



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMEN**  
**MEMOIRE**

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER EN CHIMIE**

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Par :

**Melle DINEDANE Ikram**

Sur le thème

---

**Etude de l'interaction cyclooxygénase et phospholipase - molécules  
extraites à partir de *Curcuma. L* par Docking moléculaire et ADME**

---

Soutenu publiquement le 11 juillet 2021 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr S.GHALEM

Mme M.BENYAROU-MERAD

Mme S.SARI MOHAMED

Pr

Pr

MC- B -

Université de Tlemcen

Université de Tlemcen

Université de Tlemcen

Président

Encadrante

Examineur

*Année Universitaire : 2020 ~ 2021*

## *Dédicace*

*A l'aide de dieu, le tout-puissant, j'ai pu réaliser ce travail et avec un énorme plaisir, avec une immense joie je dédie ce modeste travail à :*

- *Ma mère KHIAT Meriem*
- *Mon père Elhadj*
- *Ma belle-sœur Marwa*
- *Mes cher frère Oussama et M. Elbahi.*
- *Mes grands-pères maternels et mes grand-mères paternelles*
- *Ma grande famille*
- *Ma meilleure amie ICHOU Meriem.*
- *Mes professeurs.*
- *M<sup>me</sup> MERAD- BENYAROU Meriem pour m'avoir aidé. Merci beaucoup*

## **Remerciement**

*Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme ma formation et pourvoir réaliser ce travail de recherche qui a été réalisé au sein de laboratoire LASNABIO" Substances naturelles et bioactives" dans l'équipe de modélisation moléculaire de la faculté des sciences, Département de chimie, de l'université de Tlemcen.*

*Nos remerciements les plus vifs vont à notre encadreur Mme le **Professeur BENYAROU Meriem** pour son aide durant toute la période de la réalisation de notre projet de fin d'étude.*

*Je voudrais exprimer ma profonde reconnaissance à **le professeur Mr GHALEM Saïd** directeur de laboratoire de recherche LASNABIO « Substances naturelles et bioactives », qui a bien voulu présidé ce jury.*

*Je remercie **Mme SARI MOHAMMED Souad** pour avoir aimablement accepté d'examiner mon travail et de participer à ce jury.*

*Enfin, je remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la bonne marche de ce projet.*

**Merci**

## TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	1
Références :	4
<b>CURCUMA LONGA.</b>	5
I.1 <i>Curcuma L.</i>	5
I.1. Historique :	5
I.2. Classification botanique:	5
I.3. Description botanique:	6
I.4. Phytochimie de <i>Curcuma L.</i>	8
I.5. Composition chimique de <i>Curcuma L.</i>	9
Référence :	12
<b>LES ENZYMES</b>	14
I. L'inflammation :	14
1. Les symptômes de l'inflammation :	14
2. Les causes de l'inflammation :	14
3. Les étapes de l'inflammation :	15
I.4. Les anti- inflammatoires :	16
a. Les anti-inflammatoire stéroïdiens	16
b. Les anti-inflammatoire non stéroïdiens	16
c. Les anti-inflammatoires naturels à base de plantes	16
II Les enzymes :	17
1. Cyclooxygénase :	17
a. Cyclooxygénase-1 :	17
b. Cyclooxygénase-2 :	18
2. Phospholipase « PAL2 »	18
3. Les inhibiteurs des enzymes étudiées	20
Les références :	22

<b>MODELISATION MOLECULAIRE</b>	25
Introduction	25
1. Méthode quantique (MQ)	25
2. Mécanique Moléculaire (MM) :	26
3. Dynamique moléculaire	27
4. Docking moléculaire	28
4.1.Les outils du Docking moléculaire :	29
4.2.Protocole générale de Docking :	30
Les références :	31
<b>RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	33
I. Matériels :	33
I.1. Ressources informatique	33
I.2 Logiciel utilisé	33
II. Protocole de Docking	34
III. Présentation des enzymes	34
IV. Présentation des inhibiteurs	37
V. Démarche à suivre	40
1. Préparation du ligand	40
2. Préparation de l'enzyme	40
3. L'optimisation des enzymes et des inhibiteurs	40
4. Docking moléculaire	41
VI. Résultats et discussions	41
1. Etude comparative entre les meilleurs ligands et les produits commercialisés	46
2. Root-mean-square deviation (RMSD)	47
3. Stabilité selon les interactions	47
4. La cavité enzymatique	49
5. Evaluation silico des propriétés ADME et de la similarité des médicaments	51
Les références	54
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	56

## Liste des figures :

Figure1 : <i>Curcuma L.</i>	5
Figure 2 : Les rhizomes de <i>Curcuma L.</i>	6
Figure 3 : Les feuilles isolées de <i>Curcuma L.</i>	6
Figure 4 : Les fleurs de <i>Curcuma L.</i>	7
Figure 5 : Les sources de curcumine	7
Figure 6 : Usage traditionnel de la curcumine	8
Figure 7 : Les composés chimiques de <i>Curcuma L.</i>	9
Figure 8 : Les dérivés de la Curcumine	10
Figure 9 : les constituants principaux de l'huile essentielle de Curcuma	11
Figure 10 : Mécanisme simplifier de l'inflammation	15
Figure 11 : Exemple de réaction catalysée par les PLA2	19
Figure12 : Interaction récepteur-ligand	30
Figure 13 : schéma présentatif du Protocol de calcul pour le Docking moléculaire.	34
Figure 14 : COX-1 non simplifiée	35
Figure 15 : COX-2 non simplifiée	35
Figure 16 : les liaisons esters de la phospholipase	35
Figure 17 : PLA2 non simplifiée	36
Figure18 : COX-1simplifiée (code :5U6X)	41
Figure 19 : COX-2 simplifiée (code :1CX2)	41
Figure 20 : PLA2 simplifiée (code : 1KVO)	41
Figure 21: La cavité enzymatique de COX-1 L3énol	49
Figure22 : Les interactions de COX-1 L3 éno	49
Figure23 : La cavité enzymatique de COX-2 L3énol	50
Figure24 : les interactions de COX-2 L3 éno	50
Figure25 : L3 éno	50
Figure26 : La cavité enzymatique de 1KVO L1 éno	50
Figure27 : Les interactions de 1KVO L1 éno	50
Figure28 : L1 éno	50
Figure29 : Test et utilisations illustratives du BOILED-Egg.	51

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Les constituants de .	9
Tableau 2 : structure de la curcumine et ses dérivés	21
Tableau 3 : Les données cristallographique pour les trois enzymes	36
Tableau 4 : Propriétés de la curcumine et ses dérivés.	38
Tableau 5 : Energies des complexes formés entre l'enzyme cox-1 et cox-2 et les dérivés de la curcumine.	42
Tableau 6 : Energies des complexes formés entre l'enzyme PLA2 et les dérivés de la curcumine.	45
Tableau 7 : Résultats des énergies des complexes formés entre les enzymes choisies et les ligands et les produits commercialisés	47
Tableau 8 : RMSD des meilleurs complexes (enzymes –ligands) et des produits commercialisés	47
Tableau 9 : Résultats des interactions et les distances formés entre (COX-1) et les ligands	48
Tableau 10 : Résultats des interactions et les distances formés entre (COX-2) et les ligands	48
Tableau 11 : Résultats des interactions et les distances formés entre (PLA2) et les ligands	48
Tableau12 : propriétés physicochimiques des meilleurs ligands et produits commercialisés	52

## **Liste des abréviations :**

MOE (Molecular Operating Environment)

COX-1 (Cyclo-oxygenase 1)

COX-2 (Cyclo-oxygénase 2)

PLA2 (Phospholipase A2)

LOX (Lipoxygénase)

AINS (Anti-inflammatoire non stéroïdiens)

ANS (Anti-inflammatoire Stéroïdiens)

L'ACTH (Adreno CorticoTropic Hormone)

PG (Prostaglandine)

CLOA (Combinaisons Linéaires d'Orbitales Atomiques)

MM (Mécanique Moléculaire)

RMSD (Root-Mean-Square Deviation)

ADME (Absorption-Distribution-Métabolisation-Excrétion)

# **INTRODUCTION GENERALE**

Les plantes médicinales et la phytothérapie sont étroitement liées à l'histoire de l'humanité, elles jouent un rôle important dans la recherche et le développement de nouveaux médicaments, et représentent une branche alternative dans la prévention et le traitement de certaines pathologies. [1]

Le curcuma, *Curcuma L.*, est une plante vivace appartenant à la même famille que le gingembre, les *Zingibéracées*. Il est cultivé sous les tropiques, mais principalement produit en Inde et en Asie du Sud-est. Le rhizome est la partie utilisée de la plante.

Le rhizome réduit en poudre est utilisé en tant qu'épice alimentaire pour renforcer la saveur des aliments et les conserver, et comme colorant des aliments et des textiles. Cependant, on l'utilise aussi depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne et chinoise. La poudre a une saveur poivrée et amère [2].

Le *Curcuma L.* est utilisé aussi en médecine :

- Ayurvédique, pour traiter l'asthme, les allergies, les désordres hépatiques comme la jaunisse, l'anorexie, les rhumatismes, le rhume, la sinusite.
- Chinoise, il est utilisé pour traiter les douleurs abdominales. Il est également reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires.

Ces dernières années, avec l'augmentation entre autres des maladies inflammatoires chroniques, des cancers, de la maladie d'Alzheimer, le monde occidental s'est intéressé de plus en plus à cette épice. En effet, il a été constaté que le cancer du côlon est moins fréquent dans les pays où l'on consomme cet épice. Ses propriétés antioxydantes ont alors été découvertes [2].

La curcumine est le composant principal du *Curcuma L.*, a montré de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques, pour cela le nombre d'études sur le *curcuma L.* n'a cessé d'augmenter afin de comprendre ses mécanismes d'actions et dans l'espoir de traiter de nombreuses maladies.

Toute vie dépend du bon fonctionnement d'une grande variété de catalyseurs organiques ou enzymes. Les structures biologiques correspondent à des fonctions bien définies et la vie d'un organisme dépend du rôle des structures biologiques, des membres aux divers organes, et jusqu'aux agents chimiques du métabolisme, comme les enzymes [3].

L'origine des enzymes se confond avec l'apparition de la vie sur Terre. En effet, c'est la présence de ces catalyseurs biologiques qui a permis d'abaisser l'énergie des molécules participant à une réaction chimique afin de rendre ce dernier possible dans des conditions compatibles avec la vie. Sans enzymes, la même réaction chimique demanderait un temps et une température élevée et, de ce fait, la vie serait tout simplement impossible. Les enzymes sont des substances qui font que la vie est possible. [4]

La modélisation est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système. La taille du système étudié peut aller d'une simple molécule diatomique jusqu'à des macromolécules biologiques de plusieurs dizaines de milliers d'atomes.

La modélisation moléculaire peut ainsi décrire le comportement électrique des atomes et des molécules pour expliquer leur réactivité, comprendre les processus de repliement d'une protéine ou encore expliquer l'importance de certains acides aminés d'un site catalytique enzymatique. Pour réaliser ce type d'étude, il est nécessaire de déterminer une expression de l'énergie d'interaction des atomes du système moléculaire en fonction de leur position relative. Les méthodes de modélisation moléculaire reposent sur différentes approches de calculs et de simulations numériques appelées mécanique, dynamique moléculaire, Docking moléculaire monte Carlo ainsi que la chimie quantique. [5]

Notre travail consiste à étudier :

- L'inhibition de la phospholipase et la cyclooxygénase deux enzymes impliquées dans l'inflammation avec la curcumine et ses dérivés qui ont été isolées à partir de la plante *Curcuma L.*
- De faire une étude détaillée de méthodes de modélisation appliquées « particulièrement le Docking moléculaire » à l'analyse des mécanismes de reconnaissance moléculaire et à la conception de nouveaux composés bioactifs. La faisabilité et l'efficacité de ces méthodes seront démontrées par leur application.
- A calculé les énergies et les distances entre les acides aminés et les inhibiteurs seront effectués à l'aide du programme Molecular operating Environment (MOE). Le complexe formé inhibiteur-enzyme possédant l'énergie la plus faible sera probablement le meilleur inhibiteur.

Le manuscrit de ce mémoire comporte quatre chapitres :

- ✓ Le premier chapitre sera consacré à une recherche bibliographique du *curcuma L.* et l'évaluation de leurs propriétés pharmacologiques.
- ✓ Le deuxième est consacré à la notion d'enzyme.
- ✓ Dans le troisième chapitre, nous allons exposer, les différentes méthodes de modélisation et plus précisément le Docking moléculaire
- ✓ Le quatrième chapitre est réservé à la discussion des résultats obtenus.

La conclusion générale résume l'ensemble des approches réalisées et présente les perspectives que l'on peut envisager dans des travaux de recherche futurs.

## **Référence :**

- [1] - Djellouli F.,Krouf D.,Bouchenak M. « *Portulaca oleracea L.* and therapeutic benefits on cardiovascular risk factors ». *Nutrition & Santé* 08(01).2019
- [2] - Hombourger C. « *Le curcuma, De l'épice au médicament* ». *Thèse de docteur en pharmacie*. Université de NANCY 1.2010
- [3] - Ayachi H., « Analyse de l'interaction Ribonucléase-Kanamycine par modélisation moléculaire ». *Mémoire de MAGISTER*, université TLEMCEM.2011
- [4] - Taleb B. « Etude de l'interaction enzyme – substrat par modélisation moléculaire : Cas de la maladie du cancer » *Mémoire de Master*. Université TLEMCEM.2020
- [5] -Taleb W-B. « Etude quantique et dynamique du peptide de fixation de la Thrombospondine TSP1 en solution ». *Mémoire Master*. Université ORAN.2010

***CURCUMA LONGA.***

## I. *Curcuma Longa*

### I.1 Historique :

Le curcuma (*Curcuma longa.*) est originaire du sud-est de l'Asie. Depuis des siècles, le *curcuma* a tenu une place importante dans la médecine traditionnelle indienne, connue sous le nom de médecine ayurvédique. [1]

IL a été mentionné dans l'Atharva Veda de l'Inde et dans les anciens écrits sanskrits. En Chine, il est mentionné dans le Pent-sao du VII<sup>ème</sup> siècle, et dans les pays arabes, il est mentionné à partir du X<sup>ème</sup> siècle. Cependant, son utilisation a commencé à diminuer au moyen Âge. Dioscorides l'a appelé Cyperus. [1]

Le rhizome était a priori très rare en occident à l'époque, Il semble avoir été introduit en Europe au XIII<sup>ème</sup> siècle par des marchands arabes, si bien qu'au XVI<sup>ème</sup> siècle, il lui a été donné d'autres noms : Crocus indicus, turmerack et actuellement, *curcuma*, qui est dérivé du kurkum arabe et du Karkom hébreu qui signifie « jaune ». [1]

En 1450, on le retrouve à Francfort sur une liste de drogues à côté du gingembre et du zédoaire. Les premières descriptions de la plante et de l'origine de l'épice arrivent en Europe au XVI<sup>ème</sup> siècle. On le trouve aussi en Afrique.

Le *curcuma* a été introduit en Jamaïque ou il s'est naturalisé. Au milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle il est cité à Trinidad, à la Dominique et Haïti dans le livre : « Principales plantes cultivées introduites en Amérique latine depuis 1492 ». [1]

### I.2 Classification Botanique :

D'après la classification systématique de Carl Von Linné, le curcuma appartient au :[2]

**Règne :** Végétale

**Division :** Magnoliophytes

**Classe :** Liliopsida

**Ordre :** Zingiberales

**Familles :** Zingibéracée

**Genre :** *Curcuma*

**Espèce :** *Longa*



**Figure1 :** *Curcuma Longa*. [3]

### **I.3 Description Botanique :**

C'est une plante herbacée, vivace et robuste. Elle peut atteindre 60 cm à 1 m de hauteur [2]. La partie utilisée est le rhizome qui doit être récolté 7 à 8 mois après la plantation, quand il commence à sécher.[3]

Le rhizome (**Figure2**) est écailleux, charnu, comportant un tubercule primaire ellipsoïde d'environ 5 cm × 2,5 cm, présentant à maturité de nombreux rhizomes latéraux digités d'un diamètre voisin du centimètre. La surface externe est gris-jaune, et porte la cicatrice des racines. La cassure est franche et finement granuleuse, non fibreuse, variant du jaune à l'orange sombre. [4]



**Figure2 :** Les rhizomes de *Curcuma L.*[5]

Les feuilles (**Figure3**), très longues, oblongues à elliptiques, engainantes, possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles. Les gaines des feuilles forment une pseudo tige courte, les limbes sont vert foncé au-dessus, vert très clair en dessous, criblés de points translucides. [6]



**Figure3 :** les feuilles isolées de *Curcuma L.* [7]

Les fleurs sont généralement jaunes et assemblées en épi. Elles mesurent entre 10 à 15 cm de long et leur pédoncule mesure 15 cm mais il est généralement caché par les gaines des pétioles. Quand il fleurit, les bractées vert clair deviennent violettes. [3]



Figure4 : Les fleurs de *Curcuma L.*[8]

On dénombre près de 80 espèces dans ce genre [6].

Il regroupe de nombreuses espèces ornementales, tandis que d'autres se sont démarquées par l'utilisation de leur rhizome, aux propriétés culinaires et médicinales. Parmi ces espèces, *Curcuma longa* Linné est de loin le plus utilisé et par conséquent le plus étudié, mais on retrouve également *Curcuma xanthorrhiza* Roxburgh dit *temoe lawak* et la zédoaire, décrite sous le nom de *Curcuma zedoaria* Roscoe ou *Curcuma zerumbet* Roxburgh (figure5) [9].

