la biosynthèse des leucotriènes." (2012).
- Boudreau, Luc. *Identification de variants protéiques de la 5-lipoxygénase humaine chez les leucocytes et leurs effets sur la production de métabolites de l'acide arachidonique*. Faculté des sciences, Département de chimie-biochimie, Université de Moncton, 2010.
- Cransac, Jean-Claude. *Activité sur les lipoxygénases de certaines molécules à cycle imidazole ou thiazole utilisées en parasitologie*. 1992. Thèse de doctorat.
- Cransac, Jean-Claude. *Activité sur les lipoxygénases de certaines molécules à cycle imidazole ou thiazole utilisées en parasitologie*. Diss. 1992.
- ***Encyclopædia Universalis France***
- Espinosa, É., & Chillet, P. (2006). *Immunologie*. Ellipses.
- Feißt, Christian, et al. "Hyperforin is a novel type of 5-lipoxygenase inhibitor with high efficacy in vivo." *Cellular and molecular life sciences* 66.16 (2009): 2759-2771.
- Ford-Hutchinson, A. W., M. Gresser, and R. N. Young. "5-LIPOXYGENASE." *Annual review of biochemistry* 63.1 (1994): 383-417.
- Funk, Colin D., et al. "Lipoxygenase genes and their targeted disruption." *Prostaglandins & other lipid mediators* 68 (2002): 303-312.

- Ganorkar, S. B., Vander Heyden, Y., Shirkhedkar, A. A., Lokwani, D. K., Dhupal, D. M., & Bobade, P. S. (2020). Pharmaceutical analysis combined with in-silico therapeutic and toxicological profiling on zileuton and its impurities to assist in modern drug discovery. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 179, 112982.
- Gueudry J, Bodaghi B. Traitements biologiques des inflammations endoculaires. EMC - Ophtalmologie 2015;12(4):1-7 [Article 21-225-D-25].
- Hu, Chaoyu, and Shutao Ma. "Recent development of lipoxygenase inhibitors as anti-inflammatory agents." *Medchemcomm* 9.2 (2018): 212-225.
- Issa, A. Y., Volate, S. R., & Wargovich, M. J. (2006). The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(5), 405-419.
- Kobe, Matthew J., et al. "The structure of human 15-lipoxygenase-2 with a substrate mimic." *Journal of Biological Chemistry* 289.12 (2014): 8562-8569.
- Kubick, N., Pajares, M., Enache, I., Manda, G., & Mickael, M. E. (2020). Repurposing zileuton as a depression drug using an AI and in vitro approach. *Molecules*, 25(9), 2155.
- Kühn, Hartmut, and Valerie B. O'Donnell. "Inflammation and immune regulation by 12/15-lipoxygenases." *Progress in lipid research* 45.4 (2006): 334-356.
- Kuhn, Hartmut, Swathi Banthiya, and Klaus Van Leyen. "Mammalian lipoxygenases and their biological relevance." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1851.4 (2015): 308-330.
- Mathieu, M., & Guimezanes, A. (2011). Séminaire Ketty Schwartz 2012: Inflammation et maladies.
- Natarajan, R., & Nadler, J. L. (2004). Lipid inflammatory mediators in diabetic vascular disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 24(9), 1542-1548.
- Owen, J., Punt, J., & Stranford, S. (2014). *Immunologie-7e édition: Le cours de Janis Kuby avec questions de révision*. Dunod.
- Pahwa, Roma, et al. "Chronic inflammation." *StatPearls [Internet]* (2020).