

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي 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

THEME

**Analyse *in silico* de l'activité
anti-inflammatoire de quelques molécules
bioactives de type triterpènes**

Présenté par :

Melle. BEKKOUCHE Khedidja

Melle. BEKKOUCHE Meriem

Devant le jury :

Président(e) : Mr. GNANE Hamid, MCB

Université de Laghouat

Examineur(rice) : Melle. BOUSSOUSA Hadjer, MCB

Université de Laghouat

Rapporteur : Mr. BOUKEROUIS Djoudi, MAA

Université de Laghouat

Soutenu le : 10/07/2020

Dédicace

*C'est avec une très grande émotion et un immense plaisir que je
dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers **parents** qui m'ont soutenu durant toute la durée de
mes études, Je demande à ALLAH de les protéger toujours.*

A mes frères et sœurs

*A mes belles sœurs : **Asma** et **Meriem***

A ma chère grand-mère, j'espère que ALLAH prolonge sa vie.

*A tous les membres de **ma famille**, petits et grands*

*A mes chers amies : **Hanina**, **Wafa**, **Nour el Houda** et **Zeleikha** qui
m'ont beaucoup aidé durant ces années d'études.*

*Toute la promotion de master biologie 2021 de l'université de
Laghouat.*

*Une dédicace spéciale pour notre encadreur: **Mr. BOUKEROUIS**
Djoudi.*

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime.

Enfin à tous ceux et celles qui m'ont encouragé et soutenu.

Khediya

Dédicace

*C'est avec une très grande émotion et un immense plaisir que je
dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents qui m'ont soutenu durant toute la durée de
mes études, Je demande à ALLAH de les protéger toujours.*

A mes frères et sœurs

A mes belles sœurs : Asma et khedidja

A ma chère grand-mère, j'espère que ALLAH prolonge sa vie.

A tous les membres de ma famille, petits et grands

*A mes chers amis : Nesrine, Nour el Houda, Amina, et Marwa qui
m'ont beaucoup aidé durant ces années d'études.*

*Toute la promotion de master biologie 2021 de l'université de
Laghouat.*

*Une dédicace spéciale pour notre encadreur : Mr. BOUKEROUIS
Djoudi.*

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime.

Enfin à tous ceux et celles qui m'ont encouragé et soutenu.

Meriem

Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions **ALLAH**, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus vifs à notre encadreur qui a proposé le thème de ce mémoire, **Mr. BOUKEROUIS Djoudi** pour avoir accepté de diriger ce travail. Leur contribution au suivi de ce travail a été décisive à l'accomplissement de l'objectif visé à travers ce travail.*

Nos remerciements aux honorables membres du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos profondes reconnaissances à l'ensemble des enseignants du Département de Biologie pour leurs enseignements et conseils durant le cursus d'études.

Nous adressons nos remerciements les plus chaleureux à nos familles pour leur amour, leur patience, et leur sacrifice qui s'inscrivent à chaque page de ce document.

Enfin, un grand remerciement à l'ensemble des personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Liste des tableaux

Tableau I. 1 : Effets biologiques et origines des principaux médiateurs de l'inflammation	9
Tableau I. 2 : Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires .	13
Tableau I. 3 : Les principales classes de composés phénoliques	22
Tableau IV. 1 : Mode d'interaction récepteur MD2/ligand UVA et leur énergie d'interaction.....	36
Tableau IV. 2 : Mode d'interaction récepteur MD2/ligand URSO et leur énergie d'interaction	38
Tableau IV. 3 : Mode d'interaction récepteur MD2/ligand UR-11 OXO et leur énergie d'interaction.....	40
Tableau IV. 3 : Mode d'interaction récepteur MD2/ligand EUS-3OXO et leur énergie d'interaction.....	41

Liste des figures

Fig I. 1 : Causes, réponses physiologiques et conséquences pathologiques de l'inflammation	5
Fig I. 2 : Formation du transsudat et d'exsudat	6
Fig I. 3 : Mécanisme d'action des stéroïdes	13
Fig I. 4 : Photo de <i>C. giganteus</i>	15
Fig I. 5 : Photo de <i>C. citratus</i>	17
Fig I. 6 : Photo de <i>O. americanum</i>	18
Fig I. 7 : Photo de <i>H. spicigera</i>	19
Fig I. 8 : Photo de <i>A. conyzoides</i>	20
Fig I. 9 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes	23
Fig I. 10 : Structure d'isoprène	24
Fig I. 11 : Structure chimique des acide oléanolique, et acide ursolique	24
Fig III. 1 : Représentation par Discovery Studio 2021 Cléon de la structure de récepteur MD2.....	32
Fig III. 2 : Les ligands étudiés sont des molécules de nature triterpènes.....	33
Fig III. 3 : Schéma d'une grille de potentiel englobant le site actif d'une macromolécule .	34
Fig IV. 1 : Représentation 3D des 9 modes d'interactions de ligand UVA et le récepteur MD2.....	37
Fig IV. 2 : Représentations 2D et 3D d'interaction de ligand 1 UVA et récepteur MD2...37	
Fig IV. 3 : Représentation 3D des 9 modes d'interactions de ligand URSO et le récepteur MD2.....	39
Fig IV. 4 : Représentations 2D et 3D d'interaction de ligand 1 URSO et récepteur MD2 .39	
Fig IV. 5 : Représentations 2D et 3D d'interaction de ligand 1 UR-11 OXO et récepteur MD2.....	41
Fig IV. 6 : Représentation 3D des ligands (en jaune) dans le site de LPS (en rose) avec le récepteur MD2.....	42
Fig IV. 7 : Représentation 3D des ligands (en jaune) en dehors le site de LPS (en rose)	43
Fig IV. 8 : Représentation 3D des ligands (en jaune) en dehors le site de LPS (en rose) ..	43
Fig IV. 9 : Rapport de SwissTargetPrediction pour la molécule UVA.....	45
Fig IV. 10 : Rapport de SwissTargetPrediction pour la molécule UR-11OXO	46

Liste des figures

Fig IV. 11 : Rapport de SwissTargetPrediction pour la molécule EUS-3OXO	47
Fig IV. 12 : Rapport de SwissTargetPrediction pour la molécule URSO	49

Liste des abréviations

A-C

ADT : AutoDockTools.

AINS : Anti-Inflammatoires Non
Stéroïdiens.

Ala: Alanine.

Arg: Arginine.

Asn: Asn.

Asp: Aspartate.

CD: Clusters of Differentiation.

COX-2 : Cyclooxygénase 2.

Cys : Cysteine.

G-H

G-CSF: Granulocyte Colony-Stimulating
Factor.

Gln: Glutamine.

Glu: Glutamate.

Gly: Glycine.

GM-CSF: Granulocyte-Macrophage
Colony-Stimulating Factor.

GRE: Glucocorticoid Response Element.

His: Histidine.

HIV-1 RNA: Human Immunodeficiency
Virus type 1 RNA.

HSP: Heat-Shock Protein.

I - N

IL : InterLeukines.

Ile : Isoleucine.

Leu : Leucine.

LPS : lipoPolySaccharides.

LTB4 : LeukoTriene B4.

Lys: Lysine.

MD2: Myeloïd Differentiation 2.

Met: Méthionine.

NF- κ B: Nuclear Factor κ B.

NK: Natural Killer.

P-R

PAF : Facteur d'Agrégation Plaquettaire.

PAMP : Pathogen Associated Molecular
Patterns.

PDB : Protein Data Bank.

PGE2 : ProstaGlandine E2.

PGI2 : ProstaGlandine I2.

Phe : Phénylalanine.

PMN : PolyMorphoNucléaires.

Pro : Proline.

PRR : Pattern Recognition Receptor.

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.

S-V

Ser : Serine.

Thr: Thréonine.

TLR4: Toll Like Receptor 4.

TNF : facteurs de Nécrose Tumorale.

Tyr : Tyrosine.

Val : Valine.

Sommaire

Remerciement.....	I
Liste des tableaux	II
Liste des figures.....	III
Liste des abréviations.....	V
Sommaire	VI

Introduction générale

Introduction générale	2
-----------------------------	---

PARTIE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. L'inflammation	4
I.1.1. L'inflammation aigue	5
I.1.1.1. Phase vasculaire.....	5
I.1.1.2. Phase cellulaire (recrutement des leucocytes).....	6
I.1.1.3. Phase de résolution	7
I.1.2. L'inflammation chronique	7
I.1.3. Les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire	8
I.1.4. Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation	8
I.1.4.1. Médiateurs solubles	8
I.1.4.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë.....	10
I.1.5. Les anti-inflammatoires	10
I.1.5.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens	11
I.1.5.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens.....	11
I.1.5.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale.....	13
I.2. Les plantes médicinales	14
I.2.1 Exemples de quelques plantes médicinales	15
I.2.1.1. <i>Cymbopogon giganteus</i> Chiov.....	15
I.2.1.1.1. Description botanique.....	15
I.2.1.1.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle.....	16
I.2.1.2. <i>Cymbopogon citratus</i>	16
I.2.1.2.1. Description botanique.....	16

I.2.1.2.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle.....	17
I.2.1.3. <i>Ocimum americanum</i> L.....	17
I.2.1.3.1. Description botanique.....	17
I.2.1.3.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle.....	18
I.2.1.4. <i>Hyptis spicigera</i> Lamarck.....	18
I.2.1.4.1. Description botanique.....	18
I.2.1.4.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle.....	19
I.2.1.5. <i>Ageratum conyzoides</i> L.....	19
I.2.1.5.1. Description botanique.....	19
I.2.1.5.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle.....	20
I.3. Les métabolites secondaires	20
I.3.1. Les composés phénoliques.....	22
I.3.2. Les alcaloïdes	23
I.3.3. Les Terpènes	23
I.3.3.1. Les triterpènes : l'acide oléanolique, et l'acide ursolique.....	24
I.3.3.1.1. Propriétés physico-chimiques	24
I.3.3.1.2. Activités biologiques des triterpènes.....	24
I.3.3.1.2.1. L'Acide Oléanolique et leurs dérivés.....	24
I.3.3.1.2.2. L'Acide Ursolique et leurs dérivés	25
I.3.3.1.2.3. Activité anti-inflammatoire des triterpènes	25

PARTIE PRATIQUE

Chapitre II : Docking moléculaire

II.1 Généralité sur le docking moléculaire.....	27
II.2. Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité	27
II.3. Les outils du docking moléculaire	28
II.3.1. Récepteur.....	28
II.3.2. Ligand.....	28
II.3.3. Les programmes.....	28

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III.1. Matériels	31
III.1.1. Microordinateur	31
III.1.2. Les logiciels.....	31
III.1.2.1. Discovery Studio 2021 Cléon	31
III.1.2.2. AutoDockTools (ADT)	31

III.1.2.3. SwissTargetPrediction.....	31
III.1.3. Banques de données	31
III.2. Méthodes	31
III.2.1. Préparation du récepteur	31
III.2.2. Préparation des ligands	32
III.2.3. Préparation des grilles pour le calcul de docking score.....	33
III.2.4. Analyse des résultats	34

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Étude des interactions de récepteur MD2 avec les ligands.....	36
IV.1.1. Étude des interactions récepteur MD2- ligand UVA.....	36
IV.1.2. Étude des interactions récepteur MD2-ligand URSO	38
IV.1.3. Étude des interactions récepteur MD2-ligand UR-11 OXO.....	40
IV.1.4. Étude des interactions récepteur MD2-ligand EUS-3OXO.....	41
IV.1.5. Analyse des cibles biologiques avec SwissTargetPrediction	43
IV.1.5.1. Prédiction des cibles biologiques d’UVA	44
IV.1.5.2. Prédiction des cibles biologiques d’UR-11OXO	45
IV.1.5.3. Prédiction des cibles biologiques d’EUS-3OXO	46
IV.1.5.4. Prédiction des cibles biologiques d’URSO	47

Conclusion générale

Conclusion générale	51
Résumé	52
Résumé en Anglais	52
Résumé en Arabe	53

Références bibliographiques

Références bibliographiques	55
--	-----------

Introduction générale



Introduction générale

L'inflammation est un processus physiologique habituellement bénéfique permettant à l'organisme de lutter contre les différentes agressions qui entraînent des altérations tissulaires. Ils enclenchent une cascade de réactions faisant intervenir une séquence d'événements clés tels que la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et l'altération des membranes (**Mansour *et al.*, 2014 ; Yougbare-ziebrou *et al.*, 2015**).

Ces événements impliquent, entre autres, l'activation d'élément-clé de l'inflammation, les neutrophiles, qui peuvent initier la réponse inflammatoire via différents mécanismes tels que la libération des médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation, ainsi que la phagocytose des particules (**Chakravarti *et al.*, 2007**). Cependant lorsque ces mécanismes de régulation ne sont pas bien contrôlés, la réaction inflammatoire pourrait devenir délétère pour les tissus (**Cavaillon, 1993**).

Le traitement de l'inflammation fait appel à plusieurs thérapies parmi lesquelles l'administration d'anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens qui demeurent les classes les plus utilisées dans le monde. Bien qu'étant efficace ces molécules présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leurs utilisations à long terme (**Ndiaye *et al.*, 2006**).

L'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique. Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Haioun, Hamoudi, 2015**). D'ailleurs, les recherches ont montré que beaucoup de molécules bioactives d'origine végétale sont autant très utiles pour l'amélioration de la santé humaine qu'elles remédient aussi les effets indésirables des molécules de synthèses. Actuellement, ces molécules font l'objet de plusieurs projets de recherche par l'application de différentes démarches analytiques et expérimentales. Parmi ces démarches, le Docking moléculaire est utilisé comme moyen *in silico* pour vérifier leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement de diverses complications inflammatoires notamment celles qui sont causées par la perturbation de l'activation de récepteur TLR4 (**Yeonju Lee *et al.*, 2012**).

À cet égard, l'objectif de cette étude consiste à prévoir *in silico* un effet anti-inflammatoire dans le contexte notamment infectieux de quelques molécules d'origine végétale de type triterpènes. L'activité anti-inflammatoire de ces molécules est examinée avec le programme auto-dock-vina en choisissant comme molécule cible la protéine Myéloïd

differentiation 2 (MD2), définie récemment comme une cible potentielle dans la réponse inflammatoire via le récepteur TLR4.

PARTIE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Revue bibliographique

I.1. L'inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé. Une régulation défectueuse peut engendrer des dommages irréversibles. Une réponse insuffisante conduit à une immunodéficience pouvant entraîner une infection secondaire ou même un cancer. Exacerbée, au contraire, elle augmente la morbidité et la mortalité dans des pathologies comme l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn ou encore le diabète. Mal contrôlée, l'inflammation peut s'étendre au reste de l'organisme via la circulation sanguine. Elle peut alors conduire à des dommages tissulaires irréversibles locaux ou généralisés, parfois à un choc septique entraînant dans les cas les plus graves le décès (**Nathan, 2002 ; Barton, 2008**).

La réponse inflammatoire est associée au système immunitaire, qui peut être divisé en deux branches interconnectées. L'immunité innée est la plus ancienne. Elle est présente chez tout organisme pluricellulaire. Les cellules du système immunitaire inné possèdent des récepteurs PRR et des voies de signalisation hautement conservés pour détecter et réagir face à une infection ou à une blessure. La détection de ces signaux exogènes d'origine microbienne, les PAMPs, ou endogènes, les alarmines (**Bianchi, 2007**), va conduire à l'initiation de la cascade inflammatoire et à l'activation d'une réponse immunitaire acquise ou adaptative (**Barton, 2008 ; Medzhitov, 2008**). La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (**Barton, 2008**). En absence d'une résolution, s'installe une inflammation chronique.

L'inflammation peut être causée par différentes agressions ou pathologies :

- Agents infectieux : bactéries, virus, parasites, champignons.
- Agents physiques : traumatismes, chaleur, froid, radiations ionisantes.
- Agents chimiques : caustiques, toxines, venins.
- Corps étrangers : exogènes ou endogènes.
- Défaut de vascularisation : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie.
- Anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité.
- Tumeurs malignes ou bénignes.

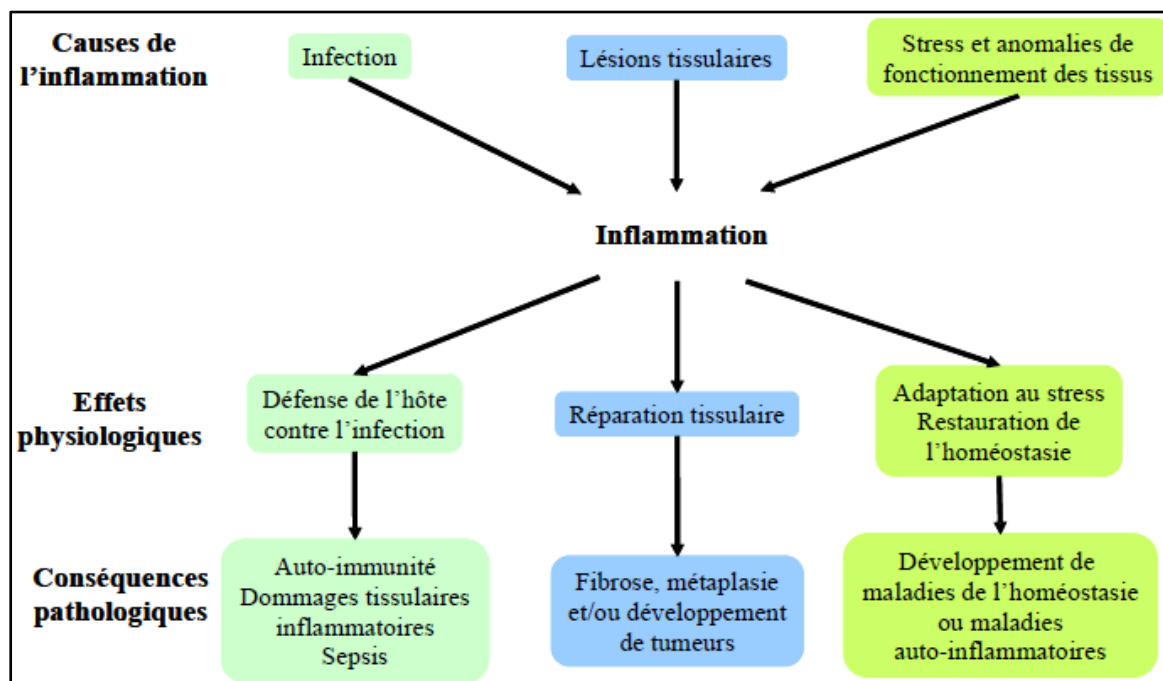


Fig I. 1 : Causes, réponses physiologiques et conséquences pathologiques de l'inflammation (d'après Medzhitov, 2008).

