

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE 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

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Etude de l'activité antiinflammatoire des plantes sahariennes par
l'inhibition de la lipoxgénase utilisant le Docking moléculaire**

Présenté par : HAZEL Ibrahim El Khalil
ROUGHY Med Tahar
SACI Med Khireddine

Devant le jury :

Président :	Pr. ZERROUK Salim	Professeur (UATL)
Examineur :	Dr. KADI Imed eddine	M.C.B. (URPML)
Rapporteur :	Dr. SIFI Ibrahim	M.C.A. (UATL)
Corapporteur :	Melle. LAKAS Manel	Doctorante (UATL)

Soutenu publiquement le : 06/06/2023

REMERCIEMENT

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience pour réaliser cette recherche.

Nous remercions sincèrement notre encadreur pour sa bienveillance, sa confiance, ses orientations, ses conseils précieux et sa patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner ce modeste travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à remercier encore une fois toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail.

À tous ceux que nous avons rencontrés lors de cette recherche et qui ont accepté de répondre à nos interrogations avec gentillesse.

Merci à toutes et à tous.

DEDICACE

Je dédie cet humble travail à mes chers parents qui m'ont soutenu durant ces années d'études et qui m'ont encouragé tout au long de ce parcours. Aucune dédicace ne pourrait exprimer notre gratitude et nos profonds sentiments envers eux.

À mes enseignants, ceux qui ont participé à ma formation pour que je puisse réaliser un travail de qualité.

A toute ma famille et mes amis, ceux qui m'ont encouragé je leur souhaite plus de succès.

ROUIGHI Mohamed Tahar
SACI Mohamed Kheireddine Mamoune
HÂZÊL Ibrahim Elkhalil

RESUME

La présente étude consiste à évaluer le potentielle inhibiteur de quelques molécules d'origine naturel provenant des plantes médicinales sur l'enzyme 5-lipoxygénase, en utilisant le Docking moléculaire. Les résultat montre que les ligands 2, 4, 7, 9, 11 et 12, ayant une forte affinité pour la 5-lipoxygénase en utilisant Auto-dock vina et présentant une faible toxicité potentielle d'après le server ADMETlab, suggérant leur potentiel en tant qu'agents anti-inflammatoires par rapport à les standard. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer leur efficacité in-vivo avant de pouvoir les utiliser comme médicaments anti-inflammatoires.

Mots-clés : Antiinflammatoire ; AutoDock Vina ; Docking moléculaire ; 5-Lipooxygénase ; ADMET.

Abstract

The present study consists in evaluating the potential inhibitor of some naturally occurring molecules from medicinal plants on the enzyme 5-lipoxygenase, using molecular docking. The results show that ligands 2, 4, 7, 9, 11 and 12, having a high affinity for 5-lipoxygenase using Auto-dock vina and presenting low potential toxicity according to the ADMETlab server, suggesting their potential as anti-inflammatory agents compared to the standards. However, more studies are needed to assess their effectiveness in vivo before they can be used as anti-inflammatory drugs.

Keywords: Anti-inflammatory; AutoDock Vina; Molecular docking; 5-Lipooxygenase; ADMITS.

الملخص

تتكون الدراسة الحالية من تقييم النشاط المثبط لبعض الجزيئات الطبيعية من النباتات الطبية على إنزيم 5-lipoxygenase ، باستخدام الالتحام الجزيئي. تظهر النتائج أن الجزيئات 2، 4، 7، 9، 11 و 12 لها تقارب كبير مع 5-lipoxygenase باستخدام Auto-dock vina مع سمية محتملة منخفضة وفقا لADMETlab ، مما يشير إلى إمكاناتها كعوامل مضادة للالتهابات مقارنة بالمعايير. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتقييم فعاليتها في الجسم الحي قبل استخدامها كأدوية مضادة للالتهابات. الكلمات المفتاحية: مضاد للالتهابات، AutoDock vina، الالتحام الجزيئي، Lipooxygenase، ADMET.

LIST DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les score du docking des ligands avec le récepteur (3O8Y)	24
Tableau 2 : Les propriétés pharmacocinétiques (ADMET) des ligands (9 à 16).....	28

LIST DES FIGURES

Figure 1 : L'inflammation aigue	3
Figure 2 : Mécanisme de la cyclo-oxygénase 1 et 2.....	6
Figure 3 : Structure 3D de La 5-lipoxygénas	6
Figure 4 : L'interface de la page d'accueil du Pubchem.....	17
Figure 5 : L'interface de la page d'accueil du RCSB PDB	18
Figure 6 : L'interface de la page d'accueil du AutoDockTools.....	18
Figure 7 : L'interface de la page d'accueil duPyMOL	19
Figure 8 : Les interactions de ligand 15 (Standard) dans le site actif en 2D et 3D	25
Figure 9 : Les interactions de ligand 16 (Standard) dans le site actif en 2D et 3D	26
Figure 10 : Les interactions de ligand 17 (Standard) dans le site actif en 2D et 3D	27

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acide Aminé

AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens

AG : Antigène

COX 1 : La cyclooxygénase 1

COX 2 : La cyclooxygénase 2

5-LOX : 5-lipoxygénase

2D : Structure bidimensionnelle

3D : Structure tridimensionnelle

PDB : Protein Data Bank

FAD : Flavine-Adénine Dinucléotide

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LOX : lipoxygénase

Table des matières

DEDICACE	iii
RESUME	iv
LIST DES TABLEAUX.....	v
LIST DES FIGURES	v
LISTE DES ABREVIATIONS	vi
INTRODUCTION	ix
Introduction	1
CHAPITRE 1 : Aperçue sur l'inflammation et les antiinflammatoires	2
1. L'inflammation.....	2
2. La réaction inflammatoire	2
3. La principal cause de l'inflammation	2
4. L'inflammation aiguë	2
5. Le mécanisme réactionnel	3
5.1. Phase vasculo-sanguine de l'inflammation	3
5.2. Phase cellulaire	4
5.3. Phase de détersion	4
6.L'inflammation chronique.....	4
7. La cyclooxygénase et l'inflammation.....	5
7.1. La cyclooxygénase 1	5
7.2. La cyclooxygénase 2	5
8. La lipoxygénase.....	6
8.2. La distribution et la localisation	7
8.3. La nomenclature internationale de l'enzyme 5-LOX	7
9. Les anti-inflammatoires.....	8
9.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	8
9.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens.....	9
9.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale.....	9
CHAPITRE 2 : Matériels et Méthodes.....	17
1. Banque des données	17
1.1. PubChem	17
1.2. PDB (Protein Data Bank)	17
2. Programme et logiciels	18

2.1. AutoDock Tools	18
2.1. PyMOL	19
2.3. Server ADMETlab 2.0.....	19
3. Docking moléculaire.....	20
3.1. Préparation des structures du récepteur et du ligand	20
3.2. Définition du site de liaison :.....	20
3.3. Évaluation des conformations :	20
3.4. L'importation des complexes ligand-récepteur générés par le programme de docking dans Discovery Studio	21
CHAPITRE 3 : Résultats et Discussion.....	24
1. Résultats de Docking moléculaire (Scores).....	24
2. Résultats d'interactions des Ligands-LOX en 2D et 3D	25
3. Résultats des propriétés pharmacocinétiques (ADMET) des ligands	28
4. Discussion.....	30
CONCLUSION	46
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	50

INTRODUCTION

Introduction

La phytothérapie est l'ensemble des plantes médicinales, permettant de remédier à des problèmes du quotidien de manière naturelle, elle est de plus en plus utilisée, et son efficacité est reconnue.

La recherche dans l'industrie pharmaceutique est un processus qui prend du temps avec un risque élevé d'échec. Pour cela, le processus de développement des médicaments a été amélioré grâce à l'utilisation des techniques dites haut-débit qui sont efficaces lorsqu'elles ont combiné à des outils informatiques (Reker, 2019) (Kiriiri, 2020).