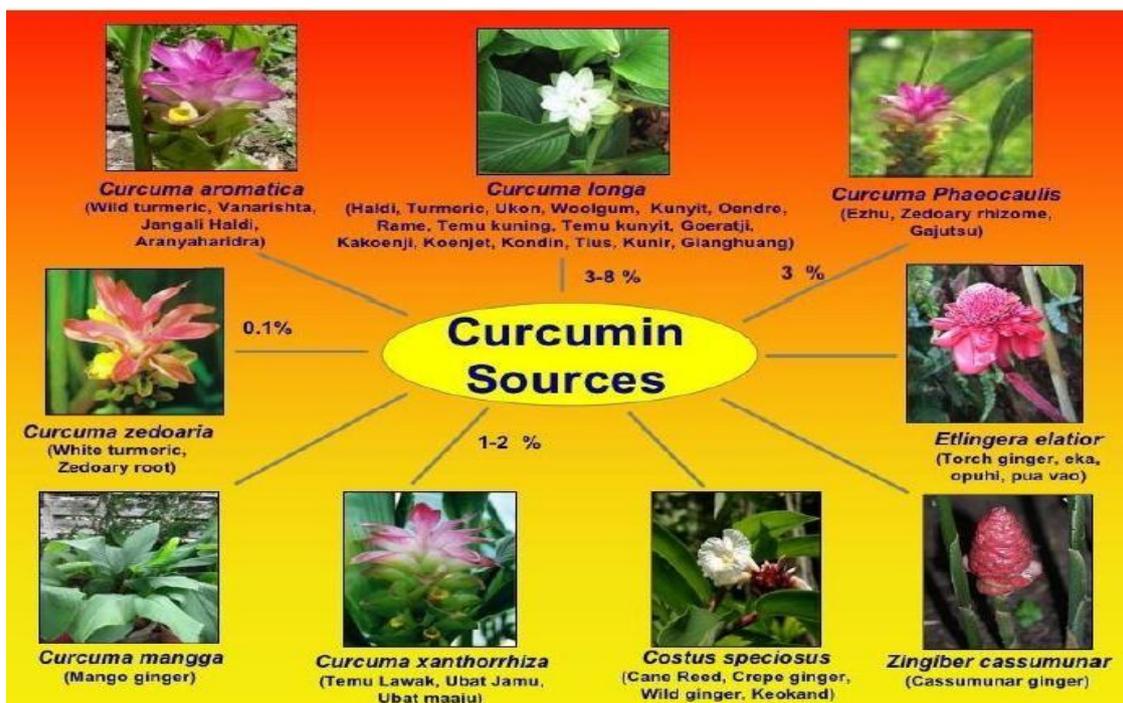


Figure5 : Les sources de curcumine [10]

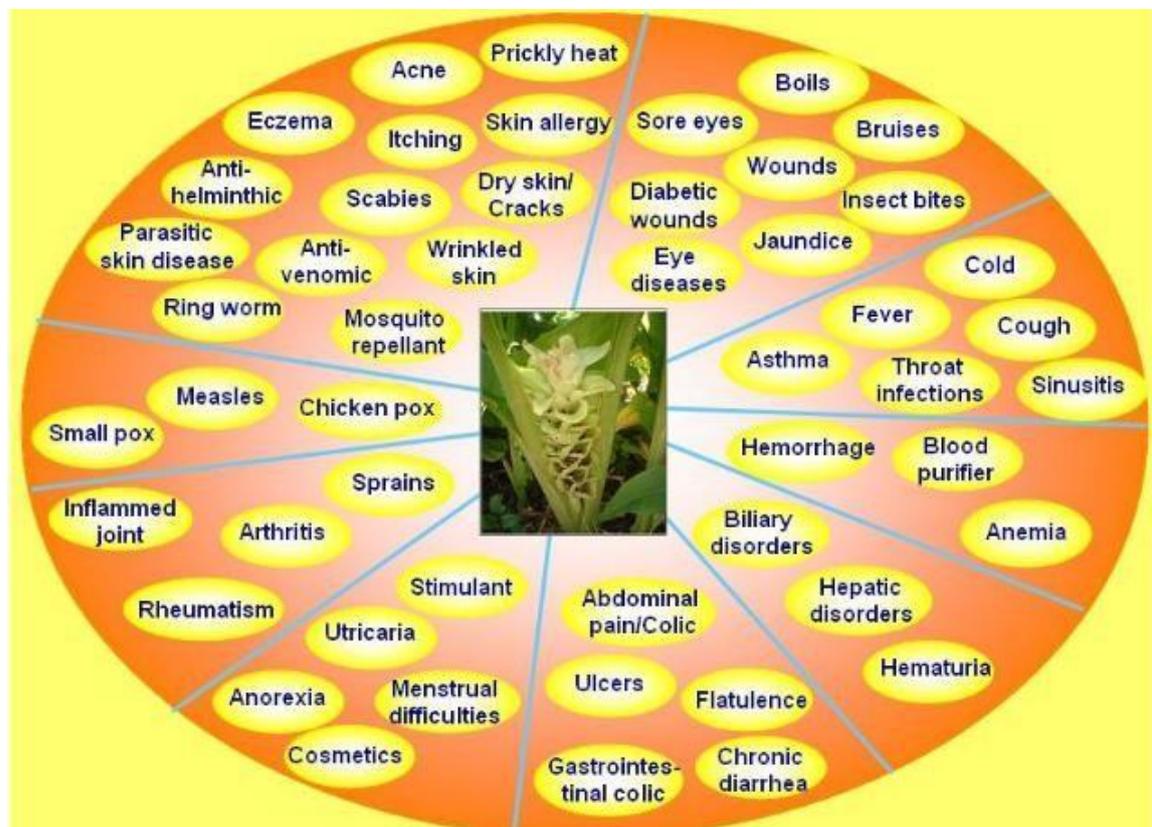
### I.4 Phytochimie de *Curcuma L.*

Le *curcuma L.*, encore appelé "safran des Indes", est décrit et utilisé depuis au moins 4000 ans dans le système médical populaire traditionnel indien où elle se nomme *Haridra* ou *Haldi* en ancien Sanskrit. La médecine ayurvédique utilise abondamment cette plante dans les cas d'arthrite et autres inflammations, de même que pour les problèmes de vision. Elle a aussi une longue tradition dans la médecine chinoise.

Le rhizome, séché puis réduit en poudre, était utilisé pour le traitement :

- Des voies respiratoires (asthme, allergie, hyperactivité bronchique, problèmes pulmonaires),
- Pour des troubles hépatiques et de vésicule biliaire (jaunisse),
- Pour ses propriétés carminatives,
- Les douleurs abdominales,
- L'anorexie.

Au cours des vingt dernières années l'efficacité du curcuma dans le traitement des troubles digestifs et hépatiques a été confirmée par les études scientifiques.



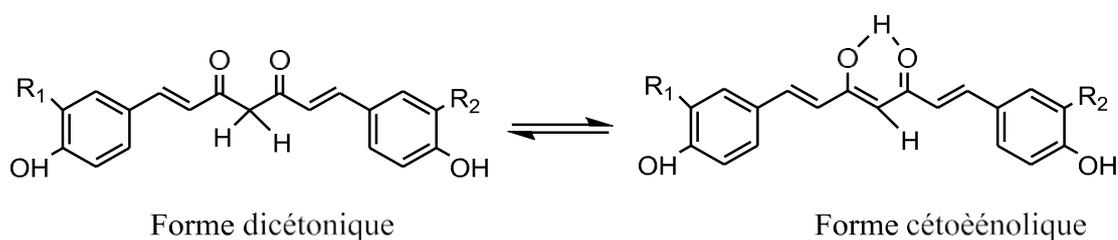
**Figure6** : Usage traditionnel de la curcumine [6]

### I.5. Composition chimique de *Curcuma L.*

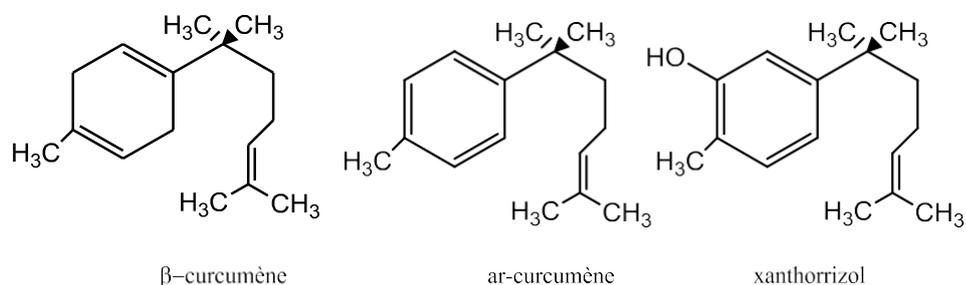
Les constituants de *curcuma L.* sont résumés dans le Tableau 1 [11-13] et les composés chimiques dans la **figure 7**

**Tableau1** : Les constituants de *Curcuma L.*

Famille de constituants	Molécules
De 4 à 14% d'une huile jaune orangé volatile - Monoterpènes - Sesquiterpènes - Cétones sesquiterpènes	Cycles aromatiques - Alpha-phellandrènes (1%) - Zingibérènes, atlantone (25%) - Ar- turmérone (60%)
Pigment phénoliques appelés Curcuminoïdes	- Curcumine (0.3 à 5.4%) - Bisdesméthoxycurcumine - Desméthoxycurcumine - Dihydrocurcumine, dérivé asymétrique
Polysaccharides Glucides Divers	Dont un arabino-galactane dénommé « uconane A » Amidon : 28% glucose, 12% fructose, 1% arabinos Résines, protéines, vitamines, minéraux



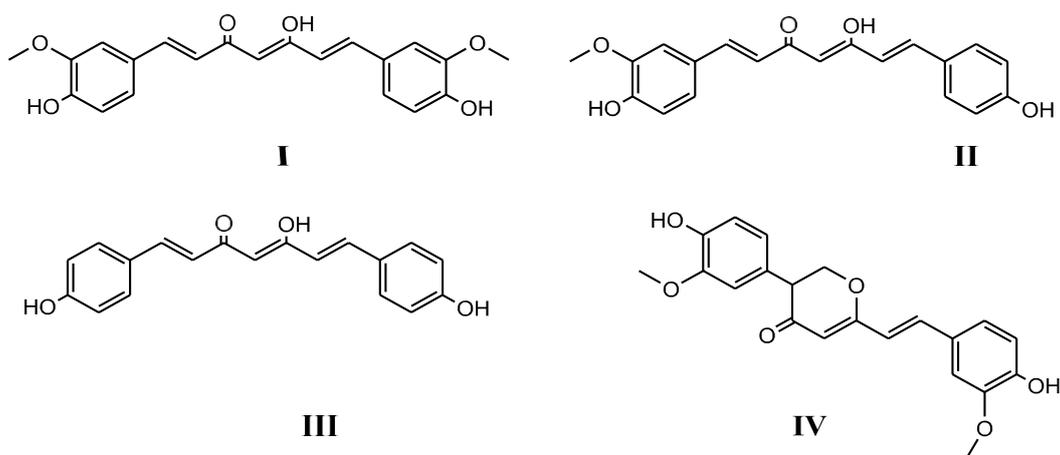
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
curcumine:	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
diméthoxycurcumine:	H	OCH <sub>3</sub>



**Figure7** : Les composés chimiques de *Curcuma L.*

### a. Le rhizome de *Curcuma L.*:

L'extraction du rhizome à l'alcool éthylique, à l'acétone ou au chlorure de méthylène donne 6 à 10% d'oléorésine, qui contient 35 à 45% de curcumine **I** et de ses dérivés, la déméthoxycurcumine **II** et la bis déméthoxycurcumine **III**, connues sous le nom collectif de curcuminoïdes. La cyclo- curcumine **IV** a récemment été identifiée, uniquement chez *Curcuma l.* (**figure8**) [14,15]. Ces composés donnent au curcuma sa couleur jaune orangé si caractéristique, alors que l'huile essentielle lui confère son arôme et sa saveur typiques. [16].



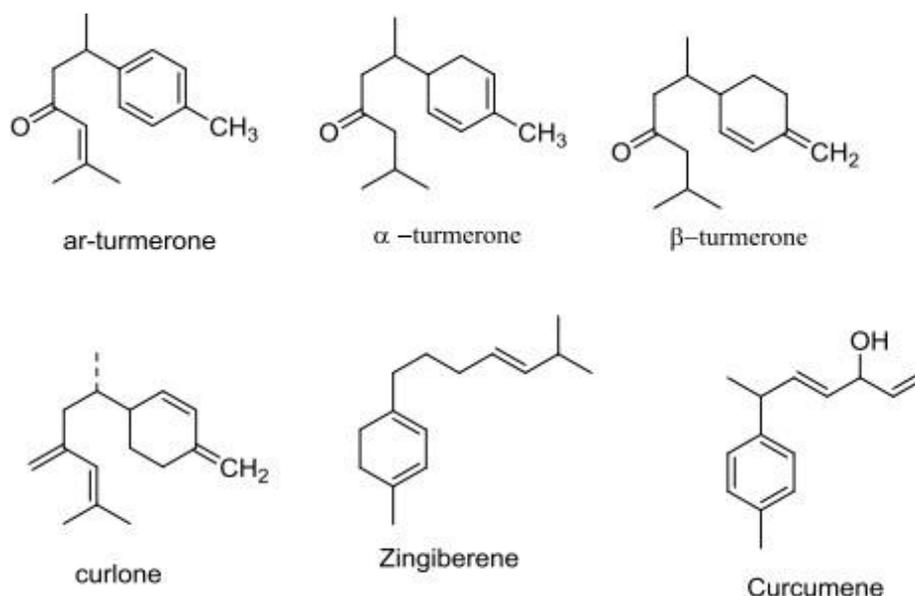
**Figure 8** : les dérivés de la curcumine

Les rhizomes de *Curcuma L.* et plusieurs autres espèces du genre sont liés à la présence des huiles essentielles terpéniques abondantes, ainsi que de celle de molécules quasi-exclusivement spécifique des Zingibéracées : les diarylheptanoïdes dont le chef de file est la curcumine **I**.

Les curcuminoïdes, qui sont les principes colorants de la drogue, sont aussi les composés les plus intéressants au niveau médicinal. Leur teneur varie beaucoup selon le cultivar (0,3 à 5,4 % en général) et peut atteindre 8 %.

### b. L'huile essentielle de *Curcuma L.*

L'huile essentielle de *curcuma L.* se compose également en petites quantités de monoterpènes oxygénés, associés à de petites quantités de sesquiterpènes hydrocarbonés et de monoterpènes hydrocarbonés. La contribution relative de chaque composant à l'arôme et à la saveur est mal connue. L'arôme de l'huile essentielle distillée à la vapeur est différent de celui de l'épice, ce qui serait dû, pense-t-on, à la formation d'artefacts lors de la distillation. [17]



**Figure 9** : les constituants principaux de l'huile essentielle de *curcuma L* [17]

L'acide arachidonique et ses métabolites ont suscité un intérêt accru en raison de leur rôle significatif dans l'inflammation. L'inhibition des enzymes impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique a été considérée comme un effet anti-inflammatoire synergique. La curcumine et ses dérivés ont été évalués pour leurs effets inhibiteurs sur l'activité de la phospholipase A2 et la cyclooxygénase (COX).

Il a été révélé que la curcumine inhibe le métabolisme de l'acide arachidonique et les activités de la cyclo-oxygénase-2, de la lipo-oxygénase (LOX), des cytokines pro-inflammatoires, de l'oxyde nitrique inducible, des protéines kinases, des facteurs de transcription tels que le facteur nucléaire-kB, et la libération de stéroïdes [18,19]. Il a été démontré que la curcumine inhibe l'expression de la COX-2 dans les cellules cancéreuses gastro-intestinales et la peau des souris [20]. Un certain nombre d'études antérieures ont également indiqué que la curcumine affecte la formation de métabolites dépendants de la COX et de la LOX et diminue les activités de la PLA2 [21].

**Les références :**

- [1]- Boufekker S., Aggoune D.Z. « Isolement et Caractérisation Structurale de Curcuminoïdes d'Origine Naturelle ». *Mémoire Master*. Constantine.2018
- [2]- Ratsaraefatrarivo Z.N. « Caractérisation de la composition chimique et potentialités antioxydantes de l'huile essentielle de *Curcuma longa* (Zingiberaceae) ». *Mémoire Master*. Antananarivo Madagascar . 2015
- [3]- Jourdan J.P. « Curcuma et curcumine : de l'histoire aux intérêts thérapeutiques ». *Thèse Doctorat*. France.2015
- [4]- Cheikh A.Z. « Études chimiques et biologiques d'*Aframomum sceptrum* (Zingiberaceae) et de la curcumine ». *Thèse Doctorat*. France.2012
- [5]- <https://www.aromandise.com/blog/le-curcuma-joli-et-gentil-rhizome--b280.html> consulté le 16/06/21
- [6]- Christelle H. « Le curcuma, De l'épice au médicament ». *Thèse Doctorat*. NANCY France.2010
- [7]- [https://fr.freepik.com/photos-premium/feuilles-curcuma-isoles\\_6171897.htm](https://fr.freepik.com/photos-premium/feuilles-curcuma-isoles_6171897.htm) consulté le 16/06/21
- [8]- <https://www.rustica.fr/plantes-vertes/reussir-culture-curcuma-pot-bons-gestes,14310.html> consulté le 16/06/21
- [9]- Delaveau P. « Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments ». Albin Michel, p.130-136. 1987
- [10]- Shishodia S, Sethi G, Aggarwal BB. « Curcumin: getting back to the roots. *Ann N Y Acad Sci*; 1056:206-17.2005
- [11] Ammon HP, Wahl MA. « Pharmacology of *Curcuma longa* ». *Planta Med* 57: 1–7. [PubMed](#) .1991
- [12] Franchomme P, Jollois R, Pénéol D « L'aromathérapie exactement ». *Éditions Roger Jollois*, 373–374.2001
- [13]- S. Loap « Curcuma\* (partie I) » *Phytotherapie*, 6: 22–28. 2008
- [14]- Bruneton J., Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Tec & Doc– Éditions médicales internationales, Paris, 1288 p, 2009
- [15]- Goel A., Kunnumakkara A. B., Aggarwal B. B., *Biochem. Pharmacol*, 75, 787–809. 2008
- [16]- Beghdad N. « Extraction de la curcumine du *Curcuma*, étude de ses propriétés par DFT et évaluation de ses activités antibactérienne, antioxydante et anti inflammatoire ». *Mémoire Master*. France. 2017

- [17]- BELAZIZIA S., BETTICHE Habiba. « Extraction et caractérisation de la substance active de curcumine ». *Mémoire Master*. Oum El Bouaghi. 2019
- [18]- Shakibaei M. «Suppression of NF-kB activation by curcumin leads to inhibition of expression of cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-9 in human articular chondrocytes; Implications for the treatment of osteoarthritis ». *Biochem Pharmacol*, vol 73: 1434–1445.2007
- [19]- Kohli K., Ali J., Ansari M., Raheman Z. «Curcumin; a natural anti-inflammatory agent» *Indian J Pharmacol*, vol 37:141–147.2005
- [20]- Chun K.S., Keum Y.S., Han S.S., Song Y.S., Kim S.H.,Surh Y.J. « Curcumin inhibits phorbol esterinduced expression of cyclooxygenase-2 in mouse skin through suppression of extracellular signal regulated kinase activity and NF-kB activation ». *Carcinogenesis*, vol 24:1515–1524.2003.
- [21]- Waqas A., Endang K., Ibrahim J., Syed N. A. Bukhari and Malina J.« Effects of Novel Diarylpentanoid Analogues of Curcumin on Secretory Phospholipase A2, Cyclooxygenases, Lipo-oxygenase, and Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 ». *Chem Biol Drug Des* ;vol 83: 670–681.2014.