I.1.1. L'inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles et al., 2010). L'inflammation aiguë se constitue en trois phases :

I.1.1.1. Phase vasculaire

Il s'agit d'une vasoconstriction artériolaire, très brève de quelques secondes. Elle est due à l'action du système sympathique, et est très rapidement ressentie puisque douloureuse, expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine, l'excitabilité des terminaisons nerveuses en est la conséquence et va conforter le processus douloureux. Cette constriction n'est pas innocente sur les plaquettes présentes dans la circulation, laquelle est perturbée. Ces plaquettes vont alors s'activer. Très vite à cette vasoconstriction, va faire suite une vasodilatation des vaisseaux sanguins. Le débit local est augmenté et la perméabilité des capillaires est exacerbée, ce qui explique l'extravasation des cellules sanguines (diapedese) (Fig I. 2). Ce qui explique en partie la constitution de la chaleur et de la rougeur. La migration des cellules s'accompagne d'un transfert de plasma qui crée l'œdème.

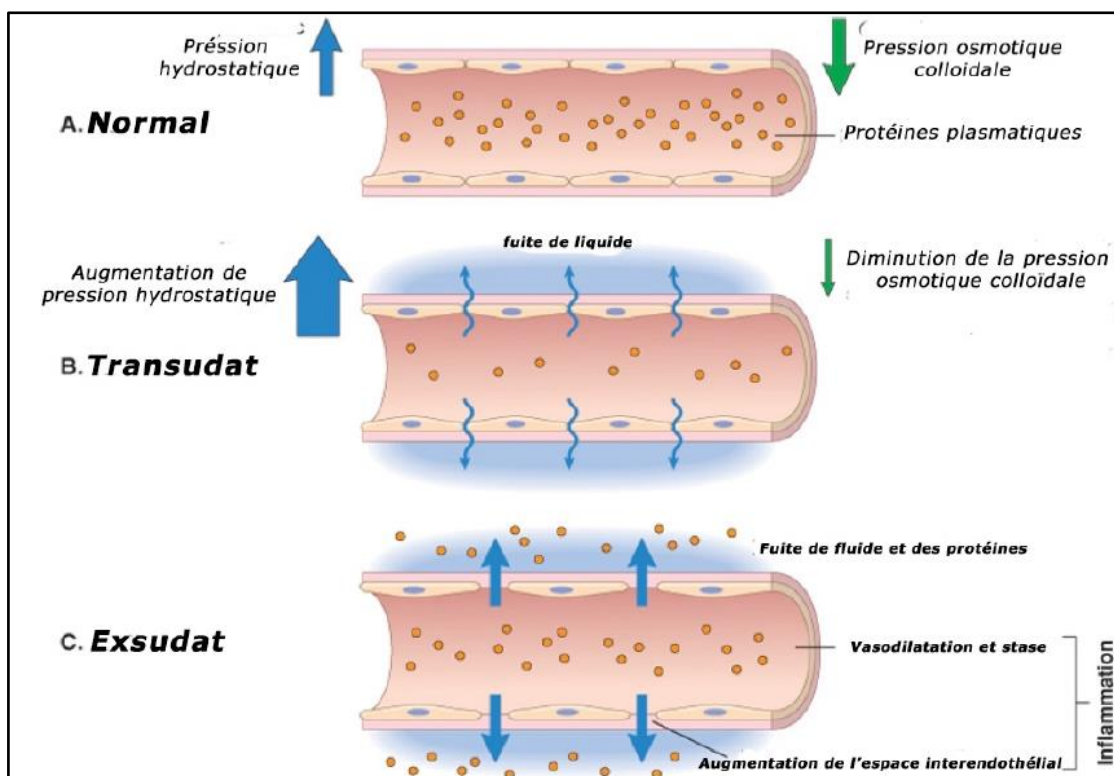


Fig I. 2 : Formation du transsudat et d'exsudat (Kumar *et al.*, 2007).

I.1.1.2. Phase cellulaire (recrutement des leucocytes)

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux permettent l'arrivée dans le foyer inflammatoire des leucocytes. Les premiers sur place (environ 6 heures) sont les polynucléaires. Le plus souvent, les polynucléaires sont progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes. Parmi celles-ci, les macrophages ont pour fonction d'assurer la détergence grâce à leur capacité de phagocytose. Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (Nathan, 2002).

L'afflux des cellules, fait que celles-ci vont d'abord se marginaliser sur le site de l'agression en environ 30 minutes. C'est à ce moment qu'on pourra constater « in situ » la présence de polynucléaires neutrophiles, lesquelles sont plaquées le long des cellules endothéliales de l'endroit concerné. Ces cellules vont traverser la paroi, grâce à de nombreux facteurs attractants comme l'IL8, C5a et LTB4. Ces cellules vont en effet ingérer les éléments lésés. Cette fonction n'est pas simple. Elle repose sur la dégranulation des composants internes de la cellule. Ceci conduit à la sécrétion des protéases (élastase et collagénase), et la libération des radicaux libres. Les PMNs vont contribuer à l'éradication des corps étrangers (s'il y a lieu) ou des tissus lésés (en cas de traumatisme par exemple). Dans ce type de situation, la réaction va s'arrêter mais ceci n'est pas toujours le cas et les

macrophages dont le pouvoir phagocytaire est important, vont intervenir. Ceci constitue le passage de la réaction inflammatoire proprement dite à la réaction immunitaire et la mise en place des processus inhérents (**Charles *et al.*, 2010**).

I.1.1.3. Phase de résolution

La phase de résolution, dite de réparation, dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, dans les conditions les plus favorables, les agents agresseurs sont éliminés par les PMNs, et les produits de dégradation ainsi que les débris cellulaires sont phagocytés par les macrophages.

Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type I et III) ou de leur lame basale (collagène de type IV et V, laminine). Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (**Weill *et al.*, 2003**).

I.1.2. L'inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Dans de nombreux cas, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Elle est considérée comme être causé par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, rejet de l'allogreffe chronique, dans la berylliose, et dans l'inflammation granulomateuse. Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires. L'inflammation chronique est initialement déclenchée par des réponses vasculaires qui impliquent l'apparition de molécules d'adhésion sur la surface des cellules endothéliales qui vont spécifiquement entraîner l'adhésion des lymphocytes et des monocytes, et permettent leur transmigration dans le compartiment extravasculaire (**Charles *et al.*, 2010**). Tout

comme dans la réponse inflammatoire aiguë, les lymphocytes et les monocytes, subissent un processus d'activation qui favorisent l'adhérence et la transmigration de ces cellules dans le compartiment extravasculaire. En tout type de réponse inflammatoire, les différences entre les types de molécules d'adhésion exprimées sur les cellules endothéliales détermineront le type de leucocytes qui migrent (Nourshargh *et al.*, 2006 ; Charles *et al.*, 2010).

I.1.3. Les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

La réaction inflammatoire fait intervenir plusieurs types cellulaires qui ont pour origine un précurseur commun, ces derniers peuvent être classés en deux grandes familles (Prine,1996) :

- Ceux qui proviennent d'une cellule souche myéloïde, donnant naissance aux polynucléaires, aux monocytes/macrophages, cellules dendritiques, cellules érythrocytaires et plaquettes.
- Ceux qui proviennent d'une cellule souche lymphoïde donnant naissance aux lymphocytes T, B et NK (Natural Killer).

I.1.4. Médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation

I.1.4.1. Médiateurs solubles

Certains de ces médiateurs existent sous forme inactive, avant toute lésion tissulaire, cette dernière ne faisant qu'activer ces molécules ; d'autres sont synthétisés ou libérés à partir de différentes populations cellulaires. Leurs actions sont multiples, souvent redondantes et intègrent les voies de la coagulation, de l'immunité innée, de l'hématopoïèse et du système nerveux (Kumar *et al.*, 2007 ; Charles *et al.*, 2010).

Les protéases plasmatiques comprennent le complément (activation par la voie classique ou par la voie alterne en fonction des stimuli, produisant des fragments chémoattractants tels que le C3a et le C5a), les kinines dont la cascade est initiée par différentes lésions tissulaires exposant du collagène ou des membranes basales et permettent d'activer le facteur XII, enfin des facteurs protéiques de coagulation et de fibrinolyse activant également le facteur XII qui génère de la plasmine, elle-même responsable de la production de médiateurs inflammatoires (Charles *et al.*, 2010). Le tableau I. 1 résume l'origine et les effets des plus importants médiateurs chimiques de l'inflammation.

Chapitre I : Revue bibliographique

Tableau I. 1 : Effets biologiques et origines des principaux médiateurs de l'inflammation (**Prin et al., 2009**).

Médiateurs	Source	Effets biologiques
Histamine	Mastocytes, basophiles, plaquettes.	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, activation endothéliale, douleur, contraction muscles lisses.
Prostaglandines	Acide arachidonique (Essentiellement par les leucocytes)	Vasodilatation, augmentation perméabilité vasculaire, douleur, fièvre.
Leucotriènes	Acide arachidonique (Essentiellement par les leucocytes)	Augmentation de la perméabilité vasculaire, chimiotactisme, adhésion et activation leucocytaire.
Cytokines (TNF, IL-1, IL-6)	Macrophages, Cellules endothéliales, Mastocytes	Localement : Activation endothéliale (expression de molécules d'adhésion) Systémique : Fièvre, problèmes métaboliques, Hypotension.
Chimiokines	Leucocytes, Macrophages activés	Chimiotactisme, Activation leucocytaire.
Facteur d'agrégation plaquettaire (PAF)	Basophiles, Neutrophiles, Macrophages, Mastocytes, Plaquettes	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, adhésion leucocytaire, chimiotactisme, dégranulation, contraction muscles lisses.
Complément	Plasma (produit dans le foie)	Chimiotactisme et adhésion leucocytaire, Complexe d'attaque membranaire, vasodilatation, contraction muscles lisses.
Kinines	Plasma (produit dans le foie)	Augmentation de la perméabilité vasculaire, contraction des muscles lisses, vasodilatation, douleur.

I.1.4.2. Médiateurs cellulaires de l'inflammation aiguë

Plusieurs types cellulaires interviennent dans la réaction inflammatoire. Les cellules les plus importantes sont les PMNs qui sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence des médiateurs précoces de l'inflammation (leucotriènes, C5a). Cette attraction nécessite au préalable des interactions entre les cellules endothéliales et les neutrophiles qui, en plusieurs étapes, établissent des contacts grâce à des molécules d'adhésion (CD62L, CD11, CD18) qui se lient à des protéines membranaires des cellules endothéliales (Kumar et al., 2007). Dans le site inflammatoire, ces polynucléaires neutrophiles s'activent et dégranulent, en réponse à différents médiateurs solubles déjà évoqués (C5a, leucotriènes, facteurs d'activation des plaquettes, histamine), augmentent leur production d'enzymes oxydatives et leur capacité à phagocytoser sous l'effet des leucotriènes, de facteurs de croissance hémapoïétiques tels que le G-CSF et le GM-CSF, du TNF et de l'Interleukine 8 (Charles et al., 2010).

D'autres cellules sont attirées sur le site de l'inflammation et participent à la constitution de l'infiltrat inflammatoire : les monocytes migrent et deviennent des macrophages activés capables de phagocytose, de production de protéines antibactériennes et de médiateurs pro-inflammatoires (Charles et al., 2010).

Les éosinophiles sont également recrutés au site de l'inflammation aiguë, en particulier lorsque celle-ci est le fait d'une réaction allergique respiratoire, gastro-intestinale ou cutanée. Les plaquettes contribuent au processus inflammatoire par la libération de nombreux médiateurs incluant le fibrinogène, le plasminogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine. Enfin, les lymphocytes B et T produisent les cytokines pro-inflammatoires, initient la réponse immunitaire adaptative et contribuent à l'activation des PMNs par la production d'immunoglobulines par les B-lymphocytes (Kumar et al., 2007 ; Charles et al., 2010).

I.1.5. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont définis comme étant des substances qui agissent sur la douleur et, le gonflement qui apparaissent suite à une agression d'un agent pathogènes. Elles bloquent la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation (comme les prostaglandines) et donc diminuent la sensation de douleur mais aussi l'inflammation (Hajjaj, 2017 ; Orliaguet et al., 2013). Elles sont utilisées lorsque la réaction inflammatoire se prolonge de façon anormale (inflammation chronique) et entraîne

des dommages aux tissus. Ces molécules sont classées en anti-inflammatoires stéroïdiens (cortisone et dérivés), antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS) et anti-inflammatoires naturels.

I.1.5.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

C'est une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antalgique, antipyrétique (contre la fièvre) et antiagrégant plaquettaire pour certains (**Haioun et Zohra, 2015**). C'est une catégorie de médicaments renfermant des nombreuses molécules telles que le diclofénac, l'ibuprofène, l'aspirine et l'indométacine (**Erdogan et al., 2019 ; Hassan et al., 2019 ; Katsinelos et al., 2019**).

Leur mode d'action repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase 1 et/ou 2, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette propriété commune à tous les AINS conduit à une diminution de 50 la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), des prostacylines et des thromboxanes, importants médiateurs de l'inflammation (**Grandin, 2013 ; Katsinelos et al., 2019**). Malheureusement, ils sont également associés à de nombreux effets délétères car leur utilisation prolongée provoque des troubles gastro-intestinaux (comme les saignements intestinaux) et le dysfonctionnement plaquettaire (**Mebirouk, 2017 ; Capet et al., 2001 ; Orliaguet et al., 2013**). D'autres effets secondaires comme l'hypertension associée au dysfonctionnement rénal ont été également mentionnés.

I.1.5.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens constituent une classe des médicaments qui sont des dérivés synthétiques de la cortisone (**Coutinho et Chapman, 2011**). Parmi eux, on peut citer : la méthylprednisolone, le bêtaméthasone, la prednisone et la prednisolone (**Dworski et al., 1994 ; Bourbon et al., 2004 ; Becker, 2013 ; Danielson et al., 2018**). Ce sont des puissants antiinflammatoires très utilisés doués également de propriétés immuno-modulatrices et antiallergiques (**Coutinho et Chapman, 2011**).

Parlant de leur mécanisme d'action, les glucocorticoïdes ont, à l'image des AINS, une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines qui s'exerce spécifiquement sur la phospholipase A2, au début du métabolisme de l'acide arachidonique. Ils ont une action à la fois cytoplasmique et génomique, ayant pour conséquences une modulation de la transcription et de l'expression des médiateurs (**Dejean et Richard, 2013**).

En effet, les corticoïdes agissent par le biais d'un récepteur qui est composé de 3 domaines distincts : le premier domaine fixe les glycoprotéines (partie N-terminale), le second sert à l'ancrage du complexe glucocorticoïde- récepteur à l'ADN nucléaire (partie intermédiaire), le troisième domaine va activer ou bloquer le promoteur des gènes (partie C-terminale). Ce récepteur est localisé dans le cytoplasme des cellules sous forme inactive et lié à un complexe protéique dont la « heat-shock protein » HSP 90 (protéine de choc thermique) (**Dejean et Richard, 2013 ; Mitre-Aguilar *et al.*, 2015**). Lorsque les glucocorticoïdes se fixent à leur récepteur, ils l'activent, ceci induit automatiquement une modification de la conformation du complexe protéique (protéines chaperonnes) dans le cytoplasme. Conséquence, migration de l'ensemble ligand-récepteur dans le noyau (translocation nucléaire) pour se fixer sur des séquences d'ADN spécifiques appelés : les séquences GRE (Glucocorticoid Response Element). Ces séquences sont présentes sur le promoteur des gènes de nombreux médiateurs de la réponse inflammatoire (**Orliaguet *et al.*, 2013 ; Roquilly et Asehnoune, 2019**). Les glucocorticoïdes en se fixant donc sur le promoteur des gènes vont soit bloquer l'action des facteurs de transcription nucléaire qui jouent un rôle important dans le cadre de la réponse à l'agression tels que NF- κ B, soit stimuler la transcription des gènes (par exemple la lipocortine-1, thymosine...). En bref, les glucocorticoïdes se fixent sur le promoteur des gènes des médiateurs pro-inflammatoires et bloquent leur action (**Roquilly et Asehnoune, 2019**).

Il est à noter que l'utilisation de ces corticostéroïdes a des inconvénients. Ils sont bien connus pour provoquer l'hyperglycémie, une sensibilité accrue aux infections et des troubles psychiatriques (**Capet *et al.*, 2001 ; Mebirouk, 2017**).

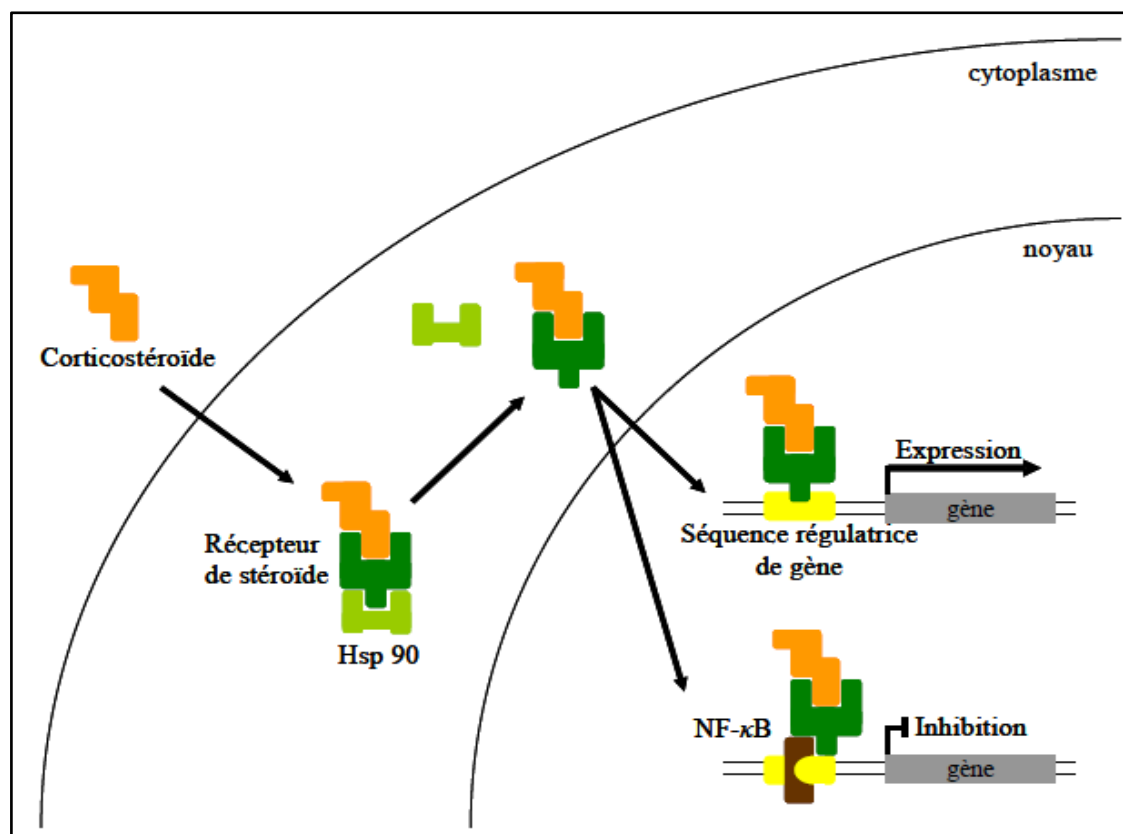


Fig I. 3 : Mécanisme d'action des stéroïdes (d'après Janeway *et al.*, 2009).