Avec le développement des outils informatiques, la modélisation moléculaire et plus précisément le Docking moléculaire (assemblage ou arrimage) a rapidement investi dans le domaine de la recherche en biologie, Celui-ci peut être défini comme la recherche du meilleur appariement entre deux molécules (Lin, 2020).

Ainsi cette méthode, permet de cribler des milliers de composés pour une protéine cible, est couramment utilisée en pharmaco-chimie pour l'obtention de nouveaux médicaments. Une telle approche serait difficilement réalisable en biologie traditionnelle où le récepteur est classiquement une protéine ou un oligomère de protéine et le ligand est une petite molécule (Jean-Charles B, 2008) .

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs ou candidats des médicaments anti inflammatoires. Notre objectif est de chercher la possibilité d'utiliser certains ligands comme anti-inflammatoires naturels agissant sur 5-lipoxygénase (5-LOX) en utilisant la méthode du Docking moléculaire.

Notre manuscrit est subdivisé trois chapitres :

Le premier chapitre est une revue bibliographique qui comprend des notions générales sur processus de l'inflammation et l'effet anti inflammatoire et enfin une définition de la 5-lipoxygénase (5-LOX).

Le deuxième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude, alors que le dernier chapitre expose les résultats et leur discussion et notre manuscrit est clôturé par une conclusion.

Chapitre 1

CHAPITRE 1 : Aperçue sur l'inflammation et les antiinflammatoires

1. L'inflammation

Traditionnellement, les processus inflammatoires ont été reconnus par quatre principaux symptômes cliniques : la chaleur, la rougeur, la douleur et une « tumeur » (gonflement).

Le processus inflammatoire est l'ensemble des processus réactionnels locaux et systémiques d'un organisme en réponse à toute forme d'atteinte tissulaire exogène ou endogène.

Il s'agit d'un processus important visant à restaurer l'intégrité de l'organisme. L'inflammation a généralement tendance à limiter et à réparer les effets d'une attaque. Cependant, ses effets sont parfois néfastes.

L'inflammation joue un rôle central dans la pathogenèse de nombreuses maladies (Asselah, 2021).

2. La réaction inflammatoire

Le même pathogène peut induire une réponse inflammatoire locale restreinte au foyer d'inflammation tissulaire avec peu ou pas de réponse systémique ou, à l'inverse, une réponse systémique de nature immunologique. (Asselah, 2021).

3. La principal cause de l'inflammation

L'inflammation est causée par de multiples traumatismes physiques extrinsèques et intrinsèques, la chaleur, le froid, les radiations, les chocs électriques, Ischémie nutritionnelle (angiosclérose) L'histamine chimique, les acides, les bases, les "substances étrangères".

Agents infectieux biologiques (virus, bactéries, parasites, champignons) Interaction immunologique des lymphocytes et AG avec libération de lymphokines L'inflammation va bien au-delà de l'infection. Certains principes actifs déterminent des processus inflammatoires dont la morphologie est particulière (inflammation « spécifique ») (Asselah, 2021).

4. L'inflammation aiguë

Il s'agit d'une réponse immédiate à un agent pathogène agressif, de courte durée (de quelques jours à quelques semaines), qui débute souvent brusquement et se caractérise par une

exsudation vasculaire sévère. L'inflammation aiguë se résout spontanément ou avec un traitement, mais peut avoir des séquelles en cas de destruction tissulaire importante.

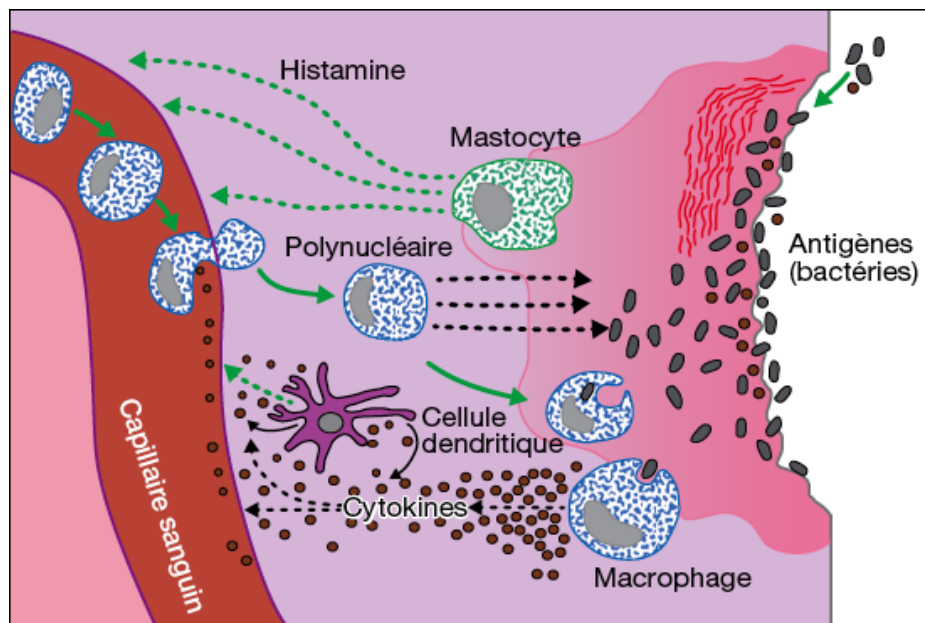


Figure 1 : L'inflammation aiguë

5. Le mécanisme réactionnel

Lésions précoces : Associé à l'action d'agents pathogènes endogènes ou exogènes. Un mécanisme commun derrière la réponse inflammatoire est l'activation des cytokines pro-inflammatoires. La réponse inflammatoire est une succession d'événements qui peuvent être schématisés en trois étapes :

- 1) Phase vasculo-sanguine de l'inflammation
- 2) Phase cellulaire
- 3) Phase de détersion

5.1. Phase vasculo-sanguine de l'inflammation

Cliniquement, cela se traduit par quatre signes cardinaux d'inflammation aiguë. Rougeur, chaleur, douleur, gonflement. Il s'agit de trois phénomènes :

- -Une congestion active
- -Un œdème inflammatoire [exsudat]
- -Une diapédèse leucocytaire

5.2. Phase cellulaire

- Commence presque simultanément avec la phase sanguine, mais dure plus longtemps.
- Caractérisé par l'apparition de nouvelles cellules au foyer de l'inflammation, principalement des polynucléaires et des histiocytes.
- Conduisent à la formation de granulomes inflammatoires
- La fonction première de la réponse inflammatoire est de transporter les cellules phagocytaires vers le site d'attaque.
- La fonction de ces cellules est d'éliminer les débris de particules par phagocytose
- Les cellules piègeuses circulantes sont recrutées par chimiotaxie et migrent spécifiquement vers les tissus Inflammabilité

5.3. Phase de détersion

Contemporaine à la phase cellulaire nettoyage du foyer lésionnel, permet l'élimination des tissus nécrosés, agents pathogènes, liquides. Prépare à la réparation cicatrisation, si la détersion est incomplète, inflammation aigue va évoluer vers la chronicité.

Il y a 2 modes :

- -Détersion interne phagocytose
- -Détersion externe : Spontanée par liquéfaction du matériel nécrosé (pus) et élimination par fistulisation a la peau ou dans un conduit naturel bronchique ou urinaire (Annouche, 2021).