# **LES ENZYMES**

## I. L'inflammation

L'inflammation est un mécanisme de défense du corps, suite à une agression. À la suite d'une blessure, d'une allergie ou d'un gros effort articulaire, entraînant l'apparition de signaux de danger, notre système immunitaire réagit. Il va envoyer les petits soldats à l'attaque des éventuels contaminants et pathogènes constituant une menace. En arrivant sur le site de "l'agression", ces cellules immunitaires vont évaluer les dégâts et envoyer des signaux. Ces signaux auront pour but d'attirer d'autres cellules de l'immunité afin de contrer l'éventuel pathogène qui s'est infiltré. Certaines plantes riches en antioxydants peuvent aider à lutter contre l'inflammation. [1]

### 1. Les symptômes de l'inflammation :

L'inflammation peut toucher de nombreuses parties de notre corps. Le type d'inflammation que l'on rencontre le plus souvent sont :

- ✓ L'inflammation du côlon
- ✓ Articulaire
- ✓ Cutanée
- ✓ Musculaire
- ✓ Touchant les organes du système digestif : foie, estomac, intestins, ...

Ces réactions ont pour but la défense de l'organisme et l'inflammation lorsqu'elle est visible se manifeste classiquement par 4 signes cliniques :

- ✓ Une rougeur,
- ✓ Une douleur,
- ✓ Une tuméfaction,
- ✓ Une augmentation de la chaleur

Contrairement à ce que l'on pense souvent, les inflammations ne sont pas forcément étendues et dues à des soucis de santé. Par exemple, la réaction que notre corps subit après une piqûre de moustique est bien une inflammation ! [1]

### 2. Les causes de l'inflammation

- ❖ L'inflammation peut être causée par des agressions :
  - Physiques (comme le chaud, le froid, les radiations ionisantes),
  - Chimiques (occasionnées par des composés acides ou basiques, des toxines bactériennes).
- ❖ Elle peut être la conséquence d'une infection (en rapport avec la présence d'organismes vivants pathogènes tels que bactéries, virus, parasites ou champignons).

- ❖ Elle peut être provoquée par une réaction immunitaire secondaire à la réintroduction dans l'organisme d'un antigène (allergie) tel qu'un antibiotique.
- ❖ Elle est enfin souvent la conséquence d'une nécrose tissulaire, elle-même secondaire à de nombreuses causes, par exemple une occlusion artérielle. [2]

### 3. Etapes inflammatoires : [3]

#### a. Phase vasculaire :

Face à l'agression les cellules sanguines circulantes libèrent les amines vasoactives. Une vasodilatation artérielle et veineuse avec accélération du flux sanguin (érythème), une augmentation de la perméabilité vasculaire (œdème) et la migration et l'activation des cellules circulantes sont constatés

#### b. Phase cellulaire :

La diapédèse des cellules poly-et mononuclées. Ces cellules sont attirées au site de l'inflammation par chimiotactisme, puis activées par plusieurs facteurs dont les cytokines et les prostaglandines ainsi les phospholipases : déstructuration des micro-organismes, de phagocytose, élimination des tissus lésés ou débris cellulaires sont des dérivés de l'acide arachidonique et des enzymes

#### c. Phase de réparation :

La formation du tissu cicatriciel qui fait suite à la prolifération des fibroblastes et la formation des fibres de collagène et des mucopolysaccharides : matrice cellulaire

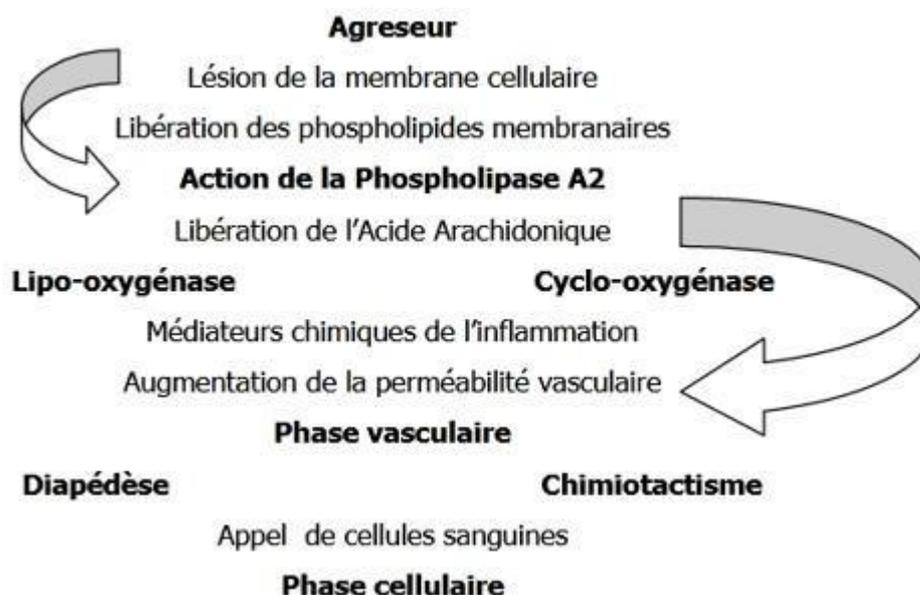


Figure10 : mécanisme simplifié de l'inflammation

La réaction de défense est un mécanisme très puissant développé par l'organisme agressé mais si elle est entretenue elle devient elle-même un agresseur dangereux qu'il faut arrêter par les médicaments : ANTI-INFLAMMATOIRES. [3]

#### **I.4 Les anti-inflammatoire :**

Les anti-inflammatoires permettent de lutter contre l'inflammation quelle que soit la cause de cette inflammation. Ce sont des traitements symptomatiques, c'est à dire qu'ils ne suppriment pas la cause de l'inflammation mais seulement sa conséquence. Ils ont une action également sur la douleur. Il existe deux catégories, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), et les anti-inflammatoires stéroïdiens : les corticoïdes et les anti-inflammatoires naturels à base de plantes.

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

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH (Adreno Cortico Tropic Hormone) libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse. [4]

##### **b. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens**

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) qui agissent par inhibition des iso enzymes de la cyclo-oxygénase (COX, sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial. Ils ont été découverts il y a plus de 100 ans. Ils restent un élément clé de la gestion pharmacologique de la douleur aiguë et chronique. [5]

##### **c. Les anti-inflammatoires naturels à base de plantes :**

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 inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes. [5]

## II. Les enzymes

Les enzymes sont les catalyseurs du monde biologique. Ce sont des macromolécules de haute masse moléculaire (10 à 100 kDa) présentes dans les cellules de tous les organismes vivants où elles jouent un rôle essentiel en contrôlant les procédés métaboliques permettant aux nutriments d'être transformés en énergie et en matériaux cellulaires. [6].

Ces enzymes jouent un rôle dans toutes les fonctions, comme la digestion avec des enzymes intervenant dès le stade buccal comme les amylases. Il existe plusieurs types des enzymes tel que ; Cyclooxygénase, Glutathion, Lipase... etc. [7]

### 1. Cyclooxygenase

La cyclo-oxygénase (COX), purifiée pour la première fois en 1976 et clonée en 1988, est l'enzyme clé de la synthèse des prostaglandines (PG) à partir de l'acide arachidonique. En 1991, plusieurs laboratoires ont identifié un produit issu d'un second gène ayant une activité COX et l'ont appelé COX-2. Il existe deux isoformes de la cyclooxygénase : Cyclooxygénase-1 (COX-1) Cyclooxygénase-2 (COX-2). [8]

#### a. Cyclooxygénase-1

La cyclooxygénase-1 (**COX-1**) a été découverte en 1971 et s'est vu attribuée à ce moment l'explication de l'action biochimique des anti-inflammatoires non stéroïdiens.

A cette époque, il a été constaté que les composés appartenant à la même classe que l'aspirine avait la propriété de diminuer la production de prostaglandines; cette inhibition a tout logiquement été attribuée à une action sélective sur la (**COX-1**). [9]

La COX-1 est une enzyme principalement constitutive largement exprimée dans la plupart des tissus, notamment :

- La muqueuse gastro-intestinale (GI), prostaglandine E2 (PGE2),
- Les plaquettes,
- L'endothélium,
- Les reins,
- L'utérus,
- D'autres tissus tels que le système nerveux.

Elle a un rôle de " ménagère ", car elle est principalement impliquée dans l'homéostasie tissulaire. [10]

## b. Cyclooxygénase-2

La cyclooxygénase-2 (COX-2) est présente dans les cellules inflammatoires (PGE<sub>2</sub>), le rein (PGI<sub>2</sub>) et d'autres tissus, notamment vasculaires elle a été découverte en 1990 et rapidement associée aux phénomènes inflammatoires pouvant toucher l'organisme. Elle a été mise en évidence après que certaines études aient prouvé que la quantité de protéines COX augmentait dans les états inflammatoires, suggérant la présence d'une forme inductible de la cyclo-oxygénase.

La COX-2 est une enzyme principalement inductible, considérée comme principalement responsable de la production de prostanoïdes dans l'inflammation. Bien que la COX-2 ait un rôle majeur, la COX-1 contribue également au stade initial de l'inflammation

L'un des principaux stimuli de l'induction de la COX-2 sont les cytokines (telles que l'interleukine-1, IL-1 et le facteur de nécrose tumorale- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ). [10]

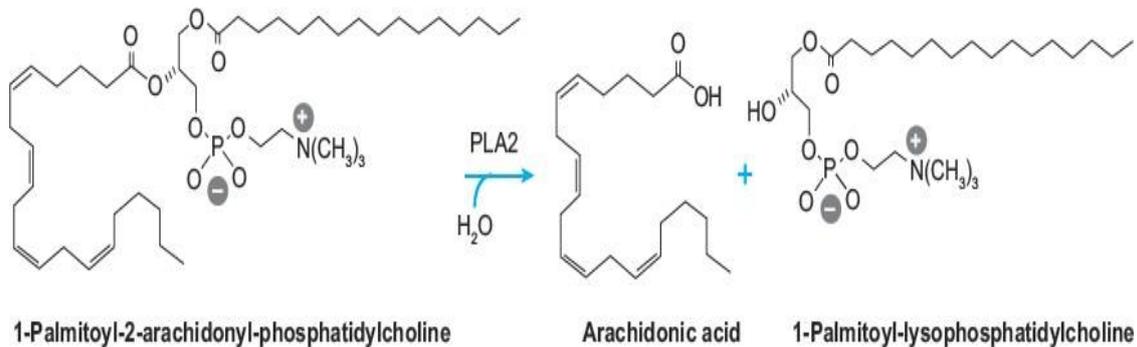
Les enzymes cyclooxygénase-1 et cyclooxygénase-2 (COX-1 et COX-2) catalysent la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandine (PG) H<sub>2</sub>, le précurseur des PG et du thromboxane. Ces médiateurs lipidiques jouent un rôle important dans l'inflammation et la douleur ainsi que dans les fonctions physiologiques normales. Si de nombreuses données indiquent que l'isoforme inductible, la COX-2, joue un rôle important dans l'inflammation et la douleur, il a également été suggéré que l'isoforme exprimée de manière constitutive, la COX-1, joue un rôle dans les processus inflammatoires. [11]

Les iso-enzymes COX-1 et COX-2 ont des fonctions biologiques différentes ; l'activité analgésique est principalement (mais pas exclusivement) associée à l'inhibition de la COX-2, tandis que des effets secondaires différents résultent de l'inhibition de la COX-1 et de la COX-2. [12]

## 2. PHOSPHOLIPASE « PLA<sub>2</sub> »

Phospholipases PLA<sub>2</sub> a été impliqué dans les diverses conditions pathologiques comme l'arthrite rhumatoïde, les maladies cardio-vasculaires, les désordres et le cancer neurologiques. La communauté scientifique se concentre sur la recherche des inhibiteurs puissants et sélectifs de chaque classe de PLA<sub>2</sub> afin d'identifier les nouveaux agents médicinaux. Aujourd'hui, seul un inhibiteur la lipoprotéine associée de PLA<sub>2</sub> (LpPLA<sub>2</sub>) a atteint les jugements cliniques pour le traitement de l'athérosclérose [14].

En dehors de leurs fonctions digestives ou métaboliques, les phospholipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) sont essentiellement connues pour leur rôle dans la biosynthèse de médiateurs lipidiques, qui nécessite la libération de précurseurs tels que l'acide arachidonique.



**Figure 11** : Exemple de réaction catalysée par les PLA<sub>2</sub> [4]

Les phospholipases représentent une super famille d'enzymes ubiquitaires chez les organismes eucaryotes supérieurs appartenant à la classe des estérases. On distingue deux sous-classes :

- Les phosphodiésterases regroupant les phospholipases C et D.
- Les acylhydrolases rassemblant les phospholipases A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> et B.

Les phospholipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) hydrolysent de manière spécifique la liaison ester en position **sn-2** des glycérophospholipides de la série **L** (sn : numérotation stéréospécifique), libérant d'une part un acide gras et un lys phospholipide, d'autre part [13]. Elles sont impliquées dans diverses réponses cellulaires et biochimiques, comme :

- ❖ La transduction du signal.
- ❖ La défense vis-à-vis des agents pathogènes.
- ❖ L'agrégation plaquettaire menant à la coagulation sanguine.
- ❖ La digestion des lipides d'origine alimentaire.
- ❖ Le métabolisme des phospholipides membranaires ce qui permet la restructuration des membranes biologiques.

Les phospholipases sécrétées, dans la majorité des cas, requièrent pour leur activité une concentration en calcium de l'ordre du Mili molaire. Ce calcium intervient aussi bien dans la fixation du substrat que dans la catalyse.

Selon leur structure primaire les phospholipases ont été classées en plusieurs groupes [14, 15].

- ❖ Les phospholipases A<sub>2</sub> de groupe I (PLA<sub>2</sub>-I) possédant 7 ponts disulfure avec un pont caractéristique entre les cystéines 11 et 77. Ce groupe rassemble essentiellement les PLA<sub>2</sub> pancréatiques de mammifères.
- ❖ Les phospholipases de groupe II (PLA<sub>2</sub>- II) caractérisé par un pont disulfure entre les cystéines 50 et C- terminal. Ce groupe englobe les PLA<sub>2</sub> sécrétées non pancréatiques de mammifères.
- ❖ Les phospholipases de groupe III possédant une chaîne polypeptidique de 128 acides aminés avec 4 à 5 ponts disulfure. Ce groupe réunit les PLA<sub>2</sub> des venins d'abeille *Apis mellifera*, et du lézard *Heloderma suspectum* [16].
- ❖ Plus récemment d'autres groupes de PLA<sub>2</sub> ont été décrits. Chez l'homme, les PLA<sub>2</sub>-V, PLA<sub>2</sub>-X [24] et PLA<sub>2</sub>-XII constituent de nouveaux groupes de PLA<sub>2</sub> sécrétées.

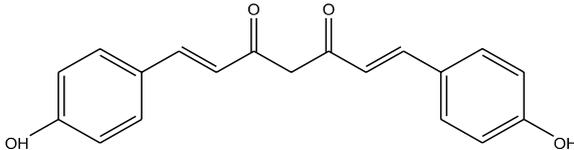
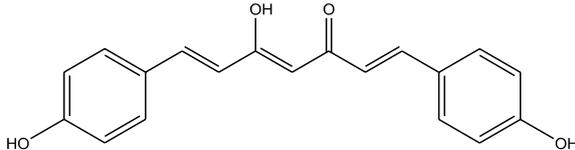
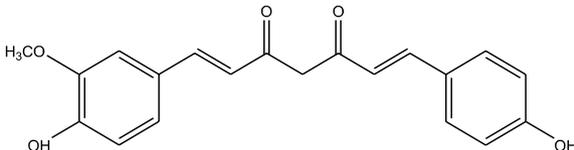
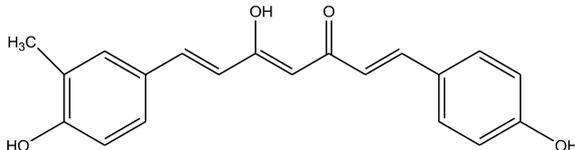
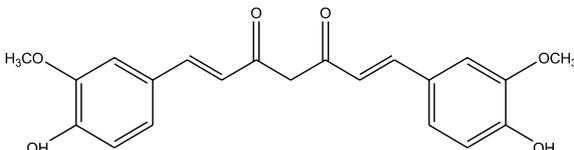
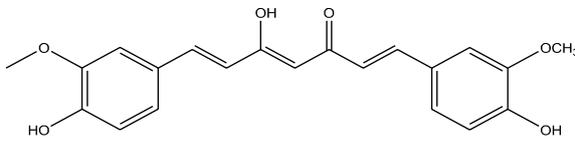
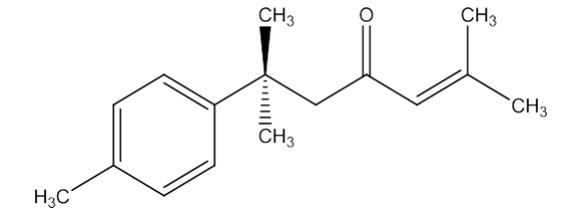
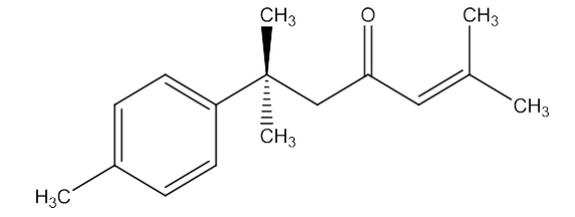
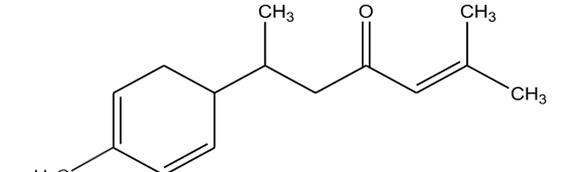
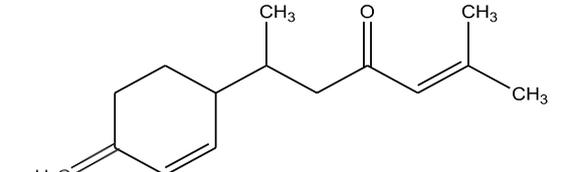
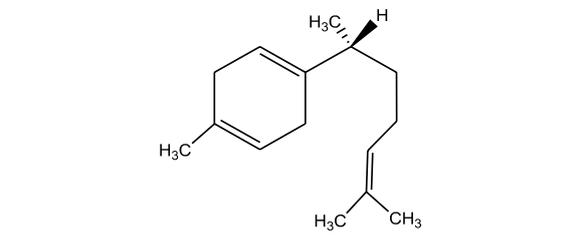
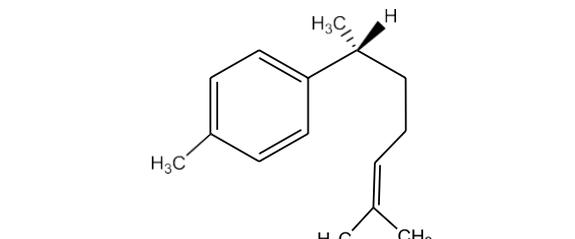
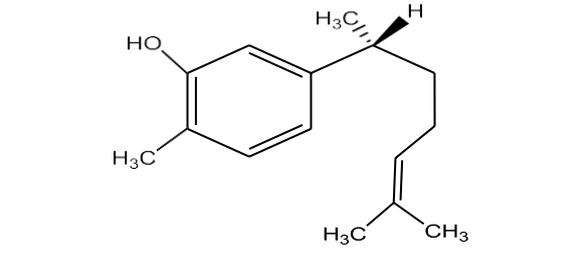
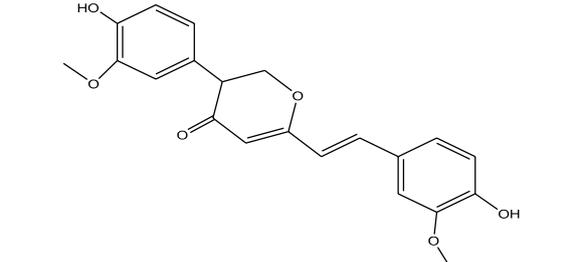
### 3. Les inhibiteurs des enzymes étudiées

La curcumine est un composé complexe constitué par des fonctions chimiques pouvant évoluer en fonction de l'environnement direct, de la présence de différents types de solvants, de la température et de la présence de lumière. Cette complexité confère à la curcumine une large collection d'interactions possibles qui multiplie le nombre de cibles moléculaires potentielles. C'est un composé amphiphile car elle possède un centre et des extrémités polaires qui sont séparées par deux maillons insaturés apolaires. [17]

Dans la littérature, il a été constaté que la curcumine a été étudiée pour son activité inhibitrice de la COX en utilisant des vésicules séminales bovines, des microsomes et du cytosol provenant d'homogénats d'épiderme de souris a montré une valeur IC<sub>50</sub> de 2 µM [18], 52 µM [19], et 5-10 µM [20-21], respectivement.