I.1.5.3. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

Le nombre de composés phytochimiques trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. Quelques exemples de plantes douées d'activités anti-inflammatoires sont cités dans le tableau I. 2.

Tableau I. 2 : Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires (Barnes, 1998).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
Zingiber officinale	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
Helleborus orientalis	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Oedemes, douleurs rhumatismales

Chapitre I : Revue bibliographique

Urtica dioica	Urticaceae	Feuilles, Racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs rhumatismales
Laurocerasus officinalis R.	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes
Curcuma longa	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales
Nerium oleander L.	Apocynaceae	Fleurs	Laurier rose	Douleurs, maux de tête
Harpagophytum procumbens	Pédaliacées	Tubercule	Griffe du diable	Arthrose, lombalgie, neuvralgie, maux de tête, fièvre
Rhododendron ponticum L.	Ericaceae	Feuilles	Rhododend ron pontique	Oedèmes, états grippaux, mal de dents
Juglans regia L.	Juglandaceae	Feuilles, fruits	Noyer commun	Douleurs rhumatismales, fièvre, eczéma. Malaria
Oenothera biennis	Onagraceae	Graines	Onagre bisannuelle	Douleurs rhumatismales,

I.2. Les plantes médicinales

L'homme a recourt à la phytothérapie, thérapie par les plants, depuis des milliers d'années. Les premières traces écrites témoignant de l'existence de ce type de médecine datent de 2600 av. J.-C. en Mésopotamie. Parmi les plantes utilisées à cette époque figurent le cèdre (*Cedrus spp.*), la réglisse (*Glycyrrhiza glabra* (L.)) ou encore le jus de pavot (*Papaver somniferum* (L.)). Ces plantes sont encore utilisées aujourd'hui pour le traitement de maladies allant des infections parasitaires et inflammatoires aux toux et rhumes. Par la suite, les plantes ont continué à être utilisées en médecine. Par exemple, dans la Grèce

antique, Hippocrate (460-377 av. J.-C.), surnommé le père de la médecine, recommandait déjà l'asperge et l'ail pour leurs vertus diurétiques, le pavot comme hypnotique ou, encore les feuilles de saule pour soulager douleurs et fièvres. Le premier herbier des plantes médicinales, « De materia medica », établi par Dioscoride, médecin, botaniste et pharmacologue grecque, date de 77 apr. J.-C. et recense l'utilisation médicale de 1600 remèdes utilisés par les Grecs à partir de plantes (Yano *et al.*, 2006). Aujourd'hui, 80 % de la population des pays en développement se soignent à partir de plantes médicinales et plus de 25 % des médicaments prescrits dans ces pays proviennent d'espèces végétales. La demande de traitements à base de plante est croissante et l'utilisation des plantes médicinales augmente rapidement dans le monde entier (Yang *et al.*, 2013). La phytothérapie a ainsi été appliquée pour le traitement de maladies chroniques inflammatoires. Par exemple, des plantes communes telles que le curcuma (*Curcuma longa* (L.)), également appelé safran des Indes, le gingembre (*Zingiber officinale* (Roscoe)), le romarin (*Rosmarinus officinalis* (L.)) ou encore le cassis (*Ribes nigrum* (L.)) peuvent être prescrites pour soulager les douleurs liées à la polyarthrite rhumatoïde.

I.2.1. Exemples de quelques plantes médicinales

I.2.1.1. *Cymbopogon giganteus* Chiov

I.2.1.1.1. Description botanique

C. giganteus est une plante de la famille des *Poaceae*. C'est une herbe vivace, robuste, dressée, à plusieurs chaumes partant de la souche rhizomateuse. Feuilles longuement acuminées, vertes glauques, recouvertes jeunes d'une pubérescence farineuse (Fig I. 4). Panicules d'épis dressés, compacts. Nombreux épillets serrés et chevauchant entourés par des spathes acuminées avant de se développer. C'est une plante avec des articulations et pédicelles densément ciliés donnant une teinte soyeuse argentée à l'inflorescence. Reproduction par rhizomes et graines (Kerharo et Adam, 1974).



Fig I. 4 : Photo de *C. giganteus* (BAYALA, Août 2011, Gampéla).

I.2.1.1.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle

La décoction des feuilles et fleurs de *C. giganteus* sont utilisés comme un traitement efficace contre les troubles de la peau, la conjonctive, la migraine et l'hépatite (Adjanooun et Aké Assi, 1985 ; Adjanooun *et al.*, 1979). L'huile essentielle de cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire et analgésique dans le traitement des furoncles, des maux d'estomac et des maux de dents (Sahouo *et al.*, 2003). La décoction aqueuse de cette plante est utilisée dans le traitement des falciformations et maladies cellulaires (Noudogbessi *et al.*, 2013). Elle est également utilisée pour calmer les crises d'épilepsie (Adjanooun *et al.*, 1989).

I.2.1.2. *Cymbopogon citratus*

I.2.1.2.1. Description botanique

C. citratus appartient à la famille des *poaceae*, qui compte environ 660 genres et 9000 espèces (Clayton, 1968). *C. citratus* est une herbe vivace, sans ramifications, à odeur de citron poussant à touffes denses (Fig I. 5). Feuilles isolées, vertes claires, pubescentes, fortement parfumées, longuement effilées, réunies en gaine sur une certaine partie de leur longueur, bords hyalins formés de nombreuses petites dents dirigées vers le sommet ; la partie souterraine est constituée par un bulbe ou rhizome. Hampe florale à nombreuses

ramifications terminées par des épis agglomérés verdâtres. Sa reproduction se fait par les rhizomes (Nacoulma, 1996).



Fig I. 5 : Photo de *C. citratus* (BAYALA, Août 2011, Gampéla).

I.2.1.2.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle

C. citratus est couramment utilisé dans la médecine traditionnelle pour le traitement des troubles nerveux et gastro-intestinaux, et comme antispasmodique, analgésique, anti-inflammatoire, antipyrétique, diurétique et sédatif (Santin *et al.*, 2009). Elle est largement appliquée dans la médecine traditionnelle en infusion ou décoction pour traiter les troubles nerveux (Carlini *et al.*, 1986).

I.2.1.3. *Ocimum americanum* L

I.2.1.3.1. Description botanique

O. americanum est une plante de la famille des *Lamiaceae*. Il y a environ 160 espèces du genre *Ocimum*, largement dispersées sur les régions chaudes du globe. Habituellement, ce sont des arbustes ou des herbes, vivaces ou bisannuelles. Ces plantes sont très ramifiées avec des tiges et rameaux quadrangulaires, fortement parfumées. Les rameaux peuvent être violacés, bruns, brunâtre ou verdâtre. Les feuilles sont pétiolées, simples, ovales ou subovales avec dents de scie ou à marge entière. Les tiges, les feuilles et les inflorescences possèdent des poils glandulaires. *O. americanum* est une herbacée (Fig I. 6). Les fleurs sont plus visibles, les bractées sont pétiolées et les graines sont ellipsoïdes, de couleur noire (Bhattacharjee, 2005).



Fig I. 6 : Photo de *O. americanum* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla).

I.2.1.3.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle

Les tiges feuillées, les tiges fructifères et les graines de *Ocimum americanum* sont utilisées en usage interne et externe. Les feuilles sont utilisées pour traiter le hoquet, les parasitoses cutanées (gale), le paludisme, la fièvre avec refroidissement des mains et des pieds, les vomissements, les coliques, l'inflammation de la rate. Les feuilles séchées (prise et inhalation de poudre) soignent l'épistaxis, les polypes du nez, la tumeur d'estomac, la tumeur des yeux, les mycoses. Elles sont aussi hémostatiques, sternutatoires, ophtalmiques, émétiques et antitumorales. Les graines sont toniques, diurétiques et éliminent les objets tombés dans les yeux. Les racines soignent les morsures de serpent. Les feuilles sont insectifuges et attireraient les scorpions qu'elles immobiliseraient par la suite (Nacoulma, 1996).

I.2.1.4. *Hyptis spicigera* Lamarck

I.2.1.4.1. Description botanique

H. spicigera est une plante de la famille des *Lamiaceae*. C'est une plante aromatique annuelle, velue, renouée, ligneuse à la base. Les feuilles sont opposées et lancéolées (Fig I. 7). Les inflorescences sont terminales, denses, spike cylindrique constitué de très petites fleurs à corolle blanche et mauve. *H. spicigera* est une herbacée rudérale. Elle pousse dans les savanes inondées périodiquement et dans les champs. Bien endémique au Brésil, elle est très répandue en Afrique tropicale et en Asie (Bogninou-Agbidinokoun *et al.*, 2013).



Fig I. 7 : Photo de *H. spicigera* (BAYALA, Août 2011, Gampéla).

I.2.1.4.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle

H. spicigera est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter la fièvre, l'inflammation et des troubles gastriques (Takayama *et al.*, 2011). *H. spicigera* est une plante indigène répartie entre la région centrale du Brésil et dont l'huile essentielle extraite de cette plante est utilisée en médecine populaire comme antipyrétique (Takayama *et al.*, 2011). *H. spicigera* a été traditionnellement utilisée comme une céréale et légumineuse protectrice contre les insectes ravageurs de stockage (Wekesa *et al.*, 2011). *H. spicigera* est une herbacée communément utilisée par certaines populations africaines aussi bien dans le traitement de certaines maladies (maux de tête, gale et sinusite) que dans la conservation des denrées alimentaires (niébbé) et leur cuisson (cuisson de riz) (Ngo Bum *et al.*, 2004). La décoction de cette plante est utilisée comme eau de bain ou de thé, expectorant pour traiter les sécrétions bronchiques. La poudre obtenue à partir des organes aériens est utilisée en tant que médicament antimigraineux (Bogninou-Agbidinokoun *et al.*, 2013).

I.2.1.5. *Ageratum conyzoides* L

I.2.1.5.1. Description botanique

A. conyzoides est une herbe annuelle dressée mollement pubescente appartenant à la famille des *Asteraceae*. Elle possède des feuilles souples, douces au toucher, opposées, ovales (Fig I. 8). Cimes de capitules terminaux avec des fleurs mauves pâles ou bleutées. Akènes noirs une fois mûrs, pubescentes ou glabrescentes, trapus. Toute la plante dégage

une odeur aromatique quand on la froisse. La pollinisation de cette herbe se fait par les abeilles, la reproduction par graines (**Kerharo and Adam., 1974**).



Fig I. 8 : Photo de *A. conyzoides* (**BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla**).

I.2.1.5.2. Utilisation dans la médecine traditionnelle

En usage interne, *Ageratum conyzoides* est Cholagogue, tonique, hémostatique, fébrifuge, cicatrisant, émétique, antalgique, diurétique, antibiotique, anti-abortif, cholagogue, antibactérien, anti-inflammatoire, rafraîchissant. En effet, les feuilles sont utilisées pour traiter les inflammations, les affections de foie, la poussée dentaire, les brûlures, les plaies, les blessures, les ulcères, les troubles utérins, les douleurs des femmes enceintes, les vertiges, les douleurs gastro intestinales, la pneumonie, la tachycardie, les maux et douleurs costales, la jaunisse, le hoquet, les morsures de serpent et les ménorragies. Les racines sont utilisées pour traiter la diarrhée. En usage externe elles traitent les ophtalmies, les dermatoses prurigineux, la fièvre des enfants, les plaies, les brûlures, les blessures, les orchites. Elles sont antiseptiques, fébrifuges, antipyrétiques, anti-inflammatoires, cicatrisantes et hémostatiques (**Nacoulma, 1996**).

I.3. Les métabolites secondaires

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Hartmann., 2007**).

- Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques.
- Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures.

Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la hémisynthèse de composés actifs. On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs au XIX^{ème} siècle, a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permis de passer progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, acceptée parfois avec une certaine méfiance à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement.

Les métabolites secondaires constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, anti microbiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes (**Genovese et al., 2007**).

Ce sont des composés très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure. Pendant longtemps, ces composés ont été considérés comme secondaires et métaboliquement inactifs, ils ne suscitaient donc que peu d'intérêt. A l'heure actuelle, cette opinion a changé, du fait de nombreuses recherches qui ont largement montrées que ces composés ne sont pas inertes et contribuent efficacement dans la biosynthèse de divers métabolites de l'organisme.

Chez les végétaux, ils sont soumis à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, ce qui témoigne d'une dynamique biochimique incontestable (**Brzowska et Hanower.,**

1976). Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers. D'où l'importance croissante des études consacrés à ces composés.

Leurs modes d'action et leurs signification physiologique ne sont pas encore suffisamment claires, d'où la place de plus en plus large qui revient aux études de ces composés et de leurs fonctions.

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

I.3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques naturels regroupent plus de 8000 substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (Bamforth, 1999).

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, le thé, le café, les jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs (Macheix *et al.*, 2005). Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau I. 3).

Tableau I. 3 : Les principales classes de composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides Hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides Hydroxycinnamiques Coumarines	Acide caféïque, férulique Scopolétine	Pomme, Pomme de terre Citrus
C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes		
	Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	Anthocyanes	Cyanidine, pélagonidine	Fleurs, fruits rouges
	Flavanols	Catéchine, épicatechines	Pomme, raisin
	Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Diadzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bios, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tanins condensés		Raisin rouge, kaki

I.3.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont d'origine naturelle, le plus souvent végétale. Ce sont des substances organiques azotés et basiques, doués, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées. A l'état naturel, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tratrates, maliates ...) ou combinés à des tanins (**Bruneton, 2009**).

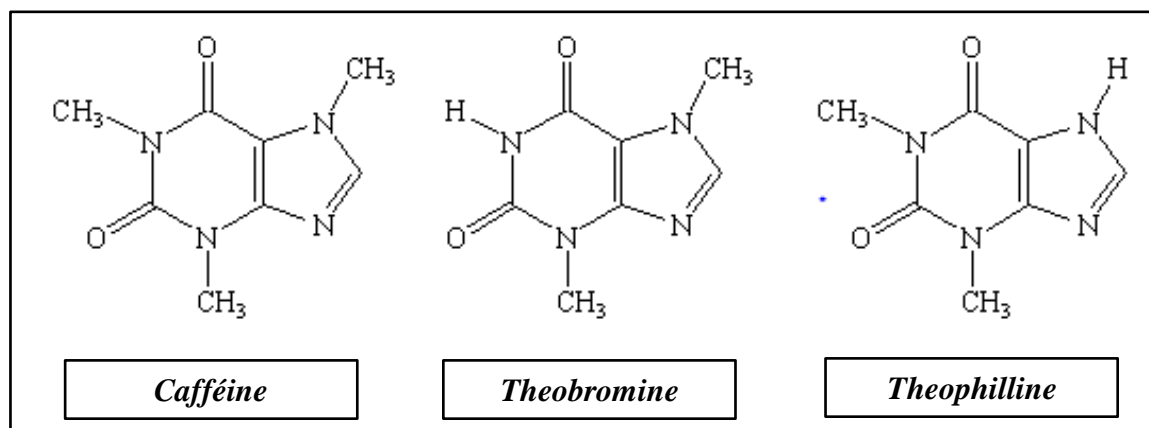


Fig I. 9 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes (**Bruneton, 2009**).

D'un point de vue biologique, les alcaloïdes présentent diverses activités à faible dose, analgésiques (morphine), anesthésiques locaux (cocaïne), antibactérienne, anticancéreuse... (**Bruneton, 2009 ; Hocquemiller et al., 1982**).

I.3.3. Les Terpènes

Ce sont des molécules hydrocarbonées produites particulièrement au niveau des organes foliaires. Les différentes voies métaboliques dont ils sont issus sont la glycolyse, le cycle de Krebs et la voie du shikimate, ainsi que la voie du méthylérythritol phosphate (MEP) (**Soualeh et Soulimani, 2016**). L'unité de base des terpènes est l'isoprène en cinq carbones (Fig I. 10). On trouve, selon le nombre de cette unité, les monoterpènes C₁₀ (2 unités), les sesquiterpènes C₁₅ (3unités), les diterpènes C₂₀ (4 unités), les sesterpènes C₂₅ (5 unités), les triterpènes et stéroïdes C₃₀ (6 unités), les tetraterpènes C₄₀ (8unités) et les polyterpènes (C₁₀)_n avec n>8 (**Richter, 1993**).

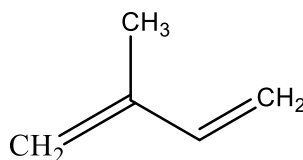


Fig I. 10 : Structure d'isoprène par chemdraw.

I.3.3.1. Les triterpènes : l'acide oléanolique, et l'acide ursolique

L'acide oléanolique, et l'acide ursolique sont des substances naturelles présentes dans les aliments comme l'olive et l'huile d'olive, les plantes médicinales et autres plantes. Ces substances ne sont pas toxiques même après une utilisation à long terme (**Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2004**).

L'acide oléanolique et l'acide ursolique sont des acides pentacycliques triterpénoïques. L'acide oléanolique et l'acide ursolique sont des isomères possédants la même masse moléculaire. Ils ne diffèrent que par la position d'un groupe méthyle au niveau de leur structure chimique (**Schneider *et al.*, 2009**).

