

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri  
FACULTE DE MEDECINE  
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري  
كلية الطب  
تيزي وزوو

Département de Pharmacie  
N° D'ordre :

٢٠٢٤/٢٠٢٣

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

**Présenté sous forme d'article et soutenu publiquement  
En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie**

Le : 26/06/2024

**THEME**

**Conception in silico de nouvelles molécules et évaluation de leur affinité par  
Docking moléculaire pour les Cox2 (cyclooxygénases 2) et les microtubules**

Réalisé par :

**Khati Djouher  
Medani Wafa  
Mebarki Amina  
Herbane Aboubaker**

Encadré par :  
**Dr K. Lahmek**

Membres du jury :

Pr N. Hadhoum	MCA	Faculté de médecine, UMMTO, CHU T. O	Présidente
Dr F. Agguini	Assistante	Faculté de médecine, UMMTO, CHU T. O	Examinatrice
Dr K. Lahmek	Assistante	Faculté de médecine, UMMTO, CHU T. O	Rapporteur

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2023/2024**



## Conception in silico de nouvelles molécules et évaluation de leur affinité par Docking moléculaire pour les Cox2 (cyclooxygénases 2) et les microtubules

Khati Djouher, Medani Wafa, Mebarki Amina, Herbane Aboubaker, Lahmek Kahina\*

### Article info :

\*Laboratoire de chimie thérapeutique, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie

**Mots-clés :** COX2, docking, diclofénac, ADMET, microtubules, anticancéreux.

**Keywords:** COX2, docking, diclofenac, ADMET, microtubules, anticancer.

**Abstract:** Currently, the design of new molecules in silico constitutes an alternative approach that presents a lot of interest in drug development. In our work we have proposed a series of twenty molecules (M1-M20) analogues of diclofenac, a non-steroidal anti-inflammatory drug has a therapeutic effect by the non-selective inhibition of cyclooxygenases (COX1 and COX2 preferentially), also an anti-cancer effect by microtubular destabilization which has been demonstrated in recent studies, it is commonly used in the world, however it has marked undesirable effects as well as gastric ulcer and disorders at renal and hepatic level. A molecular docking has been performed for molecules of our series using Auto-Dock Vina software to design new inhibitors with more affinity towards COX2, and the CB DOCK2 online server to reveal the affinity to microtubules. The evaluation of docking energies and ligand interactions with COX2 (4m11) and microtubules (7Z2P) and subsequent prediction of pharmacokinetic, physicochemical and toxicological properties through the ADMETSAR 3.0 server, allowed us to propose for synthesis the molecules **M12** and **M7** having the best affinities towards COX2, and predicted to be less toxic than diclofenac, likewise, the proposal of the molecule **M3** having shown a high affinity towards microtubules with reduced toxicity, which can therefore offer several advantages in anticancer therapy.

**Résumé :** Actuellement, la conception de nouvelles molécules in silico constitue une approche alternative qui présente beaucoup d'intérêt dans le développement des médicaments. Dans notre travail on a proposé une série de vingt molécules (M1-M20) analogues du diclofénac, un médicament anti inflammatoire non stéroïdien qui présente une efficacité thérapeutique par l'inhibition non sélective des cyclooxygénases (COX1 et COX2 préférentiellement), aussi un effet anti cancéreux par déstabilisation des microtubules qui a été démontré par des études récentes. Il est couramment utilisé dans le monde, cependant il présente des effets indésirables marqués citant l'ulcère gastrique et des troubles rénaux et hépatiques. Un Docking moléculaire a été réalisé pour les molécules de la série en utilisant le logiciel Auto-Dock Vina afin de concevoir de nouveaux inhibiteurs avec plus d'affinité envers les COX2, et le serveur en ligne CB DOCK2 pour révéler l'affinité envers les microtubules. L'évaluation des énergies d'amarrage et des interactions des ligands envers la COX2 (4M11) et les microtubules (7Z2P) et par la suite la prédiction des propriétés pharmacocinétiques, physicochimiques et toxicologiques par l'intermédiaire du serveur ADMETSAR 3.0, nous ont permis de proposer pour la synthèse les molécules **M12** et **M7** possédants les meilleures affinités envers la COX2, et prédites moins toxiques que le diclofénac, de même, la proposition de la molécule **M3** ayant montré une affinité élevée envers les microtubules avec toxicité réduite, ce qui peut donc offrir plusieurs avantages dans la thérapie anticancéreuse.



## 1. Introduction

Le corps humain est un complexe remarquable et unique, parfaitement organisé, constitué d'un ensemble de tissus et de cellules qui collaborent pour assurer les fonctions spécifiques pour maintenir la vie (1). Parmi ces fonctions, on cite l'inflammation et la douleur. L'inflammation est une fonction physiologique par laquelle l'organisme affronte plusieurs agents microbiens, infectieux, chimiques et de nombreux autres stimulus (2). Quant à la douleur, c'est un système qui alerte le corps qu'une lésion tissulaire s'est produite. Plusieurs actions et structures biologiques sont impliquées, principalement l'activation de l'enzyme cyclooxygénase 2 (COX2) (3). Bien qu'elle soit un mécanisme de protection, il a été prouvé qu'elle joue un rôle primordial dans une grande variété de maladies comme le diabète, les maladies pulmonaires, neurologiques et le cancer (4). A la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, le pathologiste allemand Rudolf Virchow a établi le lien clinique entre la survenue d'un cancer et le processus inflammatoire (5). Lorsque l'inflammation devient chronique ou dure trop longtemps voir des années, elle peut s'avérer nocive et entraîne des dommages à l'ADN. Environ 20 % des cancers sont liés à des infections chroniques (6).

Le cancer est une multiplication anarchique des cellules qui se situent localement puis migrent par voie lymphatique et sanguine pour former des métastases qui envahissent des organes vitaux en causant leur dysfonctionnement (7, 8). Selon les statistiques annoncées en 2022 par l'OMS, 20 millions de nouveaux cas et 9,7 millions de décès par le cancer (9). Pour la même année, Global Cancer Observatory (GCO) en Algérie estimait un total de 64713 nouveaux cas de cancer et 35778 décès. Les cas les plus fréquents sont le cancer du poumon (14.7 % chez les hommes) et le cancer du sein (41.3 % chez les femmes) (10).

Les nouveaux traitements des cancers coutent de plus en plus chers, pourtant leurs bénéfiques thérapeutiques par rapport aux anciens est modeste selon une étude publiée dans European journal Of Cancer (11).

Le projet de recherche international Repurposing Drugs in Oncology REDO a pour but de chercher des médicaments déjà disponibles et largement utilisés qui présenteraient des propriétés anticancéreuses (12).

Des études ont montré que l'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens est efficace pour réduire le risque de mortalité induit par plusieurs cancers, la surexpression de la COX2 et des prostaglandines E2 dans plusieurs cancers a justifié les travaux de recherche du rôle des antiCOX2 dans la prévention du cancer (13).

Parmi les molécules anti-inflammatoires non stéroïdiens ayant prouvé un intérêt dans les différents types de cancers, nous citons le diclofénac.

Le diclofénac est un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien dérivé de l'acide phénylacétique du groupe des acides arylcarboxyliques (14). Il est prescrit dans le traitement de la douleur de la polyarthrite rhumatoïde, d'autres troubles musculosquelettiques, la migraine, la fièvre et de la douleur postopératoire (15). Il est maintenant disponible à l'échelle mondiale et existe sous des formes peu coûteuses. En plus de son puissant effet anti inflammatoire, Des preuves cliniques ont prouvé son rôle dans différents types de cancers (16). Le diclofénac inhibe la progression mitotique en déstabilisant les microtubules, induit une toxicité cellulaire en augmentant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et en altérant le flux autophagique (17). Cependant, Il présente des effets indésirables cruciaux cardiovasculaires, rénales, hépatiques et des lésions gastro-intestinales qui surviennent en raison de la présence d'un groupe carboxylique (COOH) (18).

Comme c'est concluable de l'ensemble des études et des données, le diclofénac présente une place primordiale dans le traitement de l'inflammation, ses propriétés anticancéreuses prouvées le rendent encore plus précieux. Mais malheureusement, ses effets indésirables marqués comme les lésions gastro-intestinales et les atteintes néphrologiques rendent son utilisation problématique. C'est là que s'introduit l'objectif principal de notre présent travail, qui consiste au développement in silico d'une série d'analogues structuraux du diclofénac et l'évaluation de leurs énergies d'interaction envers la COX2 et les microtubules qui sera suivi par une étude prédictive des propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et de leur toxicité, pour aboutir à la fin à la proposition de nouvelles molécules qui présenteront moins d'effets indésirables et un effet anticancéreux amélioré.

## **2. Matériel et méthodes**

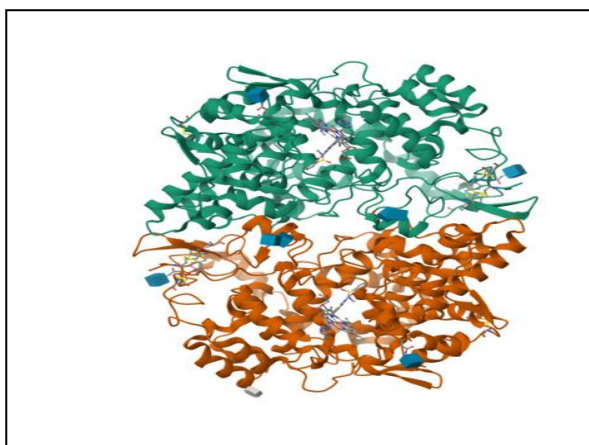
Le docking moléculaire nécessite la préparation préalable des ligands et des récepteurs biologiques. Cela donc impose la récolte des structures 3D des ligands et le téléchargement des récepteurs à partir de la protéine data bank et leurs enregistrements ou leurs conversions en fichiers PDB (20).