Les dérivés de la curcumine choisies pour notre étude sont reportés dans le **tableau2**.

**Tableau 2** : Structure de la curcumine et ses dérivés

<p><b>L1</b></p> 	<p><b>L1 éno</b></p> 
<p><b>L2</b></p> 	<p><b>L2 éno</b></p> 
<p><b>L3</b></p> 	<p><b>L3 éno</b></p> 
<p><b>L4</b></p> 	<p><b>L5</b></p> 
<p><b>L6</b></p> 	<p><b>L7</b></p> 
<p><b>L8</b></p> 	<p><b>L9</b></p> 
<p><b>L10</b></p> 	<p><b>L11</b></p> 

**Les références :**

- [1]- <https://www.nutrimea.com/article/fr/meilleurs-anti-inflammatoires-naturels/> consulté 13/06/2021
- [2]- Duyckaerts, C., Fouret, P., Hauw, J.J. « Anatomie pathologique », Université Pierre et Marie Curie-France, **2002**.
- [3]- Beroual K, Torche S, Bensegueni L. « Cours: pharmacologie spéciale A3- les anti-inflammatoire » institut des sciences vétérinaires Université Constantine.
- [4]- Bouziane C. « Etude de l'interaction de la phospholipase A2 et flavanones isolées de *Inule visqueuse* par modélisation moléculaire ». *Mémoire Master*. Université Tlemcen. **2014**.
- [5]- Ferradji A. « Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus ». *Mémoire Magister*. Université Setif. **2011**.
- [6]- BELMESSIKH A. « Optimisation de la production de la protéase neutre par *Aspergillus oryzae* sur milieu à base de déchets de tomates. Comparaison entre milieu solide et milieu liquide ». *Mémoire Magister*. Constantine **2011**
- [7]- Maamra F., Maissa N. « Caractérisation des enzymes protéolytiques des souches fongiques isolées à partir du sol saharien ». *Mémoire Master*. ElOued **2018**.
- [8]- J.R. Vane, Y.S. Bakhle, Regina Botting. « Cyclooxygenase ». *Annual Review of Pharmacology*. vol 38(1). 97-120. **1998**.
- [9]- Smith J.B., Willis A.L., **1971**. Avec la découverte de la [cyclooxygénase]-2, <https://www.futura-sciences.com/sante/dossiers/medecine-etude-reaction-inflammatoire-partie-2-205/page/3/> consulté 19/06/2021
- [10]- Maja T., Radica S-P. « Clinical Uses of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) and Potential Benefits of NSAIDs Modified-Release Preparations ». *In Microsized and Nanosized Carriers for Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs*, 1st Edition Editor: Bojan Čalija **2017**
- [11]- Smith CJ, Zhang Y, Koboldt CM, Muhammad J, Zweifel BS, Shaffer A, Talley JJ, Masferrer JL, Seibert K, « Pharmacological analysis of cyclooxygenase-1 in inflammation ». *Proc Natl Acad Sci*. 27;95(22):13313-13318. **1998**.
- [12]- Kay B, Paola P. « New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs » *J Pain Res*. 105-18. **2015**.
- [13]- JEMEL I, « La phospholipase A2 sécrétée de groupe X : Maturation protéolytique et Rôles fonctionnels », *Thèse doctorat*. France. **2009**.

- [14]- Kramer R. M., Hession C., Johansen B., Hayes G., McGray P., Chow E. P., Tizard R., and Pepinsky R.B. « Structure and properties of a human non-pancreatic phospholipase A<sub>2</sub>, J ». *Biol.Chem.* 264, 5768-5775., 1989.
- [15]- Seilhamer J. J., Pruzanski W., Vadas P., Plant S., Miller J. A., Kloss J., and Johnson L. K. « Cloning and recombinant expression of phospholipase A<sub>2</sub> present in rheumatoid arthritis synovial fluid,J ». *Biol. Chem.* 264, 5335-5338,1989.
- [16]- Victoria M,George K. « Phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors for the treatment of inflammatory diseases: a patent review (2010-present) ». *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 23, (3) 333-344, 2013.
- [17]- Heger, M.; van Golen, R. F.; Broekgaarden, M.; Michel, M. C. The Molecular Basis for the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Curcumin and Its Metabolites in Relation to Cancer. *Pharmacological Reviews*, 66 (1), 222–307.2014
- [18]- H P Ammon , H Safayhi, T Mack, J Sabieraj « Mechanism of antiinflammatory actions of curcumine and boswellic acids” *J. Ethnopharmacol.* 1993
- [19]-Flynn DL, et al. « Inhibition of 5-hydroxy-eicosatetraenoic acid (5-HETE) formation in intact human neutrophils by naturally-occurring diarylheptanoids: inhibitory activities of curcuminoids and yakuchinones »*Prosta. Leukotr. Med.* ;22:357.1986
- [20]- Huang MT, et al. « Inhibitory Effects of Curcumin on *in Vitro* Lipoxygenase and Cyclooxygenase Activities in Mouse Epidermis ». *Cancer Res*; 51:3813.1991
- [21]- Mario R.S, Harno D.P, Winarto H.« Molecular docking analysis of curcumin analogues » *Bioinformation* 13(11): 356-359. 2010

# **MODELISATION MOLECULAIRE**

## Introduction

La modélisation moléculaire est un outil destiné aux chercheurs préoccupés par la structure et la réactivité des molécules [1]. Elle regroupe les différentes méthodes qui permettent d'étudier des systèmes moléculaires. Elle repose sur deux formalismes théoriques totalement différents :

- La mécanique quantique qui tient compte des électrons et s'appuie sur la résolution l'équation de Schrödinger pour décrire les interactions.
- La mécanique moléculaire où les atomes sont représentés par des sphères ayant une masse et possédant une charge et les liaisons sont décrites comme des ressorts.

### 1. Méthodes quantiques :

La mécanique quantique est le prolongement de la théorie des quanta, issue des travaux de Planck, de leur interprétation par Einstein et de leur application à la théorie atomique par Bohr et Sommerfeld. Elle explique la quantification de certaines grandeurs (énergie, moment cinétique).

La chimie quantique définit la structure moléculaire comme un noyau autour duquel gravitent des électrons, qui sont décrit par leur probabilité de présence en un point et représentés par des orbitales [2]. Les équations de la chimie quantique sont basées sur la résolution de l'équation de SCHRODINGER qui s'écrit pour les états stationnaires.

$$H\Psi = E\Psi$$

Où :

H : Hamiltonien total d'une molécule comportant N noyaux et n électrons.

$\Psi$  : Fonction d'onde de la molécule.

E : Energie totale d'une molécule

#### a. Méthodes *ab-initio* (Hartree- Fock- Roothann):

Les méthodes *ab-initio* sont des méthodes non empiriques, toutes les intégrales sont calculées rigoureusement et il n'y a pas d'approximations à faire sauf celle de **Born Oppenheimer** et l'approximation **CLOA**.

Dans les méthodes *ab-initio*, toutes les particules (noyaux et électrons) sont traitées explicitement. On n'utilise aucun paramètre empirique dans le calcul de l'énergie.

**b. Méthodes semi-empiriques :**

Les méthodes semi empiriques ne considèrent que les électrons de la couche de valence, les électrons des couches internes sont inclus [3].

**2. Mécanique Moléculaire (MM)**

Cette technique calcule l'énergie des atomes (et non plus des électrons) au moyen d'approximations semi-classiques. La simplification considérable des calculs qui en résulte permet de travailler sur des molécules de grande taille, telles que les macromolécules biologiques (protéines, acides nucléiques), ou sur des systèmes comportant un grand nombre de molécules.

La mécanique moléculaire a pour but de calculer l'énergie potentielle d'une molécule (ou d'un système de molécules) en fonction des coordonnées des atomes :

$$E_p = f(\vec{r}_1; \vec{r}_2; \dots \vec{r}_n)$$

Où  $\vec{r}_i$  représente le vecteur position de l'atome i [4].

- La mécanique moléculaire utilise les approximations suivantes :
- Chaque atome constitue une particule ;
- L'atome est considéré comme une sphère rigide ayant un rayon et une charge déterminés
- Les énergies sont calculées par des formules dérivées de la mécanique

La Mécanique Moléculaire (MM) basée sur les calculs de mécanique classique qui permet de calculer l'énergie stérique du système. Elle utilise comme outil le "champ de force"

**a. Modélisation par champs de force :**

Dans l'expression fonctionnelle des champs de forces classiques, l'énergie potentielle totale du système ( $E_{tot}$ ) est exprimée comme étant la somme des contributions énergétiques des termes liés et de celles des termes non liés. [5]

$$E_{Total} = E_{stretch} + E_{bend} + E_{tors} + E_{Van\ der\ Waals} + E_{eletro} + \dots$$



$E_{atomes-liés}$



$E_{atomes-non-liés}$

On appelle champ de force le modèle mathématique représentant l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire. Sous ce terme sont en fait regroupés deux éléments: d'une part l'expression des différentes fonctions contribuant au calcul énergétique et d'autre part les valeurs des différentes constantes paramétrant ces fonctions.

Ce potentiel empirique est constitué de deux parties représentant les interactions entre atomes non liés (électrostatique et Lennard-Jones) et les interactions entre atomes liés

(représentation harmonique des déformations des liaisons, des angles de valence et des barrières énergétiques des angles de torsion propres et impropres). [6]

**b. Différents champs de forces en mécanique moléculaire :**

Il existe de nombreux champs de force et de nombreuses manières de définir l'énergie potentielle. Parmi les champs de forces les plus connus :

- MMFF (*Merck Molecular Force Field*),
- CFF (*Conformément Field Force*) et CVFF (*Consistent Valence Force Field*).
- GROMOS (*Groningen molecular Simulation Program Package*) [7].
- AMBER (*Assisted Model Building with Energy Refinement*) [8].
- CHARMM (*chemistry at harvard using molecular mechanics*) [9,10].
- MMF94X implémenté dans le logiciel (*Molecular Operating Environment MOE*) spécialisés dans le traitement des molécules biologiques, telles que les acides nucléiques et les protéines. [11]

**3. Dynamique moléculaire (DM) [12]**

La dynamique moléculaire a pour but de simuler le mouvement des atomes au cours du temps, à partir de l'énergie potentielle calculée par la mécanique moléculaire. Elle permet donc de calculer l'énergie cinétique.

La dynamique moléculaire requiert un jeu de coordonnées et vitesses initiales. La géométrie de départ utilisée provient d'une structure établie expérimentalement lorsque c'est possible, sinon elle est générée à partir du champ de force utilisé. L'énergie du système est minimisée afin d'éliminer toutes les interactions fortement défavorables, qui, si elles étaient conservées, perturberaient la simulation. Les vitesses initiales sont attribuées selon la statistique de Boltzmann.

Une dynamique moléculaire se compose de trois phases distinctes :

- **Thermalisation**

Il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée.

On utilise comme structure initiale la structure minimisée.

On tire aléatoirement le jeu de vitesse initiale, soit à Zéro à des vitesses correspondants à quelques dizaines de Kelvin. On intègre ainsi les équations du mouvement en multipliant régulièrement les vitesses afin d'augmenter la température jusqu'à la température de référence (généralement 300K).

Une montée en température demande en général 2 à 10ps de simulation (200 à 1000 pas d'intégration  $\Delta t$ ).

**- Equilibration**

C'est une phase importante au cours de laquelle on stabilise la température du système, il y a alors un échange important entre énergie potentielle et énergie cinétique. C'est une phase où on contrôle régulièrement la température que l'on ramène dans la fenêtre souhaitée. La température de déviation se fait suivant un processus de relaxation ou la température est recalculée après chaque étape et ramenée à la température de référence par la formule :

$$d/dtT = \tau^{-1} (T_0 - T)$$

Avec  $\tau$  : temps de relaxation

$T_0$  : Température de référence

$T$  : Température du système

Durant la phase d'équilibration la valeur de  $\tau$  doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement  $\tau = 10$  fs) Cette phase peut durer de 10 à 20 ps.

**- Dynamique ou production**

C'est la phase réellement exploitable qui dure en moyenne de 60 à 100 ps. Au cours de cette simulation, on doit sauvegarder les conformations, énergies..., toutes les 0.05 ou 0.1 ps.

La dynamique la plus classique se fait à température constante avec un scaling des vitesses, mais un temps de relaxation plus grand (0.1 à 0.4 ps) pour permettre d'évaluer l'équilibre propre du système.

#### **4. Le Docking moléculaire**

Le Docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Les logiciels de Docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme Docking seul est couramment employé pour désigner un « Docking protéine-ligand ».

Le Docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur.

Une simulation de Docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le Docking et le Scoring.

- Le Docking (la première) : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- Le Scoring (la deuxième) : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le Ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposée. [13]

#### 4.1. Les outils du Docking moléculaire :

Les logiciels de Docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique (protéine).

- a. **Ligand** : un ligand (du latin ligandum, liant), est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme de ligand est le plus souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique (branches de la chimie inorganique).

La structure des ligands est obtenue par deux moyens :

- Le premier : consiste à utiliser des ligands du pdb ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...) grâce à des logiciels de construction moléculaires tels que Titan.
  - Le deuxième : consiste à utiliser des collections de molécules (chimiothèques) virtuelles aussi bien commerciales, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimique les plus utilisées, nous citons la PubChem.
- b. **Récepteur** : Est macromoléculaire étant le plus souvent une protéine ; pour l'obtention des récepteurs, on utilise les structures 3D des protéines qui sont accessibles gratuitement dans la banque de donnée PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN). Les données structurales sont obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN et sont accessibles gratuitement sur internet via des sites Web définis de ses organisations membres dont : RCSB PDB, PDBj, PDBe,...etc.

En mois de mai 2018, la PDB compte plus de 141616 structures de bio-macromolécules.[14]

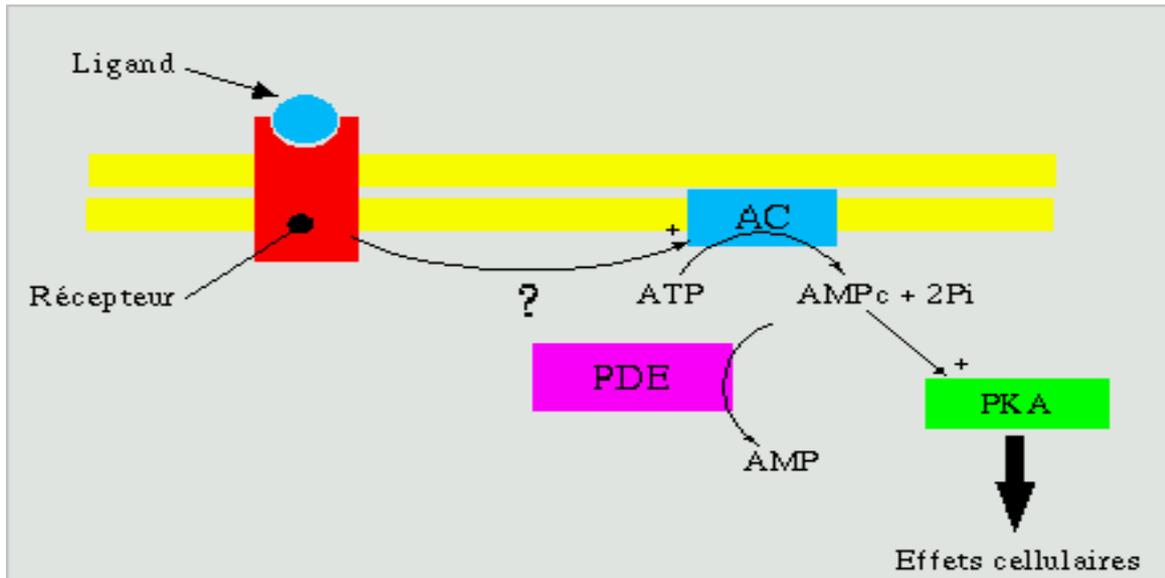


Figure12 : Interaction récepteur- ligand.