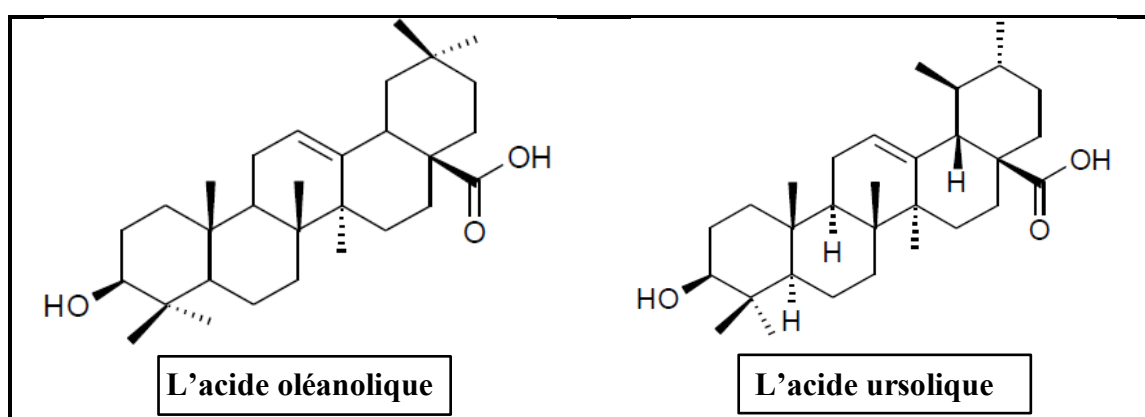


Fig I. 11 : Structure chimique des acide oléanolique, et acide ursolique.

I.3.3.1.2. Propriétés physico-chimiques

L'acide oléanolique, et l'acide ursolique sont des composés très polaires, de faible volatilité et possèdent des masses moléculaires élevées (**Pollier et Goossens, 2012**).

I.3.3.1.2. Activités biologiques des triterpènes

I.3.3.1.2.1. L'Acide Oléanolique et leurs dérivés

C'est un agent biologiquement actif dans de :

- Nombreux phénomènes, en tant que : anti-inflammatoire (**Martin *et al.*, 2010**), inducteur d'apoptose (**Cipak *et al.*, 2006**), hépato protecteur (**Wu *et al.*, 2011**) et antioxydant (**Gao *et al.*, 2009**).
- Nombreuses pathologies, en tant que : antipaludéen (**He *et al.*, 2005**), anti-VIH (**Kashiwada *et al.*, 1998**), antidiabétique (**Ramirez-Espinosa *et al.*, 2011**), anticancéreux (**Bishayee *et al.*, 2011**) et antibactérien (**Liu, 2005**).

I.3.3.1.2.2. L'Acide Ursolique et leurs dérivés

Les effets de l'AU sur les systèmes biologiques sont très nombreux (**Liu, 2005**). Du fait de son origine végétale et des effets protecteurs qui lui furent accordés, de nombreux auteurs ont dirigé leurs études sur les effets anti-infectieux de cette molécule : antibactérien (**Setzer et al., 2006**), antiviral (**Xu et al., 1996**), antifongique et anti-parasitaire (**Germonprez et al., 2005**). Par la suite, les recherches scientifiques ont révélé et confirmé plusieurs effets pharmacologiques :

- Anti-tumoral (**Bishayee et al., 2011**), hépato-protecteur (**Wu et al., 2011**), antioxydant (**Ismaili et al., 2004**), anti-ulcéreux, anti-hypertenseur (**Somova et al., 2003**), antidiabétique (**Ramirez-Espinosa et al., 2011**), hypolipémiant (**Somova et al., 2003**), inhibiteur de biofilm (**Hu et al., 2006**), anti-inflammatoire (**Baricevic et al., 2001**).

I.3.3.1.2.3. Activité anti-inflammatoire des triterpènes

Au cours des 10 dernières années, des études ont montré une action anti-inflammatoire de l' α , β -amyrine (l'acide ursolique, et l'acide oléanolique) associée à l'inhibition du facteur de transcription NF- κ B, à l'inhibition de la COX-2 et à la production de cytokines pro-inflammatoires telle que interleukin-6 (IL-6), TNF- α (**Patrícia et al., 2015**).

Récemment les triterpènes utilisés comme des inhibiteurs d'une nouvelles cibles moléculaires MD2 (Myeloid differentiation 2) spécifique pour LPS. Le LPS est reconnu par TLR4 lorsqu'il interagit avec différentes protéines extracellulaires CD14 et MD-2 pour induire une cascade de signaux conduisant à l'action de NF- κ B et à la production de cytokines pro-inflammatoires (**Yeonju Lee et al., 2012**). Donc l'inhibition de MD2, par les triterpènes, empêche la cascade de signalisation et la réaction inflammatoire.

PARTIE PRATIQUE

Chapitre II

Docking moléculaire

II.1. Généralité sur le docking moléculaire

L'action d'une molécule dans une protéine est gouvernée par des principes de reconnaissance mutuelle entre la molécule et sa cible. C'est dans ce contexte que s'inscrit le docking moléculaire. Il s'agit d'un ensemble de méthodes algorithmiques et géométriques permettant la prédiction *in silico* de la conformation (position et orientation relative) la plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur (**Krid, 2013**). Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand). Le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » (**Boukli-Hacene, 2016**).

Dans ces dernières décennies, la conception de molécules d'intérêt thérapeutique a bénéficié des progrès issus de diverses disciplines scientifiques telles que la biologie, la pharmacochimie et l'informatique. En effet, avec le développement de l'outil informatique, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (assemblage ou arrimage moléculaire) a rapidement investi dans le domaine de la recherche en biologie pour y devenir un outil incontournable (**Beutraït, 2008 ; El Hadj Said, 2016**).

Le docking moléculaire a été appliqué avec succès sur un certain nombre de cibles thérapeutiques (protéines) dont la structure 3D en complexe avec le ligand a été parallèlement déterminée. Actuellement, un bon nombre de médicaments mis sur le marché proviennent d'une conception rationnelle basée sur des stratégies de criblage virtuel comme par exemple :

- Des inhibiteurs de l'aldose réductase : par recherche dans des bases de données de composés.
- Un inhibiteur d'un élément de réponse de la trans-activation de la HIV-1 RNA : par docking rigide et recherche dans des bases de données de composés.
- Un inhibiteur de la thrombine et celui de la glyceraldéhyde-3-phosphate dehydrogenase : par docking sur des chimiothèques combinatoires (**Mokrani, 2012**).

II.2. Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité

Les méthodes de docking peuvent être classées en trois catégories selon la prise en compte de la flexibilité du ligand.

La première catégorie considère le ligand et la protéine comme étant rigides, reflétant ainsi le principe du concept « clé-serrure » où seul le ligand (représentant la clé) qui possède la bonne taille et la bonne forme peut ouvrir une serrure, la protéine (**Vuorinen et Schuster, 2015**). Les premiers logiciels de docking se sont donc inspirés de ce concept. La seconde

considère le ligand comme étant flexible tout en conservant la protéine rigide. L'utilisation de cette approche pour concevoir un nouveau médicament a permis d'obtenir des résultats plus précis. Ce type de docking reste plus employé aujourd'hui. La dernière catégorie permet de traiter la flexibilité du ligand et de façon partielle la protéine (**Sotriffer et al.,2003**).

II.3. Les outils du docking moléculaire

II.3.1. Récepteur

La disponibilité de la structure des protéines est l'un des éléments essentiels à considérer avant de réaliser un docking (**Spyrakis et al.,2010**). En général, les sources d'information de ces structures proviennent majoritairement de la cristallographie aux rayons X et de la RMN. Cette technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures accessibles gratuitement appelée la « Protein Data Bank » (PDB). En mars 2018, plus de 117 000 structures protéiques ont été résolues et injectées dans la PDB grâce à la cristallographie aux rayons X. La RMN fournit, quant à elle, environ 11 000 structures, contre seulement 1500 dans le cas de la microscopie électronique. Lorsque la structure 3D d'une protéine n'a pas encore été résolue expérimentalement, des méthodes de prédiction par homologie de séquence peuvent être mises en oeuvre (**Nathalie, 2014**).

II.3.2. Ligand

Pour obtenir la structure chimique tridimensionnelle d'un ligand, il existe deux méthodes : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espèces chimique. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et sauvegarder dans différents formats (pdb, mol, mol2 ... etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl pour ne citer que ces exemples (**Mokrani, 2012**).

II.3.3. Les programmes

Le docking est une approche permettant de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et leur cible. Il se déroule en deux étapes distinctes : La première étape consiste à placer et à positionner le ligand dans son site d'interaction. La seconde étape consiste, quant à elle, à évaluer les poses du ligand générées lors de la première étape pour ne retenir que la ou les meilleures. Les algorithmes utilisés pour ces deux étapes diffèrent en fonction du programme de docking utilisé (**François, 2015**).

Chapitre II : Docking moléculaire

A l'heure actuelle, un grand nombre de programmes (commerciaux ou libres) de docking moléculaire sont disponibles. Parmi ceux-ci, nous citons à titre exemple AutoDock, FlexX, Gold, Dock et Surflex (**Jain, 2007**).

Chapitre III

Matériel et Méthodes

III.1. Matériel

III.1.1. Microordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur ayant une mémoire vive de 4 GO. Les programmes utilisés : Discovery Studio 2021 Cléon, et AutoDockTools sont installés sous le système d'exploitation Windows 10.

III.1.2. Les logiciels

Afin de concrétiser la partie pratique de notre travail, nous avons utilisé deux logiciels.

III.1.2.1. Discovery Studio 2021 Cléon

Pour visualiser la structure de la protéine (récepteur MD 2).

III.1.2.2. AutoDockTools (ADT)

AutoDockTools (ADT) est l'interface graphique du logiciel AutoDock. Il a été développé par la même équipe qui a créé le programme AutoDock. ADT permet de visualiser la localisation précise de l'espace à l'intérieur duquel vont se faire les calculs et de préparer les fichiers de données nécessaires pour AutoGrid et AutoDock ainsi que de visualiser et d'analyser les résultats de docking. ADT permet de visualiser les interactions formées entre les différentes molécules et le site actif étudié.

III.1.2.3. SwissTargetPrediction

Ce site permet d'estimer les cibles macromoléculaires les plus probables d'une petite molécule, supposée bioactive. La prédiction est fondée sur une combinaison de similarité 2D et 3D avec une bibliothèque de 370'000 actifs connus sur plus de 3000 protéines de trois espèces différentes.

III.1.3. Banques de données

- La structure 3D de La protéine a été retirée de la banque de données PDB (Protein Data Bank). C'est la plus grande archive de données de macromolécules, principalement les protéines. Les structures 3D des macromolécules disponibles dans cette banque sont accessible gratuitement et essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X.
- La structure 3D des molécules a été retirée de la banque de données PubChem est une banque de données américaine de molécules chimiques.

III.2. Méthodes

III.2.1. Préparation *in silico* du récepteur

Le récepteur MD2 (Myeloïd differentiation 2) est une glycoprotéine d'environ 29 kDa associée à l'ectodomaine du TLR4 (Jerala, 2007). Cette protéine est nécessaire à l'expression du TLR4 au niveau membranaire, elle est aussi essentielle pour la fixation du LPS. Après fixation du LPS au MD2, le complexe TLR4/MD2 permet la transduction du signal au niveau du domaine intracellulaire au cours de l'inflammation (Dagvadorj *et al.* 2011).

La structure cristalline 3D de la protéine a été récupérée via la PDB, et enregistrée sous le format pdb, nous avons choisi le code MD2.

Ensuite on ouvre la structure de la protéine dans le logiciel Discovery Studio 2021 Cléon, et élimine l'eau et le substrat pour visualiser la structure de la protéine.

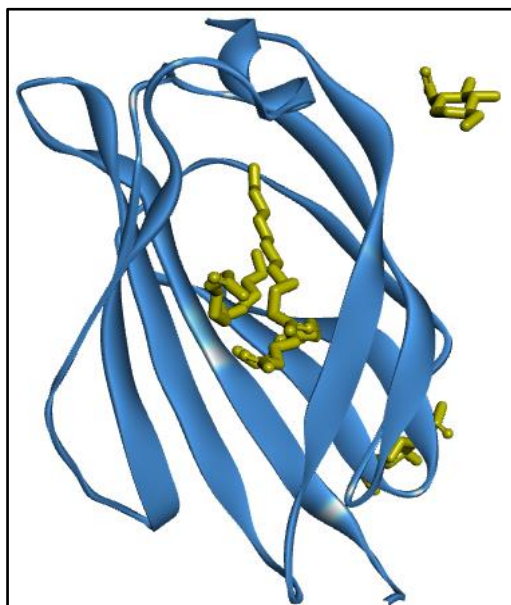


Fig III. 1 : Représentation par Discovery Studio 2021 Cléon de la structure de récepteur MD2.

III.2.2. Préparation *in silico* des ligands

La structure 3D des molécules a été récupérée via PubChem, et enregistrée sous le format pdb à partir du logiciel Discovery Studio 2021 Cléon. Ensuite nous avons fait des modifications dans le logiciel AutoDockTools comme l'addition des hydrogènes, il est nécessaire d'attribuer des charges partielles. Le fichier de la structure des molécules et de la protéine doit être enregistré au format pdbqt.

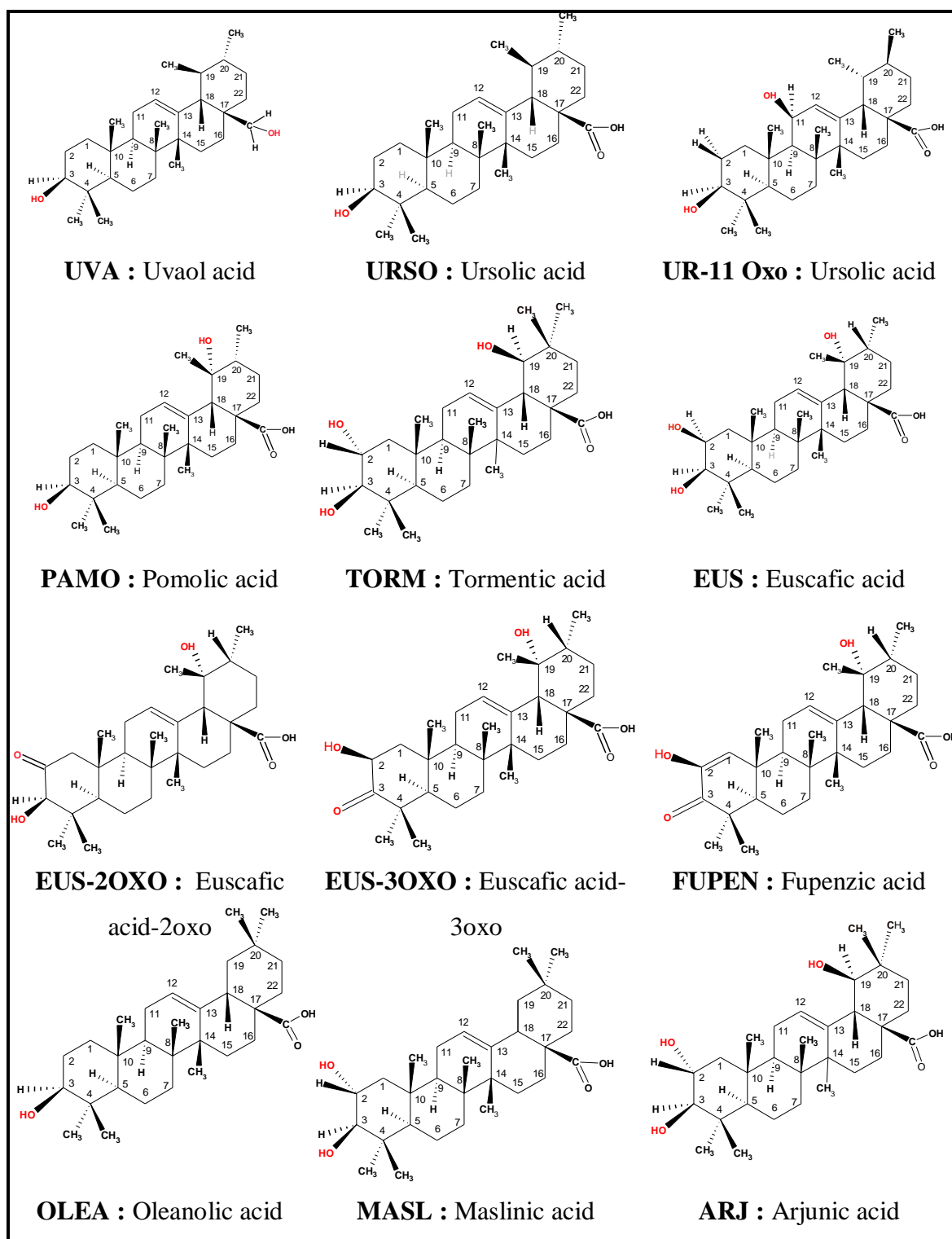


Fig III. 2 : Les ligands étudiés sont des molécules de nature triterpènes.

III.2.3. Mise au point des grilles pour le calcul de docking score

Une grille de point est une boîte définie à la périphérie de la macromolécule dans laquelle des conformations de docking pour un ligand donné sont recherchées. C'est une matrice tridimensionnelle qui englobe l'intégralité ou une région intéressante du récepteur étudié (Fig III. 2). Son intérêt est de faciliter le positionnement du ligand dans la macromolécule et

d'augmenter la vitesse d'évaluation de l'énergie d'interaction ligand/récepteur. Pour chaque atome du ligand, AutoGrid calcule l'énergie d'interaction entre un atome sonde placé en un point de la matrice et l'ensemble de la macromolécule. L'espacement entre les points peut aller de 0,2 Å à 1,0 Å. La grille doit englober le site d'intérêt mais le temps de calcul pour l'explorer sera fonction de ses dimensions. Le volume explorable est donc limité par le temps et la puissance de moyens de calcul dont on dispose.

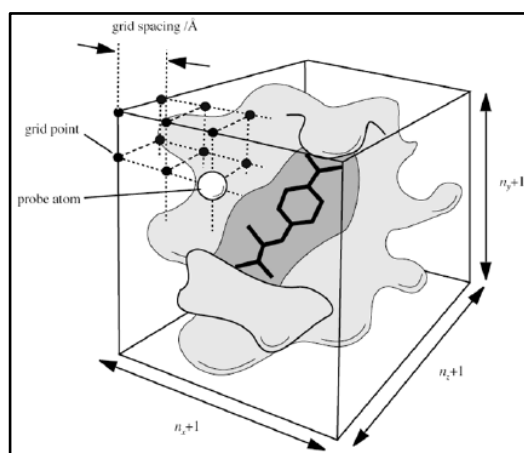


Fig III. 2 : Schéma d'une grille de potentiel englobant le site actif d'une macromolécule (Malki., 2016).