6.L'inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, de macrophages et de plasmocytes dans le tissu. Les réponses inflammatoires chroniques peuvent souvent durer longtemps (des mois ou des années). On pense qu'elle est causée par l'implication continue des réponses immunitaires innées et adaptatives, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, le rejet chronique d'allogreffe, la bérylliose et l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages de ces lésions génèrent divers médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour se lier au collagène et à d'autres macrophages et lymphocytes, libérant des médiateurs responsables de la réponse inflammatoire. L'inflammation chronique est principalement déclenchée par une réponse vasculaire qui

implique l'apparition de molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales qui déclenchent spécifiquement l'adhésion des lymphocytes et des monocytes et permettent leur migration vers les compartiments extravasculaires. Semblables aux réponses inflammatoires aiguës, les lymphocytes et les monocytes subissent des processus d'activation qui favorisent l'adhésion et la migration de ces cellules vers le compartiment extravasculaire. Différents types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales déterminent les types de leucocytes qui migrent dans tous les types de réponses inflammatoires (Charles et al., 2010 ; Nourshargh et al., 2006).

7. La cyclooxygénase et l'inflammation

7.1. La cyclooxygénase 1

La [cyclooxygénase]-1 ([COX-1]) a été découverte en 1971 et plus tard revendiquée pour expliquer les actions biochimiques des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (Vane J.R., 1971). La [cyclooxygénase]-1 est une enzyme bifonctionnelle. Ainsi, l'acide arachidonique peut d'abord être converti en un endoperoxyde cyclique (PGG₂). C'est la fonction [cyclooxygénase]. Ce premier produit est ensuite converti en PGH₂ par la fonction peroxydase de l'enzyme (De Witt, 1991) et la cytoprotection (Greyn J. et al., 1998). A titre d'exemple, on peut citer le rôle cytoprotecteur de ces prostaglandines au niveau de la muqueuse gastrique, le maintien du flux sanguin au niveau du rein, ou encore le maintien de l'homéostasie vasculaire (Reitz DB et Isakson PC, 1995).

7.2. La cyclooxygénase 2

La [cyclooxygénase]-2 (COX-2) a été découverte en 1990 et rapidement liée à des phénomènes inflammatoires pouvant affecter l'organisme. Il a été souligné après que certaines études ont démontré que la quantité de protéine COX augmente dans les conditions inflammatoires. COX-2] n'est normalement pas exprimé dans les cellules dans la plupart des cas. Cette expression se produit dans les cellules associées à l'inflammation telles que les monocytes et les fibroblastes sous l'action de cytokines telles que l'IL-1 β , le TNF- α , l'IFN- γ et l'endotoxine bactérienne, des facteurs de croissance ou des esters de phorbol. En conséquence, la transcription et la traduction de [COX-2] sont induites immédiatement, mais la protéine est dégradée en quelques heures (Patrignani P. et al., 1994). Cette synthèse de COX-2 produit des

prostaglandines et des thromboxanes. La transcription de cette enzyme peut être inhibée par les corticostéroïdes (Masferrer J.L. et al., 1992).

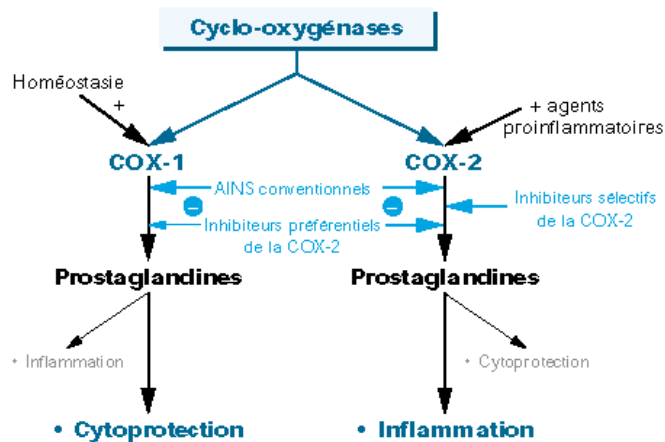


Figure 2 : Mécanisme de la cyclo-oxygénase 1 et 2

8. La lipoxygénase

La 5-lipoxygénase (5-LOX), une enzyme essentiellement exprimée par les leucocytes, est responsable de la synthèse des leucotriènes, principaux médiateurs lipidiques de l'inflammation (M. Hatmi et al, 2006). Les études de la séquence des acides aminés des protéines ont pour but de mieux comprendre la corrélation entre leurs caractéristiques structurales et leurs activités biologiques. La 5-LOX mature est constituée de 673 acides aminés et son poids moléculaire est de 77839 da. La séquence des 17 premiers acides aminés est identique à celle déterminée par dégradation d'Edman de la 5-LOX de la cellule leucémie de basophile du rat (BOUDERSA Yacer,2016).

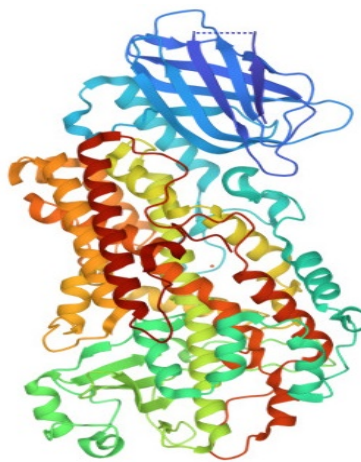


Figure 3 : Structure 3D de La 5-lipoxygénas

8.2. La distribution et la localisation

5-lipoxygénase (5-LOX) qui est un enzyme de la famille lipoxygénases que nous donnent après catalyser les acides gras des métabolites qui induisent plusieurs processus pathologique (inflammation, cancer, athérogènes, ostéoporose...) . Les lipoxygénases dans les tissus des animaux sont des métalloenzymes. Un fer non hémique unique est présent dans chaque enzyme et il existe dans deux états d'oxydation Fe (II) et Fe (III). D'après le mécanisme de fonctionnement actuel, l'enzyme native est inactive dans la forme de Fe (II). Lorsqu'elle est traitée avec une quantité équimolaire du produit, le fer est oxydé sous la forme de Fe (III), conduisant à une enzyme active [10]. Les lipoxygénases (LOX) forment une famille hétérogène d'enzymes qui catalysent la peroxydation des lipides dioxygénation d'acides gras poly-insaturés (AGPI) en leurs dérivés correspondants hydroperoxydés. Dans les tissus animaux, le substrat le plus courant rencontré est l'acide arachidonique (C20 : 4). Jusqu'à présent, trois principales isoenzymes ont été observés chez les êtres humains, classés en fonction de leur spécificité de position de l'oxygénation de l'acide arachidonique (AA) : la 5-, 12- et 15-LOX insérer O₂ au C-5, -12 et -15 positions des AA, respectivement, et produire le 5-, 12- et 15-HPETE (acide hydroperoxyeicosatetraenoic). Ces enzymes omniprésents jouent un rôle crucial dans certaines pathologies humaines telles que l'inflammation, les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et les troubles cancéreux (Boudersa, 2016).

8.3. La nomenclature internationale de l'enzyme 5-LOX

- EC 1.13.11.34
- EC 1 - Oxydoréductases.
- EC 1.13 - Agissant sur les donateurs individuels avec incorporation de l'oxygène moléculaire (des oxygénases). L'oxygène ne doit pas être intégré dériver de l'O₂.
- EC 1.13.11 - Avec l'incorporation de deux atomes d'oxygène.
- EC 1.13.11.34 - Arachidonate 5-lipoxygenase.
- Nom accepté : arachidonate 5-lipoxygenase.
- Autres noms : 5 Δ -lipoxygenase, Δ 5 -lipoxygenase, C-5-lipoxygenase, LTA synthase, arachidonic 5-lipoxygenase, arachidonic acid 5-lipoxygenase, leucotriène A4 synthase leukotriene-A4 synthase.
- Nom systématique : arachidonate : oxygène 5-oxidoreductase.

Dans la nomenclature de la lipoxigénase le nombre se réfère au carbone de l'acide arachidonique à laquelle l'oxygène est ajouté.