#### 4.2. Protocole générale de Docking :

Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives :

- Choix du mode de représentation des protéines (tout atome, pseudo-atome, grille, etc.),
- Exploration conformationnelle (corps-rigide position/orientation du ligand et/ou flexible position/orientation/forme du ligand),
- Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de score) des conformations issues de l'exploration,
- Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score, accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats lorsque le score ne permet pas de discriminer la conformation native des différentes conformations générées.
- Une étape optionnelle d'affinement des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire.
- Un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison [15]

**Les références :**

- [1]-[https://www.masterchimie1.universite-paris-saclay.fr/Cours%20en%20ligne/Chim430\\_Modelisation-moleculaire.pdf](https://www.masterchimie1.universite-paris-saclay.fr/Cours%20en%20ligne/Chim430_Modelisation-moleculaire.pdf) consulté le 28/06/2021
- [2]- J.Debord. « Introduction A La Modélisation Moléculaire », 37-41 ; 2004
- [3]- SOUFI-LALOUT, W « Etude de l'interaction enzyme-substrat par modélisation moléculaire ». *Mémoire de MAGISTER*. Université Tlemcen.2010
- [4]- [https://www.unilim.fr/pages\\_perso/jean.debord/model/model.pdf](https://www.unilim.fr/pages_perso/jean.debord/model/model.pdf) consulté le 28/06/2021
- [5]- Soldera. A. « Modélisation moléculaire des polymères linéaires ». *Techniques de l'ingénieur AF*. Vol 6-042. 2007.
- [6]- Soury, I. « Modélisation et analyse des propriétés mécaniques des protéines ». *Thèse doctorat*. Université Paris.2004.
- [7]-Van der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A.E. and Berendsen, H.J. «GROMACS: Fast, flexible, and free ». *Journal of Computational Chemistry*, vol, 26, 1701-1718.2005
- [8]- Pearlman, D.A., Case, D.A., Caldwell, J.W., Ross, W.S., Cheatham, T.E., Debolt, S., Ferguson, D., Seibel, G., Kollman, P. « AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules ». *Comput. Phys. Commun.* 91, 1–41.1995.
- [9]-Rueda, M., Ferrer-Costa, C., Meyer, T., Pérez, A., Camps, J., Hospital, A., Gelpí, J., Orozco, M.« Consensus View of Protein Dynamics ». *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*104, 796– 801.2007.
- [10]- Guvench, O., Mackarrel, A.J.« Comparison of protein force fields for molecular dynamics simulations ». *Methods in Molecular Biology*. 443, 63-88.2008.
- [11]- Pissurlenkar, R.R.S.; Shaikh, M.S.; Iyer, R.P.; Coutinho, E.C. « Molecular Mechanics Force Fields and their Applications in Drug Design ». *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*. 8. 128-150 2009.
- [12]-Ayachi, H. « Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire : Cas du diabète de type 2 ». *Thèse Doctorat*. Université de Tlemcen.2017.
- [13]- L. Said K. « Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire ». *Mémoire Master*. Université Tlemcen.2016

[14]- Dekkiche Z.,Benaiche, S. « Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang ». *Mémoire Master*. Université Constantine.2018

[15]- Lalout Soufi W. « Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules ». *Thèse Doctorat*. Université Tlemcen.2015

# **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

Dans ce chapitre, nous présentons le matériel et les méthodes utilisées ainsi les résultats et les discussions obtenues dans le cadre de notre travail.

### **I. Matériels :**

#### **I.1 Ressources informatiques :**

##### **A. Ordinateurs :**

- Un processeur Intel ® Celeron ® N3350 CPU @ 1.10 GHz équipé avec 4Go de mémoire RAM.
- Un processeur Intel ® Core ™ i7-3770 CPU @ 3.40 GHz équipé avec 4Go de mémoire RAM.

#### **I.2 Logiciels utilisés**

##### **a. Molecular Operating Environment MOE 2014**

MOE (Molecular Operating Environment) est un package c'est-à-dire un ensemble de plusieurs logiciels destiné à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. Celui-ci permet d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir la meilleure conformation de ces molécules. Il permet également de dockner plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. MOE présente une forme de Docking flexible dans lequel le récepteur et le ligand change de conformation et s'adaptent à l'environnement. Il est également possible de représenter l'enzyme et son ligand primitif. [1]

##### **b. Chem DRAW Ultra 8.0**

ChemDraw est l'outil de choix le plus complet pour les chimistes et biologistes, il leur permet de créer des modèles tridimensionnels, de visualiser, d'analyser et de déterminer les propriétés des molécules. C'est un logiciel qui est prêts à être utilisés dans des carnets de laboratoire électroniques, des publications et des bases de données. [2]

## II. Protocole du Docking :

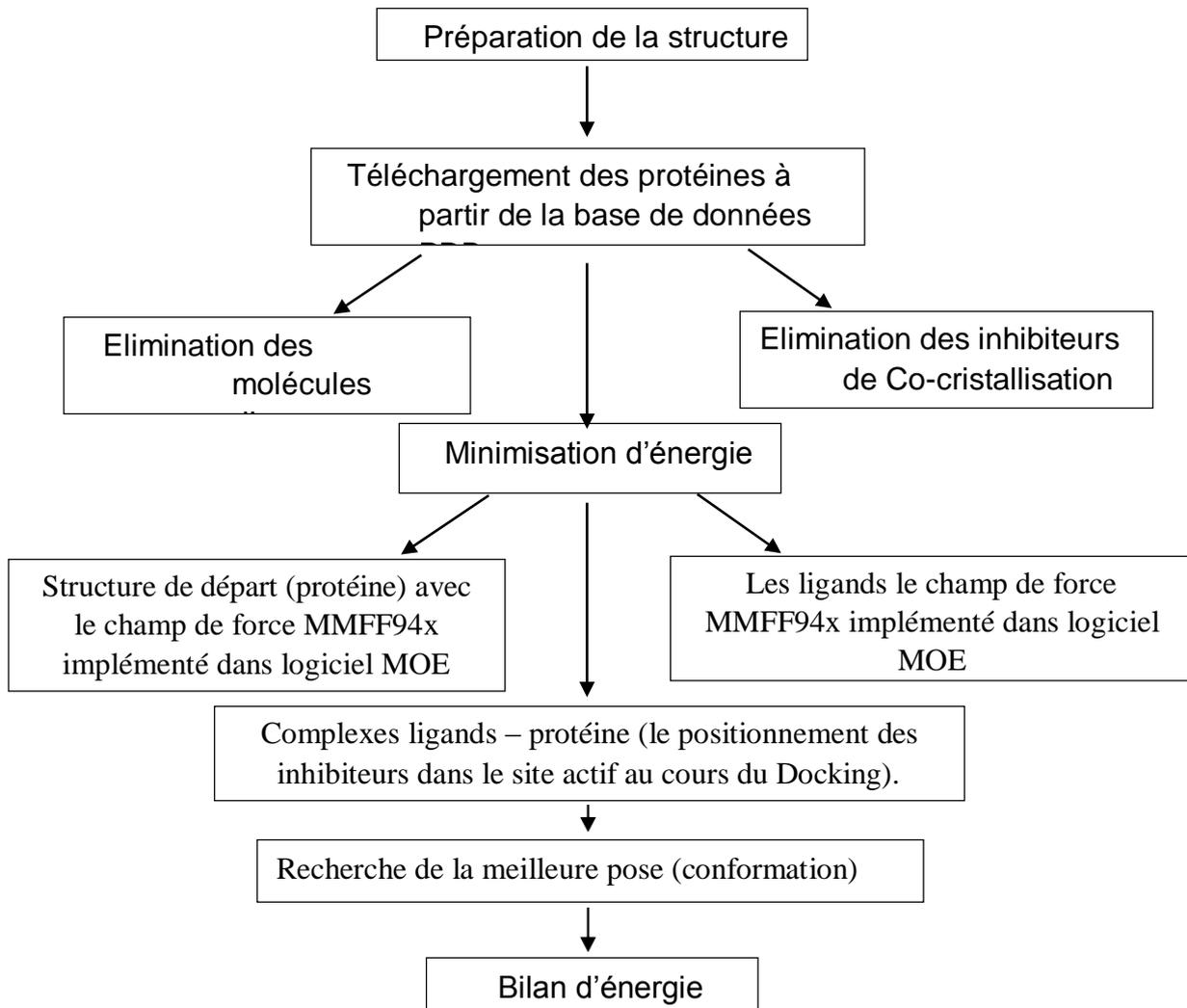


Figure 13 : schéma présentatif du Protocole de calcul pour le Docking moléculaire.

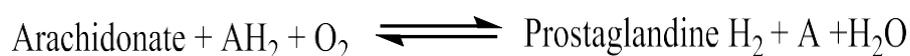
## III. Présentation des enzymes

Nous avons choisi trois enzymes pour effectuer ce travail. Ces enzymes sont :

La cyclo oxygénase (COX- 1 et COX-2) et la phospholipase (PLA<sub>2</sub>). Les trois enzymes sont impliquées dans l'inflammation.

### 1. Cyclooxygénase

Une cyclo oxygénase (COX), ou prostaglandine-endoperoxyde synthase (PTGS), est une oxydoréductase qui catalyse la réaction :



Ces enzymes permettent la formation des prostanoides (prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes) à partir de l'acide arachidonique [3]. Son action est inhibée par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme l'aspirine.

Les COX-1 font partie d'une famille d'enzymes constitutives de l'organisme, qui se trouvent dans une immense majorité des cellules, et impliquées dans de nombreux mécanismes. Leur activité est indirectement liée à la production des thromboxanes.

Les COX-2 font partie d'une famille d'enzymes inductives par de multiples facteurs pro-inflammatoires (cytokines, interférons...). [4]

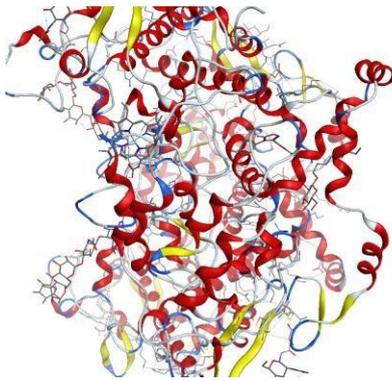


Figure14 : COX-1 non simplifiée

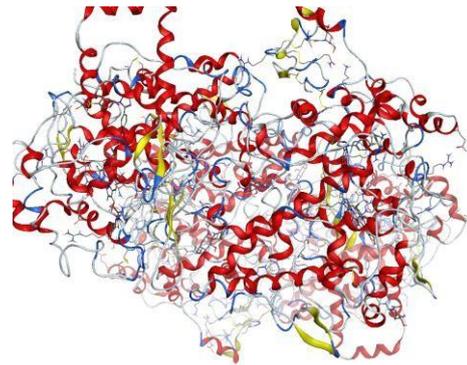


Figure15 : COX-2 non simplifiée

## 2. Phospholipase PLA<sub>2</sub>

Les phospholipases sont des enzymes qui hydrolysent les liaisons esters des phospholipides. [5]

Il existe quatre liaisons esters dans un phospholipide :

- Entre chacun des acides gras et le glycérol
- Entre le glycérol et le phosphate
- Entre le phosphate et l'alcool (choline, éthanolamine, sérine, glycérol, inositol, ...)

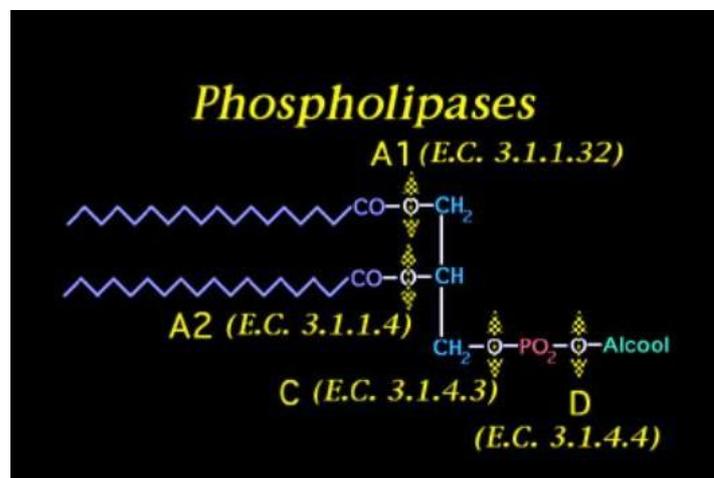


Figure16 : les liaisons esters de la phospholipase. [6]

Les phospholipases A2 forment un groupe d'enzymes qui hydrolysent la liaison ester des acides gras en position sn-2 des phospholipides. Ces enzymes jouent un rôle clef dans la biosynthèse du PAF-acether et dans la libération d'acide arachidonique, précurseur des prostaglandines et des autres eicosanoïdes, impliqués dans les processus inflammatoires et allergiques [7]. Les PLA2 secrétées sont les mieux caractérisées.

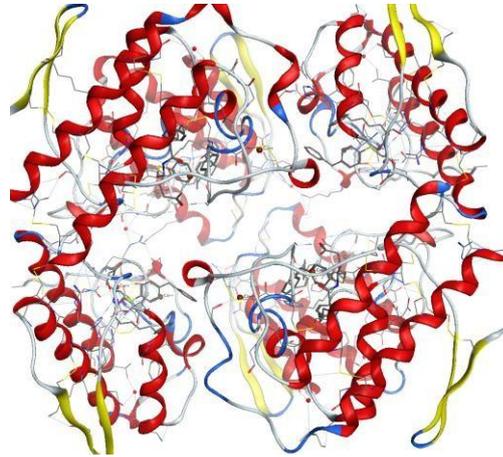


Figure17 : PLA<sub>2</sub> non simplifiée

Dans le tableau 3 on représente les différentes données cristallographiques pour les trois enzymes étudiées.

Tableau 3 : Données cristallographique pour les trois enzymes

Enzyme	Classification	Poids (KDa)	Chaine	Longueurs (Å)	Angles (°)	Résolution (Å)	Méthode
COX-1 Code (5U6X)	<u>Oxydoréductase</u>	144.03	A	a=181.463 b=181.463 c=103.5	$\alpha = 90$ $\beta = 90$ $\gamma = 120$	2,93	X-RAY DIFRACTION
COX-2 Code (1CX2)	Oxydoréductase	276.18	A	a = 180.34 b =133.92 c=121.14	$\alpha = 90$ $\beta = 90$ $\gamma = 90$	3.00	X-RAY DIFRACTION
PLA <sub>2</sub> Code (1KVO)	Hydrolase	87.17		a = 64.62 b =114.44 c=64.71	$\alpha = 90$ $\beta = 119$ $\gamma = 90$	2.00	X-RAY DIFRACTION

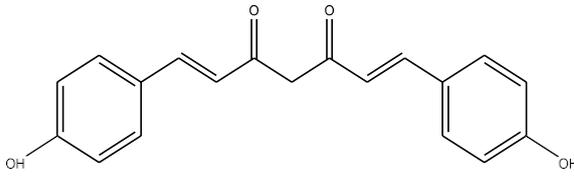
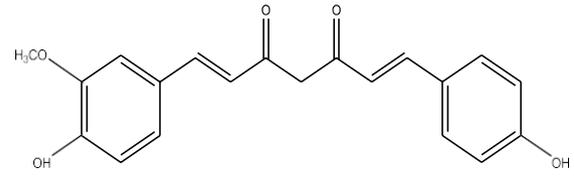
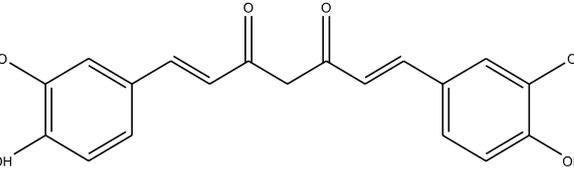
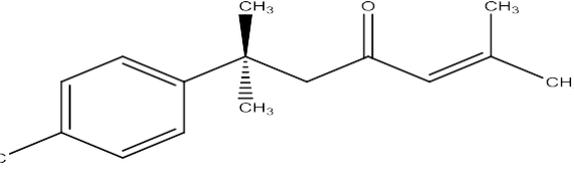
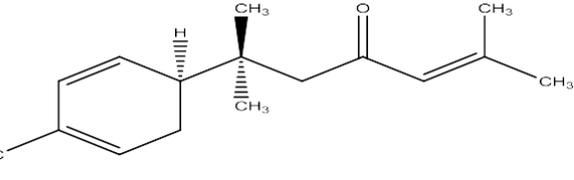
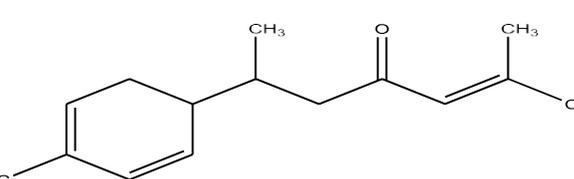
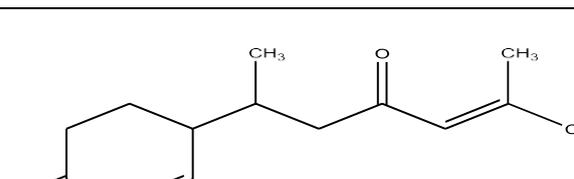
#### IV. Présentation des inhibiteurs

La curcumine est donc un composé issu du milieu naturel possédant de nombreuses fonctions chimiques accompagnées d'une structure la rendant particulièrement adaptable à plusieurs cibles moléculaires. Ceci lui procure une importance dans le domaine de la santé car elle est capable d'agir sur des cibles impliquées dans plusieurs processus physiopathologiques dont le plus étudié à ce jour est la cancérologie et l'inflammation. [8]

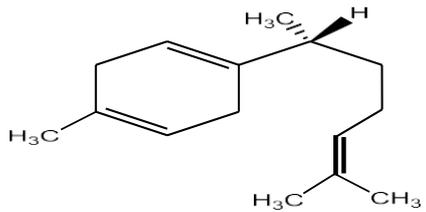
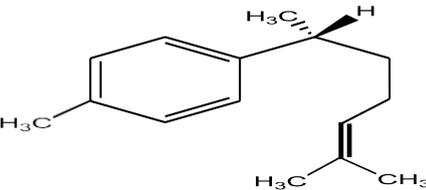
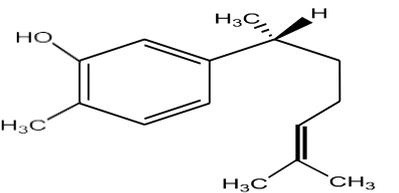
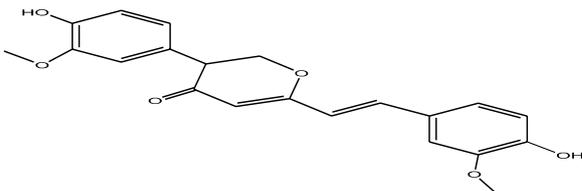
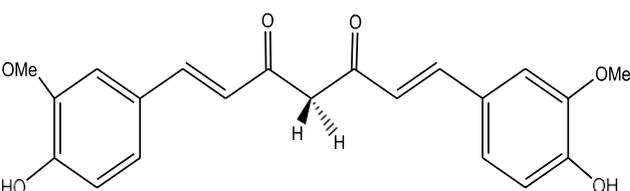
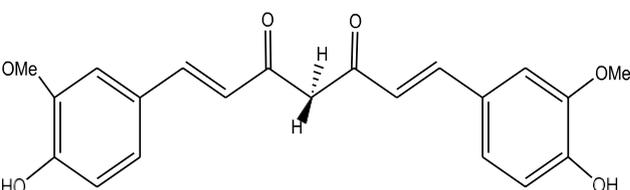
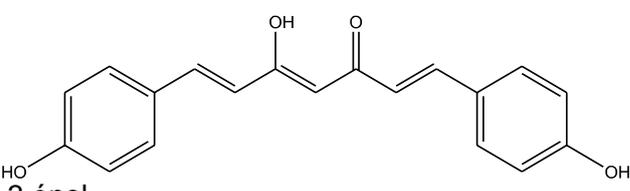
La curcumine et ses dérivés utilisés comme inhibiteurs des enzymes étudiées sont reporté dans le tableau 4.