Les grilles de potentiels sont calculées par le programme AutoGrid selon les instructions du fichier de données qu'on lui fournit. Ce dernier est un fichier texte dont l'extension est gpf (Grid Parameters File), il doit contenir les paramètres suivants :

- Les noms des fichiers du ligand et de la macromolécule, aux formats pdbqt.
- La position et les dimensions de la boîte ainsi que l'espacement entre les points de la grille.

III.2.4. Analyse des résultats

Les résultats de docking effectués par logiciel AutoDockTools sont générés dans un fichier texte. Ce fichier fournit les coordonnées atomiques des 9 meilleurs positions du ligand dans la protéine étudiée, leur énergie d'interaction. La visualisation d'interaction récepteur-ligand se fait par logiciel Discovery Studio 2021 Cléon.

Chapitre IV

Résultats et discussions

IV.1. Étude des interactions de récepteur MD2 avec les ligands

IV.1.1. Étude des interactions récepteur MD2- ligand UVA

D'après les résultats obtenus, la molécule UVA affiche un docking score intéressant en position 1 avec une énergie d'interaction très stable avoisinant -9.0 Kcal/mol. D'autre part ce résultat montre que la molécule UVA a une affinité importante vis-à-vis de la protéine MD2, étant la molécule a montré une interaction très forte avec le même site de liaison de ligand naturel de la protéine MD2, à savoir les lipopolysaccharides LPS. On peut donc dire que la molécule UVA est une molécule potentiellement candidate à vérifier pour son activité anti-inflammatoire via la protéine MD2. Les autres positions de 2 à 9 affichent des énergies d'interaction plus au moins stable mais reste loin de site spécifique de LPS (**Tableau IV. 1 ; Fig IV. 1**).

Tableau IV. 1 : Mode d'interaction récepteur MD2/ligand UVA et leur énergie d'interaction.

Mode	Energie d'interaction (Kcal/mol)
1	-9.0
2	-7.7
3	-7.6
4	-7.5
5	-7.5
6	-6.8
7	-6.8
8	-6.7
9	-6.7

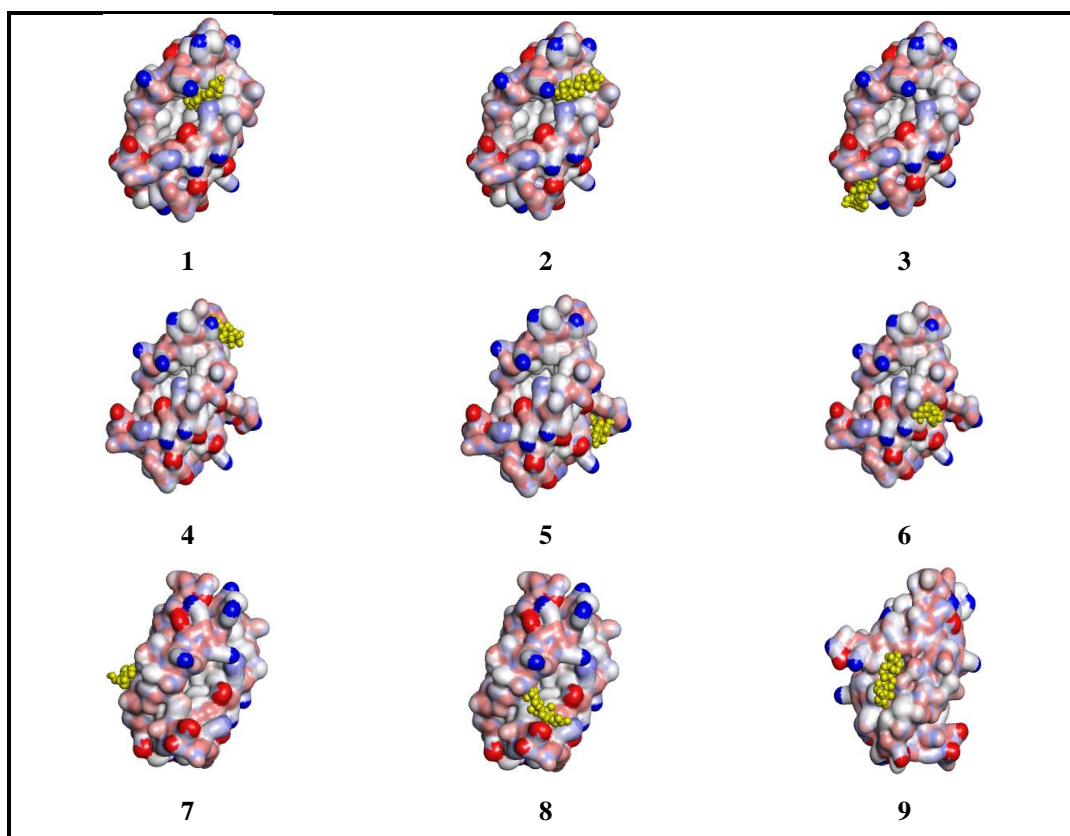


Fig IV. 2 : Représentation 3D des 9 modes d'interactions de ligand UVA et le récepteur MD2.

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre le récepteur MD2 et le ligand UVA est stabilisé par plusieurs types de liaisons parmi eux une liaison hydrogène entre le ligand et l'acide aminé Cys133 de récepteur, et liaison de van der Waals entre ligand UVA et les acides aminés Leu78, Ile80, Arg90, Ile52, Leu54, Leu87, Ile124, Tyr131, Val82 (Fig IV. 2).

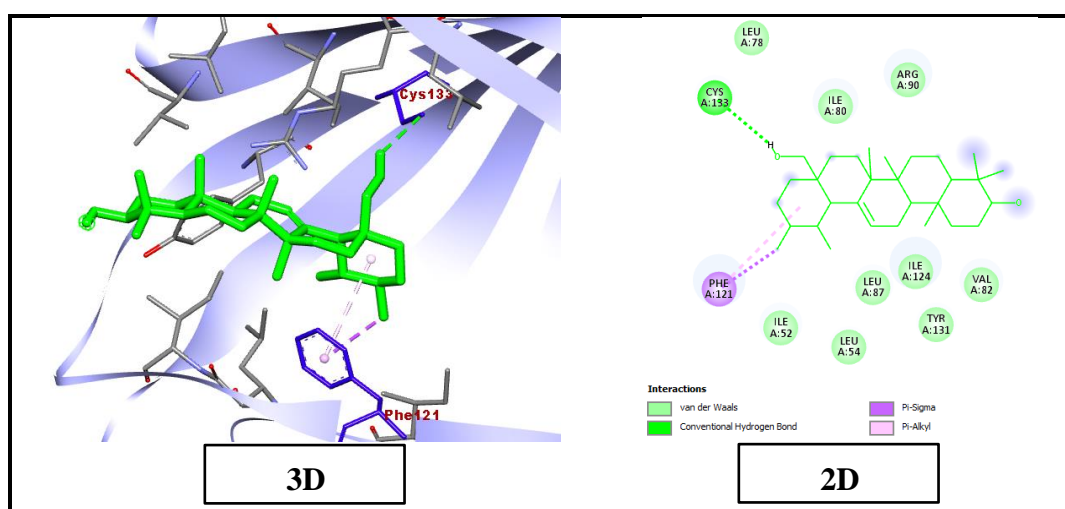


Fig IV. 3 : Représentations 2D et 3D d'interaction de ligand 1 UVA et récepteur MD2.

IV.1.2. Étude des interactions récepteur MD2-ligand URSO

La molécule URSO est un dérivé de la molécule UVA. L'analyse de mode de liaison de la molécule URSO avec la protéine MD2 montre une affinité d'environ -7.6 Kcal/mol, qui est un peu moins importante en comparaison à celle de la molécule UVA. Il est à noter que cette pose (1) coïncide toujours avec le même site de liaison de la molécule UVA. Pour le reste des positions de 2 jusqu'à 9, l'affinité calculée est moins stable et les sites de liaisons ne sont pas spécifique au ligand naturel de MD2 (LPS).

Tableau IV. 2 : Mode d'interaction récepteur MD2/ligand URSO et leur énergie d'interaction.

Mode	Energie d'interaction (Kcal/mol)
1	-7.6
2	-7.4
3	-7.3
4	-7.2
5	-7.1
6	-7.0
7	-6.7
8	-6.7
9	-6.7

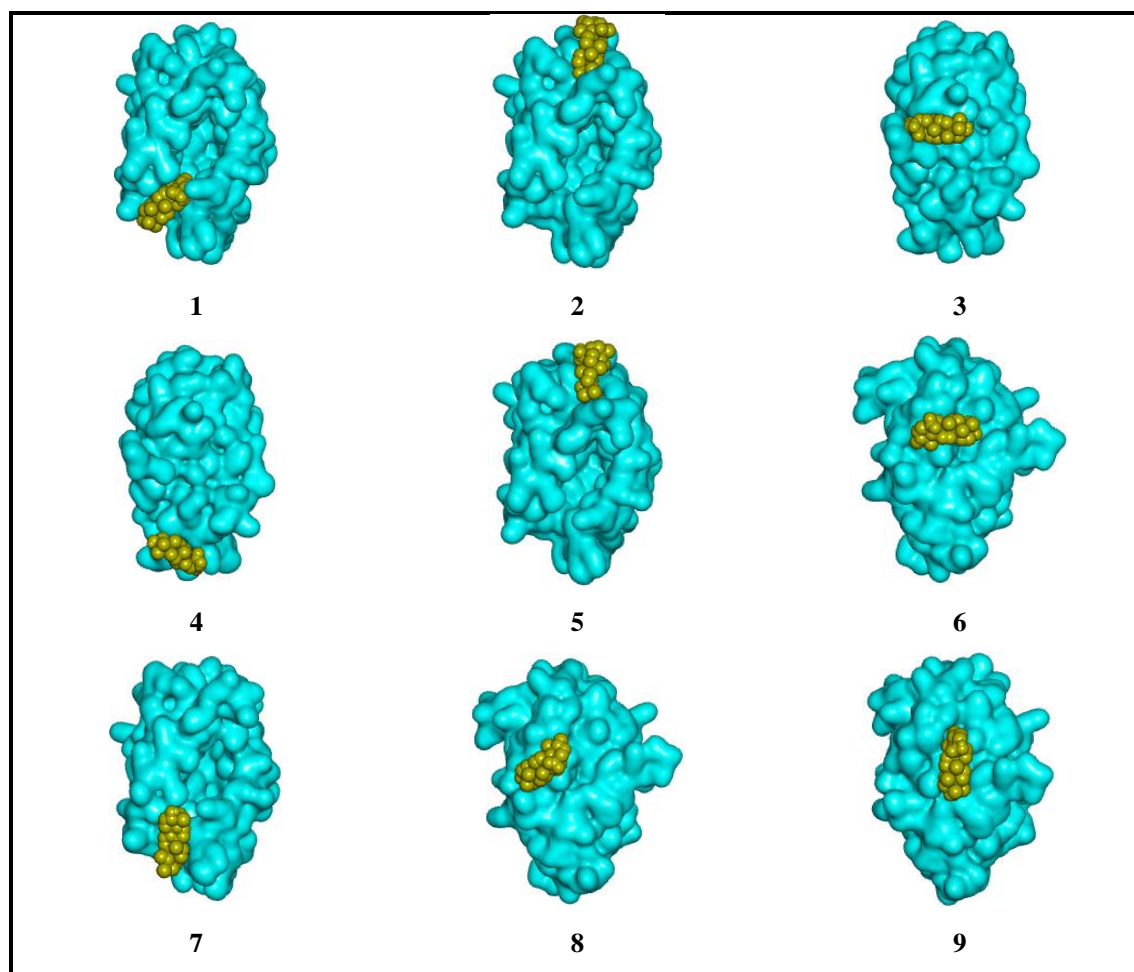


Fig IV. 3 : Représentation 3D des 9 modes d'interactions de ligand URSO et le récepteur MD2.

A l'aide de programme discovery studio, on a montré que le complexe formé entre le récepteur MD2 et le ligand URSO est stabilisé par liaison van der Waals formé entre ligand et la fonction amine des résidus Met85, Val82, Leu87, Ile80, Phe121, Arg90, Ile124, Tyr131, Lys122 (Fig IV. 3).

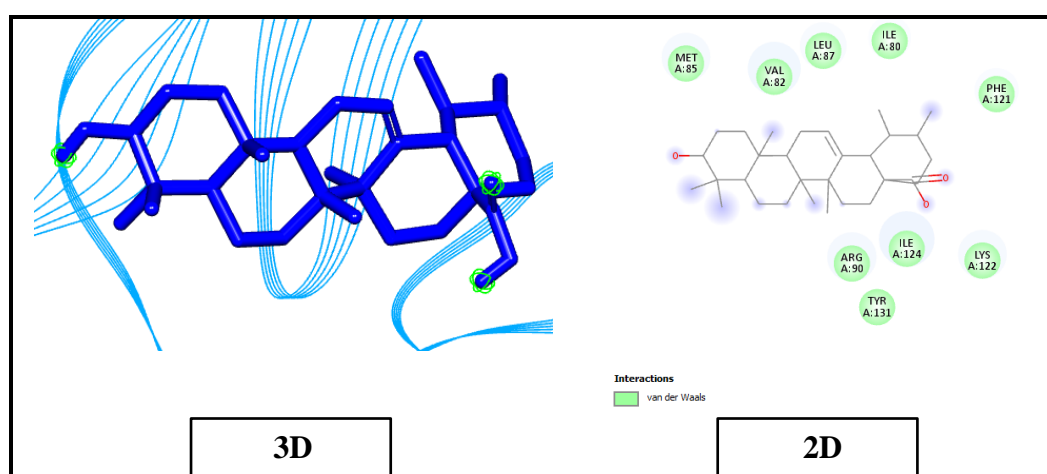


Fig IV. 4 : Représentations 2D et 3D d'interaction de ligand 1 URSO et récepteur MD2.

IV.1.3. Étude des interactions récepteur MD2-ligand UR-11 OXO

Le ligand analysé dans cette section à savoir l'UR-11 OXO diffère de la molécule URSO en portant, en plus, un groupement d'oxygène sur le carbone numéro 11. La meilleure énergie de liaison de cette molécule avec la protéine MD2 avoisine une valeur de -8.5 Kcal/mol qui reflète un peu plus de stabilité en comparaison à celle de la molécule URSO. Ainsi, on peut suggérer que la fonction aldéhyde sur le carbone N° 11 (C.11) de la molécule l'UR-11 OXO aurait joué un rôle favorable dans l'affinité et la stabilité de cette dernière avec le récepteur.

Tableau IV. 3 : Mode d'interaction récepteur MD2/ligand UR-11 OXO et leur énergie d'interaction.

Mode	Energie d'interaction (Kcal/mol)
1	-8.5
2	-7.7
3	-7.7
4	-7.2
5	-7.2
6	-7.1
7	-7.1
8	-7.0
9	-7.0

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre le récepteur MD2 et le ligand UR-11 OXO est stabilisé par liaison van der Waals formé entre ligand et la fonction amine des résidus Leu54, Cys133, Phe121, Lys122, Ile153, Tyr131, Lys132, Ile124, Ile80, Arg90, Glu92, Val82 (Fig IV. 11).

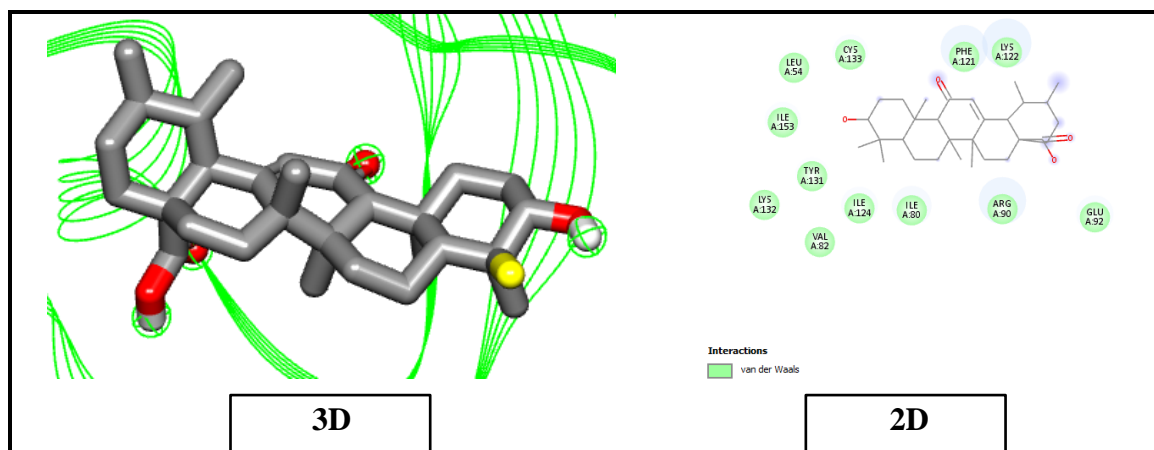


Fig IV. 5 : Représentations 2D et 3D d'interaction de ligand 1 UR-11 OXO et récepteur MD2.

IV.1.4. Étude des interactions récepteur MD2-ligand EUS-3OXO

Pareil pour la molécule EUS-3OXO, le programme AutoDockTools a généré 9 positions d'interaction avec le récepteur MD2, dont leurs énergies d'interaction respectives sont montrées dans le tableau suivant (Tableau IV. 4). D'après nos résultats, la meilleure affinité (-8.7 Kcal/mol) en position 1 coïncide avec le site de liaison de LPS sur la protéine MD2. D'autre part, on peut conclure que la fonction 3-oxo aurait joué un rôle favorable dans la stabilité et la spécificité de liaison de cette molécule avec le récepteur, car une autre molécule, à savoir l'EUS qui diffère uniquement par un groupement hydroxyle en comparaison avec notre molécule ne se lie pas au site spécifique de LPS (voir Fig IV. 4).

Tableau IV. 4 : Mode d'interaction récepteur MD2/ligand EUS-3OXO et leur énergie d'interaction.

Mode	Energie d'interaction (Kcal/mol)
1	-8.7
2	-8.4
3	-7.8
4	-7.6
5	-7.6
6	-7.6
7	-7.5
8	-7.4
9	-7.3

Chapitre IV : Résultats et discussions

L'analyse visuelle montre que le complexe formé entre le récepteur MD2 et le ligand EUS-3OXO est stabilisé par plusieurs types de liaisons parmi eux une liaison hydrogène entre l'oxygène de la fonction carboxyle de ligand et la fonction amine de résidu Arg90 de récepteur. Le ligand est stabilisé aussi par liaison de van der Waals formé entre de ligand et la fonction amine des résidus Glu92, Ile52, Ile153, Leu54, Cys133, Ile124, Phe121, Ile80, Lys122 (Fig IV. 4).