La 5-LOX catalyse la conversion de l'acide arachidonique (AA) en acide 5 (S) - hydroperoxy-6-trans-cis-8,11,14-eicosatétraénoïque (5-HPETE), puis en LTA4 allylique époxyde. L'hydrolyse enzymatique du LTA4 par la LTA4 hydrolase conduit à un acide di-hydroxylé le LTB4 alors que sa conjugaison avec le glutathion conduit au LTC4 (BOUDERSA, 2016).

9. Les anti-inflammatoires

Les médicaments anti-inflammatoires sont définis comme des substances qui agissent sur la douleur et l'enflure qui surviennent après l'attaque d'un agent pathogène. Ils bloquent la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques inflammatoires, comme les prostaglandines, réduisant ainsi la douleur et l'inflammation. Lorsqu'une réponse inflammatoire se prolonge anormalement (inflammation chronique) et entraîne Contusion des tissus mous. Ces molécules sont classées en anti-inflammatoires stéroïdiens (cortisone et ses dérivés), anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et anti-inflammatoires naturels.

9.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

D'un point de vue chimique, ils constituent une classe médicamenteuse hétérogène dans laquelle l'aspirine est le leader de ces anti-inflammatoires connus pour leurs effets analgésiques, antipyrétiques et antiagrégants plaquettaires. Cependant, leurs bénéfices bénéfiques sont limités par des effets secondaires graves, principalement dans le système digestif et dans une moindre mesure dans le système rénal. Il n'est pas possible de séparer les effets thérapeutiques des AINS de certains de leurs effets indésirables qui s'expliquent par leur mécanisme d'action (Aouicha, 2018).

Lors de l'inflammation, les AINS agissent dans un premier temps en bloquant l'accès de l'acide arachidonique au site actif de la cyclooxygénase (COX), inhibant ainsi la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires .

De plus, en agissant sur les lipoxigénases, ils inhibent la formation de superoxyde et stabilisent les membranes lysosomales, empêchant ainsi la libération de Composés pro-inflammatoires et inhibent la formation de kinines (Bounihi,2016).

9.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), également connus sous le nom de corticostéroïdes, sont des hormones produites naturellement par le cortex surrénal, qui se trouvent au-dessus des reins. Les AIS sont synthétiques et imitent les effets des hormones stéroïdes naturelles. (Coutinho et Chapman, 2011)

Les AIS agissent en se liant aux récepteurs des glucocorticoïdes dans les cellules, ce qui réduit la production de cytokines, qui sont des substances produites par le système immunitaire qui jouent un rôle clé dans l'inflammation. Les AIS ont également des effets sur le métabolisme, la réponse au stress et la régulation du système immunitaire. (Dworski et al., 1994 ; Bourbon et al., 2004 ; Becker, 2013 ; Danielson et al., 2018).

Les AIS sont souvent utilisés pour traiter des conditions inflammatoires telles que l'arthrite, les maladies auto-immunes et les allergies. Cependant, leur utilisation prolongée peut entraîner des effets secondaires importants, tels qu'une augmentation du risque d'infections, une augmentation de la pression artérielle, une prise de poids, une augmentation de la glycémie, une fragilisation des os, une diminution de la fonction immunitaire et une diminution de la croissance chez les enfants. (Dejean et Richard, 2013 ; Mitre-Aguilar et al., 2015).

Il est important de noter que l'utilisation d'AIS doit être supervisée par un professionnel de la santé qualifié et que leur utilisation doit être limitée dans le temps et à la dose minimale efficace pour minimiser les risques d'effets secondaires. Les AIS ne doivent pas être utilisés pour traiter des infections, car ils peuvent masquer les symptômes et aggraver l'infection. (Orliaguet et al., 2013 ; Roquilly et Asehnoune, 2019).

9.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Les anti-inflammatoires végétaux sont des substances naturelles extraits de certaines plantes ayant des propriétés anti-inflammatoires.

Depuis des siècles, et en médecine traditionnelle certaines substances étaient utilisées pour soulager les douleurs et les inflammations, nous citons à titre d'exemple :

La *curcumine* : c'est une épice utilisée dans la cuisine où beaucoup d'étude ont prouvé son efficacité comme anti-inflammatoire bénéfique contre les douleurs articulaires

Boswellia : l'huile de *Boswellia* est extraite de l'écorce de l'arbre *Boswellia*, elle a des propriétés anti-inflammatoires qui peuvent calmer les douleurs articulaires et aide ainsi à la réduction de l'inflammation.

Gingembre : d'après quelques études, le gingembre a beaucoup de bienfaits, notamment dans la diminution des douleurs musculaires.

Saule blanc : c'est une substance contenant de la salicine qui est le composé de base de l'aspirine, elle a été utilisée pendant des siècles pour soulager la douleur.

Cependant, des anti-inflammatoires d'origine végétale peuvent également provoquer des effets secondaires, donc il est conseillé d'avoir un suivi de la part d'un professionnel de la santé avant de les utiliser (Barnes,1998).

Chapitre2 :

MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE 2 : Matériels et Méthodes

Notre travail *in-silico* a été réalisé par deux micro-ordinateurs, un ayant une RAM de 8,00 GO et un processeur 2.40 GHz Intel(R) Core(TM) i5 de la 6ème génération, sous Windows 10 Pro. Et l'autre ayant une RAM de 16,00 GO et un processeur 2.40 GHz Intel(R) Core(TM) i5 de la 10ème génération, carte graphique msi sous Windows 10 Pro.

1. Banque des données

1.1. PubChem

Est une base de données publique de molécules et de leurs propriétés biologiques, développée et maintenue par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) des États-Unis. Elle contient des informations sur les structures chimiques, les propriétés physiques et les activités biologiques des composés. (Wang Y. X., 2012)

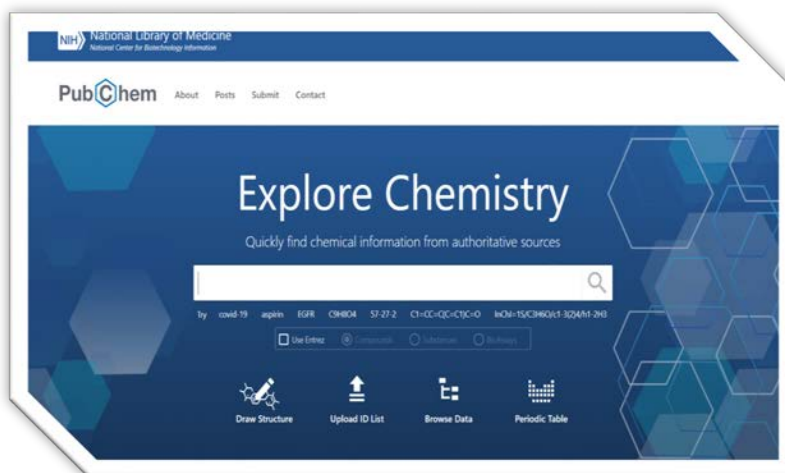


Figure 4 : L'interface de la page d'accueil du Pubchem

1.2. PDB (Protein Data Bank)

RCSB PDB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank) est une ressource en ligne qui fournit un accès gratuit aux structures de macromolécules biologiques déterminées par diffraction des rayons X, la résonance magnétique nucléaire et la modélisation informatique. Il est développé conjointement par des institutions académiques et des entreprises privées (Burley, 2018).