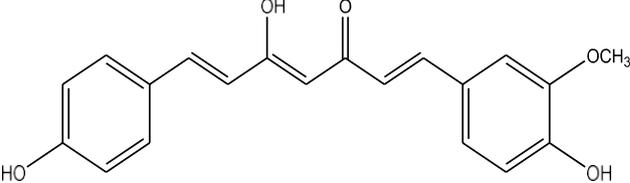
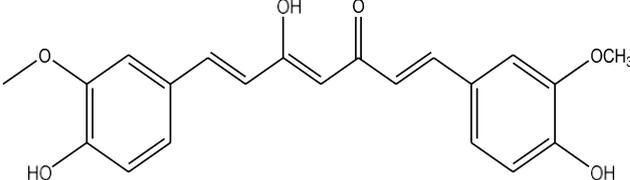
**Tableau 4** : Propriétés de la curcumine et ses dérivés choisis pour notre étude.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Ligands	Propriétés
<p><b>L1</b></p> 	<p>Toxic : no  Rsynth : 100.00%  Weight : 308.33  g/mol TPSA : 74.60  A<sup>2</sup>  logP : 3.35  logS : -3.96</p>
<p><b>L2</b></p> 	<p>Toxic : no  Rsynth : 100.00%  Weight : 338.36 g/mol  TPSA : 83.83 A<sup>2</sup>  logP : 3.36  logS : -4.01</p>
<p><b>L3</b></p> 	<p>Toxic : no  Rsynth : 100.00%  Weight : 368.38  g/mol TPSA : 93.06  A<sup>2</sup>  logP : 3.37  logS : -4.06</p>
<p><b>L4</b></p> 	<p>Toxic : no  Rsynth : 100.00%  Weight : 230.35  g/mol TPSA : 17.07  A<sup>2</sup>  logP : 4.20  logS : -4.29</p>
<p><b>L5</b></p> 	<p>Toxic : no  Rsynth : 17.65 %  Weight : 232.37  g/mol TPSA : 17.07  A<sup>2</sup>  logP : 4.46  logS : -3.95</p>
<p><b>L6</b></p> 	<p>Toxic : no  Rsynth : 18.75%  Weight : 218.34  g/mol TPSA : 17.07  A<sup>2</sup>  logP : 4.07  logS : -3.43</p>
<p><b>L7</b></p> 	<p>Toxic : no  Rsynth : 18.75%  Weight : 218.34  g/mol TPSA : 17.07  A<sup>2</sup>  logP : 4.07  logS : -3.43</p>

RESULTATS ET DISCUSSIONS

<p>L8</p> 	<p>Toxic : no            Rsynth :            0.00%            Weight : 204.36            g/mol TPSA : 0.00  <math>A^2</math>            logP : 5.04            logS : -4.69</p>
<p>L9</p> 	<p>Toxic : no            Rsynth :            46.67%            Weight : 202.34            g/mol TPSA : 0.00A<sup>2</sup>            logP : 4.84            logS : -5.22</p>
<p>L10</p> 	<p>Toxic : no            Rsynth :            0.00%            Weight : 218.34            g/mol TPSA : 20.23  <math>A^2</math>            logP : 4.55            logS : -4.54</p>
<p>L11</p> 	<p>Toxic : no            Rsynth : 100.00%            Weight : 368.38            g/mol TPSA :  <math>85.22A^2</math>            logP : 3.40            logS : -4.02</p>
<p>L3 cis</p> 	<p>Toxic : no            Rsynth : 100.00%            Weight : 368.38            g/mol TPSA :  <math>93.06A^2</math>            logP : 3.37            logS : -4.06</p>
<p>L3 trans</p> 	<p>Toxic : no            Rsynth : 100.00%            Weight : 368.38            g/mol TPSA  <math>:93.06A^2</math>            logP : 3.37            logS : -4.06</p>
<p>L3 éno</p> 	<p>Toxic : no            Rsynth : 100.00%            Weight : 368.38            g/mol TPSA  <math>:96.22A^2</math>            logP : 3.85            logS : -4.03</p>

 <p>L2 énonol</p>	<p>Toxic : no            Rsynth : 100.00%            Weight : 338.36            g/mol TPSA :86.99  <math>A^2</math>            logP : 3.84            logS : -3.98</p>
 <p>L1 énonol</p>	<p>Toxic : no            Rsynth : 100.00%            Weight : 308.33            g/mol TPSA :77.76  <math>A^2</math>            logP : 3.84            logS : -3.93</p>

## V. Démarche à suivre

### 1. Préparation du ligand :

- Les ligands (inhibiteurs) sont dessinés en utilisant le logiciel Chemdraw8.0.
- L'optimisation a été effectuée à l'aide de logiciel MOE. (**Molecular Operating Environment**) [12].

### 2. Préparation de L'enzyme :

- Téléchargement des enzymes à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank.
- Simplification une des deux chaînes.
- Elimination des molécules d'eau.
- Elimination des inhibiteurs de la Co-cristallisation
- Détermination du site actif des enzymes : Les enzymes sont constituées de plusieurs sites actifs. Le logiciel MOE nous a permis d'identifier et présenter les résidus qui forment le site actif en utilisant le module « Site Finder » qui comprend un outil pour la détection de la cavité enzymatique, ainsi que le site le plus favorable. [9,10]

### 3. L'optimisation des enzymes et des inhibiteurs :

- L'optimisation de la géométrie des trois enzymes **figure 18,19,20** a été exécutée à l'aide du champ de forces **MMFF94x** implémenté dans le logiciel MOE (**Molecular Operating Environment**). [11]
- La chaîne principale a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles.

Cette approximation permet aux chaînes latérales des protéines de trouver plus facilement la position dans laquelle les interactions sont les plus favorables.

#### 4. Docking moléculaire :

Après la préparation des enzymes et les inhibiteurs nous arrivons à l'étape du Docking moléculaire c'est-à-dire le positionnement des inhibiteurs dans le site actif de l'enzyme, une fois que le complexe est formé nous allons effectuer un calcul de mécanique moléculaire pour chercher la conformation la plus stable, et enfin l'analyse des résultats. [12]

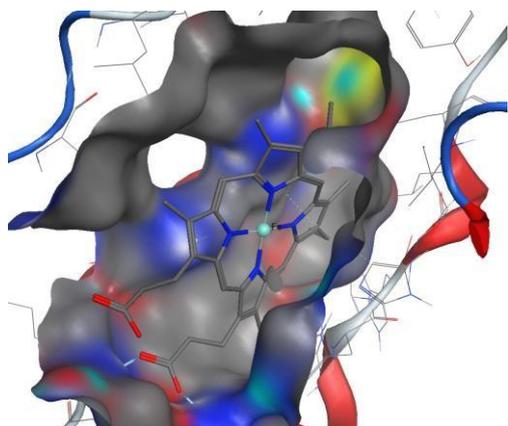


Figure18 : COX-1 simplifiée (code :5U6X)

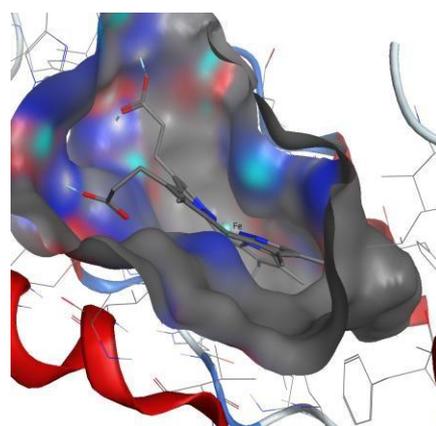


Figure19 : COX-2 simplifiée (code : 1CX2)

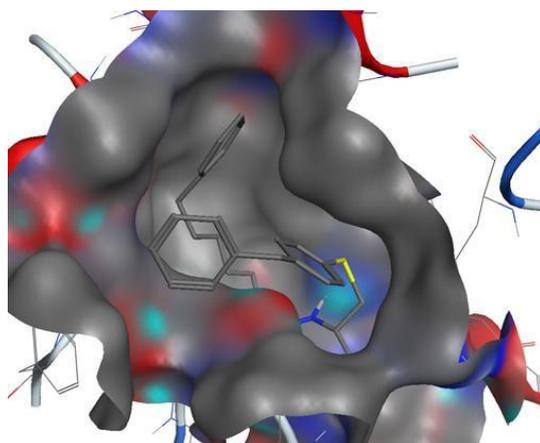


Figure20: PLA2 simplifiée (code : 1KVO)

## VI. Résultats et discussions.

Les résultats des énergies des complexes formés entre COX-1, COX-2 et PLA2 et les différents ligands choisis pour notre étude sont regroupés dans **les tableaux (5,6)** suivants :

**Tableau 5** : Energies des complexes formés entre l'enzyme COX-1 et COX-2 et les dérivés de la curcumine.

Complexes	Enzyme COX-1 (5U6X)			Enzyme COX-2 (1CX2)		
	Nombre de poses	E score Kcal/mol	RMSD	Nombre de poses	E score Kcal/mol	RMSD
Ligand de référence	10	-10.9201	5.8555	10	-9.7760	1.3776
Enzyme_L1	9	-6.5680	2.1739	9	-7.0730	1.4054
Enzyme_L2	10	-7.5241	1.9051	10	-6.7230	3.2628
Enzyme_L3	10	-7.3681	2.3110	10	-6.7999	2.5378
Enzyme_L4	9	-5.7942	1.6271	10	-5.8835	1.1008
Enzyme_L5	10	-5.1910	3.1645	9	-5.6591	1.2152
Enzyme_L6	8	-6.3154	1.6137	10	-5.9353	1.7424
Enzyme_L7	10	-6.1741	2.4415	10	-5.5027	2.3173
Enzyme_L8	10	-6.2759	1.4325	10	-5.8773	1.5788
Enzyme_L9	9	-6.2175	1.6650	9	-6.1669	1.3332
Enzyme_L10	10	-6.5803	1.0241	9	-6.0981	3.5939
Enzyme_L11	9	-6.8320	2.8679	10	-6.6799	1.0362
Enzyme_L3 trans	9	-7.9300	2.4069	8	-7.3772	2.4395
Enzyme_L3 cis	10	-7.4814	1.3851	10	-7.0258	1.6031
<b>Enzyme_L3 éno</b>	<b>10</b>	<b>-8.4025</b>	<b>1.6060</b>	<b>10</b>	<b>-7.5298</b>	<b>1.4424</b>
Enzyme_L2 éno	10	-7.4926	2.1920	10	-7.0391	1.8811
Enzyme_L1 éno	8	-6.6031	2.0640	9	-7.2262	1.5867
Enzyme_F1	8	-5.8735	3.5829	10	-6.1072	6.9326
Enzyme_F2	5	-6.0044	3.0769	7	-5.1403	5.1447
Enzyme_I	7	-6.5074	3.8161	9	-5.7111	5.2718
Enzyme_Z	9	-5.5985	4.9576	10	-6.0464	1.4351

### COX-1

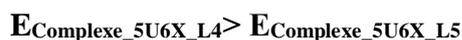
$E_{\text{Complexe\_5U6X\_L3 éno}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L2 éno}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L3 trans}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L2}} >$   
 $E_{\text{Complexe\_5U6X\_L3 cis}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L3}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L11}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L1 éno}} >$   
 $E_{\text{Complexe\_5U6X\_L10}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L1}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L6}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L7 éno}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L18}}$   
 $E_{\text{Complexe\_5U6X\_L9}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L4}} > E_{\text{Complexe\_5U6X\_L5}}$



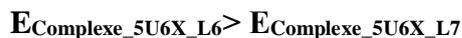
- Le complexe 5U6X\_L2 est plus stable que le complexe 5U6X\_L3, l'introduction d'un groupement méthoxy au niveau du deuxième cycle aromatique diminue la stabilité du complexe 5U6X\_L3.
- Le complexe 5U6X\_L3 est plus stable que le complexe 5U6X\_L1 due à la présence des groupements méthoxy ce qui augmente la stabilité du complexe 5U6X\_L3.



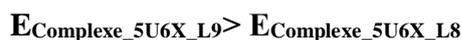
- Le complexe 5U6X\_L3 éno1 est plus stable que le complexe 5U6X\_L2, l'effet donneur de deux groupement methoxy augmente la stabilité du Complexe\_5U6X\_L3 éno1 par rapport au EComplexe\_5U6X\_L2 éno1
- Le complexe 5U6X\_L2éno1 est plus stable que le complexe 5U6X\_L1enol, l'absence du groupement methoxy dans le ligand L1 éno1 diminue la stabilité du complexe 5U6X\_L1enol



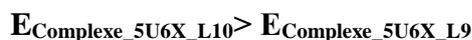
- Le complexe 5U6X\_L4 est plus stable que le complexe 5U6X\_L5, la conjugaison du cycle aromatique augmente la stabilité du complexe 5U6X\_L4.



- Le complexe 5U6X\_L6 est plus stable que le complexe 5U6X\_L7, la conjugaison à l'intérieur du cycle augmente la stabilité du complexe 5U6X\_L6 par rapport au complexe 5U6X\_L7, la conjugaison à l'extérieur du cycle.



- Le complexe 5U6X\_L9 est plus stable que le complexe 5U6X\_L8 la conjugaison du cycle aromatique augmente la stabilité du complexe 5U6X\_L9 ce n'est pas le cas dans le complexe 5U6X\_L8 (pas de conjugaison dans le cycle).



- La présence d'un groupement (hydroxyle) augmente la stabilité du complexe 5U6X\_L10 par rapport au complexe 5U6X\_L9.



- Le complexe 5U6X\_L3 trans est plus stable que le complexe 5U6X\_L3 cis, lorsque les groupements sont de part et d'autre du plan, il n'y a pas de gêne stérique ce qui augmente la stabilité du complexe Complexe\_5U6X\_L3 trans par rapport au complexe\_5U6X\_L3 cis.

**COX-2**

$E_{\text{Complexe\_1CX2\_L3}\acute{\text{e}}\text{no}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L3trans}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L1}\acute{\text{e}}\text{no}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L1}} >$   
 $E_{\text{Complexe\_1CX2\_L2}\acute{\text{e}}\text{no}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L3cis}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L3}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L2}} >$   
 $E_{\text{Complexe\_1CX2\_L11}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L9}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L10}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L6}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L4}}$   
 $> E_{\text{Complexe\_1CX2\_L8}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L5}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L7}}$

$E_{\text{Complexe\_1CX2\_L1}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L3}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L2}}$

- Le complexe 1CX2\_L1 est plus stable que le complexe 1CX2\_L3, la présence de deux groupements Methoxy (OCH<sub>3</sub>) provoque une gêne stérique donc diminution de la stabilité du complexe.

Le complexe 1CX2\_L1 est plus stable que le complexe 1CX2\_L2. la présence d'un seul groupement méthoxy au niveau du ligand L2 diminue la stabilité du Complexe\_1CX2\_L2

$E_{\text{Complexe\_1CX2\_L3}\acute{\text{e}}\text{no}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L1}\acute{\text{e}}\text{no}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L2}\acute{\text{e}}\text{no}}$

- Le complexe 1CX2\_L3 éno est plus stable que le complexe 1CX2\_L2 éno la présence deux groupements méthoxy au niveau du ligand L3 augmente la stabilité du Complexe EComplexe\_1CX2\_L3 éno

$E_{\text{Complexe\_1CX2\_L4}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L5}}$

- Le complexe 1CX2\_L4 est plus stable que le complexe 1CX2\_L5, la conjugaison du cycle aromatique augmente la stabilité du complexe 1CX2\_L4 ce n'est pas le cas dans le complexe 1CX2\_L5

$E_{\text{Complexe\_1CX2\_L6}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L7}}$

- Le complexe 1CX2\_L6 est plus stable que le complexe 1CX2\_L7, la conjugaison à l'intérieur du cycle augmente la stabilité du complexe 1CX2\_L6 par rapport au complexe 1CX2\_L7, la conjugaison à l'extérieur du cycle.

$E_{\text{Complexe\_1CX2\_L9}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L8}}$

- Le complexe 1CX2\_L9 est plus stable que le complexe 1CX2\_L8 la présence du cycle aromatique augmente la stabilité du complexe 1CX2\_L9 ce n'est pas le cas dans le complexe 1CX2\_L8 (pas de conjugaison dans le cycle).

$E_{\text{Complexe\_1CX2\_L9}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L10}}$

- Le complexe 1CX2\_L9 est plus stable que le complexe 1CX2\_L10, la présence du groupement hydroxyle diminue la stabilité du ligand parce qu'il provoque une gêne stérique.

$$E_{\text{Complexe\_1CX2\_L3 trans}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L3 cis}}$$

- Le complexe 1CX2\_L3 trans est plus stable que le complexe 1CX2\_L3 cis, lorsque les groupements sont de part et d'autre du plan il n'y a pas de gêne stérique ce qui augmente la stabilité du complexe Complexe\_1CX2\_L3 trans par rapport au Complexe\_1CX2\_L3 cis.