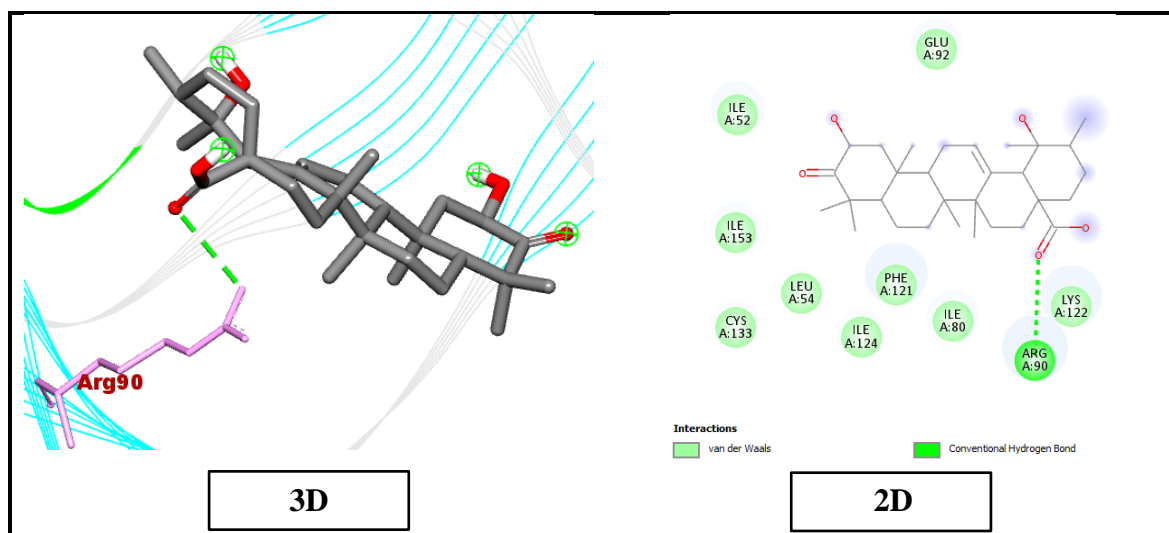


Fig IV. 6 : Représentations 2D et 3D d'interaction de ligand EUS-3OXO et récepteur MD2.

Les molécules mentionnées précédemment (UVA : (-9 kcal/mol), UR-11OXO : (-8.5kcal/mol), URSO : (-7.6kcal/mol), et EUS-3OXO : (-7.1kcal/mol) se sont avérées les meilleurs inhibiteurs spécifiques la protéine MD2 en rentrent en compétition avec le LPS.

Parmi ces molécules, l'URSO a été déjà confirmé par (Niu *et al.*,2018) comme inhibiteur de la protéine MD2 en lui attribuant un effet anti-inflammatoire important par perturbation de la voie de signalisation pro-inflammatoire initiée par le récepteur TLR4 des macrophages.

En plus de la molécule URSO, notre étude *in silico* propose UVA : (-9 kcal/mol), UR-11OXO : (-8.5kcal/mol), et EUS-3OXO comme des inhibiteurs présumés de la protéine MD2 qui méritent d'être étudiés pour leur effet anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo*.

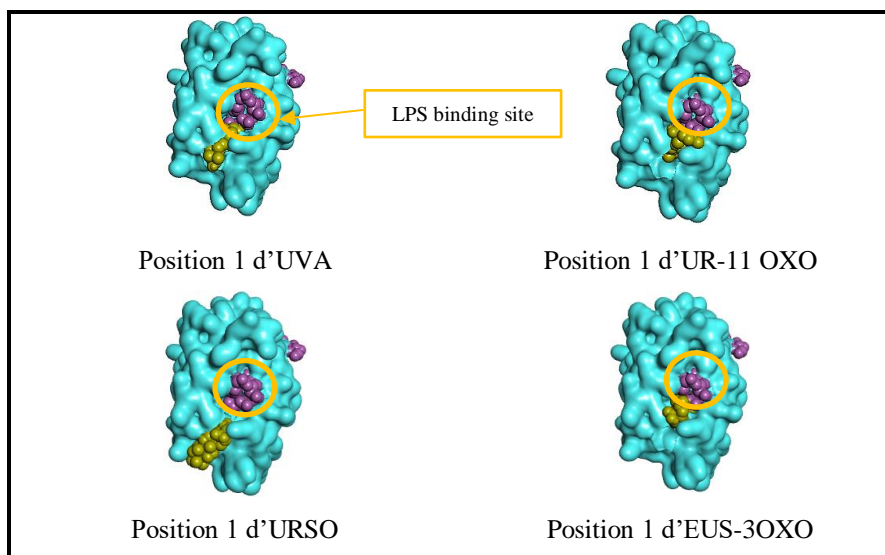


Fig IV. 7 : Représentation 3D des ligands (en jaune) dans le site de LPS (en rose).

Contrairement aux molécules précédemment citées, le reste des autres molécules ont montré une affinité avec la protéine MD2 mais leur mode de liaison et emplacement s'est avéré loin de site de liaison de LPS (Fig IV. 6). Les meilleures affinités exprimées par ces molécules sont comme ci-après dans un ordre décroissant : -7.9 kcal/mol (MASL), -7.8kcal/mol (FUPEN), -7.6kcal/mo (POMO), -7.6kcal/mol (TORM), -7.6kcal/mol (ARJ), -7.2kcal/mol (EUSCA), -7.1kcal/mol (EUS-2OXO), -6kcal/mol (OLEA).

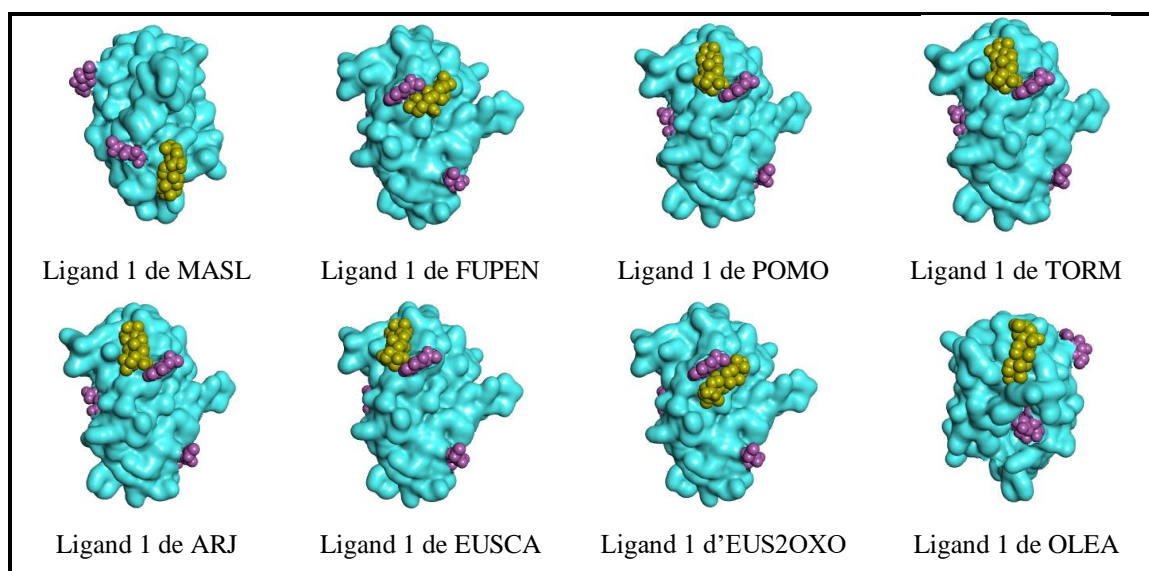


Fig IV. 8 : Représentation 3D des ligands (en jaune) en dehors le site de LPS (en rose).

IV.1.5. Analyse des cibles biologiques avec SwissTargetPrediction

Les molécules qui ont montré un intérêt pour leur effet anti-inflammatoire ont été aussi soumises à la prédiction d'autres cibles biologiques en exploitant le serveur SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>).

IV.1.5.1. Prédiction des cibles biologiques d'UVA

L'analyse réalisée avec cette base de données, la molécule UVA a montré une chance d'interférer avec au moins 47% des transporteur membranaire, 33% des récepteurs membranaire, 13% d'autres enzymes et 7% de facteur de transcription. Ces résultats montrent un spectre pharmacologique très large pour cette molécule qui peut jouer un rôle thérapeutique dans le traitement des maladies associées à un dysfonctionnement des transporteurs et récepteurs membranaires.

D'après le rapport qui a été obtenu, et après avoir étudié ces récepteurs, on trouve que :

Les récepteurs muscariniques de l'acétylcholine pourraient être des cibles thérapeutiques efficaces dans la maladie d'Alzheimer, la schizophrénie, la maladie de Parkinson et la maladie pulmonaire obstructive chronique. En plus de ça, ils sont essentiels pour le contrôle physiologique de la fonction cardiovasculaire (**Svoboda *et al.*,2017**).

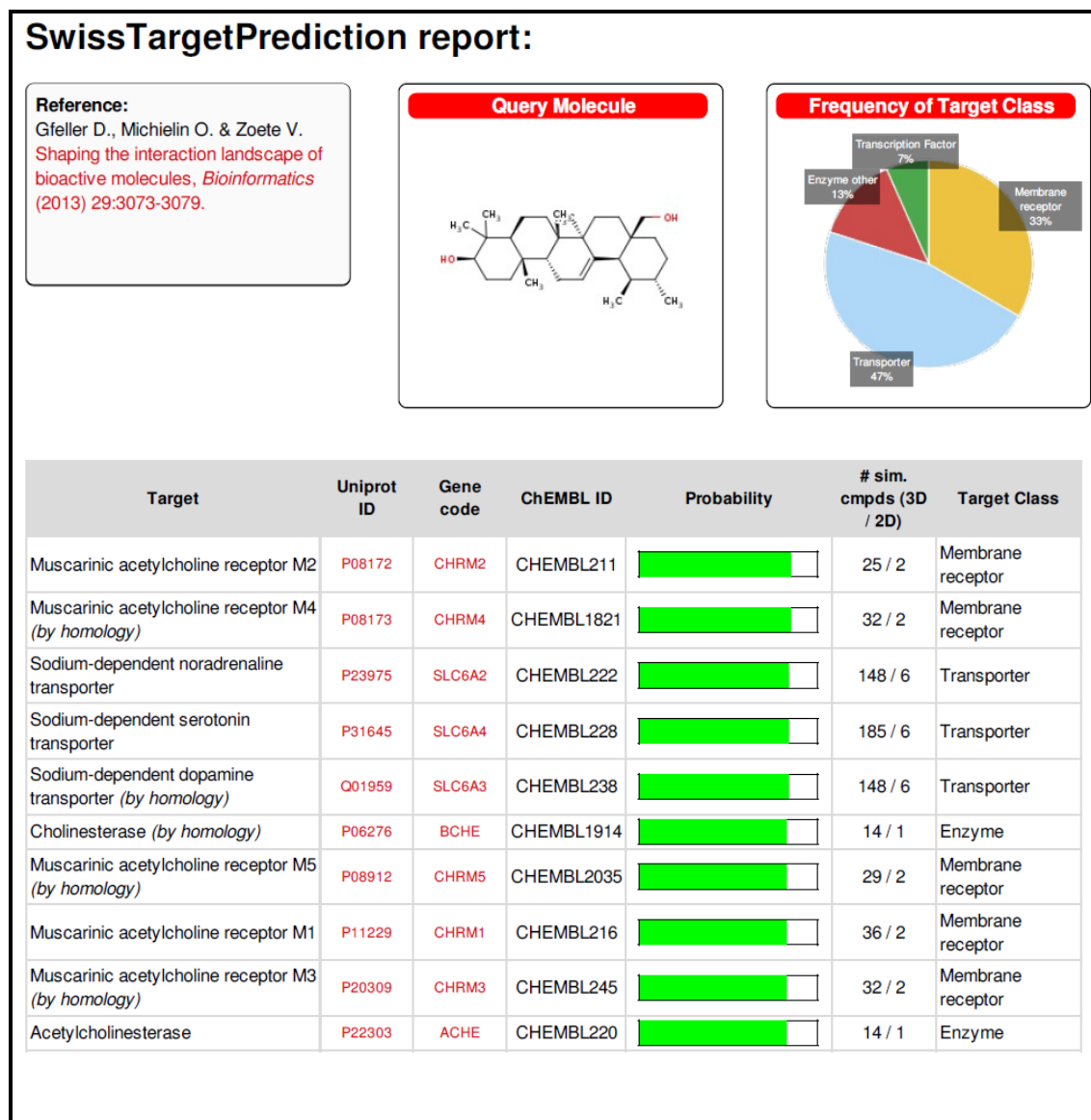


Fig IV. 9 : Rapport de SwissTargetPrediction pour la molécule UVA.

IV.1.5.2. Prédiction des cibles biologiques d'UR-11OXO

D'après l'analyse réalisée avec SwissTargetPrediction, la molécule UR-11OXO est divisée en trois classes : 73% autre enzyme, 13% facteur de transcription, 13% Phosphatase. La classe des enzymes à différentes activités biologiques est très importante.

Selon le rapport qui a été obtenu, et d'après l'étude de La 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11 β -HSD1), des inhibiteurs de la 11 β -HSD1 ont été proposés comme stratégie pour supprimer plusieurs troubles métaboliques, tels que le diabète de type 2, l'obésité, la résistance à l'insuline et la stéatose hépatique non alcoolique (Gathercole *et al.*, 2013).

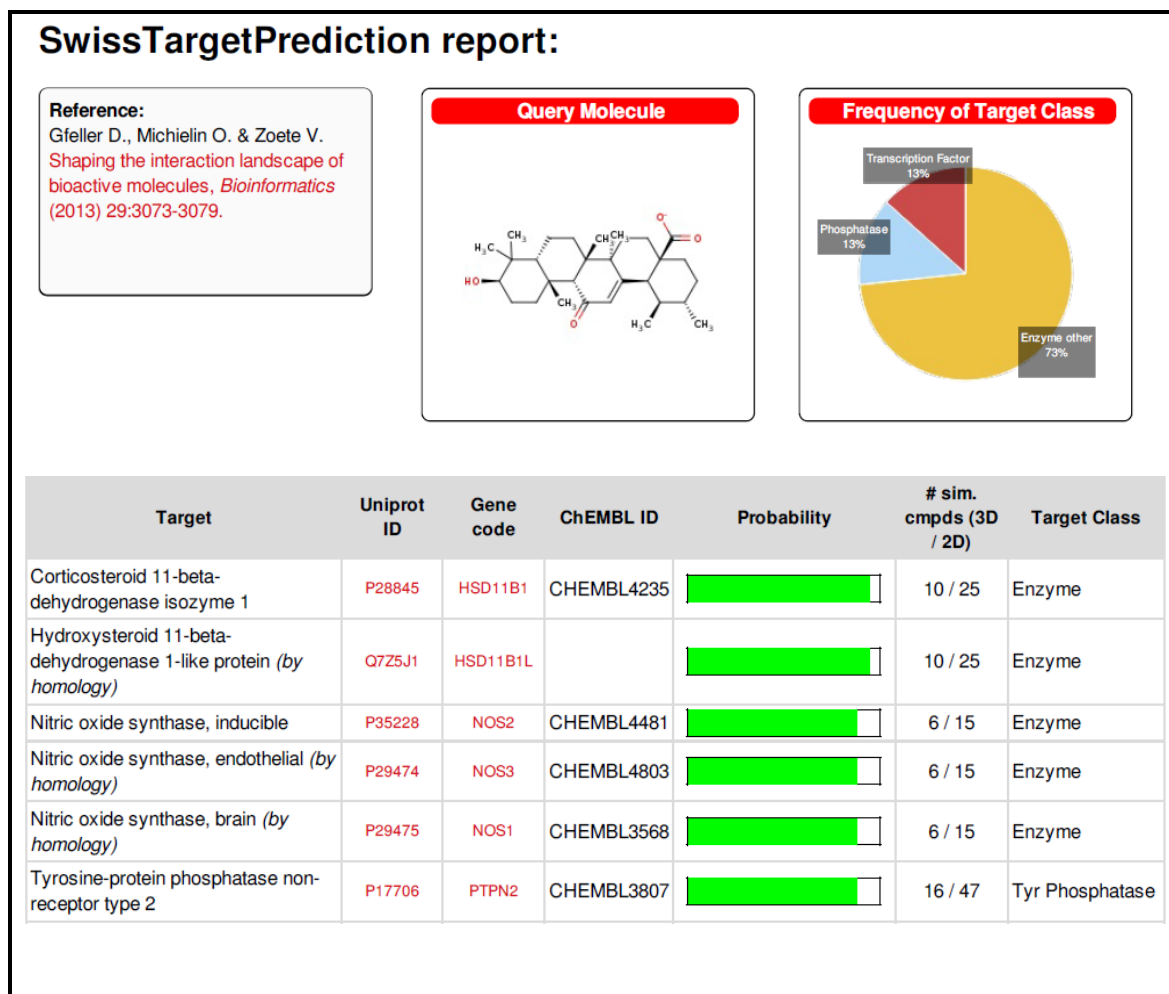


Fig IV. 10 : Rapport de SwissTargetPrediction pour la molécule UR-110XO.

IV.1.5.3. Prédiction des cibles biologiques d'EUS-3OXO

Concernant la molécule EUS-3OXO, elle a été révélée comme inhibiteur qui peut interférer avec 67% de différentes enzymes, 20% phosphatase et 7% récepteur membranaire. Nous avons constaté que la classe de phosphatase à différentes activités biologiques très importantes.

A partir de rapport qui a été obtenu, et d'après l'étude de ces protéines, on trouve que :

Les protéines tyrosine phosphatases (PTP) sont apparues comme une nouvelle classe de molécules de signalisation qui jouent un rôle important dans le développement et le fonctionnement du système nerveux central (Daval *et al.*, 2015).