- **Les cibles**

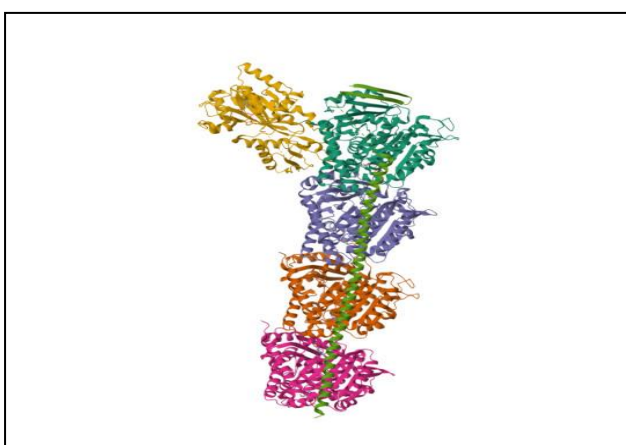
Dans notre travail, les deux cibles qui sont prises en considération sont la COX2 et les microtubules. La structure cristalline de chacune de ces dernières a été téléchargée à partir de la banque de protéines RCSB (<https://www.rcsb.org/>) :

-La COX2 sous le code 4M11 en format pdb a une résolution de 2.45 Å. (Figure 1)

-Les microtubules sous le code 7Z2P en format pdb a une résolution de 2.00 Å. (Figure 2)



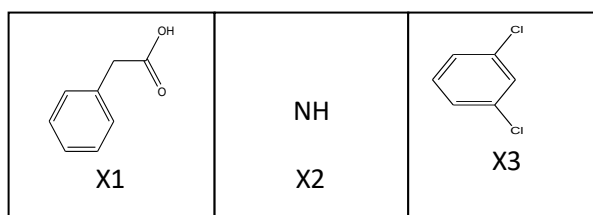
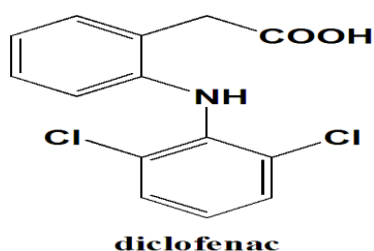
**Figure 1 :** Structure tridimensionnelle du complexe cyclo-oxygénase-2 murin avec le méloxicam 4M11.



**Figure 2 :** Structure tridimensionnelle du complexe tubuline-nocodazole 7Z2P.

- **Les ligands**

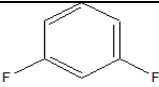
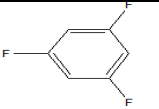
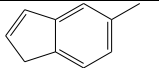
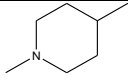
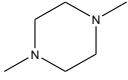
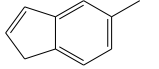
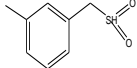
En effectuant des modifications sur différents groupements de la structure chimique du diclofénac (Figure 3), une série d'analogues structuraux (M1-M20) a été proposée. Les molécules proposées, représentées dans le tableau ci-dessous (tableau I) ont été dessinées à l'aide du logiciel ChemDraw Ultra 8.0 (21), la conversion en 3D et la minimisation de l'énergie (MM2) ont été réalisées avec Chem3D Ultra 8.0 puis enregistrées sous format PDB (22).

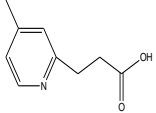
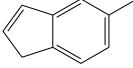
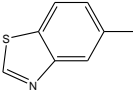
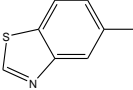
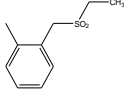
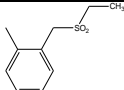
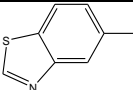
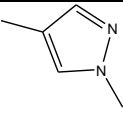
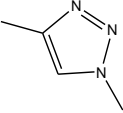
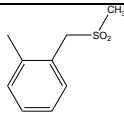
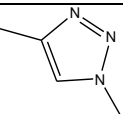


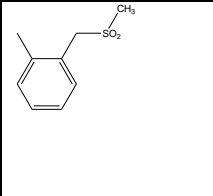
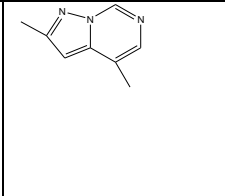
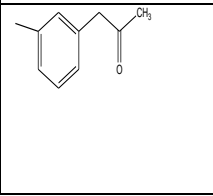
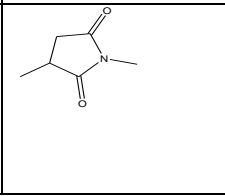
Acide 2-[2-(2,6-dichloroanilino) phényl] acétique

**Figure 3 :** Structure chimique de l'acide 2-[2-(2,6-dichloroanilino) phényl] acétique avec les sites des différentes modifications (X1, X2, X3).

**Tableau I :** Représentation structurale des ligands proposés et des modifications effectuées sur différents groupements.

<i>Molécules</i>	<i>Nomenclature</i>	<i>X1</i>	<i>X2</i>	<i>X3</i>
<b>M1</b>	Acide 2-(2-(2,6-dichlorophénylthio) phényl) acétique	/	S	/
<b>M2</b>	Acide 2-(2-(2,6-dichlorophénoxy) phényl) acétique	/	O	/
<b>M3</b>	Acide 2-(2-(2,6-difluorophénylamino) phényl) acétique	/	/	
<b>M4</b>	Acide 2-(2-(2,4,6-trifluorophénylthio) phényl) acétique	/	S	
<b>M5</b>	Acide 2-(2-(1H-indène-5-ylsélanyl) phényl) acétique	/	Se	
<b>M6</b>	Acide 2-(2-(1-(2,6-dichlorophényl) pipéridin-4-yl) phényl) acétique	/		/
<b>M7</b>	Acide 2-(2-(4-(2,6-dichlorophényl) pipérazin-1-yl) phényl) acétique	/		/
<b>M8</b>	Acide 2-(2-(1H-indène-5-ylthio) phényl) acétique	/	S	
<b>M9</b>	Acide 3-(2,6-dichlorophénylamino) méthanesulfonique		/	/

<b>M10</b>	Acide 3-(4-(2,6-dichlorophénylamino)pyridin-2-yl) propanoïque		/	/
<b>M11</b>	Acide 2-(2-(1H-indène-5-yloxy) phényl) acétique	/	O	
<b>M12</b>	Acide 2-(2-(benzo[d]thiazol-6-ylamino) phényl) acétique	/	/	
<b>M13</b>	Acide 2-(2-(benzo[d]thiazol-6-ylthio) phényl) acétique	/	S	
<b>M14</b>	2,6-dichloro-N-(2-((éthylsulfonyl) méthyl) phényl) benzénamine		/	/
<b>M15</b>	N-(2-((éthylsulfonyl) méthyl) phényl) benzo[d]thiazol-5-amine		/	
<b>M16</b>	Acide 2-(2-(4-(2,6-dichlorophényl) -1H-pyrazol-1-yl) phényl) acétique	/		/
<b>M17</b>	Acide 2-(2-(4-(2,6-dichlorophényl) -1H-1,2,3-triazol-1-yl) phényl) acétique	/		/
<b>M18</b>	4-(2,6-dichlorophényl) -1-(2-((méthylsulfonyl) méthyl) phényl) -1H-1,2,3-triazole			/

<b>M19</b>	<b>2-(2,6-dichlorophényl) -4-(2-(méthylsulfonyl) méthyl) phényl) pyrazolo [1,5-f] pyrimidine</b>			/
<b>M20</b>	<b>3-(2,6-dichlorophényl) -1-(3-(2-oxopropyl) phényl) pyrrolidine-2,5-dione</b>			/

## 2.1 Protocole du Docking moléculaire

Au moyen du logiciel BIOVIA Discovery Studio, le nettoyage des deux cibles a été réalisé en leurs retirant les molécules d'eau et les ligands ancrés, le docking moléculaire a été ensuite réalisé.

### 2.1.1 Docking de la COX2 avec les ligands proposés

A l'aide du logiciel Auto Dock Tools 1.5.7, les étapes suivantes ont été effectuées :

#### 2.1.1.1 Préparation de la macromolécule par :

- Importation de la macromolécule sous format pdb ;
- Additions des atomes d'hydrogènes polaires et les charges dites de Kollman ;
- Enregistrement sous format pdbqt (23,24).

#### 2.1.1.2 Préparation des ligands par :

- Importation de chaque ligand sous format pdb ;
- Identification des ligands ;
- Enregistrement sous format pdbqt (23,24).

#### 2.1.1.3 Insertion de chaque molécule de la série dans COX2 :

-Détermination des dimensions du Grid Box comme suit : 40 Å pour le nombre des points pour toutes les dimensions X, Y et Z, et un espacement à défaut de 0.375;

Le centre de la boîte du Grid Box est fixé à [X = 5.315, Y =48.07, Z =72.752]. Ce sont les valeurs approximatives du ligand co-cristallisé (méloxicam) dans le site actif de notre cible (22) ;

- Enregistrement des coordonnées du Grid Box dans un fichier sous format grid.txt ;
- Création d'un fichier texte qui regroupe toutes les informations nécessaires pour le docking nommé config.txt ;
- Lancement du docking par AutoDock Vina via la commande CMD (25,26) et puis les résultats sont sauvegardés dans un fichier log.txt.

### **2.1.2 Docking des microtubules avec les ligands proposés**

Le site de liaison du diclofénac dans les microtubules n'est pas connu. Sur ce, nous avons eu recours au docking aveugle (27). L'outil utilisé dans ce but est le serveur en ligne spécialisé dans le docking aveugle et basé sur AutoDock Vina : CB-DOCK 2 (Figure 4), disponible gratuitement sur le site Web : (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/index.php>) (28).

Pour effectuer l'amarrage, il suffit d'y accéder, importer la cible nettoyée et du ligand sous format PDB, lancer le docking. Les résultats seront remis sur un lien.

- **Validation du protocole du docking**

La validation du logiciel et du protocole est la première étape à réaliser. Pour cela, nous avons eu recours au redocking : c'est le repositionnement du ligand co-cristallisé dans son site d'interaction à partir du complexe récepteur-ligand duquel il a été extrait.