**Tableau 6** : Energies des complexes formés entre l'enzyme PLA2 et les dérivés de la curcumine

Ligands	Nombre de poses	E score Kcal/mol	RMSD
Ligand de référence	10	-9.4727	2.6375
1KVO_L1	7	-6.4660	3.4660
1KVO_L2	10	-6.8939	3.4553
1KVO_L3	7	-6.8961	2.2285
1KVO_L4	9	-6.2437	2.4004
1KVO_L5	10	-5.7752	2.1693
1KVO_L6	7	-5.8049	1.2427
1KVO_L7	9	-6.0684	1.3378
1KVO_L8	10	-5.7259	1.9385
1KVO_L9	8	-6.0042	1.0379
1KVO_L10	10	-5.9383	1.6105
1KVO_L11	7	-6.4500	1.5757
1KVO_L3 trans	10	-7.7091	1.5701
1KVO_L3 cis	10	-8.1135	1.2128
1KVO_L3 éno1	10	-7.5597	1.2132
1KVO_L2 éno1	9	-7.9008	1.7247
<b>1KVO_L1 éno1</b>	<b>8</b>	<b>-8.1414</b>	<b>1.0414</b>

$$E_{\text{Complexe\_1KVO\_L1éno1}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L3Cis}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L2éno1}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L3trans}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L3éno1}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L3}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L2}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L1}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L11}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L4}} > E_{\text{Complexe\_1CX2\_L7}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L9}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L10}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L6}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L5}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L8}}$$

$$E_{\text{Complexe\_1KVO\_L2}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L3}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L1}}$$

- Le complexe 1KVO\_L2 est plus stable que le complexe 1KVO\_L3, la présence de deux groupements méthoxy dans deux cycles benzène différents provoque une gêne stérique donc diminution de la stabilité du complexe.
- Le complexe 1KVO\_L3 est plus stable que le complexe 1KVO\_L1 cette stabilité est due à la présence de deux groupements méthoxy.

$$E_{\text{Complexe\_1KVO\_L3 \acute{e}nol}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L2 \acute{e}nol}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L1 \acute{e}nol}}$$

- Le complexe 1KVO\_L3 énonol est plus stable que le complexe 1KVO\_L2 énonol, la présence du deux groupement methoxy augmente la stabilité de complexe
- Le complexe 1KVO\_L2 énonol est plus stable que le complexe 1KVO\_L1 énonol, l'absence du groupement methoxy dans le ligand L1 diminue la stabilité du complexe Complexe\_1KVO\_L1 énonol par rapport au Complexe\_1KVO\_L2 énonol.

$$E_{\text{Complexe\_1KVO\_L4}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L5}}$$

- Le complexe 1KVO\_L4 est plus stable que le complexe 1KVO\_L5, la conjugaison du cycle aromatique augmente la stabilité du complexe 1KVO\_L4.

$$E_{\text{Complexe\_1KVO\_L9}} > E_{\text{Complexe\_1KVO\_L8}}$$

- Le complexe 1KVO\_L9 est plus stable que le complexe 1KVO\_L8 la conjugaison du cycle aromatique augmente la stabilité du complexe 1KVO\_L9

## 1. Etude comparative entre les meilleurs ligands et les produits commercialisés.

D'après les résultats obtenus et reportés dans le **tableau 7** on remarque que :

- Les inhibiteurs choisis dans notre étude inhibent mieux les enzymes la cyclooxygénase et la phospholipase que les produits commercialisés.
- Le ligand L3énonol dérivé de la curcumine d'énergie égale à **-8.4025 kcal/mol** inhibe mieux l'enzyme COX-1 que l'enzyme COX-2 et PLA2 choisie dans notre étude.
- Le ligand L1énonol dérivé de la curcumine d'énergie égale à **-8.1414 kcal/mol** inhibe mieux l'enzyme PLA2 que COX-1 et l'enzyme COX-2 choisie dans notre étude

A la lumière de ces résultats on prédit que le ligand L3 dérivé de la curcumine est probablement le meilleur inhibiteur pour l'enzyme COX-1 et le ligand L1 inhibe l'enzyme PLA2 que COX\_1 et COX\_2. Pour cela on propose la synthèse deux ligands et de réaliser les tests d'activité biologiques tel que l'activité antioxydante, toxicité...

**Tableau 7** : Résultats des énergies des complexes formés entre les enzymes choisies et les ligands et les produits commercialisés

<b>Ligand</b>	<b>COX-1</b> E (kcal/mol)	<b>COX-2</b> E (kcal/mol)	<b>PAL2</b> E (kcal/mol)
Ligand de référence	-10.9201	-9.7760	-9.4727
<b>Enzyme_L3 énoI</b>	<b>-8.4025</b>	<b>-7.5298</b>	-7.5597
Enzyme_L1 énoI	-6.6031	-7.2262	<b>-8.1414</b>
Enzyme_F1	-5.8735	-6.1072	-5.1466
Enzyme_F2	-6.0044	-5.1403	-5.4082
Enzyme_I	-6.5074	-5.7111	-5.7658
Enzyme_Z	-5.5985	-6.0464	-5.7735

## 2. Root-mean-square deviation (RMSD)

L'écart quadratique moyen (RMSD) est une mesure fréquemment utilisée de la différence entre deux ensembles de valeurs (comparant généralement les données observées aux données estimées).

Le RMSD inférieur à 2 Å est considérés comme faible, et entre 2Å et 4 Å est supposée moyen et supérieure à 4 Å est fort. ( $RMSD \leq 2$ ),

Pour la validation du protocole, les résultats du Docking moléculaire des complexes (complexe enzyme- dérivé de la curcumine) présentent une valeur de  $RMSD < 2$ .

Le RMSD de nos ligands est entre 0 et 2, la prédiction du ligand est acceptable si la valeur ne dépasse pas 2 Å [13], ce qui signifie que notre protocole d'amarrage est valide

**Tableau 8** : RMSD des meilleurs complexes (enzymes –ligands) et des produits commercialisés

<b>Ligand</b>	<b>RMSD</b> COX-1	<b>RMSD</b> COX-2	<b>RMSD</b> PAL2
Ligand de référence	5.8555	1.3776	2.6375
<b>Enzyme_L3 énoI</b>	<b>1.4424</b>	<b>1.4424</b>	1.2132
<b>Enzyme_L1 énoI</b>	<b>2.0640</b>	<b>1.5867</b>	<b>1.0414</b>
Enzyme_F1	3.5829	6.9326	3.0598
Enzyme_F2	3.0769	5.1447	3.8198
Enzyme_I	3.8161	5.2718	5.3861
Enzyme_Z	4.9576	1.4351	3.2647

### 3. Stabilité selon les interactions.

Les distances mesurées varient entre **3.16 Å** et **4.17 Å**. Ces valeurs sont applicables aux carbohydrates selon *Imberty* [14], On peut par analogie concernant nos macromolécules pouvoir appliqués ces intervalles.

D'après les résultats obtenus des interactions formé entre les ligands et les résidus du site actif des enzymes COX-1 et PLA<sub>2</sub> sont des liaisons hydrogène moyennes. On conclue qu'on a une meilleure fixation du ligand dans le site actif.

**Tableau 9** : Résultats des interactions et les distances formés entre (COX-1) et les ligands

Les complexes	Ligands	Récepteur	Types d'acide aminé	Interactions	Distances en Å	Energies (kcal/mol)
<b>5u6x_L3 éno</b>	<b>C 18</b>	<b>5-ring</b>	<b>HIS 207</b>	<b>H-pi</b>	<b>4.17</b>	<b>-1.3</b>
5u6x_L1 éno	6-ring	CA	LYS 211	pi-H	4.31	-0.7
5U6X_F1	O 24	N	THR 212	H-accepteur	3.24	-2.0
	O 24	OG1	THR 212	H-accepteur	3.12	-1.7
	O 24	NE2	HIS 207	ionic	3.51	-1.9
5U6X_F2	O 15	N	THR 212 (A)	H-accepteur	3.23	-2.1
	O 15	OG1	THR 212 (A)	H-accepteur	3.14	-1.5
	O 15	NE2	HIS 207(A)	ionic	3.48	-2.0
5U6X_I	O 35	NE2	HIS 386 (A)	H- donneur	3.22	-0.7
5U6X_Z	N 19	O	ALA 199(A)	H-donneur	3.19	-1.1
	5-ring	CG	GLN 203(A)	Pi-H	4.67	-0.9
	5-ring	CE1	HIS 207(A)	Pi-H	3.89	-1.9

**Tableau 10** : Résultats des interactions et les distances formés entre (COX-2) et les ligands

Les complexes	Ligands	Récepteur	Types d'acide aminé	Interactions	Distances en Å	Energies (kcal/mol)
1CX2_L3 éno	-	-	-	-	-	-
1CX2_L1 éno	6-ring	N	THR 212	pi-H	3.94	-1.0
1CX2_F1	O 24	OG1	THR 212 (A)	H- accepteur	3.14	-2.1
	O 24	ND2	ASN 382 (A)	H-accepteur	3.32	-2.8
	O 25	NE2		Ionic	3.01	-4.4
1CX2_F2	O 15	ND1	HIS 388 (A)	Ionic	3.79	-1.0
1CX2_I	O 34	OG1	THR 212 (A)	H- accepteur	2.86	-2.1
	O34	ND1	ASN 382 (A)	H-accepteur	3.29	-1.6
1CX2_Z	-	-	-	-	-	-

**Tableau11** : Résultats des interactions et les distances formés entre (PLA<sub>2</sub>) et les ligands

Les complexes	Ligands	Récepteur	Types d'acide aminé	Interactions	Distances en Å	Energies (kcal/mol)
1KVO_L3 éno	O 11	OE2	GLU 55 (A)	H- donneur	3.16	-1.2
	6-ring	CB	LEU 2 (A)	Pi-H	4.63	-0.6

<b>1KVO_L1 émol</b>	6-ring	NZ	LYS 62 (A)	Pi-cation	3.90	-0.8
1KVO_F1	O 24	CA	VAL 30 (A)	H-accepteur	3.53	-0.6
	O 24	N	GLY 31 (A)	H-accepteur	3.41	-2.5
	O 25	NZ	LYS 62 (A)	H-accepteur	2.77	-7.1
	O 24	NZ	LYS 62 (A)	Ionic	3.79	-1.0
	O 25	NZ	LYS 62 (A)	Ionic	2.77	-6.3
	6-ring	CA	GLY 29 (A)	Pi-H	4.65	-0.7
1KVO_F2	O 14	N	GLY 31 (A)	H-accepteur	2.94	-6.5
	O 15	NZ	LYS 62 (A)	H-accepteur	2.89	-11.2
	O 15	NZ	LYS 62 (A)	Ionic	2.89	-5.3
	6-ring	CA	GLY 29 (A)	Pi-H	4.59	-0.7
1KVO_I	O 34	NZ	LYS 62 (A)	H-accepteur	3.26	-6.1
1KVO_Z	O 27	O	GLY 29 (A)	H-donneur	3.39	-0.8
	O 22	N	GLY 31 (A)	H-accepteur	3.31	-1.5
	O 22	NZ	LYS 62 (A)	H-accepteur	3.69	-0.6
	6-RING	CA	GLY 29 (A)	Pi-H	3.97	-0.6

#### 4. La cavité enzymatique

La formation d'un complexe stable dépend de la fixation de l'inhibiteur dans le site actif. La présentée ci-dessus montre que les ligands **L3 émol** et **L1émol** (figure 25,28) prend une forme dans la cavité enzymatique formé par les résidus du site actif, ce qui signifie qu'il y a des interactions qui stabilisent le complexe et par la suite, une meilleure fixation de ces inhibiteurs au niveau de la cavité de l'enzyme.

Signalons que nous ne pouvons discuter de complémentarité croissante ou décroissante que dans l'intervalle des dimensions de la poche du site actif, présentant dans notre cas une géométrie de : [15]

- COX-1 13.47 Å de profondeur et une largeur de 10.95 Å figure 21
- COX-2 16.42 Å de profondeur et une largeur de 10.47 Å figure 23
- PLA2 15.72 Å de profondeur et une largeur de 10.97 Å figure 26

L'examen de la cavité enzymatique et le calcul des distances entre les inhibiteurs et les chaînes latérales des résidus constitutifs du site actif et des énergies obtenus confirment que les inhibiteurs **L3, et L1** présentent une interaction et une meilleure complémentarité avec le récepteur COX-1 et PLA2 respectivement

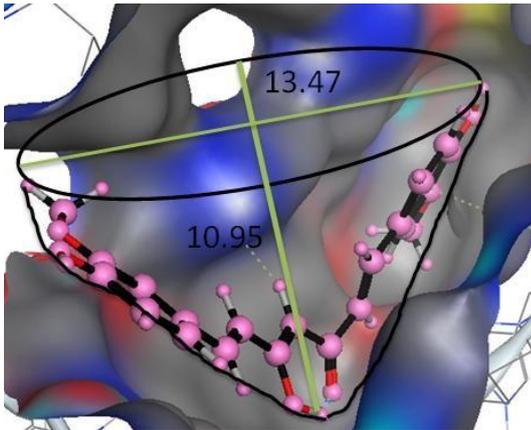


Figure 21 : La cavité enzymatique de COX-1 L3 énéol

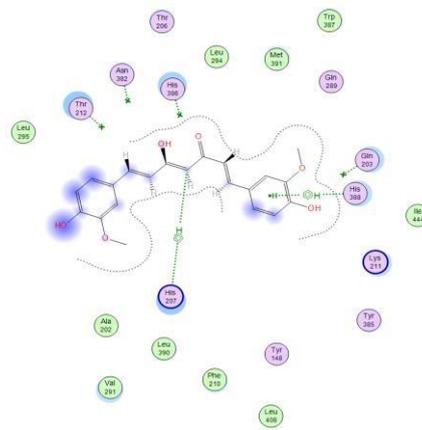


Figure 22 : les interactions de COX-1 L3 énéol

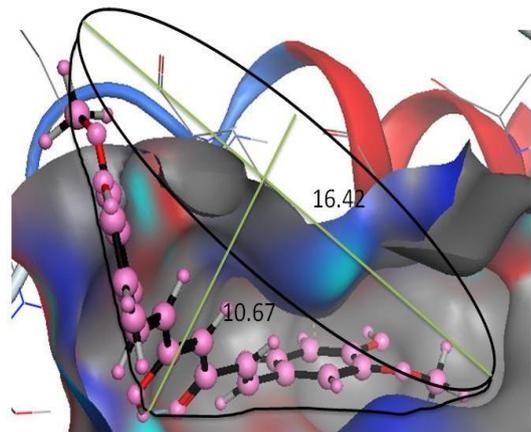


Figure 23 : La cavité enzymatique de COX-2 L3 énéol

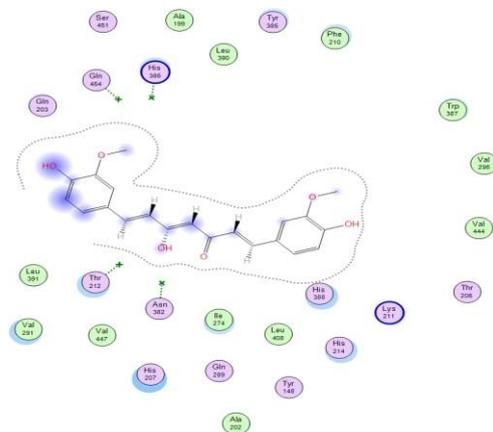


Figure 24 : les interactions de COX-2 L3 énéol

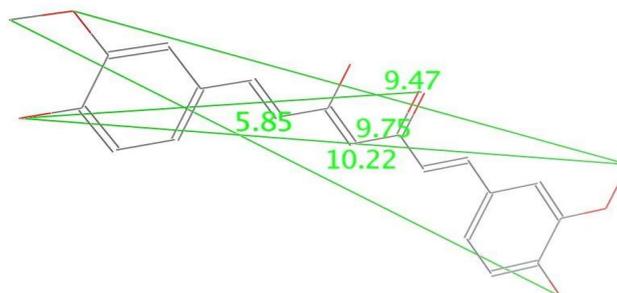
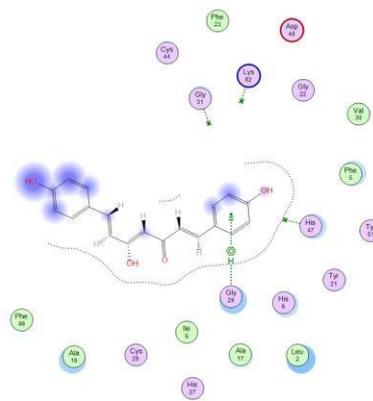
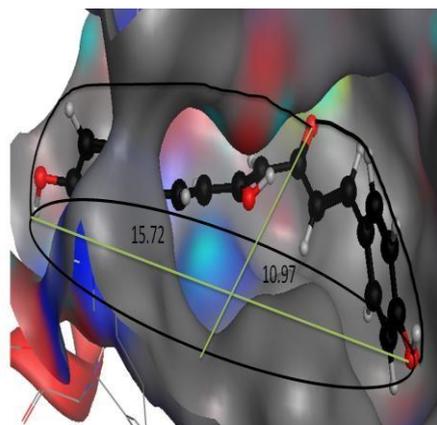
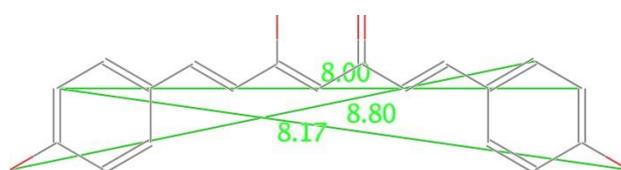


Figure 25 : L3 énéol



**Figure26** :La cavité enzymatique de 1KOV L1 énoI **Figure27** :les interactions de 1KVO L1 énoI



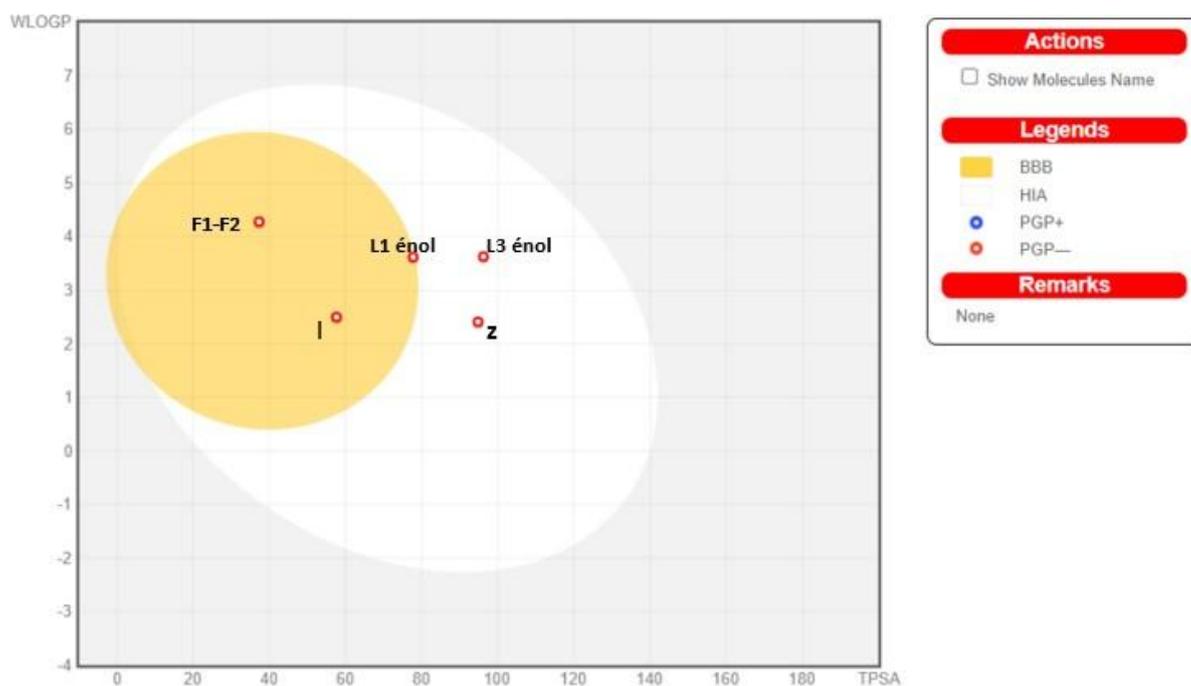
**Figure28** : L1 énoI

## 5. Évaluation silico des propriétés ADME et de la similarité des médicaments

De nombreux échecs de développement de médicaments en termes de toxicité et d'efficacité sont dus à une mauvaise pharmacocinétique et biodisponibilité.