Au cours des dernières années, plusieurs études ont suggéré que les PTP sont des composants régulateurs clés dans les voies de transduction du signal, et sont importantes dans le contrôle de la croissance cellulaire, de la prolifération cellulaire, de la différenciation cellulaire. La tyrosine-protéine phosphatase non-récepteur de type 2 (PTPN2) est un facteur

Chapitre IV : Résultats et discussions

de protection importante pour le diabète et la parodontite, mais le mécanisme sous-jacent reste insaisissable. En tenant compte de ces résultats, la molécule EUS-3OXO pourrait être une drogue potentielle pour traiter tous les problèmes pathologiques liés à l'enzyme PTP (Duval *et al.*, 2015).

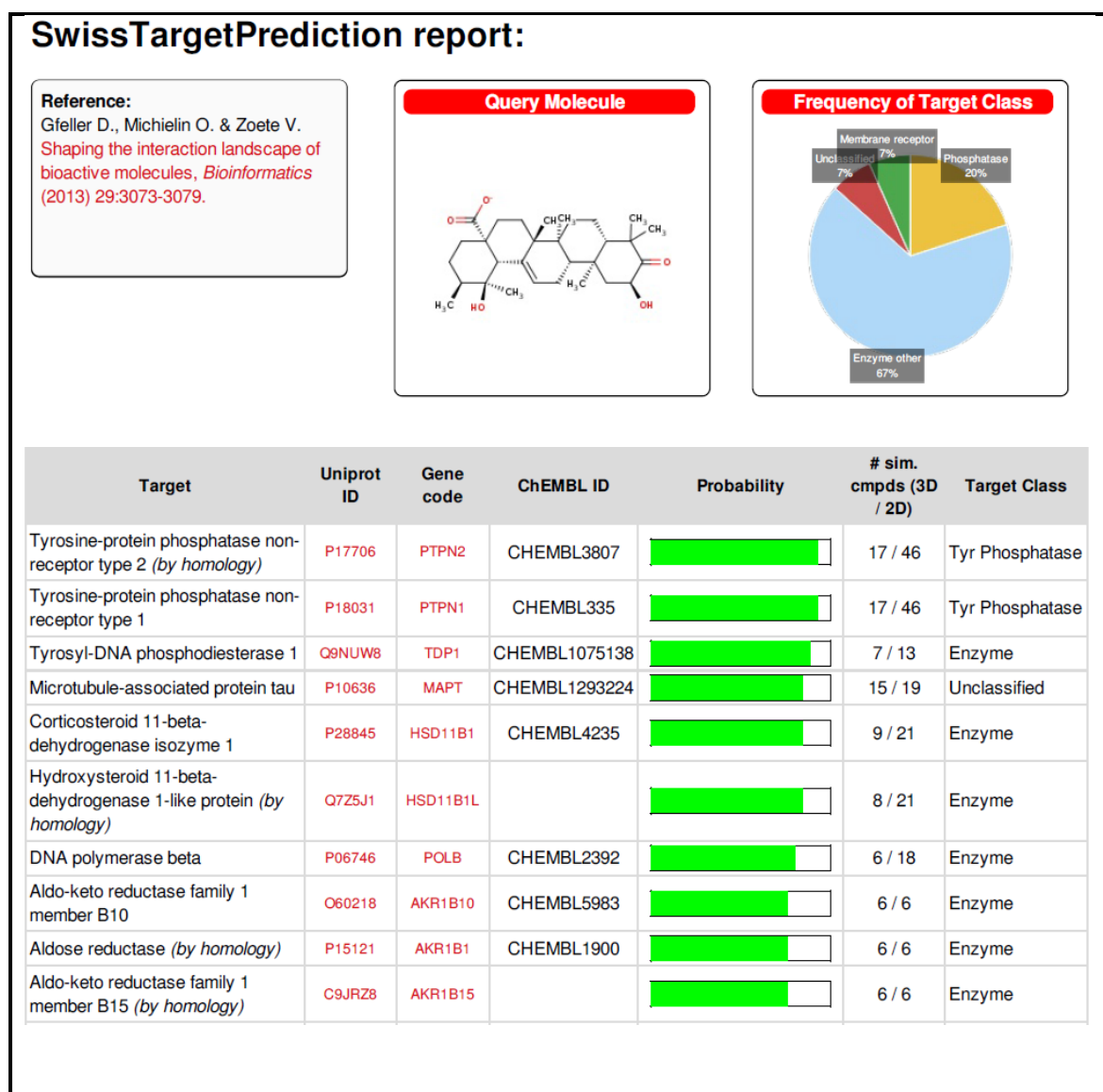


Fig IV. 11 : Rapport de SwissTargetPrediction pour la molécule EUS-3OXO.

IV.1.5.4. Prédiction des cibles biologiques d'URSO

D'après l'analyse réalisée avec SwissTargetPrediction, la molécule URSO est présumée capable d'interagir avec 60% de diverses enzymes, 20% de phosphatase et 20% de récepteurs membranaires.

A partir du rapport qui a été obtenu, et d'après l'étude de ces enzymes, on trouve que :

Chapitre IV : Résultats et discussions

Des études ont suggéré que l'AKR1B10 est la première cible de notre molécule ; cette protéine pourrait être un biomarqueur utile pour le diagnostic du cancer et une cible potentielle pour le traitement du cancer. Au cours de la dernière décennie, un certain nombre d'inhibiteurs d'AKR1B10, des substances endogènes, des dérivés naturels et des composés synthétiques ont été développés, qui pourraient être de nouveaux médicaments anticancéreux. Parmi ces molécules l'URSO a été déjà montré efficace contre les cellules cancéreuses (**Zou *et al.*,2019**).

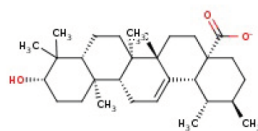
L'aldose réductase est une cible potentielle pour la conception de médicaments, par conséquent, l'inhibition de l'aldose réductase a été une approche attrayante pour la prévention et le traitement des complications du diabète. Comme notre molécule est capable d'agir sur cette enzyme on peut aussi lui attribuer un rôle probable dans le traitement de diabète (**Griffin, 1992**).

SwissTargetPrediction report:

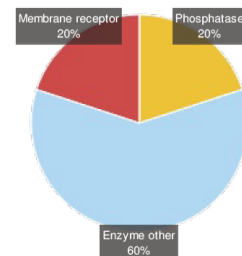
Reference:

Gfeller D., Michelin O. & Zoete V.
 Shaping the interaction landscape of
 bioactive molecules, *Bioinformatics*
 (2013) 29:3073-3079.

Query Molecule



Frequency of Target Class



Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 2	P17706	PTPN2	CHEMBL3807		24 / 49	Tyr Phosphatase
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	P18031	PTPN1	CHEMBL335		24 / 49	Tyr Phosphatase
DNA polymerase beta	P06746	POLB	CHEMBL2392		7 / 19	Enzyme
Aldo-keto reductase family 1 member B10	O60218	AKR1B10	CHEMBL5983		5 / 7	Enzyme
Phospholipase A2	P04054	PLA2G1B	CHEMBL4426		1 / 1	Enzyme
Aldose reductase (by homology)	P15121	AKR1B1	CHEMBL1900		5 / 7	Enzyme
Aldo-keto reductase family 1 member B15 (by homology)	C9JRZ8	AKR1B15			5 / 7	Enzyme
Alcohol dehydrogenase [NADP(+)] (by homology)	P14550	AKR1A1	CHEMBL2246		5 / 7	Enzyme
1,5-anhydro-D-fructose reductase (by homology)	Q96JD6	AKR1E2			5 / 7	Enzyme
Receptor-type tyrosine-protein phosphatase F	P10586	PTPRF	CHEMBL3521		1 / 1	Membrane receptor

Fig IV. 12 : Rapport de SwissTargetPrediction pour la molécule URSO.

Conclusion générale



Conclusion générale

Notre objectif essentiel était de nous initier au docking moléculaire afin de proposer des molécules bioactives à activité anti-inflammatoire. Nous nous sommes basés sur les méthodes de criblage virtuel à base de structure du récepteur et base de ligand par les deux logiciels AutoDok Tools et Discovery Studio 2020 Cléion.

Dans un premier temps, une étude bibliographique a été effectuée, rappelant des généralités sur les plantes médicinales, les métabolites secondaires notamment les triterpènes et leurs activités biologiques, qui font l'objet de notre étude. Dans cette partie nous avons aussi présenté des généralités sur l'inflammation, les cellules qui y sont impliquées ainsi que les médiateurs solubles et cellulaires de l'inflammation, et les anti-inflammatoires.

L'étude de docking moléculaire, qu'on a menée, a montré que sur l'ensemble des 12 molécules testées, il n'y a que quatre qui ont montré une bonne affinité sur le site spécifique de LPS au niveau la protéine MD2. Ces molécules et leurs énergies de stabilité avec la cette protéines sont : UVA (-9 kcal/mol), UR-11 OXO (-8.5kcal/mol), URSO (-7.6 kcal/mol) et EUS-3OXO (-7.1kcal/mol). L'analyse visuelle de mode d'interaction de ces molécules avec cette cible moléculaire a révélé que le complexe formé est stabilisé par différents types de liaisons, parmi elles des liaisons hydrogènes, et des liaisons de van der Waals. Par ailleurs, le Rapport de SwissTargetPrediction, a montré que ces molécules seraient de potentielles drogues pour traiter le diabète et le cancer.

Ces résultats, que nous avons obtenus, peuvent être exploités comme un bon indice d'orientation pour d'autres travaux qui s'inscrivent dans le prolongement de cette étude afin de confirmer *in vitro* et *in vivo* l'effet thérapeutique présumé de ces molécules pour lutter contre les maladies de l'inflammation et d'autres qui y sont associées.

Et pour terminer, il souhaitable, dans l'avenir, d'engager d'autres études pour explorer d'autres molécules de type triterpène, identifiés jusqu'à maintenant afin d'en tirer profil.

Résumé

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans la biotechnologie tant dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Parmi ces composés on retrouve une grande partie des métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapie. On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient leurs mécanismes d'action. L'objectif de cette étude est de prédire, *in silico* via le docking moléculaire, l'activité anti-inflammatoire d'une variété de 12 molécules pures d'origine végétale. L'analyse des résultats obtenu d'interaction des molécules étudiées et le récepteur MD2 montre que les molécules UVA (-9 kcal/mol), UR-11 OXO (-8.5kcal/mol), URSO (-7.6 kcal/mol) et EUS-3OXO (-7.1kcal/mol) sont les meilleurs ligands de la protéine MD2 ce qui laisse supposer qu'ils possèdent une activité anti-inflammatoire. Selon le rapport de SwissTargetPrediction, ces mêmes molécules présenteraient d'autres intérêts thérapeutiques, comme l'effet anti-cancéreux et antidiabétique.

Les mots clés : l'inflammation, les anti-inflammatoires, les plantes médicinales, les molécules bioactives, les triterpènes, docking moléculaire.

ABSTRACT

Natural substances derived from plant have multiple interests that are exploited in food biotechnology, cosmetic and pharmaceutical industries. Among these compounds we find a large part of the secondary metabolites which have been particularly illustrated in therapy. Traditional herbal remedies have long been used without knowing what their mechanisms of action were. The objective of this study is to predict, *in silico* via molecular docking, the anti-inflammatory activity of a variety of 12 pure molecules of plant origin. The analysis of the obtained results from the interaction of the studied molecules and the MD2 receptor shows that the molecules UVA (-9 kcal / mol), UR-11 OXO (-8.5kcal / mol), URSO (-7.6 kcal / mol) and EUS-3OXO (-7.1kcal / mol) are the best ligands for the MD2 protein, which suggests that they have an interesting anti-inflammatory activity. According to the SwissTargetPrediction report, these same molecules would have other therapeutic interests, such as the anti-cancer and anti-diabetic effect.

Key words: inflammation, anti-inflammatories, medicinal plants, bioactive molecules, triterpenes, docking molecular.

ملخص

المواد الطبيعية المشتقة من الكتلة الحيوية النباتية لها اهتمامات متعددة يتم استغلالها في التكنولوجيا الحيوية في الصناعات الغذائية و مستحضرات التجميل والأدوية. من بين هذه المركبات نجد جزءًا كبيرًا من المستقلبات الثانوية التي تم توضيحها بشكل خاص في العلاج. لطالما استخدمت العلاجات العشبية التقليدية دون معرفة آلية عملها. الهدف من هذه الدراسة هو التنبؤ في السيليكو عن طريق الالتحام الجزيئي ، بالنشاط المضاد للالتهابات لمجموعة متنوعة من 12 جزيءًا نقيًا من أصل نباتي. يوضح تحليل النتائج التي تم الحصول عليها من تفاعل الجزيئات المدروسة ومستقبل MD2 أن الجزيئات UVA (9-كيلو كالوري / مول)، URSO (7.6-كيلو كالوري / مول)، UR-11 OXO (8.5-كيلو كالوري / مول)، EUS-3OXO (7.1-كيلو كالوري / مول)، هي أفضل المركبات الريبوية لبروتين MD2 ، مما يشير إلى أن لديهم نشاطًا مضادًا للالتهابات. وفقًا لتقرير SwissTargetPrediction ، فإن هذه الجزيئات نفسها لها اهتمامات علاجية أخرى ، مثل التأثيرات المضادة للسرطان والسكري.

الكلمات المفتاحية : الالتهابات، مضادات الالتهاب، النباتات الطبية، الجزيئات النشطة بيولوجيا، التربينات الثلاثية ، الالتحام الجزيئي.

Références bibliographiques



Références bibliographiques

- Adjanohoun, E.J., Aké Assi, L., 1985. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, 5e ed., Agence de coopération culturelle et technique, Paris.
- Adjanohoun, E.J., Aké Assi, L., Floret, J.J., Guinko, S., Koumaré, M., Ahyi, A.M.R., Raynal, J., 1979. Médecine traditionnelle et pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, 2e ed., Agence de coopération culturelle et technique, Paris.
- Adjanohoun, F., Boukef, K., Chadaré, M., Cusset, G., Dramane, K., Eymé, J., Gassita, J.N., Gbaguidi, N., Goudoté, E., Guinko, S., Houngnon, P., Issa, L., Keita, A., Kiniffo, H.V., Koné-Bamba, D., MusampaNseyya, A., Saadou, M., Sodogandji, T., de Souza, S., Tchabi, A., Dossa, C.Z., Zohoun, T., 1989. Médecine traditionnelle et Pharmacopée, Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin, ACCT, Paris.
- Andersson, D.; Liu, J.-J.; Nilsson, A.; Duan, R.-D.; 2003. Ursolic Acid Inhibits Proliferation and Stimulates Apoptosis in HT29 Cells Following Activation of Alkaline Sphingomyelinase. *Anticancer Res.*, 23, 3317–3322.
- Bamforth CW (1999) Beer haze. *Journal of the American Society of Brewing Chemists.* 57(3) : 81-90.
- Baricevic D., Sosa S., Della Loggia R., Tubaro A., Simonovska B., Krasna A., Zupancic A. (2001), Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 75, 2-3, pp. 125-32.
- BARNES PJ. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94, 557-572.
- Barton G M (2008) A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, 118, 413-420.
- Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Nancy I : Université Henri Poincaré. France. 2008. 217p.
- Bhattacharjee, S.K., 2005. Handbook of Aromatic Plants. Pointer Publishers, Jaipur 302 003 (Raj) India, ISBN 81-7132-407-1.
- Bianchi M E (2007). DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*, 81, 1-5.
- Bishayee A., Ahmed S., Brankov N., Perloff M. (2011), Triterpenoids as potential agents for the chemoprevention and therapy of breast cancer. *Frontiers in Bioscience : a Journal & Virtual Library*, 16, pp. 980-96.
- Bogninou-Agbidinokoun, G.S., Yedomonhan, H., Avlessi, F., Sohounhloué, D., Chalard, P., Chalchat, J.-C., Delort, L., Billard, H., Caldefie-Chézet, F., Figueredo, G., 2013. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Hyptis spicigera*

- Lam against human breast adenocarcinoma cells MCF-7. *Research Journal of Chemical Sciences* Vol. 3(1), 27-31.
- Bogninou-Agbidinokoun, G.S., Yedomonhan, H., Avlessi, F., Sohounhloué, D., Chalard, P., Chalchat, J.-C., Delort, L., Billard, H., Caldefie-Chézet, F., Figueredo, G., 2013. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Hyptis spicigera* Lam against human breast adenocarcinoma cells MCF-7. *Research Journal of Chemical Sciences* Vol. 3(1), 27-31.
 - Boukli-Hacene F. Etude de l'interaction de quelques sels de métaux avec les sucres en solution aqueuse par modélisation moléculaire. Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid. Algérie. 2016. 104 p.
 - Bourbon A, Vionnet M, Leprince P, Vaissier E, Copeland J, McDonagh P, Debre P, Gandjbakhch I (2004). The effect of methylprednisolone treatment on the cardiopulmonary bypass-induced systemic inflammatory response. *European journal of cardio-thoracic surgery*. 26(5):932—938.
 - Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.). Lavoisier.
 - Brzozowska J., Hanower P., 1976. Recherches sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. *Annales de l'université d'Abijan, série C (Science), tome XII* : 65 - 80.
 - Byung, S. M.; Hyun, J. J.; Jun, S. L.; Young, H. K.; Song, H. B.; Chao, M. M.; Nakamura, N.; Hattori, M.; Bae, K.; 1999. Inhibitory Effect of Triterpenes from *Crataegus Pinatifida* on HIV-I Protease. *Planta Med.*, 65, 374–375.
 - Capet C, Druesne L, Chassagne PH, Doucet J (2001). Les effets indésirables des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) chez le sujet âgé. *Revue Gériatr.* 26:379—384.
 - Carlini, E.A., Contar J de, D.P., Silva-Filho, A.R., da Silveira-Filho, N.G., Frochtengarten, M.L., Bueno, O.F., 1986. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *J. Ethnopharmacol.* 17, 37–64.
 - Cavaillon, J-M. (1993). Cytokines et inflammation. *Animal Science Journal*, 66(1), 262.
 - Chakravarti, A., Allaey, I., et Poubelle, P-E. (2007). Neutrophile et immunité-Est-ce inné ou acquis ? *médecine/sciences*, 23(10), 862-867.
 - Charles N Serhan, Peter A Ward and Derek W Gilroy (2010). *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press, 2-3.
 - Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
 - Cipak L., Grausova L., Miadokova E., Novotny L., Rauko P. (2006), Dual activity of triterpenoids: apoptotic versus antidifferentiation effects. *Archives of Toxicology*, 80, 7, pp. 429-35.
 - Clayton, W., 1968. Gramineae. In: *Flora of West Africa: Tropical Africa*, vol. 3, pp. 349– 512.