Le ligand co-cristallisé méloxicam a été extrait du complexe 4M11 puis un docking a été lancé. Le calcul du RMSD a été ensuite effectué entre le méloxicam initialement ancré dans le site actif et celui re-docké à l'aide du logiciel BIOVIA Discovery.

- **Validation du logiciel CB-DOCK2**

Comme pour le logiciel AutoDock Tools, un redocking du ligand initialement ancré (nocodazole) a été effectué. Ensuite une analyse visuelle en superposant le ligand amarré sur le ligand initialement co-cristallisé à l'aide de BIOVIA Discovery a été effectué.

## **2.2 Prédiction in silico des paramètres ADMET**

Aujourd'hui, la caractérisation d'un composé en fonction de ses propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicité à travers le corps humain devient un élément indispensable dans les protocoles de conception de médicaments. Dans notre étude, le serveur web ADMET SAR 3.0 a été

utilisé pour prédire les propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et la toxicité pour les molécules proposées ensuite les comparer avec le diclofénac utilisé comme référence (29).

### 3. Résultats

#### 3.1 Validation du protocole de docking moléculaire

##### 3.1.1 Validation du protocole de docking moléculaire par AutoDock Vina

La conformation du ligand redocké avec la cible 4M11 était superposable avec celle ancrée dans le site actif comme c'est illustré dans la figure 4 ci-dessous.

Le calcul du RMSD a donné une valeur de 0,3066 Å.



**Figure 4 :** Superposition de la conformation du ligand redocké obtenu par AutoDock Vina (en bleu) avec le ligand expérimental de la 4M11 (en violet).

##### 3.1.2 Validation du protocole de docking moléculaire par CB-DOCK2

Le redocking du nocodazole dans le complexe 7Z2P après son extraction nous a donné les résultats suivants :

-Une énergie de liaison du ligand avec le récepteur de -11.7 kcal / mol.

-Superposition de la conformation du ligand re-amarré avec sa conformation initiale expérimentale (Figure 5)



**Figure 5 :** Superposition de la conformation du ligand re-amarré obtenu par AutoDock Vina (en jaune) avec le ligand expérimental de la 7Z2P (en violet).

### 3.2 Visualisation des interactions

Les interactions ligand-protéine, les distances faites à l'aide du logiciel BIOVIA Discovery et les énergies d'amarrage des molécules proposées ainsi que la référence et les acides aminés du site actif 4M11 et 7Z2P sont respectivement représentées dans les tableaux II et III.

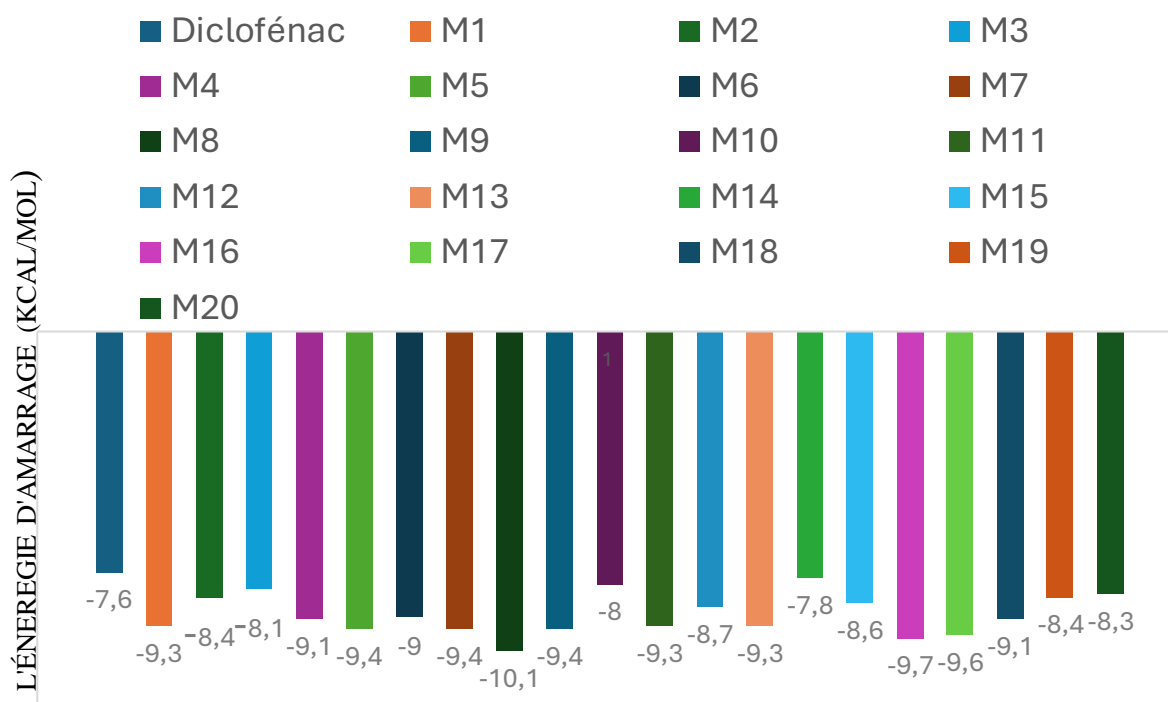
**Tableau II :** Energies d'amarrage et les acides aminés et les types de liaisons obtenues pour les molécules proposées au niveau du site actif de 4M11.

Molécules	Acides aminés	Type de liaisons + distances (Å)	Affinité
<b>Diclofénac (Référence)</b>	ALA 527	H-Bond d=2.85 Pi-Sigma d=3.97	-7.6
	VAL 349	Pi-Alkyl d=4.57	
	SER 530	Amide-Pi stacked d=5.32	
	ILE 345	Pi-Alkyl d=5.27	
	LEU 531	Pi-Sigma d=3.89	
<b>M1</b>	ALA 527	H-Bond d=2.72 Pi-Alkyl d=4.02	-9.3
	VAL 349	Pi-Alkyl d=3.41/4.72	
	ILE 345	Pi-Alkyl d=3.90	
	LEU 531	Pi-Sigma d=3.96	
<b>M2</b>	ALA 527	Pi-Sigma d=3.77	-8.4
	VAL 349	Pi-Sigma d=3.45	
	LEU 531	Pi-Alkyl d=4.33	
<b>M3</b>	ALA 527	H-Bond d=2.95 Pi-Alkyl d=4.05	-8.1
	ARG 120	H-Bond d=2.07/2.31	
	SER 530	H-Bond d=2.62	
	VAL 349	Pi-Alkyl d=4.53/5.28	
	ILE 345	Pi-Alkyl d=4.93	
	LEU 531	Pi-Alkyl d=4.63	
<b>M4</b>	ALA 527	Pi-Alkyl d=4.06	-9.1
	SER 530	H-Bond d=2.17	
	ARG 120	H-Bond d=1.81/2.23	
	VAL 523	C-H Bond d=3.05	
	VAL 349	Pi-Alkyl d=4.82	