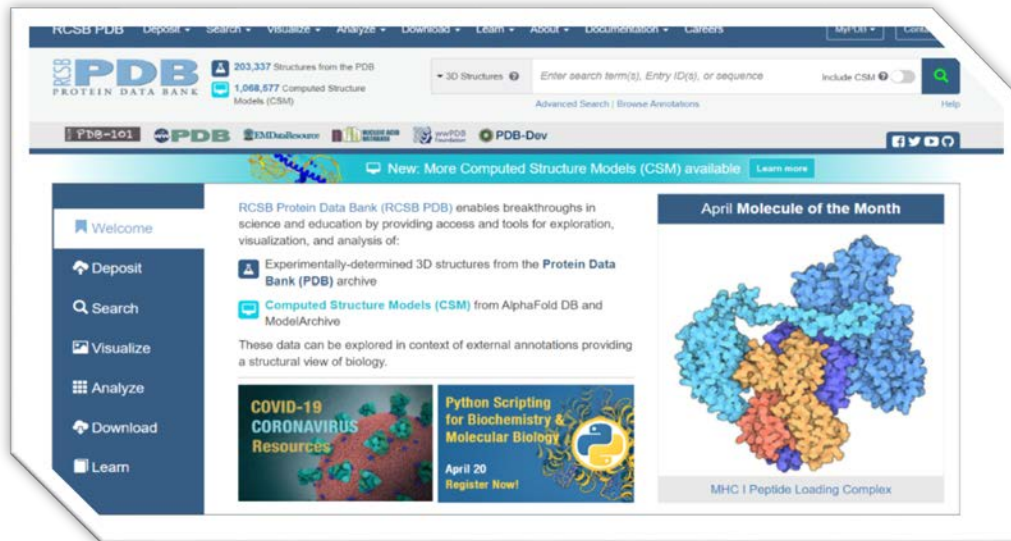


Figure 5 : L'interface de la page d'accueil du RCSB PDB

2. Programme et logiciels

2.1. AutoDock Tools

C'est un logiciel de modélisation moléculaire utilisé pour la prédiction des interactions entre les ligands et les macromolécules biologiques. Il est distribué sous licence GPL et est développé par l'Université de Californie à San Francisco. Les utilisateurs peuvent préparer des fichiers d'entrée pour AutoDock et visualiser les résultats de manière interactive (Morris, 2008).

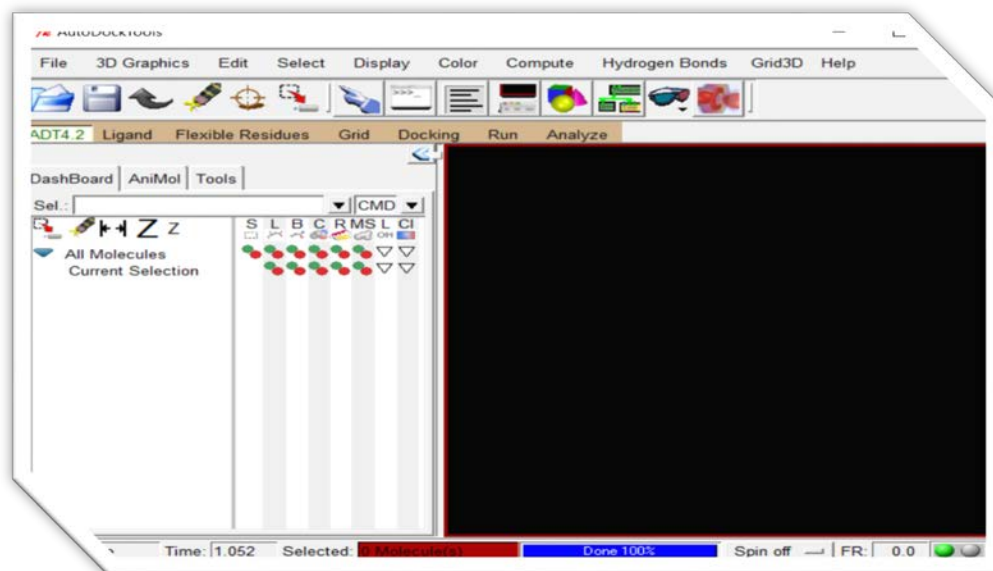


Figure 6 : L'interface de la page d'accueil du AutoDockTools

2.1. PyMOL

Est un logiciel de visualisation moléculaire utilisé pour créer des images et des animations de structures moléculaires en trois dimensions. Il est développé par Schrödinger, LLC et est distribué sous licence propriétaire (DeLano, 2002).

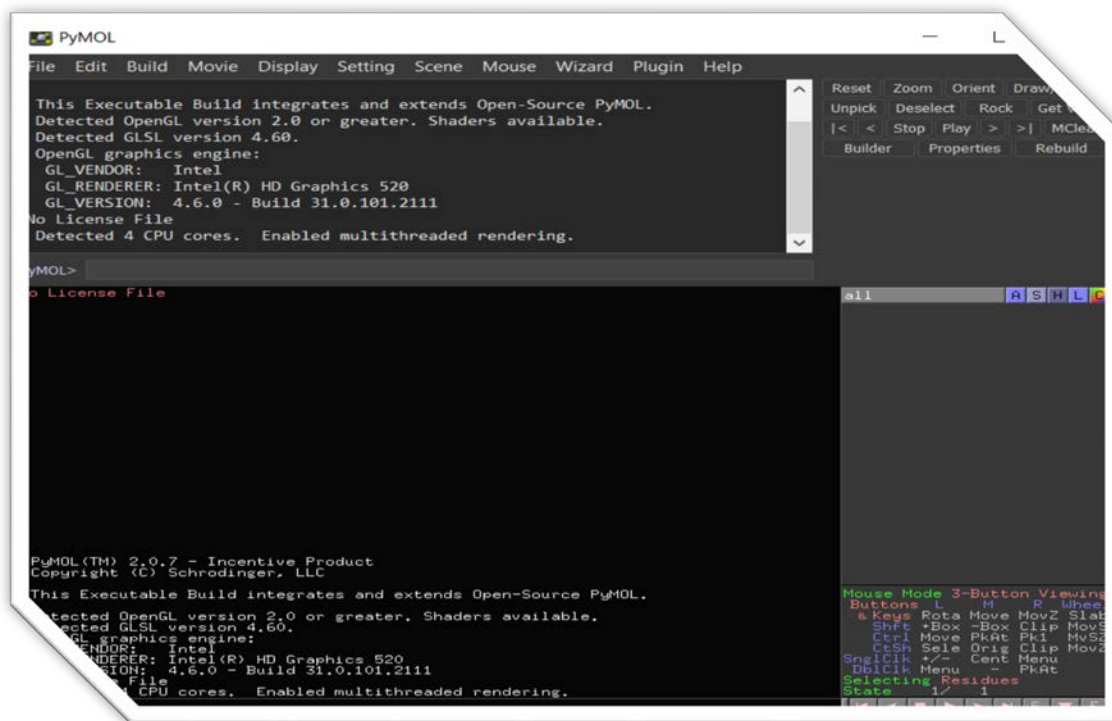


Figure 7 : L'interface de la page d'accueil duPyMOL

2.3. Server ADMETlab 2.0

Est un outil de prédiction in silico des propriétés pharmacocinétiques (ADMET) des composés chimiques. Il est utilisé pour prédire l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité des candidats médicaments. Il est développé par l'Université de Pékin et est disponible en ligne sous forme de plateforme gratuite (Wang X. S., 2018).

<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/index>

3. Docking moléculaire

Le Docking moléculaire : est une technique de modélisation en chimie computationnelle qui consiste à prédire l'interaction entre deux molécules : une molécule cible, généralement une protéine, et une molécule ligand, généralement un petit composé chimique. Cette technique est utilisée dans la découverte de médicaments pour prédire la capacité d'un composé chimique à se lier à une protéine cible et ainsi potentiellement inhiber son activité.

Le Docking moléculaire est une méthode de calcul qui repose sur des algorithmes complexes et une importante puissance de calcul informatique. Elle permet de prédire la conformation la plus probable de la molécule ligand dans le site actif de la molécule cible, ainsi que les interactions moléculaires entre les deux molécules (Kitchen, 2004).