Références bibliographiques

- Coutinho AE, Chapman KE (2011). The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 335(1) :2—13.
- Danielson M, Reinsfelt B, Westerlind A, Zetterberg H, Blennow K, Ricksten SE. Effects of methylprednisolone on blood-brain barrier and cerebral inflammation in cardiac surgery—a randomized trial. *Journal of Neuroinflammation*. 2018;15(1):283.
- Dejean C, Richard D. Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *La Revue de Medecine Interne*. 2013 ;34(5) :265—268.
- Dworski R, Fitzgerald GA, Oates JA, Sheller JR. Effect of oral prednisone on airway inflammatory mediators in atopic asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1994;149(4):953—959.
- Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.
- El Hadj Said K. Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Mémoire de Master en Chimie Organique, Université de Tlemcen. Algérie. 2016. 50 p.
- Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M., 2007. Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68 :939 - 953.
- Erdogan B, Is M, Aker FV, Emon ST, Engin T, Akar EA, Sayman E, Somay H (2019). Preventative effect of diclofenac sodium and/or diltiazem in rats with epidural fibrosis. *Bratislavske Lekarske Listy*. 120(11):813—818.
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, 24(10), 851-874.
- *Ethnopharmacol.*, 49, 57–68.
- Fang, X.; Nanayakkara, N. P.; Phoebe Jr., C. H.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D.; Farnsworth, N. R.; 1985. Plant Anticancer Agents Constituents of *Amanoa oblongifolia*1. *Planta Med.*, 51, 346–347.
- François M. Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques. Thèse de doctorat de l'université : chimie. Paris sud : Université Paris SUD. 2015. 117 p.
- Gao D., Li Q., Li Y., Liu Z., Fan Y., Zhao H., Li J., Han Z. (2009), Antidiabetic and antioxidant effects of oleanolic acid from *Ligustrum lucidum* Ait in alloxan-induced diabetic rats. *Phytother Res*, 23, 9, pp. 1257-62.
- Germonprez N., Maes L., Van Puyvelde L., Van Tri M., Tuan D. A., De Kimpe N. (2005), In vitro and in vivo anti-leishmanial activity of triterpenoid saponins isolated from *Maesa balansae* and some chemical derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48, 1, pp. 32-7.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- Gintl, W., H. ; 1893. Über Das Urson. *Monatshefte für Chemie*, 255–269.

- Grandin M (2013). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, utilisation et conseils dans la pratique officinale quotidienne. Document étayé par une analyse d'ordonnances d'une pharmacie rurale. Thèse de pharmacie, Université d'Angers, France. 116 p.
- Gray, P., J. Dagvadorj, K.S. Michelsen, C. Brikos, A. Rentsendorj, T. Town, T.R. Crother, and M. Arditi. 2011. Myeloid differentiation factor-2 interacts with Lyn kinase and is tyrosine phosphorylated following lipopolysaccharide-induced activation of the TLR4 signaling pathway. *J Immunol* 187:4331-4337.
- Gupta ; T. ; N.; Bhalla; G.; P.; Gupta; C.; R.; Mitra; K.; Bhagavar P.; 1969.. Anti-inflammatory
- Haioun A, Zohra HF (2015). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *Anethium graveolens* et leur effet cardioprotecteur contre la toxicité de la *Anethume Graveolens*. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie. 29-36 p.
- Hajjaj G (2017). Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* l. et de *l'ormenis mixta* l. (asteraceae). Thèse de Doctorat, Université Mohammed V, Maroc, 216 p.
- Hartmann T., 2007. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* 68 : 2831 - 2846.
- Hassan GS, Hegazy GH, Ibrahim NM, Fahim SH. New ibuprofen derivatives as H₂S and NO donors as safer anti-inflammatory agents. *Future Medicinal Chemistry*. 2019;11(23):3029—3045.
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- He. Z, Ma. C, Zhang .H, Tan. G, Tamez P, Sydara K, Bouamanivong S., Southavong. B, Soejarto. D, Pezzuto. J, Fong. H. (2005), Antimalarial constituents from *Nauclea orientalis* (L.) L. *Chemistry & Biodiversity*, 2, 10, pp. 1378-86.
- Hirota, M.; Mori, T.; 1990. Suppression of Tumor Promoter- Induced Inflammation of Mouse Ear by Ursolic Acid and 4, 4- Dimethylcholestane Derivatives. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1073–1075.
- Hocquemiller, R., Cave, A., Jacquemin, H., Touche, A., & Forgacs, P. (1982). Alcaloïdes des annonacées. Xxxvi (alcaloïdes de l'*Annona crassiflora* mart). *Plantes médicinales et phytothérapie*. Tome XVI, 1, p. 4-6.
- Ismaili H., Milella L., Fkih-Tetouani S., Ildrissi A., Camporese A., Sosa S., Altinier G., Della Loggia R., Aquino R. (2004), In vivo topical anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of two extracts of *Thymus satureioides* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 91, 1, pp. 31-6.
- Jack, B.; Parks, L. M.; Dunker, M. F. W.; 1937. The Identification of a Diol Isolated from *Uva Ursi*. *J. Pharm. Sci.*, 39–42.
- Jain N. Surflex-Dock 2.1 : Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2007; 21: 281–306.
- Janeway, C.A., Murphy, K., Walport, M., 2009. *Immunobiologie*. De Boeck.

- Jerala, R. 2007. Structural biology of the LPS recognition. *Int J Med Microbiol* 297:353-363.
- Kashiwada Y., Wang H. K., Nagao T., Kitanaka S., Yasuda I., Fujioka T., Yamagishi T., Cosentino L. M., Kozuka M., Okabe H., Ikeshiro Y., Hu C. Q., Yeh E., Lee K. H. (1998), Anti-AIDS agents. 30. Anti-HIV activity of oleanolic acid, pomolic acid, and structurally related triterpenoids. *Journal of natural products*, 61, 9, pp. 1090-5.
- Kashiwada Y., Wang H. K., Nagao T., Kitanaka S., Yasuda I., Fujioka T., Yamagishi T., Cosentino L. M., Kozuka M., Okabe H., Ikeshiro Y., Hu C. Q., Yeh E., Lee K. H. (1998), Anti-AIDS agents. 30. Anti-HIV activity of oleanolic acid, pomolic acid, and structurally related triterpenoids. *Journal of natural products*, 61, 9, pp. 1090-5.
- Katsinelos P, Lazaraki G, Anastasiadis S, Chatzimavroudis G, Katsinelos T, Terzoudis S, Gatopoulou A, Doulberis M, Papaefthymiou A, Kountouras J (2019). The impact of selective serotonin receptor inhibitors on post-endoscopic sphincterotomy bleeding, alone or with concurrent aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Annals of Gastroenterology*. 32(6):614—619.
- Kerharo J., Adam J.G., 1974. *La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques.* Editions Vigot Frères, Paris,.
- Kerharo J., Adam J.G., 1974. *La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques.* Editions Vigot Frères, Paris,.
- Krid Y. Conception in silico de nouveaux flavonols inhibant potentiellement l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine pour le traitement de l'hypertension artérielle. Mémoire de Master en Biochimie Moléculaire et Santé, Université des Frères Mentouri, Constantine. Algérie. 2013. 51 p.
- Kumar Vinay, Abul K Abbas, Nelson Fausto and Richard Mitchell (2007). *Robbins Basic Pathology*, 8th Edition, 20-60.
- Lee, H. Y.; Chung, H. Y.; Kim, K. H.; Lee, J. J.; Kim, K. W.; 1994. Induction of Differentiation in the Cultured F9 Teratocarcinoma Stem Cells by Triterpene Acids. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 120, 513–518.
- Liu J. (2005), Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 1-2, pp. 92-4.
- Liu, J.; 1995. Review Article Pharmacology of Oleanolic Acid and Ursolic Acid. *J.*
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.* PPUR Presses polytechniques.
- Mansour, S., Djebli, N., Ozkan, E-E et Mat, A. (2014). In vivo anti-inflammatory activity and chemical composition of *Hypericum scabroides*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, 514-520.
- Martin R., Carvalho-Tavares J., Hernandez M., Arnes M., Ruiz-Gutierrez V., Nieto M. L. (2010), Beneficial actions of oleanolic acid in an experimental model of multiple sclerosis: a potential therapeutic role. *Biochem Pharmacol*, 79, 2, pp. 198-208.

Références bibliographiques

- Martins, A.; Vasas, A.; Viveiros, M.; Molnr, J.; Hohmann, J.; Amaral, L.; 2011. Antibacterial Properties of Compounds Isolated from *Carpobrotus Edulis*. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 37, 438–444.
- Mebirouk R (2017). Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et antiangiogénique. Thèse de Doctorat. Université des frères Mentouri Constantine, Algérie. 172 p.
- Medzhitov R (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454, 428-435.
- Mitre-Aguilar IB, Cabrera-Quintero AJ, Zentella-Dehesa A. Genomic and non-genomic effects of glucocorticoids: implications for breast cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2015 ;8(1) :1—10.
- Mokrani E.H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 75 p.
- Mpondo, E. M., Yinyang, J., & Dibong, S. D. (2015). Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 85(1), 7804-7823.
- Nacoulma OG, 1996. Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Burkina Faso. Ph.D.Thesis. University of Ouagadougou 328.
- Nacoulma OG, 1996. Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Burkina Faso. Ph.D.Thesis. University of Ouagadougou 328.
- Nascimento, P. G. G.; Lemos, T. L. G.; Bizerra, A. M. C.; Arriaga, Â. M. C.; Ferreira, D. a; Santiago, G. M. P.; Braz-filho, R.; Costa, J. G. M.; 2014. Antibacterial and Antioxidant Activities of Ursolic Acid. *Molecules*, 19, 1317–1327.
- Nathalie L. Méthode de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat d'université : bioinformatique. Paris : Université Paris-Sud. France. 2014. 314 p.
- Nathan C (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 846-852.
- Nathan C (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420, 846-852.
- Ndiaye, M., Gy, S. Y., Dièye, A. M., Touré, M., et Faye, B. (2006). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*annonareticulata* (annonaceae) sur l'oedème aigu de la patte de rat indit par la carragénine. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 14, 179-186.
- Ngo Bum, E., Bailaba, T., Hiana, E., Rakotonirina, A., Rakotonirina, S., 2004. Propriétés sédatives et anticonvulsivantes de *Hyptis spicigera* (Lamiacea). *Pharm. Méd. Trad. Afr. Vol.I3*, pp.I4I-I48. *Int. J. Trop. Insect Sci*.
- Noudogbessi, J.P., Alitonou, G.A., Djènontin, T., Avlessi, F., Figueredo, G., Chalard, P., Chalchat, J.C., Sohounhloue, D.C.K., 2013. Chemical Compositions and Physicochemical Properties of Three Varieties Essential oils of *Cymbopogon giganteus* Growing to the Spontaneous State in Benin. *Orient J Chem* 29, 59–67.

- Nourshargh Sussan, Fritz Krombach, and Elisabetta Dejana (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leukocyte Biology*, 80, 714-718.
- Orliaguet G, Gall O, Benabess-Lambert F (2013). Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation* ;17(5) :228—237.
- Patrícia D. O. de Almeida, Ana Paula de A. Boleti, André Luis Rüdiger, Geane A. Lourenço, Valdir Florêncio da Veiga Junior, and Emerson S. Lima (2015). Anti-Inflammatory Activity of Triterpenes Isolated from *Protium paniculatum* Oil-Resins.
- Pollier J and Goossens A. Oleanolic acid. *Phytochemistry*. 2012; 77: 10-15.
- PRIN L., HACHULLA E., HENNACHE B., BONNOTTE B., DUBUCQUOI S., ABBAL M., FAURE G., BOULETREAU P. (2009). Available from : http://w3med.univlille2.fr/inflammation/documents/Immuno_1.pdf.
- Prine, L. (1996). Mast cells, Basophils, eosinophils. Analyse of laboratory markers. *Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 8(36), 889-896.
- Ramirez-Espinosa J. J., Rios M. Y., Lopez-Martinez S., Lopez-Vallejo F., Medina-Franco J. L., Paoli P., Camici G., Navarrete-Vazquez G., Ortiz-Andrade R., Estrada-Soto S. (2011), Antidiabetic activity of some pentacyclic acid triterpenoids, role of PTP-1B: in vitro, in silico, and in vivo approaches. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 6, pp. 2243-51.
- Richter, G. 1993. *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Éd. Presses polytechniques et universitaire Romandes.
- Richter, G. 1993. *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Éd. Presses polytechniques et universitaire Romandes.
- Rodríguez-Rodríguez R, Dolores Herrera M, Perona JS and Ruiz-Gutiérrez V. Potential vasorelaxant effects of oleanolic acid and erythrodiol, two triterpenoids contained in "orujo" olive oil, on rat aorta. *British Journal of Nutrition*. 2004; 92: 635-642.
- Roquilly A, Asehnoune K. Corticoïdes et sepsis. *Anesthésie & Réanimation*. 2019;5(3):186-192.
- Saady, D.; Delage, C.; Simon, A.; Chulia, A. J.; 1995. Anti-Proliferative Effects of Uvaol. *Fitoterapia*, 66, 366–369.
- Sahouo, G.B., Tonzibo, Z.F., Boti, B., Chopard, C., Mahy, J.P., N'guessan, Y.T., 2003. Antiinflammatory and analgesic activities: Chemical constituents of essential oils of *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon giganteus* inhibited lipoxygenase L-1 and cyclooxygenase of PGHS. *Bull. Chem. Soc. Ethiop*. 17. doi:10.4314/bcse. v17i2.61681.
- Sánchez Casas, J. ; Osorio Bueno, E. ; Montañó García, A. M. ; Martínez Cano, M. ; 2004. Sterol and Erythrodiol and Uvaol Content of Virgin Olive Oils from Cultivars of Extremadura (Spain). *Food Chem.*, 87, 225–230.
- Santin, M.R., Santos, A.O. dos, Nakamura, C.V., Filho, B.P.D., Ferreira, I.C.P., Ueda- Nakamura, T., 2009. In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon*

- citratu and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*. *Parasitol. Res.* 105, 1489–1496. doi:10.1007/s00436-009-1578-7.
- Schneider P, Hosseiny SS, Szczotka M, Jordan V and Schlitter K. Rapid solubility determination of the triterpenes oleanolic acid and ursolic acid by UV-spectroscopy in different solvents. *Phytochemistry Letters*. 2009; 2: 85-87.
 - Setzer W. N., Rozmus G. F., Setzer M. C., Schmidt J. M., Vogler B., Reeb S., Jackes B. R., Irvine A. K. (2006), Bioactive principles in the bark of *Pilodistigma tropicum*. *Journal of Molecular Modeling*, 12, 5, pp. 703-11.
 - Silanikove, N., Perevolotsky, A., & Provenza, F. D. (2001). Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1), 69-81.
 - Somova L. O., Nadar A., Rammanan P., Shode F. O. (2003), Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. *Phytomedicine*, 10, 2-3, pp. 115-21.
 - Somova, L. I.; Shode, F. O.; Mipando, M.; 2004. Cardiotoxic and Antidysrhythmic Effects of Oleanolic and Ursolic Acids, Methyl Maslinate and Uvaol. *Phytomedicine*, 11, 121–129.
 - Sotriffer C., Klebe G., Stahl M., Böhm H.-J. Docking and Scoring Functions/Virtual Screening. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 2003; 1: 281–331.
 - Soualeh, N., & Soulimani, R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie*, 14(1), 44-57.
 - Spyraakis F., Cozzini P., Kellogg G. E. Docking and Scoring in Drug Discovery. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 2010; 48: 601–684.
 - Takayama, C., de-Faria, F.M., de Almeida, A.C.A., Valim-Araújo, D. de A. e O., Rehen, C.S., Dunder, R.J., Socca, E.A.R., Manzo, L.P., Rozza, A.L., Salvador, M.J., Pellizzon, C.H., Hiruma-Lima, C.A., Luiz-Ferreira, A., Souza-Brito, A.R.M., 2011. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 135, 147–155. Doi : 10.1016/j.jep.2011.03.002.
 - Theis. A.L, Waldack. A.J, Hansen. S.M, Jeannot. M.A. (2001). Headspace solvent microextraction, *Anal. Chem.* 73, 5651–5654.
 - Trumbull, E. R.; Bianchi, E.; Eckert, D. J.; Wiedhopf, R. M.; Cole, J. R.; 1976. Tumor Inhibitory Agents from *Vauquelinia Corymbosa* (Rosaceae). *J. Pharm. Sci.*, 65, 1407–1408.
 - Vuorinen A and Schuster D. Methods for generating and applying pharmacophoremodels as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods*. 2015; 71: 113-134.
 - Weill B, Batteux F and Dhainaut J (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.
 - Wekesa, I., Onek, L.A., Deng, A.L., Hasanali, A., Othira, J.O., 2011. Toxicity and repellent potency of *Hyptis spicigera* extracts on *Sitophilus zeamais motschulsky* (Coleoptera: Curculionidae) *Journal of Stored Products and Postharvest Research* Vol. 2(6), pp. 113-119.

Références bibliographiques

- Wu Q., He J., Fang J., Hong M. (2010), Antitumor effect of betulinic acid on human acute leukemia K562 cells in vitro. *Journal of Huazhong University of Science and Technology Medecine Science*, 30, 4, pp. 453-7.
- Xu H. X., Zeng F. Q., Wan M., Sim K. Y. (1996), Anti-HIV triterpene acids from *Geum japonicum*. *Journal of natural products*, 59, 7, pp. 643-5.
- Yang.C, Wang.J, Li.D. (2013). Microextraction techniques for the determination of volatile and semivolatile organic compounds from plants: A review, *Anal. Chim. Acta.* 799, 8–22.
- Yano.S, Suzuki.Y, Yuzurihara.M, Kase.Y, Takeda.S, Watanabe.S, Aburada.M, Miyamoto. K.-I. (2006). Antinociceptive effect of methyleugenol on formalin-induced hyperalgesia in mice, *Eur. J. Pharmacol.* 553, 99–103.
- Yeonju Lee, Jae-Chul Jung, Zulfiqar Ali, Ikhlas A. Khan, and Seikwan Oh (2012). Anti-Inflammatory Effect of Triterpene Saponins Isolated from Blue Cohosh (*Caulophyllum thalictroides*).
- Yougbaré-Ziébrou, M-N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., Sawadogo, W-R et Guissou I-P. (2015). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extraitaqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14(4), 213-219.
- Zymalkowski, F.; 1969. Ursolsaure Und Uvaol. *Pharmazeutischen Inetitut der Universität Bonn*, 8, 2–7.