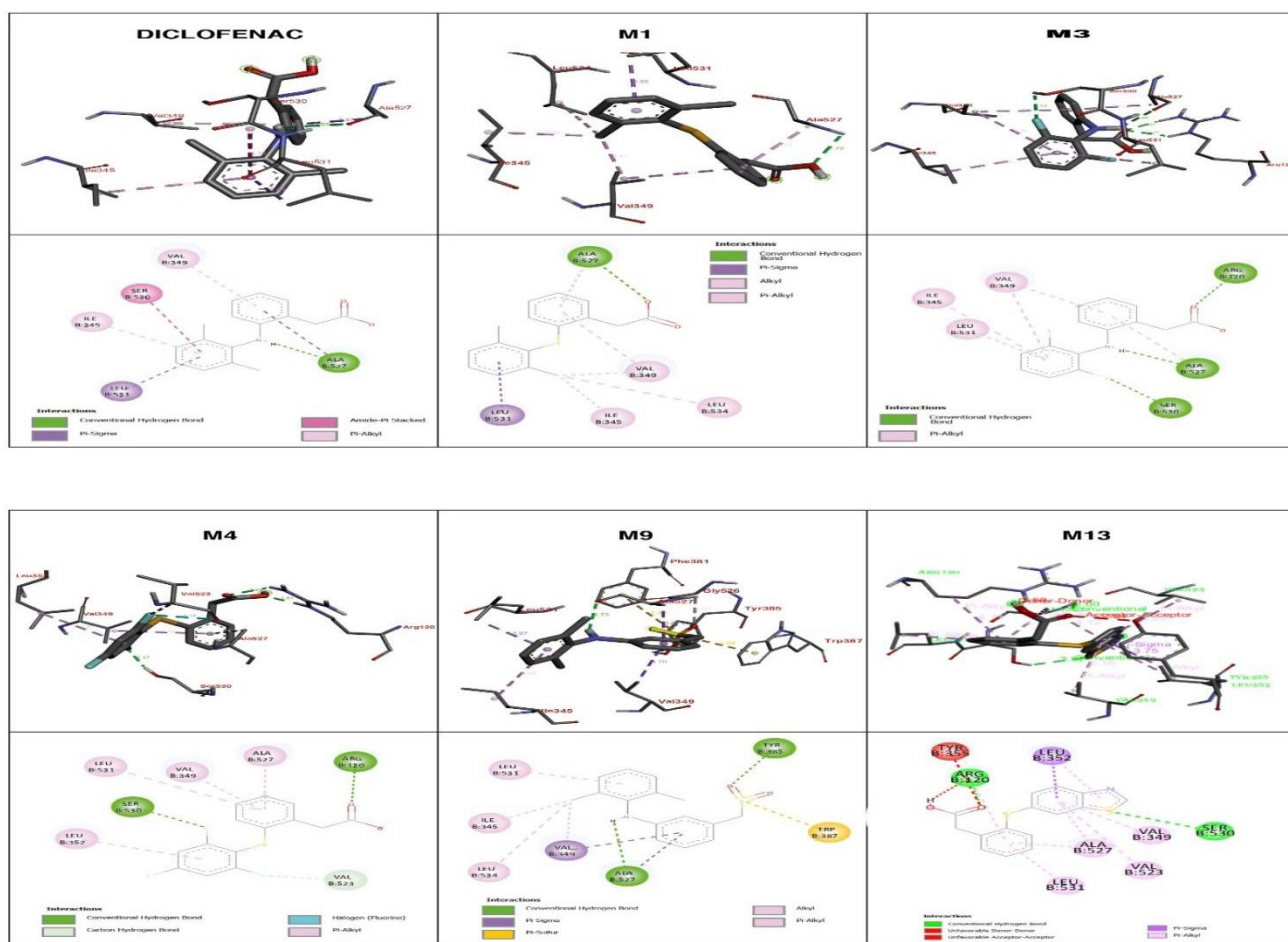
<b>M5*</b>	ALA 527	Pi-Alkyl	d=4.38/4.49	-9.4
	ARG 120	H-Bond Pi-Alkyl	d=2.06 d=5.30	
	VAL 349	Pi-Alkyl	d=4.98	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=5.05	
<b>M6</b>	ALA 527	Pi-Alkyl	d=4.00/5.29/5.45	-9.0
	ARG 120	Pi-Alkyl	d=4.57	
	VAL 523	Pi-Alkyl	d=5.47	
	VAL 349	Alkyl	d=3.99	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=4.27	
<b>M7</b>	ALA 527	H-Bond Alkyl	d=3.64 d=3.77	-9.4
	ARG 120	Pi-Alkyl	d=5.24	
	TYR 385	H-Bond	d=1.82	
	VAL 523	Pi-Alkyl	d=4.79	
	VAL 349	Alkyl	d=4.19	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=4.63	
<b>M8*</b>	ALA 527	Pi-Alkyl	d=4.26/4.56	-10.1
	ARG 120	H-Bond Pi-Alkyl	d=2.01 d=5.25	
	VAL 349	Pi-Alkyl	d=5.00	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=5.10	
<b>M9</b>	ALA 527	H-Bond Pi-Sigma	d=2.75 d=3.67	-9.4
	TYR 385	H-Bond	d=2.36	
	VAL 349	Pi-Sigma	d=3.70	
	LEU 531	Pi-Sigma	d=3.97	
	ILE 345	Pi-Alkyl	d=5.46	
<b>M10</b>	ALA 527	Pi-Sigma	d=3.63	-8.0
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=4.32	
	VAL 349	Pi-Sigma	d=3.75	
	TYR 385	H-Bond	d=2.08	
	SER 530	C-H Bond	d=3.53	
<b>M11</b>	ALA 527	Pi-Alkyl	d=4.33/4.60	-9.3
	ARG 120	H-Bond	d=1.95	
	VAL 349	Pi-Alkyl	d=4.85/4.91	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=5.31	
<b>M12</b>	ALA 527	Pi-Alkyl	d=4.07/4.49	-8.7
	ARG 120	H-Bond	d=2.06/2.09	
	VAL 523	Pi-Alkyl	d=5.31	
	TYR 385	H-Bond	d=2.88	
	VAL 349	Pi-Alkyl	d=5.21/5.38	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=5.02	
<b>M13*</b>	ALA 527	Pi-Alkyl	d=4.12/4.22	-9.3
	ARG 120	H-Bond Pi-Alkyl Donor-Donor	d=2.00 d=4.71 d=1.58	
	VAL 523	Pi-Alkyl	d=5.25	
	VAL 349	Pi-Alkyl	d=5.16	
	SER 530	H-Bond	d=2.97	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=4.98	
<b>M14</b>	ALA 527	H-Bond Pi-Sigma	d=2.63 d=3.82	-7.8
	VAL 349	Pi-Sigma	d=3.46	

	ARG 120	H-Bond	d=2.04/2.19	
	SER 530	Amide-Pi stacked	d=5.52	
	ILE 345	Pi-Alkyl	d=4.78	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=4.60	
<b>M15</b>	ALA 527	Pi-Sigma Pi-Alkyl	d=3.77 d=4.24	-8.6
	ARG 120	Pi-Alkyl	d=5.07	
	VAL 523	Pi-Alkyl	d=5.48	
	VAL 349	Pi-Alkyl	d=5.22	
	SER 530	H-Bond	d=2.82	
<b>M16</b>	Pas d'AA en commun			-9.7
<b>M17</b>	ALA 527	Pi-Alkyl	d=4.02/5.25	-9.6
	ARG 120	Pi-Alkyl Pi-Donor	d=4.77 d=2.69	
	LEU 531	Pi-Alkyl	d=5.03	
<b>M18</b>	ARG 120	H-Bond Pi-Alkyl Pi-Cation	d=2.38 d=4.90 d=4.30	-9.1
<b>M19</b>	Pas d'AA en commun			-8.4
<b>M20</b>	Pas d'AA en commun			-8.3

\* : Molécules présentant des liaisons défavorables qui déstabilisent le complexe protéine-ligand : **M5, M8 et M13**



**Figure 6** : Représentation graphique des énergies d'amarrage du diclofénac et des molécules proposées envers les COX 2.



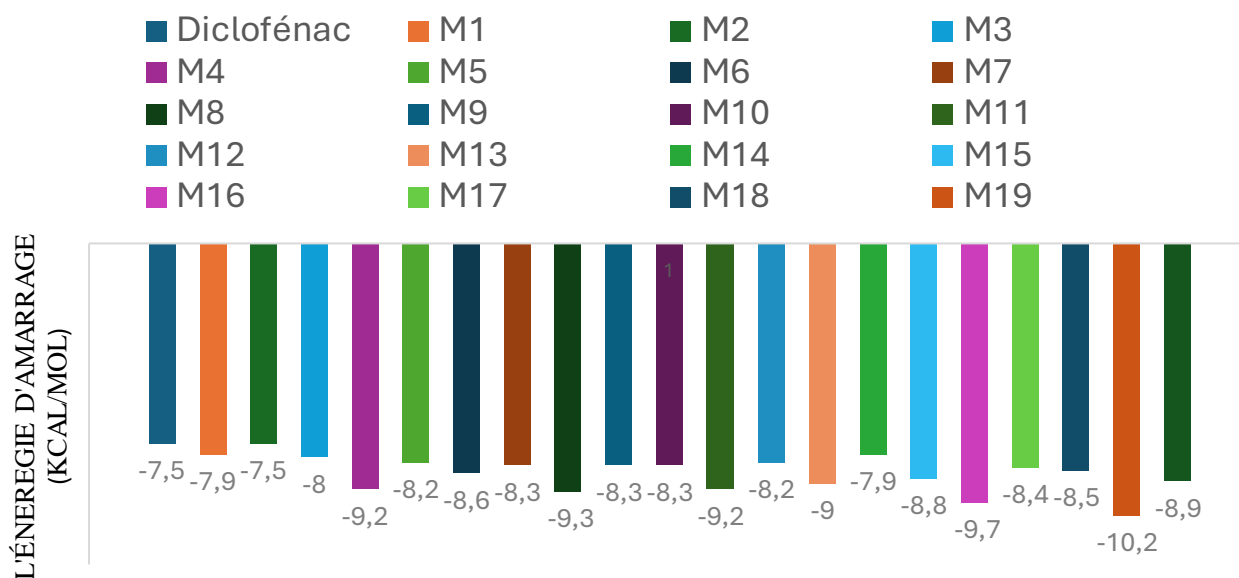
**Figure 7 :** Types d'interactions en 2D et 3D, de diclofénac et quelques molécules avec la cible 4M11 visualisées par BIOVIA Discovery.

**Tableau III :** Energies d'amarrage et les acides aminés et les types de liaisons obtenues pour les molécules proposées au niveau du site actif de 7Z2P.