3.1. Préparation des structures du récepteur et du ligand

Il faut préparer les fichiers de la structure pour le ligand et le récepteur. La structure peut être obtenue à partir de différentes sources telles que le récepteur Data Bank (PDB) ou le ligand PubChem. Les fichiers de structure doivent être préparés en incluant des informations sur les charges partielles, les liaisons d'hydrogène et les atomes donneurs et accepteurs. Il est recommandé d'utiliser la logique de visualisation et de manipulation des fichiers de structure comme Pymol. Les molécules doivent être nettoyées et optimisées, notamment en l'élimination des molécules d'eau, en ajoutant des hydrogènes, en assignant des charges et en minimisant leur énergie (Ferreira, 2015).

3.2. Définition du site de liaison :

Le site de liaison de la protéine est identifié, soit à partir de données expérimentales, soit à l'aide de programmes de prédiction de sites de liaison (Huang, 2006).

3.3. Évaluation des conformations :

Les conformations générées sont évaluées en fonction de leur énergie d'interaction avec la protéine, généralement à l'aide de fonctions de score empiriques ou basées sur la mécanique moléculaire (Halperin, 2002).

3.4. L'importation des complexes ligand-récepteur générés par le programme de docking dans Discovery Studio

L'analyse des interactions moléculaires impliquées dans la liaison ligand-récepteur peut être réalisée avec Discovery Studio en convertissant les fichiers de structure au format PDB ou au format DS, permettant l'identification et la visualisation des interactions clés telles que les liaisons hydrogène, les interactions ioniques etc. (Gao, 2019).

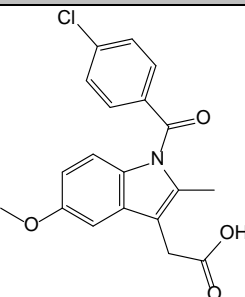
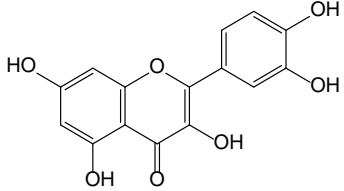
RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 3 : Résultats et Discussion

1. Résultats de Docking moléculaire (Scores)

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 5-lox avec le programme AutoDock Tools. Nous avons sélectionné la meilleure pose d'amarrage pour chaque inhibiteur, les résultats obtenus de ce test sont illustrés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les score du docking des ligands avec le récepteur (3O8Y)

N°	Noms des composés	Structures chimiques	PubChem ID	Molécules affinités
15	Indomethacin (Standard)		3715	-3.2
16	Quercetine (Standard)		5280343	-4.8
17	Zileuton (Standard)		60490	-6.0

2. Résultats d'interactions des Ligands-LOX en 2D et 3D

En fonction de ces résultats, on passe à l'étape suivante, qui est l'étude à l'aide de Discovery Studio 2021 :

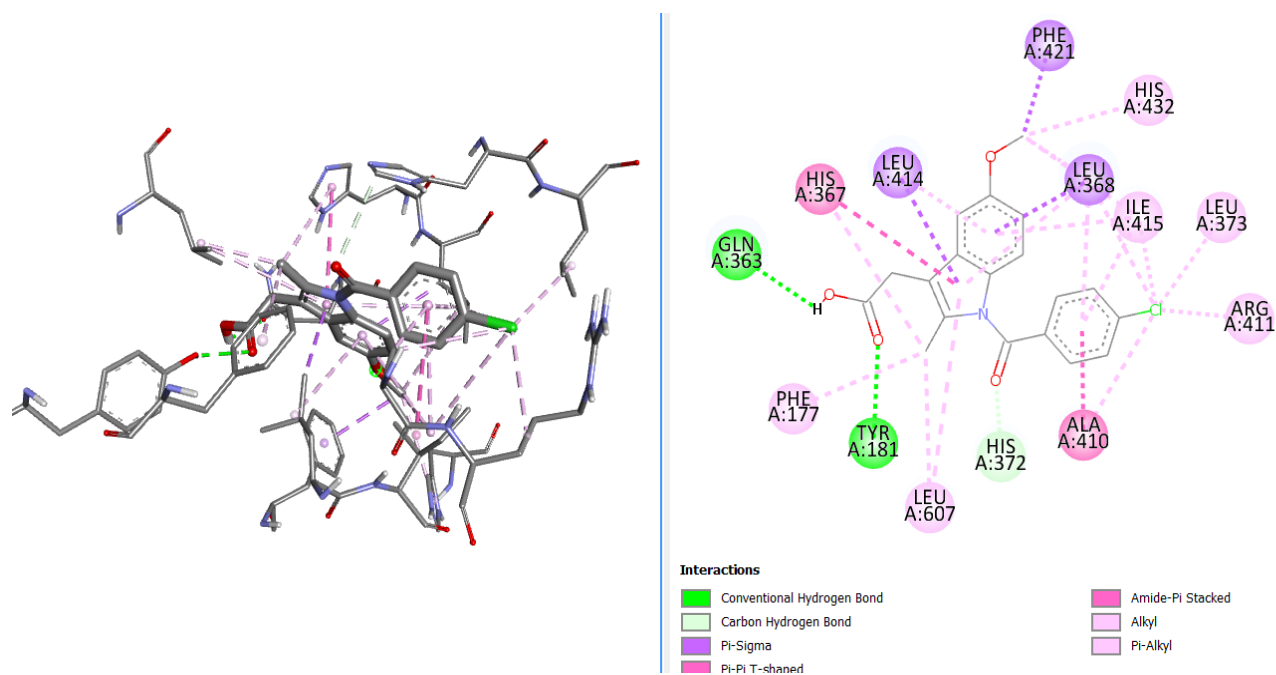


Figure 8 : Les interactions de ligand 15 (Standard) dans le site actif en 2D et 3D

Le meilleur score qu'on a eu concernant ce ligand (**Indométhacin** a une formule moléculaire **C₁₉H₁₆ClNO₄** et un poids moléculaire **357.8 g/mol**) dans le site actif de la 3O8Y = **-3.2 kcal/mol** , L'analyse visuelle à l'aide de programme discovery studio montre que le ligand lie par des liaisons hydrogène **Gln363** et **Tyr181** avec des longueurs **2.12Å** et **2.94Å** , une liaison carbone-hydrogène **His 372** Longueur **3.61Å** et des liaisons hydrophobe **Leu 607,414,373,368** , **His 367, 432** , **Phe 421, 177** , **Ile 373** et **Arg 411**.