L'absorption gastro-intestinale et l'accès au cerveau sont deux comportements pharmacocinétiques cruciaux à estimer à différentes étapes du processus de découverte d'un médicament. À cette fin, la méthode de perméation cérébrale ou intestinale Estimate D (BOILED-Egg) est proposée comme un modèle prédictif précis qui fonctionne en calculant la lipophilie et la polarité des petites molécules. Les prédictions concomitantes pour la perméation cérébrale et intestinale sont obtenues à partir de deux descripteurs physico-chimiques et directement traduites en conception moléculaire en raison de la rapidité, de la précision, de la simplicité conceptuelle et de la clarté graphique du modèle. Le BOILED-Egg peut être appliqué dans divers contextes, depuis le filtrage de bibliothèques chimiques aux premiers stades de la découverte de médicaments jusqu'à l'évaluation de médicaments candidats au développement [16].

D'après la **figure 29** Ci-dessous, l'inhibiteur L1 énoI, Flubiprofène F1, Flubiprofène F2 et Indoprofène I traversent la membrane cérébrale, tandis que L3 énoI et le Zileuton Z traverse la membrane gastro-intestinale.



**Figure29** : Test et utilisations illustratives du BOILED-Egg.

Les points bleus correspondent aux molécules dont on prédit qu'elles seront éliminées du système nerveux central par la P-glycoprotéine. Les points rouges correspondent aux molécules dont on prédit qu'elles ne seront pas éliminées du système nerveux central par la P-glycoprotéine. Les points situés dans le jaune d'œuf bouilli correspondent aux molécules dont on prédit qu'elles traverseront passivement la barrière hémato-encéphalique. Les points situés dans le vitellus d'œuf bouilli correspondent aux molécules dont on prédit qu'elles seront absorbées passivement par le tractus gastro-intestinal.

De nombreux agents thérapeutiques potentiels n'atteignent pas les essais cliniques en raison de leurs paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination (ADME) défavorables et ne font pas l'objet de tests de similarité. Les calculs des propriétés physicochimiques, lipophiles, pharmacocinétiques et de délivrance des médicaments ont été effectués en ligne (<http://www.swisseADME.ch>). Les résultats sont présentés dans le tableau12.



**Tableau 12** : propriétés physicochimiques des meilleurs ligands et produits commercialisés

Ligands	Lipinski : [17] *MW ≤ 500 *MLOGP ≤ 4.15	Veber: [18] *R. B ≤ 10 *TPSA ≤ 140 Å <sup>2</sup>	Egan : [19] *WLOGP ≤ 5.88 *TPSA ≤ 131.6 Å <sup>2</sup>	Vérification
<b>L3 énoI</b>	*MW=368.38 g/mol *MLOGP=1.47	*R. B =7 *TPSA=96.22 Å <sup>2</sup>	*WLOGP=3.63 *TPSA=96.22Å <sup>2</sup>	Les 3 règles sont vérifiées
<b>L1 énoI</b>	*MW=308.33 g/mol *MLOGP=2.13	*R. B =5 *TPSA=77.76Å <sup>2</sup>	*WLOGP=3.62 *TPSA=77.76 Å <sup>2</sup>	Les 3 règles sont vérifiées
<b>F1</b>	*MW=258.29g/mol *MLOGP=4.04	*R. B =3 *TPSA=37.30 Å <sup>2</sup>	*WLOGP=4.28 *TPSA=37.30 Å <sup>2</sup>	Les 3 règles sont vérifiées
<b>F2</b>	*MW=258.29g/mol *MLOGP=4.04	*R. B =3 *TPSA=37.30 Å <sup>2</sup>	*WLOGP=4.28 *TPSA=37.30 Å <sup>2</sup>	Les 3 règles sont vérifiées
<b>I</b>	*MW=281.31g/mol *MLOGP=2.64	*R. B =3 *TPSA=57.61 Å <sup>2</sup>	*WLOGP=2.50 *TPSA=57.61Å <sup>2</sup>	Les 3 règles sont vérifiées
<b>Z</b>	*MW=236.29g/mol *MLOGP=2.64	*R. B =3 *TPSA=94.80 Å <sup>2</sup>	*WLOGP=2.41 *TPSA=94.80 Å <sup>2</sup>	Les 3 règles sont vérifiées

Au vu des résultats obtenus, les ligands retenus vérifient la règle de Lipinski ( $MW \leq 500$ ,  $\text{LogP} \leq 4,15$ , N ou O  $\leq 10$  et NH  $\leq 5$ ), la règle de Veber ( $\text{TPSA} \leq 140$  et liaison rotative  $\leq 10$ ) et la règle d'Eggan ( $\text{LogP} \leq 5,88$  et  $\text{TPSA} \leq 131,6$ ). En conclusion, on peut prédire que ces composés ne devraient pas poser de problèmes de biodisponibilité orale et montre donc l'utilité possible pour développer le composé avec de bonnes propriétés médicamenteuses.

### Conclusion

La curcumine peut exister sous au moins deux formes tautomères, cétonique et énolique. La forme énol est énergétiquement plus stable en phase solide et en solution [20]. A la lumière des résultats obtenus montrent bien :

- Complexe\_5U6X\_L3énol est plus Complexe\_5U6X\_L3 d'énergie respectivement - 8.4025Kcal/mol -7.3681 kcal/mol
- Complexe\_1CX2\_L3énol est plus Complexe\_1CX2\_L3 d'énergie respectivement - 7.5298 Kcal/mol 6.7999kcal/mol
- Complexe\_1KVO\_L3énolest plus Complexe\_1KVO\_L3 d'énergie respectivement - 8.1414 Kcal/mol -6.4660 Kcal/mol

### Les références :

- [1]- MOSTEFAOUI Larbi. « Modélisation de l'interaction enzyme –macromolécules biologique dans un solvant : Cas de la Maladie de L'HYPERTENSION ARTERIELLE (HTA) ». *Thèse Doctorat*. Université de TLEMCEM. 2021
- [2]- TALEB Bouchra. « Etude de l'interaction enzyme – substrat par modélisation moléculaire : Cas de la maladie du cancer ». *Mémoire master*. Université de TLEMCEM. 2020.
- [3]- <https://fr.wikipedia.org/wiki/Cyclooxygenase> Consulté le 19/06/2021
- [4]- Nabil F, Liliane L, Thierry C et Charles B, « Selective cyclooxygenase-2 inhibition directly increases human vascular reactivity to norepinephrine during acute inflammation », *Cardiovascular Research*, vol. 81. 269–27.2009
- [5]- <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/MMbioch/POLY.Chp.3.2.html> consulté le 16/06/2021
- [6]- <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/MMbioch/POLY.Chp.3.2.html> consulté le 16/06/2021
- [7]- Marc D, Frédéric B, Alain M. « Inhibition des phospholipases A2 des types I et II par des substances d'origine végétale. » *Acta bot. Gallica*, 144 (4), 481-484.1997
- [8]- Jean-Pierre Jourdan. « Curcuma et curcumine : de l'histoire aux intérêts thérapeutiques » *Thèse d'Etat de Docteur en Pharmacie*. Caen France 2015.
- [9]- Bledsoe, R.K., Madauss, K.P., Holt, J.A., Apolito, C.J., Lambert, M.H., Pearce, K.H., Stanley, T.B., Stewart, E.L., Trump, R.P., Willson, T.M., Williams, « S.P.A ligand-mediated hydrogen bond network required for the activation of the mineralocorticoid receptor». *The journal of biological chemistry*; 280(35),1283-93.2005
- [10] Robb, G.R., Boyd, S., Davies, C.D., Dossiter, A.G., Goldberg, F.W., Kemmitt, P.D., Scott, J.S., Swales, J.G. « Design of pyrolo-pyrimidines as 11beta-HSD1 inhibitors through optimisation of molecular electrostatic potential ». *Med chem. Comm* 6: 926-934; 2016
- [11] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. « Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings ». *Adv. Drug Deliv. Rev*, 46 (1-3): 3–26. 2001.
- [12]- KAZI TANI Nessrine. « Elucidation du mécanisme de la douleur par modélisation moléculaire ». *Mémoire master*. Université TLEMCEM.2020
- [13]- A.chikhi ;A.bensegueni, « comparative study of the efficiency of three protein-ligand docking programs ». *Journal of proteomic and bioinformatics* .2008.

- [14]- A. Imberty, K. D. Hardman, J. P. Carver, et S. Pérez, « Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. », *Glycobiology*, vol. 1, no 6, p. 631-42,1991.
- [15]** Lalout Soufi W. « Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules ». *Thèse Doctorat*. Université Tlemcen.2015
- [16]- Antoine D, Vincent Z. A BOILED-Egg to Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *Chem Med Chem* ,11, 1117– 1121.2016.
- [17]- Lipinski: implemented from Lipinski CA. et al. 2001 *Adv. Drug Deliv.Rev.*
- [18]- Veber: Implemented from Veber DF. Et al. 2002 *J. Med. Chem.*
- [19]- Egan: Implemented from Egan WJ. Et al.2000 *J. Med. Chem.*
- [20]- M. Akram, Shahab U, Afzal A, Khan U, Abdul H, E. Mogiuddin, M. Asif. « Curcuma longa and curcumin: a review article ». *ROM. J. BIOL. – PLANT BIOL.*, VOLUME 55, No. 2, P. 65–70, 2010

# **CONCLUSION GENERALE**

Dans le cadre de l'étude des mécanismes régissant l'évolution de l'inflammation, nous nous sommes intéressés aux interactions moléculaires entre trois enzymes étudiées et les différents inhibiteurs obtenus à partir de la plante *curcuma L.*, à l'aide des méthodes de modélisation moléculaire. Les outils informatiques retenus pour mener à bien cette étude sont : la mécanique moléculaire, le Docking moléculaire et ADME.

Pour étudier ces interactions, nous avons choisi logiciel de Docking moléculaire MOE (Molecular Operating Environment), qui utilisent un algorithme génétique. Ce programme a été développé pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Il s'agit de calculs entre des composés de petit poids moléculaire et des récepteurs protéiques de types enzymatiques.

Cette étude comprend quatre chapitres :

- Le premier chapitre sera consacré à une recherche bibliographique de la curcuma et l'évaluation de leurs propriétés pharmacologiques.
- Le deuxième consiste à une étude de modélisation moléculaire dont les méthodes quantiques, Méthodes non quantiques, Docking moléculaire ce qui nous permettra d'étudier les modes d'interactions enzyme-substrat
- Le troisième chapitre est consacré à la notion d'enzyme.
- Le quatrième chapitre, a été consacré aux résultats obtenus ainsi qu'à la discussion et à l'interprétation de ces derniers. Nous avons pu élucider les mécanismes d'interaction entre les enzymes étudiées et les inhibiteurs par visualisation des différents types de liaisons mises en jeu

Nous avons pu élucider les mécanismes d'interaction entre les enzymes étudiées (COX-1, COX-2 et PLA2) et les différents inhibiteurs similaires de la curcumine extraite de la plante *curcuma L.* par visualisation des différents types de liaisons mis en jeu. La discussion est basée sur les énergies d'interaction minimale des complexes obtenus à l'aide du programme Molecular Operating Environment (MOE) :

- Complexe\_COX-1\_similaires de la curcumine
- Complexe\_COX-2\_similaires de la curcumine
- Complexe\_PLA2\_similaires de la curcumine.

Pour l'enzyme cyclooxygénase le ligand L3 (forme énolique) inhibe mieux la COX-1 que la COX-2 et La PLA2 avec des énergies respectivement **-8.4025 kcal/mol**, **-7.5298 kcal/mol** et **-7.9008 kcal/mol**.

Pour l'enzyme phospholipase le ligand L1 (forme énolique) inhibe mieux PLA2 que la COX-1 et la COX-2 avec des énergies respectivement **-8.1414 kcal/mol**, **-7.2262 kcal/mol** et **-6.6031 kcal/mol**.

L'examen de la cavité enzymatique, et le calcul des distances entre les inhibiteurs et les chaînes latérales des acides aminés constitutifs du site actif et des énergies calculées, confirment que les inhibiteurs L3énol et L1énol présentent une forte interaction et une meilleure complémentarité avec la COX-1 et PLA2 respectivement.

D'après une étude comparative qui a été réalisée entre les inhibiteurs (L1énol et L3énol) et les produits commercialisés (Flubiprofène1 F1, Flubiprofène2 F2, Indoprofène I Et Ziluton) l'énergie des complexes –inhibiteurs (Complexe\_COX-1\_L3enol, Complexe\_PLA2- L1enol) formés est plus faible que celle des complexes commercialisés formés (Tableau1).

A la lumière de ces résultats on conclut que :

- Le ligand L3énol similaire de la curcumine est le meilleur inhibiteur pour la cyclooxygénase (COX-1)
- Le ligand L1énol similaire de la curcumine est le meilleur inhibiteur pour la phospholipase (PLA2).

D'après la littérature la forme énolique est plus stable que la forme di cétonique ce qui a été prouvé par nos calculs par Docking moléculaire

Tableau6 : Résultats des énergies des complexes formés entre la cyclooxygénase et la phospholipase et les produits commercialisés

<b>Ligand</b>	<b>COX-1</b>	<b>Cox_2</b>	<b>PAL2</b>
Ligand de référence	-10.9201	-9.7760	-9.4727
<b>Enzyme_L3 émol</b>	<b>-8.4025</b>	<b>-7.5298</b>	-7.5597
Enzyme_L1 émol	-6.6031	-7.2262	<b>-8.1414</b>
Enzyme_F1	-5.8735	-6.1072	-5.1466
Enzyme_F2	-6.0044	-5.1403	-5.4082
Enzyme_I	-6.5074	-5.7111	-5.7658
Enzyme_Z	-5.5985	-6.0464	-5.7735

Pour conclure, au vu des résultats obtenus dans ce travail, qui consiste en l'élucidation de l'inhibition de la cyclooxygénase et la phospholipase par les méthodes de modélisation moléculaire dans le but de découvrir de nouveaux médicaments anti-inflammatoires, nous proposons le Ligand L3énol et L1énol :

- Comme nouveaux inhibiteurs potentiels de l'enzyme.
- La synthèse des inhibiteurs L3énol et L1énol
- De faire des tests d'activité biologiques telle que l'activité anti oxydante, toxicité....

Les inhibiteur L3énol et L1énol sera probablement les meilleurs pour ralentir l'évolution de l'inflammation.

## **En perspective**

Ce travail n'est cependant pas encore terminé, les prochaines étapes consisteront :

- A utiliser d'autres programmes de Docking moléculaire, parmi les plus récents et les plus performants, pour tester tous les inhibiteurs de l'enzyme étudié jusqu'à présent afin de proposer les meilleurs.
- De réaliser dans un futur s'articuleront autour des applications dans le domaine de l'activité biologique, et l'étude des interactions protéine-protéine.
- Il faut tenir compte également de l'effet de solvant qui a été négligé dans notre approche.
- Un autre aspect dont il faut tenir compte et qu'on ne peut le quantifier, est le paramètre RMSD (RootMean Square Deviation) entre deux conformations supposées

## Résumé :

La recherche en biologie ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter les données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "Docking"). L'emploi initial du "Docking" moléculaire est de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand. Le Docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction enzyme-substrat.

Notre recherche consiste à étudier l'inhibition de trois enzymes impliquées dans l'inflammation avec une série d'inhibiteurs extraits à base de plante « curcuma » à l'aide des programmes de Docking moléculaire et ADME pour prédire l'effet inhibiteur de ces molécules sur la stabilité des complexes formés

**Mots Clés :** Modélisation Moléculaire, Docking Moléculaire, ADME, Interactions, Inflammation

## Abstract:

Biological research cannot, at present, do without computer tools to process the data produced and optimize its progress. One of these tools is molecular modeling and more precisely molecular docking. The initial use of molecular docking is to predict and reproduce protein-ligand complexes. Docking is the basis for molecular recognition and the type of enzyme-substrate interaction.

Our research consists in studying the inhibition of three enzymes involved in inflammation with a series of inhibitors extracted from the plant "curcuma" using the molecular docking and ADME programs to predict the inhibitory effect of these molecules on the stability of the complexes formed

**Keywords:** Molecular modeling, Molecular docking, ADME, Interactions, Inflammation

الاستطوع الأبحاث البيولوجية في الوقت الحاضر أن ننتقل إلى الأدوات الحاسوبية اللازمة لمعالجة البيانات المنتجة ونحسب أن  
تقدمها. أحد هذه الأدوات هو النمذجة الجزيئية والإرساء الجزيئي بدقة أكبر. إن الاستخدام الأولي للإرساء الجزيئي يتلخص في  
التنبؤ بتراكيب البروتين-الليغند وإعادة إنتاجها. الإرساء هو أساس التعرف الجزيئي ونوع التفاعل الإنزيمي-الأساسي يتمثل  
بحثنا في دراسة تخطيط ثلاثة أنزيمات مرتبطة بالتهاب بسلسلة من المثبطات المستخرجة من نبات "الكركوم" باستخدام برنامج  
الإرساء الجزيئي للتنبؤ بتأثير هذه الجزيئات على استقرار المجمعات المتكونة

**الكلمات الرئيسية:** نمذجة جزيئية، إرساء جزيئي، تفاعلات، التهاب