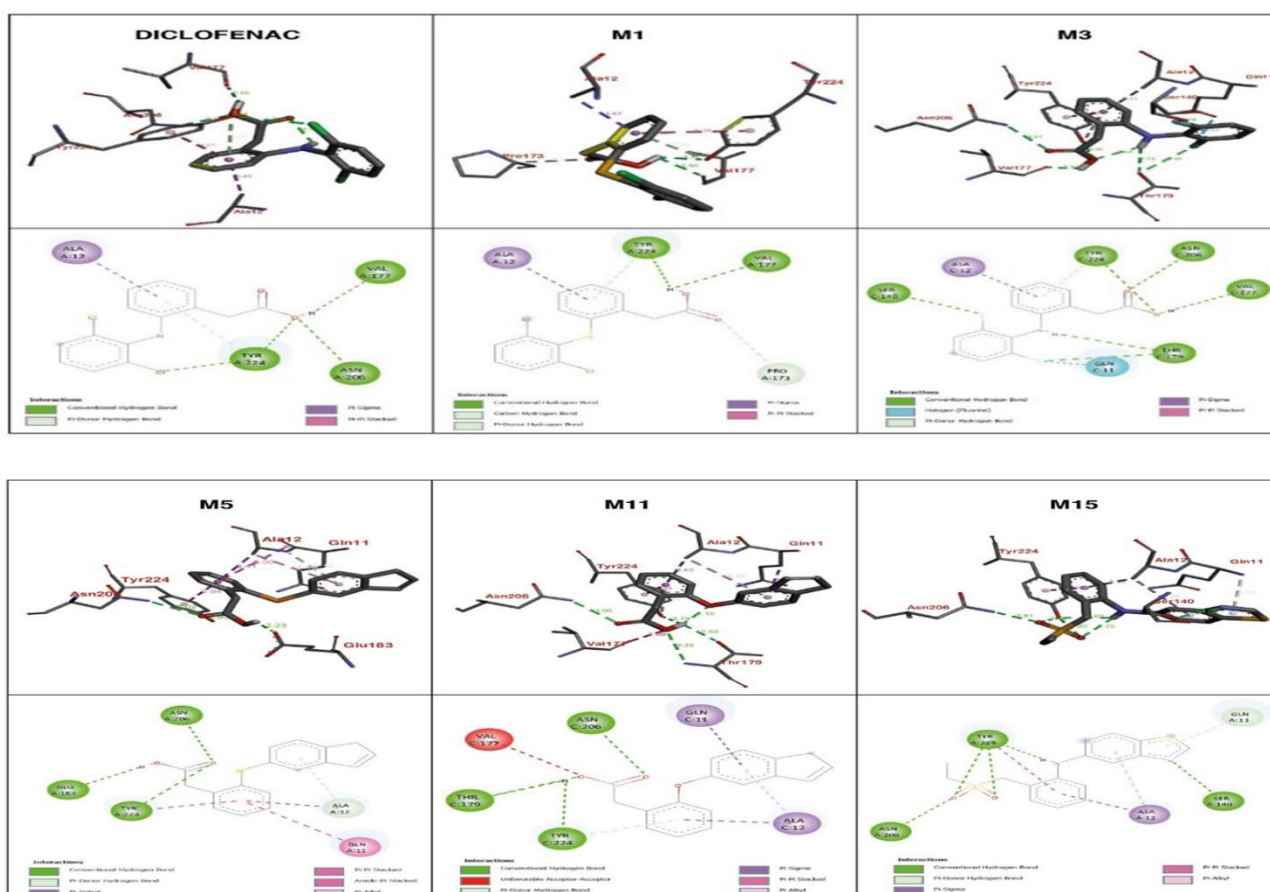
Molécules	Acides aminés	Type de liaisons + distances (Å)	Affinité
<b>Diclofénac (Référence)</b>	ALA 12	Pi-Sigma d=3.49	-7.5
	VAL 177	H-Bond d=2.40	
	ASN 206	H-Bond d=2.97	
	TYR 224	H-Bond d=3.04/3.24 Pi-Donor d=3.82	
<b>M1</b>	VAL 177	H-Bond d=2.33	-7.9
	ASN 206	H-Bond d=3.00	
<b>M2</b>	ALA 12	Pi-Alkyl d=5.29	-7.5
<b>M3</b>	ALA 12	Pi-Sigma d=3.41	-8.0
	TYR 224	H-Bond d=3.00 Pi-Donor d=3.80	
	VAL 177	H-Bond d=2.31	
	ASN 206	H-Bond d=3.01	
<b>M4</b>	ALA 12	Pi-Sigma d=3.38 Pi-Alkyl d=5.44	-9.2
	ASN 206	H-Bond d=3.14	
	TYR 224	Pi-Donor d=3.82	
<b>M5</b>	ALA 12	Pi-Sigma d=3.41 Pi-Donor d=4.10	-8.2

	TYR 224	H-Bond Pi-Stacked	d=2.93 d=3.94	
	ASN 206	H-Bond	d=3.02	
<b>M6</b>	ALA 12	Alkyl Pi-Alkyl	d=5.32 d=5.35	-8.6
	TYR 224	Pi-Donor	d=3.55	
	VAL 177	C-H Bond	d=3.30	
<b>M8*</b>	ALA 12	Pi-Sigma Pi-Alkyl	d=3.40 d=5.34	-9.3
	TYR 224	H-Bond Pi-Donor	d=2.98 d=3.80	
	ASN 206	H-Bond	d=3.12	
<b>M9</b>	ALA 12	Alkyl Pi-Alkyl	d=3.70 d=4.39	-8.3
	TYR 224	Pi-Alkyl Pi-Donor	d=4.24 d=4.05	
<b>M10*</b>	ALA 12	Pi-Alkyl Alkyl	d=4.29 d=3.78	-8.3
	TYR 224	Pi-Donor Pi-Alkyl	d=4.19 d=4.01	
<b>M11*</b>	ALA 12	Pi-Sigma Pi-Alkyl	d=3.40 d=5.26	-9.2
	TYR 224	H-Bond	d=2.79	
	ASN 206	H-Bond	d=3.05	
<b>M12</b>	ALA 12	Pi-Sigma	d=3.46	-8.2
	TYR 224	H-Bond Pi-Donor	d=3.39 d=3.83	
	ASN 206	H-Bond	d=3.03	
<b>M13*</b>	ALA 12	Pi-Sigma	d=3.49	-9.0
	TYR 224	Pi-Donor	d=3.84	
	ASN 206	Donor-Donor	d=2.36	
<b>M14</b>	ALA 12	Pi-Alkyl Alkyl	d=4.17 d=3.70	-7.9
	TYR 224	Pi-Stacked Pi-Alkyl	d=5.65 d=3.79	
<b>M15</b>	ALA 12	Pi-Alkyl Pi-Sigma	d=5.22 d=3.35	-8.8
	TYR 224	H-Bond	d=2.79	
		H-Bond	d=3.20	
		H-Bond Pi-Stacked	d=2.62 d=3.95	
ASN 206	H-Bond	d=2.81		
<b>M16</b>	ALA 12	Pi-Alkyl Alkyl	d=4.14 d=3.88	-9.7
	TYR 224	Pi-Alkyl Pi-Donor	d=3.90 d=4.18	
<b>M17</b>	ALA 12	H-Bond	d=3.05	-8.4
	TYR 224	Pi-Donor	d=3.89	
<b>M18</b>	TYR 224	H-Bond	d=3.06	-8.5
<b>M19</b>	ALA 12	H-Bond Pi-Alkyl Pi-Sigma Alkyl	d=3.19 d=4.06 d=3.59 d=4.08	-10.2
	TYR 224	Pi-Stacked Pi-Alkyl	d=4.09 d=4.22	
<b>M20</b>	ALA 12	Pi-Sigma H-Bond	d=3.51 d=3.29	-8.9

\* : Les molécules qui ont présenté des liaisons défavorables sont : **M8, M10, M11 et M13**



**Figure 8 :** Représentation graphique des énergies d'amarrage du diclofénac et des molécules proposées envers les microtubules.



**Figure 9 :** Différents types d'interactions en 2D et 3D, de diclofénac et quelques molécules avec la cible 7Z2P obtenue par BIOVIA Discovery.

### 3.3 Prédiction des propriétés ADME/Toxicité in silico

**Tableau IV :** Résultats de la prédiction in silico par ADMET SAR 3.0 des propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques des molécules proposées ayant des meilleures affinités et interactions.

Paramètres	Référence	M1	M3	M4	M5	M7	M9	M12	M15
PM(g/mol)	296.15	313.21	263.24	298.29	329.26	365.26	316.21	313.21	298.29
Log S	-4.51	-4.22	-3.44	-3.33	-4.33	-5.05	-4.19	-4.37	-3.89
Log P	4.91	4.45	3.81	3.47	4.20	4.17	3.8	3.47	3.23
Lipinski	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Veber	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Perméabilité CaCo2	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
pKa	3.69	3.77	3.79	3.64	4.68	3.99	-0.69	4.51	1.68
HAI (Absorption %)	96.8	96.5	97	96.8	98.2	97.6	94.9	98.7	97.9
Substrat p-glycoprotein	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibition p-Glycoprotein	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
Perméabilité BHE	Non (0.635)	Non (0.704)	Non (0.700)	Non (0.713)	Oui (0.842)	Non (0.326)	Non (0.695)	Non (0.646)	Non (0.927)
Localisation	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Lysosome
CYP1A2 Inhibition	Oui	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Oui
CYP2C19 Inhibition	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui
CYP2C9 Substrat	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Non
CYP2C9 inhibition	Oui	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui	Non	Oui
CYP2D6 Substrat	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
CYP2D6 inhibition	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
CYP3A4 Substrat	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui	Non	Oui
CYP3A4 Inhibition	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
Inhibition hERG	Oui	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Hépatotoxicité	Oui (0.686)	Oui (0.593)	Oui (0.618)	Oui (0.615)	Oui (0.567)	Oui (0.876)	Oui (0.712)	Oui (0.776)	Oui (0.661)
Néphrotoxicité	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Test AMES	Non (0.149)	Non (0.14)	Non (0.133)	Non (0.079)	Non (0.137)	Non (0.318)	Non (0.438)	Non (0.447)	Non (0.452)
Carcinogénicité	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non

## 4. Discussion

### 4.1 Docking moléculaire

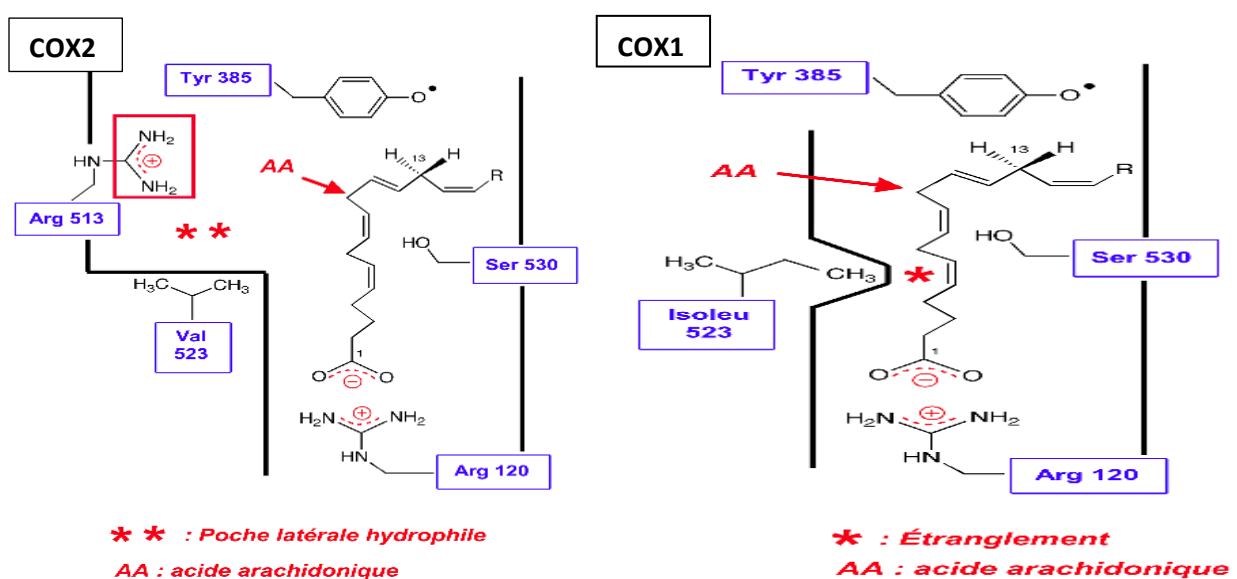
#### 4.1.1 Calcul du RMSD

L'analyse visuelle a montré que la conformation du ligand redocké avec la cible 4M11 était parfaitement superposable avec celle initialement ancrée dans le site actif avec une valeur du RMSD de 0.3066 Å, largement inférieure à la valeur seuil 2 Å (30). Ainsi que la conformation obtenue par CB Dock2 était aussi superposable avec le ligand co-cristallisé comme le montre la figure 5, avec une énergie de liaison de -11.7 kcal/mol indiquant que notre protocole est fiable et qu'il est applicable pour le reste de cette étude.