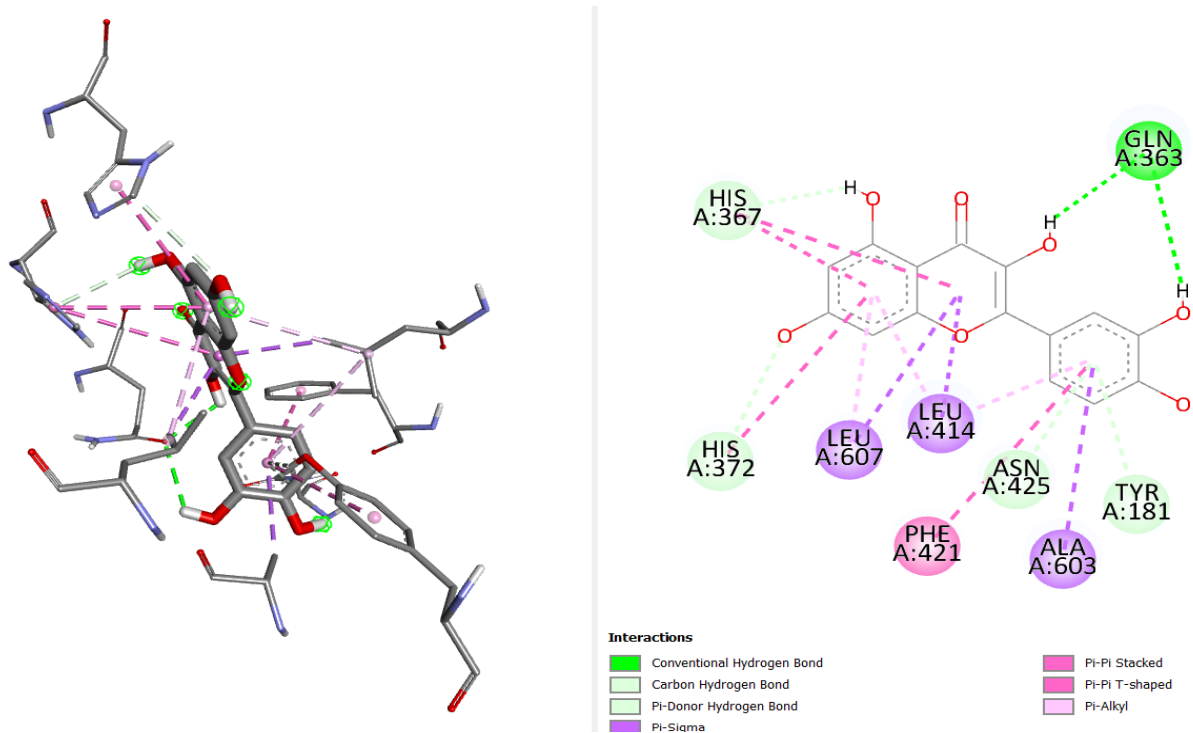


Figure 9 : Les interactions de ligand 16 (Standard) dans le site actif en 2D et 3D

Le meilleur score qu'on a eu concernant ce ligand (**Quercetine** a une formule moléculaire **C₁₅H₁₀O₇** et un poids moléculaire **302.23 g/mol**) dans le site actif de la 3O8Y = **-4.8 kcal/mol** , L'analyse visuelle à l'aide de programme discovery studio montre que le ligand lie par deux liaisons hydrogène **Gln363** avec des longueurs **2.38Å** et **2.68Å** , Des liaisons carbone-hydrogènes **His 372 , 367, Asn 425** Longueur et **Tyr 181** avec des longueurs **3.51Å** , **3.13Å** , **3.18Å** et **3.13Å** et des liaisons hydrophobe **His 372 , 367, Leu 607,414 , Phe 421 et Ala 603.**

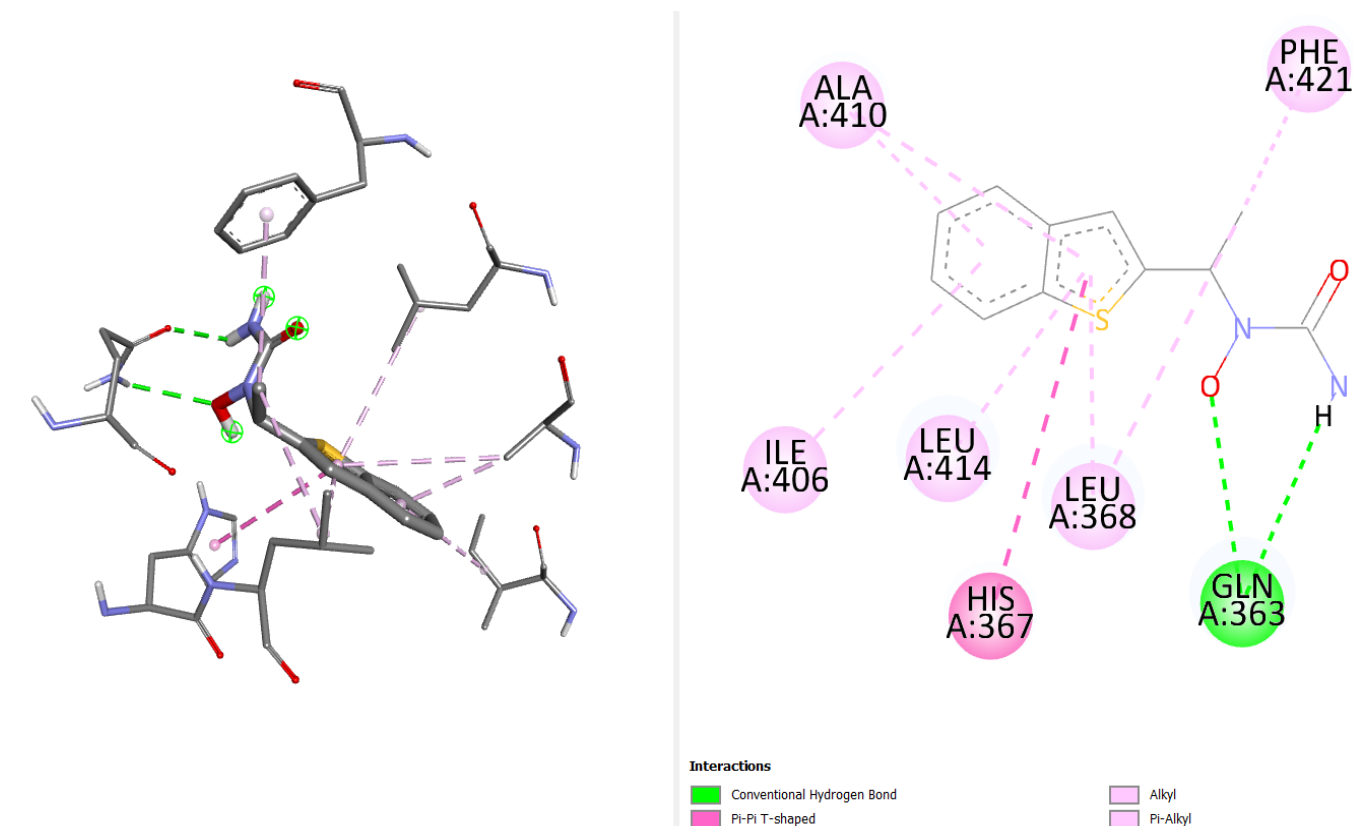


Figure 10 : Les interactions de ligand 17 (Standard) dans le site actif en 2D et 3D

Le meilleur score qu'on a eu concernant ce ligand (**Zileuton** a une formule moléculaire **C₁₁H₁₂N₂O₂S** et un poids moléculaire **236.29 g/mol**) dans le site actif de la 3O8Y = **-6.0 kcal/mol** , L'analyse visuelle à l'aide de programme discovery studio montre que le ligand lie par deux liaisons hydrogène **Gln363** avec des longueurs **2.57Å** et **2.97Å** ,Des liaisons hydrophobe **His 372** , **367** ,**Leu 607,414** , **Phe 421** et **Ala 603** et pas des liaisons carbone-hydrogènes .

3. Résultats des propriétés pharmacocinétiques (ADMET) des ligands

Voici la prédiction *in-silico* des propriétés pharmacocinétiques (ADMET) des composés chimiques dans le tableau :

Tableau 2 : Les propriétés pharmacocinétiques (ADMET) des ligands (9 à 16)

Ligand Propriété	9	10	11	12	13	14	15	16
Poids moléculaire (g/mol)	254,24	286,28	260,2	260,20	464.22	478.24	357,8	302,23
NPscore De -5 a 5	0.884	0.878	1.496	1.662	0.900	1.010	-0.721	1.701
Lipanski Rule	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Phizer Rule	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
Liaison aux protéines plasmatiques optimale : ≤ 90%	96.715	89.013	91.397	94.387	74.692	76.377	98.708	95.496
Blood-Brain Barrier Penetration	Faible	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Absorption intestinale humaine	---	---	--	---	---	---	---	---
CYP1A2 inhibitor	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+++
CYP1A2 substrate	---	+++	--	--	--	--	+++	--
CYP2C19 inhibitor	--	++	---	---	++	++	+	---
CYP2C19 substrate	---	-	----	---	---	---	++	---
Clairance (5 a 15 ml/min/kg)	4.768	3.780	9.473	8.158	14.094	12.943	0.959	8.284

Résultats et Discussion

Ligand Propriété	9	10	11	12	13	14	15	16
Demi-vie	0.569	0.362	0.908	0.926	0.037	0.033	0.776	0.929
Cancérogénicité	+++	---	---	--	---	---	++	---
Respiratoire Toxicité	---	+	--	--	+	-	-	---
Hépatotoxicité chez l'homme	---	--	---	--	+++	+++	+	---
Rat Oral acute	--	--	---	--	---	---	+++	---

Pour les paramètres de classification, les valeurs de probabilité de prédiction sont transformées en six symboles : 0-0,1(---), 0,1-0,3(--), 0,3-0,5(-), 0,5-0,7(+), 0,7-0,9 (++) et 0,9-1,0(+++).

4. Discussion

Dans cette étude, nous avons utilisé le Docking moléculaire pour prédire l'affinité des ligands pour la 5-lipoxygénase, Nos résultats de Docking de 14 ligands plus les 3 standards ont montré que certains des ligands testés avaient une forte affinité pour la 5-lipoxygénase et étaient capables d'inhiber son activité.

En particulier, les ligands 2, 4, 7, 9, 11 et 12 a montré une activité inhibitrice significativement plus élevée (-7.0, -5.6, -6.9, -6.4 et -7.0 kcal/mol) que les autres ligands 1, 3, 5, 6, 8, 10, 13 et 14 testés (-4.8, -1.9, -4.0, -5.3, -3.4, -2.5, -3.5 et -1) par rapport le standard *Zileuton* qui montré la plus forte affinité (-6.0 kcal/mol) que les autres standards *Indométacine* et *Quercétine*, ce dernier est un inhibiteur spécifique de la 5-lipoxygénase, a été largement étudié dans le traitement de l'inflammation (Watkins, 2007).

Nous avons utilisé le logiciel Discovery Studio pour simuler l'interaction des ligands avec la 5-lipoxygénase, en utilisant le site actif de la protéine comme cible d'après (Singh, 2022). Le site actif de 5-LOX est construit par les résidus d'acides aminés Trp147, Phe177, Tyr181, Glu363, Thr364, Leu368, His372, Leu373, Ile406, Asn407, Glu412, Arg411, Leu414, Ile415, Glu417, Phe421, Trp599, His600, Arg603, Arg60, Leu607 et Ile673, On note qu'il correspond aux acides aminés interagit avec les ligands 2, 4, 7, 9, 11 et 12 et le standard *Zileuton*.

En outre, les résultats de l'évaluation de la toxicité des ligands d'après le site ADMETlab_2.0, indiqué qu'ils présentent une faible toxicité potentielle. Ces résultats suggèrent donc que les ligands testés ont un potentiel pour être utilisés comme agents anti-inflammatoires. Il est important de noter que la sélection d'un agent anti-inflammatoire ne dépend pas uniquement de son activité inhibitrice de la 5-lipoxygénase, mais également de sa biodisponibilité, de sa sélectivité et de son efficacité *in-vivo*.

Néanmoins, les résultats de cette étude suggèrent que les ligands testés ont un potentiel intéressant comme agents anti-inflammatoires en raison de leur forte affinité pour la 5-lipoxygénase et de leur faible toxicité potentielle. Il serait donc pertinent de poursuivre les études pour évaluer l'efficacité de ces ligands *in-vivo*, Et c'est ce que l'étude de (Singh, 2022) a prouvé et montrent les mêmes résultats obtenus.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'inflammation est un processus naturel de défense de l'organisme, mais lorsqu'elle est chronique ou excessive, elle peut entraîner des maladies inflammatoires graves. Les anti-inflammatoires sont des médicaments couramment utilisés pour traiter ces maladies, et ils agissent en réduisant l'inflammation dans le corps.

En général, le développement de nouveaux anti-inflammatoires est un domaine de recherche important en raison de la prévalence croissante des maladies inflammatoires. Les progrès dans la compréhension des mécanismes sous-jacents de l'inflammation ont permis d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles pour le traitement des maladies inflammatoires. Les études de Docking moléculaire et de simulation d'interaction ligand-protéine sont des outils précieux pour identifier de nouveaux ligands qui pourraient être utilisés comme agents anti-inflammatoires.

Cette étude sur les ligands inhibiteurs de la 5-lipoxygénase a montré un potentiel intéressant pour leur utilisation en tant qu'agents anti-inflammatoires. Les résultats suggèrent que les ligands 2, 4, 7, 9, 11 et 12 testés ont une forte affinité (-7.0, -5.6, -6.9, -6.4 et -7.0 kcal/mol) que les autres ligands 1, 3, 5, 6, 8, 10, 13 et 14 testés (-4.8, -1.9, -4.0, -5.3, -3.4, -2.5, -3.5 et -1) par rapport le standard *Zileuton* pour la 5-lipoxygénase et sont capables d'inhiber son activité, avec une faible toxicité potentielle. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer leur efficacité *in vivo* et leur biodisponibilité avant de pouvoir les utiliser comme médicaments anti-inflammatoires.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Annouche, Z. M. (2021). LE PRÉCIS EN ANATOMIE & CYTOLOGIE. *Faculté de médecine d'alger.*, p(75-76-77-78-79).
- Aouicha, S. (2018). Effets anti-inflammatoire antioxydant et antibactérien des extraits aqueux et méthanolique de *Plantago lanceolata* L.
- Asselah, F. (2021). *Anatomie pathologique générale* (éd. 8^{ème}). Alger centre: Faculté de médecine d'alger.
- Burley, S. K. (2018). RCSB Protein Data Bank: the destination for macromolecular structure data. . *Nucleic acids research*.
- DeLano, W. L. (2002). The PyMOL Molecular Graphics System. . *DeLano Scientific LLC*.
- Ferreira, L. G. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. 13384–13421. Récupéré sur <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Gao, S. Y. (2019). Structure-based virtual screening and molecular dynamics simulation of potential inhibitors of FOXM1 transcription factor. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 670-680.
- Halperin, I. M. (2002). *Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions*.
- Huang, B. S. (2006). *Predicting Protein-Ligand Binding Affinity and Protein Binding Sites by Computational Methods*. in *Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery*.
- Jean-Charles B, L. J.-G. (2008). Parallel multi-objective algorithms for the molecular docking problem. *Computational Intelligence in Bioinformatics and Bioengineering (CIBCB08)*.
- Kiriiri, G. N. (2020). Exploring different approaches to improve the success of drug discovery and development projects: a review. *Futur J Pharm Sci*, 6, 27.
- Kitchen, D. B. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews. Drug discovery*, 3(11), 935–949.
- Lin, X. L. (2020). A Review on Applications of Computational Methods in Drug Screening and Design. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(6), 1375.
- Morris, G. M. (2008). Using AutoDock for ligand-receptor docking. . *Current protocols in bioinformatics*, 24(1), 8.14. 1-8.14. 40.
- Reker, D. (2019). Practical considerations for active machine learning in drug discovery. *Drug discovery today. Technologies*, 32-33, 73–79.
- Singh, V. J. (2022). Targeting Lipoxygenase Enzyme by Flavonoids from *Tadehagi triquetrum*: a Combined In Silico and In Vitro Approach. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 32, 484–490 .
- Wang, X. S. (2018). ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic acids research*,
- Wang, Y. X. (2012). PubChem's BioAssay Database. . *Nucleic acids research*,
- Watkins, P. B.-B. (2007). Clinical pattern of zileuton-associated liver injury: results of a 12-month study in patients with chronic asthma. *Drug safety*, 30(9), 805–815.