#### 4.1.2 Modifications structurelles

Les modifications proposées sur la structure du diclofénac ont été faites en tenant compte de sa relation structure-activité, en introduisant des éléments et des groupements fonctionnels dans différentes positions afin d'améliorer l'affinité envers les cibles étudiées (cox2 et microtubules).

La substitution de l'azote en position X2 par certains chalcogènes nucléophiles : soufre, oxygène, sélénium comme présentés dans les molécules **M1**, **M2** et **M5** a donné une augmentation de l'affinité notamment en ajoutant un indène en position X3 au sein des molécules **M5**, **M8** et **M11** ce qui forme des molécules structurellement plus volumineuses et donc plus sélectives pour la COX2, cette dernière est caractérisée par une taille plus grande de son site actif par rapport à la COX1, comprenant les acides aminés VAL 523, LEU 503, ARG 513 qui forme une poche hydrophile latérale (Figure 10) (31). Aussi des études récentes ont révélé que le Sélénium a un effet protecteur contre la toxicité de benzène (32) et des propriétés anticancéreuses importantes (33).



**Figure 10 :** Comparaison entre les acides aminés de site actif de COX2 et COX1.

Le remplacement du chlore par le fluor qui est plus électronégatif engendre un encombrement stérique (34) plus marqué et par conséquent les molécules **M3** et **M4** sont plus sélectives pour la COX2.

La recherche dans la littérature scientifique nous a permis d'introduire des hétérocycles en position X2 dans les molécules **M6** et **M7**. La pipéridine est présente dans plusieurs classes des produits pharmaceutiques, ainsi que dans les alcaloïdes, elle a montré des effets analgésiques, anti-inflammatoires et anti tumorales prouvés par des études publiées (35). La pipérazine aussi est utile pour ses caractéristiques structurales et conformationnelles et présente un potentiel effet anti-inflammatoire et analgésique (36).

En se basant sur des groupements qui ont été largement étudiés pour leur sélectivité envers les COX2 (37), nous avons ajouté des hétérocycles à cinq chaînons : thiazole, pyrazole, et triazole pour augmenter l'affinité pour la cible. Le benzothiazole, introduit dans la molécule **M12** présente des effets remarquables contre des lignées cellulaires cancéreuses comme celles du col de l'utérus (les cellules Hela), et contre certains types de tumeurs (38), le changement de l'azote par le soufre avec l'introduction de benzothiazole dans la molécule **M13** a donné une affinité plus importante pour les deux cibles étudiées.

Le pyrazole ; introduit dans la position X2 de la molécule **M16** ; est un groupement actif présent dans de nombreux AINS comme le célécoxib qui a montré une sélectivité pour les COX2, et d'après les données de recherche, le pyrazole et ses dérivés ont montré diverses propriétés anticancéreuses en interactions avec certaines cibles, notamment la tubuline (39,40) ce qui explique l'amélioration de sélectivité envers la COX2 et les microtubules. Récemment, des chercheurs ont trouvé des inhibiteurs sélectifs de COX2 à base de triazole (41), pour cela l'introduction de triazole en position X2 dans la molécule **M17** a montré une augmentation significative de l'affinité principalement en remplaçant l'acide carboxylique par un méthylsulfonyl.

En tenant compte des molécules connues comme ayant des activités inhibitrices plus marquées envers la COX2 (42), nous avons remarqué l'utilisation courante des groupements sulfonyles, cela explique le remplacement de l'acide carboxylique par des dérivés sulfoniques dans les molécules **M9**, **M14**, **M15**, **M18** et **M19**.

La combinaison de deux hétérocycles pyrazole et pyrimidine dans la molécule **M19** est marquée dans le domaine de la recherche scientifique en raison de leurs multiples impacts thérapeutiques, elle est importante dans la génération d'inhibiteurs potentiels contre plusieurs cibles (43,44), aussi présente des effets anticancéreux et utilisé contre le cancer gastrique (45). L'utilisation de pyrrolidine-2,5-dione

au niveau de la molécule **M20** a montré une activité inhibitrice de COX2 et considéré comme agent anti-inflammatoire contre plusieurs cibles comme la 5-lipoxygénase (5-LOX), et la COX1 (46).

#### 4.1.3 Affinité et Interactions

Plus l'énergie d'amarrage est faible, plus cette dernière présente une affinité élevée envers les cibles (47). Selon le tableau II, les molécules proposées ont présenté des énergies de liaison allant de -7.8 kcal/mol jusqu'à -10.1 kcal/mol, et qui sont toutes améliorées comparées avec le diclofénac qui a donné avec le même protocole une valeur de -7.6 kcal/mol, la molécule **M8** en particulier a présenté l'énergie la plus basse (-10.1kcal/mol). Et selon le tableau III les énergies de liaison sont toutes dans l'intervalle de -7,9 jusqu'à -10,2 kcal/mol, sauf la **M2** qui a présenté une énergie égale à celle du diclofénac (-7.5 kcal/mol), la **M19** a donné la valeur la plus basse (-10.2 kcal/mol).

Les acides aminés qui forment le site actif des COX2 selon les références sont : SER 530, ARG 120, VAL 523, TYR 385 et ARG 513 (48). La visualisation 2D et 3D par BIOVIA DISCOVERY des interactions du diclofénac avec la cible a révélé des liaisons avec les acides aminés suivants : ALA 527, VAL 349, SER 530, ILE 345, LEU 531. Tandis que pour les microtubules, les acides aminés mis en jeu dans l'interaction sont : ALA 12, VAL 177, ASN 206, TYR 224.

Les interactions sont classées selon la distance entre les résidus de la cible et le groupement fonctionnel du ligand formant cette liaison, celles comprises entre 2.5 Å et 3.1 Å sont des interactions fortes, entre 3.1 Å et 3.55 Å sont moyennes et au-delà de 3.55 Å sont faibles (49).

Selon les études publiées, les liaisons hydrogènes sont très intéressantes pour l'augmentation de l'affinité du ligand envers la protéine réceptrice (50).

**Pour les COX2 (4M11)**, le diclofénac a présenté une seule liaison hydrogène forte avec ALA 527 (d=2.85 Å), alors que la molécule **M3** a donné quatre liaisons hydrogènes fortes avec : ARG 120 (d=2.07 Å, d=2.31 Å), SER 530 (d=2.62 Å) et ALA 527 (d=2.95 Å), tandis que les molécules **M4**, **M12** et **M14** ont montré trois liaisons hydrogènes fortes, la molécule **M4** avec : ARG 120 (d=1.81 Å, d=2.23 Å), et SER 530 (d= 2.17 Å), **M12** avec : ARG 120 (d=2.06 Å, d= 2.09 Å), et TYR 385 (d=2.88 Å), **M14** avec : ARG 120 (d=2.04 Å, d=2.19 Å), et ALA 527 (d=2.63 Å). En outre les molécules **M9** et **M13** ont présenté deux liaisons hydrogène fortes, **M9** avec : TYR 385 (d=2.36 Å) et ALA 527 (d=2.75 Å), **M13** avec : ARG 120 (d=2.00 Å) et SER 530 (d=2.97 Å), ainsi la molécule **M7** a montré une liaison hydrogène forte avec TYR 385 (d=1.82 Å) et une autre liaison faible avec ALA 527 (d=3.64 Å), tandis que les molécules **M1**, **M5**, **M8**, **M10**, **M11**, **M15** et **M18** ont toutes présenté une seule

liaison hydrogène forte. Cependant les molécules **M5, M8 et M13** ont toutes présenté une liaison défavorable qui déstabilise le complexe formé ligand/récepteur.

En tenant compte des énergies de liaisons et des acides aminés en commun avec le site actif des COX2, les molécules qui présentent les meilleures interactions avec le site actif sont respectivement : **M3, M4, M12, M9 et M7.**

**Pour les microtubules (7Z2P)**, le diclofénac a présenté trois liaisons hydrogène fortes avec VAL 177 (d=2.40 Å), ASN 206 (d=2.97 Å) et TYR 224 (d=3.04 Å). Chacune des molécules **M15** et **M3** ont montré trois liaisons hydrogène fortes : **M15** avec TYR 224 (d=2.62 Å, d=2.79 Å) et ASN 206 (d=2.81 Å), **M3** avec VAL 177 (d=2.31 Å), TYR 224 (d=3.00 Å), et ASN 206 (d=3.01 Å), les molécules **M1, M5** et **M11** ont démontré deux liaisons hydrogène fortes, **M1** avec VAL177(d=2.33 Å), et ASN206 (d=3.00 Å), **M5** avec TYR 224 (d=2.93 Å), et ASN 206(d=3.02 Å), **M11** avec TYR 224 (d=2.79 Å), et ASN 206 (d=3.05 Å), par contre les molécules **M8 et M12** ont présenté deux liaisons hydrogène une forte et l'autre moyenne, **M8** avec TYR 224 (d=2.98 Å) et ASN 206 (d=3.12 Å), **M12** avec ASN 206 (d=3.03 Å), et TYR 224 (d=3.39 Å). En outre les molécules **M4, M17, M18, M19** et **M20** ont donné une seule liaison hydrogène. Tandis que les molécules **M8, M10, M11** et **M13** ont présenté des liaisons défavorables.

En tenant compte des résultats obtenus, les molécules qui présentent les meilleures interactions envers les microtubules sont respectivement : **M15, M3, M5, M1** et **M12.**

## **II.ADMET**

Il est essentiel qu'un bon candidat médicament ait un bon profil ADMET. Dans ce contexte et pour compléter notre étude nous avons évalué certaines propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques ainsi que la toxicité des molécules qui ont présenté les meilleures interactions envers les COX2 et les microtubules.

L'étude ADMET a été effectuée sur les molécules suivantes : **Diclofénac** (la référence), **M1, M3, M4, M5, M7, M9, M12** et **M15.**

Les résultats obtenus à l'aide du serveur ADMET SAR 3.0 ont montré une absorption intestinale humaine (HIA) supérieur à 90% pour toutes les molécules évaluées. Ce qui leurs permet d'atteindre le site d'action avec une très bonne perméabilité intestinale à travers les cellules CaCo-2 sachant que

toutes les protéines d'efflux, les protéines de transport et les enzymes de conjugaison de phase II sont exprimées dans ces cellules (51).

Comme le montre le tableau IV, toutes les molécules sont non substrats de la p-glycoprotéine, aussi non inhibitrices de cette dernière mis à part la molécule **M15**. A noter que l'inhibition de la p-glycoprotéine peut interférer avec la perméabilité, l'absorption et la rétention des médicaments (52), et que l'induction de la p-glycoprotéine est à l'origine de la réduction de la biodisponibilité du médicament (53).

Concernant le passage à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE), il est prédit que la molécule **M5** peut passer à travers la BHE contrairement aux autres molécules qui ont montré des valeurs en dehors de l'intervalle [0.73-0.91] (54).

Les iso enzymes du CYP450 (CYP1A2, CYP3A4, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6) sont importantes pour environ 90 % des réactions métaboliques oxydatives, plus elles sont inhibées, plus les interactions médicamenteuses avec de nombreux autres médicaments sont impliquées (55). Dans notre étude, les résultats montrent que toutes les molécules ont été prévues comme inhibitrices de CYP1A2 sauf les molécules **M1**, **M3**, **M5** et **M7**. Par ailleurs la molécule **M9** et **M15** sont prédites comme inhibitrices de CYP2CP et CYP2C19. Tandis que la molécule **M15** présente un effet inhibiteur potentiel envers toutes les iso formes du CYP450, cependant le diclofénac exerce un effet inhibiteur sur CYP1A2 et CYP2C9 (56).

Concernant la toxicité, les molécules évaluées ont été prédites comme hépatotoxiques et néphrotoxiques, ces effets sont également présentés par la molécule de référence (57,58) à l'exception de la molécule **M4** qui n'est pas néphrotoxique. Pour évaluer la toxicité gastrique nous avons eu recours aux valeurs de pka, les molécules **M4**, **M9** et **M15** ont présenté un pka inférieur à celui du diclofénac, tandis qu'il est plus élevé par rapport à ce dernier pour le reste. Il est à noter que plus le pka est bas, plus la toxicité gastrique augmente. (59)

Il s'avère que toutes les molécules ainsi que le diclofénac n'ont aucun effet ni mutagène ni cancérigène, cela suggère qu'ils ne sont pas susceptibles d'induire des changements dans le matériel génétique (60). Nous avons également noté un risque d'inhibition du gène hERG par les molécules **M5**, **M9**, **M15** et le **diclofénac**. En revanche les molécules **M1**, **M3**, **M4**, **M7** et **M12** n'exercent pas d'effet inhibiteur pour ce gène. A noter que l'inhibition de ce gène provoque des arythmies cardiaques ce qui pourrait entraîner une cardiotoxicité (61).

Les résultats obtenus révèlent que toutes les molécules prédites respectent parfaitement les lois de Lipinski et Veber, leur poids moléculaire est inférieur à 500 g/mol avec un log p inférieur à 5 indiquant qu'elles peuvent être administrées par voie orale sans poser de problèmes chez l'homme (62).

## 5. Conclusion

L'objectif de notre travail était de proposer de nouvelles molécules inhibitrices des COX2 et déstabilisantes des microtubules à moindre effets indésirables, et prédiction *in silico* de leur efficacité dans le traitement de l'inflammation et du cancer. Dans ce but, nous avons proposé une série d'analogues du diclofénac, un AINS efficace prouvé possédant un effet anticancéreux. Puis, nous avons effectué un docking moléculaire pour les ligands afin d'évaluer leur affinité et prédire les interactions envers les deux cibles à savoir (cox2 et microtubules). Les résultats montrent que les molécules **M3, M4, M12, M9 et M7** présentent les meilleures affinités et interactions envers les COX2, et que les molécules **M15, M3, M5, M1 et M12** présentent les meilleures affinités et interactions envers les microtubules en comparant les résultats obtenus à ceux du diclofénac. Quant aux propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques évaluées par ADMET SAR 3.0, toutes ces molécules présentent une bonne absorption par voie orale selon les règles de Lipinski et Veber. La plupart d'entre elles sont prédites non inhibitrices de la majorité des isoformes du CYP450, ce qui diminue le risque d'interaction avec d'autres médicaments. Les molécules **M1, M3, M5, M7 et M12** sont prédites moins gastrotoxiques par rapport au diclofénac, alors que toutes les molécules sont prédites néphrotoxiques y compris le diclofénac mis à part la molécule **M4**. Le diclofénac présente une cardiotoxicité (63), tandis que les molécules **M1, M3, M4, M7 et M12** ne la présentent pas selon les résultats obtenus *in silico*. En revanche, toutes les molécules sont prédites hépatotoxiques, et non cancérogènes et non mutagènes.

Les résultats obtenus de cette étude sont satisfaisants et peuvent être exploités pour la conception de nouvelles molécules anti-inflammatoires et anticancéreuses. Les molécules **M12** et **M7** ont spécifiquement présenté les meilleurs résultats d'affinités et du profil ADME et moins de toxicité gastrique par rapport au diclofénac, aussi sont non carditoxiques contrairement au diclofénac. D'autre part, la molécule **M3** a montré une affinité plus élevée avec prédiction de réduction d'effets indésirables par rapport au diclofénac. Nous proposons la synthèse de ces trois molécules et la poursuite de ce travail par des études expérimentales *in vitro*.

## Les références

1. Alexandra Villa-Forte .Introduction to the human body 2022 (msdmanuals.com)
2. Patnaik A, Kodati D, Pareta S, Patra K, Harwansh R. (2 011). Buchanania lanzan is a pharmacognostic miracle herb. Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; 7(3): 168- 182.
3. Silva R. H., Lima N. D. F. M, Lopes A. J., Vasconcelos C. C, de Mesquita J. W, de Mesquita L. S, ... & Garcia J. (2017). Antinociceptive Activity of Borreriaverticillata: In vivo and in silica Studies. Frontiers in pharmacology. 8(3): 283-290.
4. Bharat B Aggarwal . Nuclear factor-kappaB: the enemy within. Cancer Cell .2004Sep; 6(3):203-8. [PubMed] [Google Scholar]
5. Nitin Singh, Deepak Baby, Jagadish Prasad Rajguru, Pankaj B Patil, Savita S Thakkannavar, and Veena Bhojaraj Pujari. Inflammation and Cancer. Ann Afr Med. 2019 Jul-Sep; 18(3): 121–126.
6. Sayed Sartaj Sohrab, Riya Raj, Amka Nagar, Susan Hawthorne, Ana Cláudia Paiva-Santos, Mohammad Amjad Kamal, Mai M. El-Daly, Esam I. Azhar, and Ankur Sharma. Chronic Inflammation's Transformation to Cancer: A Nanotherapeutic Paradigm. 2023 Jun; 28(11): 4413.
7. Joel S. Brown, Sarah R. Amend, Robert H. Austin, Robert A. Gatenby, Emma U. Hammarlund, and Kenneth J. Pienta .Updating the Definition of Cancer .2023 Nov 1; 21(11): 1142–1147.
8. Cecile Thibert .Le figaro santé 2018. [Available from: <https://sante.lefigaro.fr/article/par-quels-mecanismes-meurt-on-du-cancer>]
9. Santé Omdl.Cancer 2022[Available from : <https://www.who.int/fr/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>.
10. Observatory GC. Algeria2021 [available from: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/12-algeria-fact-sheet.pdf>].
11. M.A. Rodwin et al. / European Journal of Cancer 145 (2021) 11e18 [available from: [https://www.ejancer.com/article/S0959-8049\(20\)31368-X/abstract](https://www.ejancer.com/article/S0959-8049(20)31368-X/abstract)].
12. Pan Pantziarka, Vidula Sukhatme, Gauthier Bouche, Lydie Meheus and Vikas P Sukhatme. Repurposing Drugs in Oncology (ReDO)—diclofenac as an anti-cancer agent. e cancer 2016, 10:610.
13. Oluwafunke R Kolawole , Khosrow Kashfi . NSAIDs and Cancer Resolution: New Paradigms beyond Cyclooxygenase. 2022 Jan 27; 23(3):1432.
14. Pubchem [available from:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3033>)]
15. Monographie du produit Voltaren Emulgel Extra fort. GSK Soins de santé aux consommateurs SRI. 4 mars 2020.
16. Pan Pantziarka, Vidula Sukhatme, Gauthier Bouche, Lydie Meheus and Vikas P Sukhatme. Repurposing Drugs in Oncology (ReDO—

- diclofenac as an anti-cancer agent. *ecancermedicalsecience* 2016, 10.
17. Soohee Choi, Suree Kim, Jiyoung Park, Seung Eun Lee, Chaewon Kim, Dongmin Kang 2022. [available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9138099/>].
  18. Md. Kamrul Hasan, Shamima Akhter, Kaniz Fatema, Md. Rezaul Hossain, Tamanna Sultana and Monir Uzzaman. Selective modification of diclofenac to reduce the adverse effects. Faculty of Science, Department of Chemistry, University of Chittagong, Chittagong, 4331, Bangladesh. January 2023.36(2023):101159
  19. Hoffer L. Development and validation of the S4MPLE software: Application to molecular docking and computer-assisted fragment optimisation in Fragment-Based Drug Design. PhD thesis: Chemoinformatics. Strasbourg: University of Strasbourg. France. 2013. 149p.
  20. Rose PW, Bi C, Bluhm WF, Christie CH, Dimitropoulos D, Dutta S, et al. The RCSB Protein Data Bank: new resources for research and education. *Nucleic Acids Research*. 26 nov2012 ;41(D1) : D475-82.
  21. Mehdi K, Oussama A. Etude des relations Quantitatives Structure-Activité (QSAR) de plusieurs familles de composés sur des données biologiques. Université Frères Mentouri Constantine 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie 2018-2019.
  22. Eswaramoorthy R, Hailekiros H, Kedir F, Endale M. In silico Molecular Docking, DFT Analysis and ADMET Studies of Carbazole Alkaloid and Coumarins from Roots of *Clausena anisata*: A Potent Inhibitor for Quorum Sensing. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*. 31 déc 2021; 14:13-24.
  23. Rahman A, Ali MT, Shawan MMAK, Sarwar MG, Khan MAK, Halim MA. Halogen-directed drug design for Alzheimer's disease: a combined density functional and molecular docking study. *SpringerPlus*. 12 août 2016; 5(1):1346.
  24. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*. 2009; 30(16):2785-91.
  25. J. Eberhardt, D. Santos-Martins, A. F. Tillack, and S. Forli. (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2021 Aug 23; 61(8):3891-3898.
  26. O. Trott, A. J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 31 (2010) 455-461.
  27. Nafisa M Hassan , Amr A Alhossary , Yuguang Mu , Chee-Keong Kwoh. Protein-Ligand Blind Docking Using QuickVina-W With Inter-Process Spatio-Temporal Integration. 2017 Nov 13; 7(1):15451.

28. Liu Y, Yang X, Gan J, Chen S, Xiao ZX and Cao Y. CB-Dock2: improved protein-ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting. *Nucleic Acids Res.* 2022 Jul 5; 50(W1): W159-W164.
29. Ewelina Jamrozik, Marek zmieja, Sabina Podlewska. ADMET-PrInt: Evaluation of ADMET Properties: Prediction and Interpretation. 2024 11 mars; 64(5):1425-1432.
30. Marcel L Verdonk , Jason C Cole, Michael J Hartshorn, Christopher W Murray, Richard D Taylor. Improved protein-ligand docking using GOLD. 2003 Sep 1; 52(4):609-23.
31. Prayaga Rajappan Krishnendu, Sonu Benny, Sunil Kumar, Jayalakshmi Jayan, Vaishnav Bhaskar, et al. structure-based approach to explore novel COX-2 inhibitors using pharmacophore modelling, 3D-QSAR analysis, virtual screening and dynamics simulation study, *Journal of Molecular Structure*, Volume 1295, Part 1, 2024,136634, ISSN 0022-2860.
32. Ibrahim KS, Saleh ZA, Farrag A-RH, Shaban EE. Effets protecteurs du zinc et du sélénium contre la toxicité du benzène chez le rat. *Toxicologie et santé industrielle.* 2011 ;27(6) :537-545.
33. Kuršvietienė L, Mongirdienė A, Bernatoniene J, Šulinskiene J, Stanevičienė I. Selenium Anticancer Properties, and Impact on Cellular Redox Status. *Antioxidants (Basel).* 2020 Jan 17;9(1):80.
34. Lenntech (European Head Office) électronégativité desm éléments chimiques  
Frolov NA, Vereshchagin AN. Piperidine Derivatives: Recent Advances in Synthesis and Pharmacological Applications. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 2; 24(3):2937.
35. Jain A, Chaudhary J, Khaira H, Chopra B, Dhingra A. Piperazine: A Promising Scaffold with Analgesic and Anti-inflammatory Potential. *Drug Res (Stuttg).* 2021 Feb; 71(2):62-72.
36. Ahmadi M, Bekeschus S, Weltmann KD, von Woedtke T, Wende K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: recent advances in the use of synthetic COX-2 inhibitors. *RSC Med Chem.* 2022 Feb 14; 13(5):471-496.
37. Irfan A, Batool F, Zahra Naqvi SA, Islam A, Osman SM, Nocentini A, Alissa SA, Supuran CT. Benzothiazole derivatives as anticancer agents. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2020 Dec; 35(1):265-279.
38. Zhang Y, Wu C, Zhang N, Fan R, Ye Y, Xu J. Recent Advances in the Development of Pyrazole Derivatives as Anticancer Agents. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 12; 24(16):12724.
39. Karrouchi K, Radi S, Ramli Y, Taoufik J, Mabkhot YN, Al-Aizari FA, Ansar M. Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole Derivatives: A Review. *Molecules.* 2018 Jan 12; 23(1):134.
- 40.

41. Li S. M. Tsai S. E. Chiang C. Y. Chung C. Y. Chuang T. J. Tseng C. C. Jiang W. P. Huang G. J. Lin C. Y. Yang Y. C. Fuh M. T. Wong F. F. *Bioorg. Chem.* 2020; 104:104333.
42. Zhang L, Lu YM, Dong XY. Effects and mechanism of the selective COX-2 inhibitor, celecoxib, on rat colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid. *Chin J Dig Dis.* 2004; 5(3):110-4.
43. Asati V, Anant A, Patel P, Kaur K, Gupta GD. Pyrazolopyrimidines as anticancer agents: A review on structural and target-based approaches. *Eur J Med Chem.* 2021 Dec 5; 225:113781.
44. Lee JA, Kwon YW, Kim HR, Shin N, Son HJ, Cheong CS, Kim DJ, Hwang O. A Novel Pyrazolo[3,4-d] pyrimidine Induces Heme Oxygenase-1 and Exerts Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. *Mol Cells.* 2022 Mar 31; 45(3):134-147.
45. Ding M, Wang H, Qu C, Xu F, Zhu Y, Lv G, Lu Y, Zhou Q, Zhou H, Zeng X, Zhang J, Yan C, Lin J, Luo HR, Deng Z, Xiao Y, Tian J, Zhu MX, Hong X. Pyrazolo[1,5-a] pyrimidine TRPC6 antagonists for the treatment of gastric cancer. *Cancer Lett.* 2018 Sep 28; 432:47-55.
46. Jan M. S. Ahmad S. Hussain F. Ahmad A. Mahmood F. Rashid U. Abid O. U. Ullah F. Ayaz M. Sadiq A. *Eur. J. Med.Chem.* 2020; 186:111863.
47. MonirUzzaman, Md. KamrulHasan, ShafiMahmud, KanizFatema, Mohammed MahbubulMatin. Structure- based design of new diclofenac: Physicochemical, spectral, molecular docking, dynamics simulation and ADMET studies. *July 2021.25(2021):100677.*
- Alain NUHRICH (UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université Victor-Segalen BORDEAUX 2) Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Juillet 2015.
48. Imberty A, Hardman K, Carver J, Perez S. Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. *Glycobiology.* 1 déc 1991; 1:631-42.
49. R C Wade, P J Goodford. The role of hydrogen-bonds in drug binding. *Prog Clin Biol Res,* 289 (1989), pp. 433-444.
50. Richard B van Breemen, Yongmei Li. Caco-2 cell permeability assays to measure drug absorption. *16 Aug 2005: 175-85.*
51. Andrew Finch, Peter Pellans. P- glycoprotein and its role in drug-drug interactions. *2014:37:137-9.*
52. Md Lutful Amin. P-glycoprotein Inhibition for Optimal Drug Delivery. *2013 Aug 19:7:27-34.*
53. Sadegh Faramarzi, Marlene T. Kim, Donna A. Volpe, Kevin P. Cross, Suman Chakravarti, and Lidiya Stavitskaya. Development of QSAR models to predict blood-brain barrier permeability. *2022 Oct 20:13:1040838.*

55. Longfei Guan, Hongbin Yang, Yingchun Cai, Lixia Sun, Peiwen Di, Weihua Li, Guixia Liu and Yun Tang. ADMET-score – a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. 2019 Jan 1; 10(1): 148–157.
56. Katsuhiro Ohyama , Norie Murayama, Makiko Shimizu, Hiroshi Yamazaki. Drug interactions of diclofenac and its oxidative metabolite with human liver microsomal P450 1A2-dependent drug oxidation. 2014 Jan; 44(1):10-6.
57. Thilini Delungahawatta, Ashik Pokharel, Robert Paz, Christopher J Haas. Topical Diclofenac- Induced Hepatotoxicity. 2023 May 8; 13(3):108-112.
58. Johanna Störmer, Wilfried Gwinner, Katja Derlin, Stephan Immenschuh, Song Rong, Mi-Sun Jang, Nelli Shushakova, Hermann Haller, Faikah Gueler, Robert Greite. A Single Oral Dose of Diclofenac Causes Transition of Experimental Subclinical Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease. 2022 May 22; 10(5):1198.
59. Bjarnason , C Scarpignato, K Takeuchi, K D Rainsford. Determinants of the short-term gastric damage caused by NSAIDs in man. 2007 Jul 1; 26(1):95-106.
60. K Mortelmans, E Zeiger. Le test de mutagenicité d'Ames Salmonella/microsomes. 2000 Nov 20; 455(1-2):29-60.
61. Meruyert Kudaibergenova, Laura L Perrissinotti , Sergei Y Noskov. Lipid roles in hERG function and interactions with drugs. 2019 May 1; 700:70-77.
62. Christopher A. Lipinski, Franco Lombardo, Beryl W. Dominy, Paul J. Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Reviews* 23 (1997) 3–25.
63. Morten Schmidt , Lars Arendt-Nielsen, Ellen-Margrethe Hauge, Henrik Toft Sorensen, Lars Pedersen. Risques cardiovasculaires et troubles cardiovasculaires à forte dose ou à faible dose: une émulation d'essai cible. 2023 juil. 29; 9(5):453-461.

