

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

Faculté des Sciences
Département de Chimie



Domaine : **Science de la matière**
Filière : **Chimie**
Spécialité : **Chimie pharmaceutique**

Mémoire de Master

Thème

***Contribution théorique à l'étude d'une série
d'inhibiteurs de la cyclo-oxygénase : étude ADMET
et docking moléculaire***

Présenté par :

NOM : SOUFI
Prénom : Asma

NOM : HAMOUDI
Prénom : Fawzi

Soutenu publiquement, le 11/07/2023, devant le Jury composé de :

NAIT ABDELLAH Zahra	MCA	UMMTO	Présidente
BOUAKOUK Zohra	MCB	UMMTO	Promotrice
SAAL Amar	Professeur	UMMTO	Examineur

Session 2022 / 2023

Dédicaces

En premier lieu louanges à **Allah** de m'avoir donné le courage et la force tout au long de mon parcours universitaire.

Je dédie ce modeste travail : **À toute la famille HAMOUDI.**

Particulièrement **mes chers parents** pour leur soutien infailible, leur encouragement, leurs sacrifices et qui ont jamais cessé à formuler les prières à mon égard. Leur amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

À mes chers frères et soeurs.

**À tous mes amis et à toute personne qui m'a soutenue
de près et de loin.**

Fawzi

Merci **Allah** de m'avoir donné la capacité d'écouter et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et dire

الحمد لله

Je dédie ce modeste travail

À la mémoire, mon support dans la vie : mon cher père **Hamid**.

À la femme qui souffre et ne me laisse jamais souffrir : ma chère mère **Noura**.

À ma chère sœur **Roumaissa** et mon cher frère **Aziz**, de m'avoir supporté tout au long de mes études.

À toute la famille **Soufi** et **Esseghir**, pour leur amour et leur encouragement.

À mes amis et ma deuxième famille **Dyhia, Lamia et Mclissa, Lynda** pour leur soutien, leur patience et leur compréhension.

À la chère personne qui m'a soutenu tout au long du parcours de mon mémoire de fin d'études : **Ramy**

Je présente mes remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin tout au long de mon cursus.

Asma

Remerciements

Ce travail a été effectué à la salle informatique de département de chimie, faculté des sciences de l'UMMTO.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice *Madame BOUAKOUK Zohra*, Maître de conférences à l'université MOULOUD MAMMARI de TIZI-OUZOU, qui nous a encadrées ce travail avec une grande rigueur scientifique. Nous la remercions profondément pour ses encouragements et sa disponibilité à tout instant. Le chemin aurait été beaucoup plus ardu sans sa présence. Puissiez-vous trouver notre profonde reconnaissance.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à *Madame NAIT ABDELLAH Zahra*, Maître de conférences à l'université MOULOUD MAMMARI de TIZI-OUZOU, pour l'honneur qu'elle nous fait, en acceptant de présider ce jury.

Nous tenons à remercier respectueusement *Monsieur Amar SAAL*, Professeur à l'université MOULOUD MAMMARI de TIZI-OUZOU, pour avoir accepté de juger ce travail et d'apporter sa critique de spécialiste en chimie théorique.

Nous exprimons nos remerciements à l'ensemble de nos enseignants, plus particulièrement ceux de master chimie pharmaceutique, ainsi que le personnel de département de chimie.

Un remerciement spécial à nos parents qui ont tant sacrifié pour qu'on arrive à la fin de ce chemin et pour leurs soutiens, en espérant de les rendre fiers de nous. Enfin, nous remercions nos amis et nos camarades et toute personne ayant contribué et aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Abréviations

2D : bidimensionnelle

3D : tridimensionnelle

AA : acide arachidonique

ADME : absorption distribution métabolisme excrétion

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien

BBB : blood–brain barrier.

C° : degré Celsius

CL : la clairance

COX : cyclo-oxygénase

COX-1 : cyclo-oxygénase 1

COX-2 : cyclo-oxygénase2

DFT : Density Functional Theory

DILI : Drug induced liver injury

DLS : la spectroscopie de diffusion de la lumière

DZ : doubles zêta

GTO : gaussiennes type orbitals

HERG : gène humain lié à l'éther-a-go-go

HFR : Hartree-Fock Roothaan

H-HT : hépato-toxicité humaine

HIA : humain intestinal absorption

IR : infra rouge

LCAO : linear combination of atomic orbitals

MBD : Membrane Binding→ Domain

MDCK : Mdin-Darby canine Kidney

MMFF : merck molecular force filed

OA : orbitales atomiques
OM : orbitales moléculaires
OPLS : optimized potentials for liquid simulations
PGD2 : prostaglandine D2
PGE2 : prostaglandine E2
PGF2 : prostaglandine F2
PGG2 : prostaglandine G2
PGH2 : prostaglandine H2
PGI2 : prostaglandine I2
PGHS : prostaglandine H synthase
PM3 : Parametrization Model 3
PV : Polarisation Valence
RMN : résonance magnétique nucléaire
RMSD : Root Mean Square Deviation
SCF : self consistent field
STO : Slater type orbitals
TXA2 : thromboxane A2
TZ : triple zêta
XP : Extra Precision

SOMMAIRE

Introduction générale	1
Chapitre 1 : Processus inflammatoire et ses médiateurs	
1. L'inflammation	4
2. Métabolisme des prostaglandines	4
2.1 Cascade de l'acide arachidonique.....	4
2.2 Rôle physiologique des prostaglandines.....	5
3. Cibles biologiques (Cyclo-oxygénase)	6
3.1 <i>Structure</i>	6
3.2 <i>Caractéristiques du site actif</i>	7
4. Inhibiteurs de la cyclo-oxygénase	8
4.1 <i>Inhibiteurs d'origine synthétique</i>	8
4.1.1 Anti-COX non sélectifs.....	9
4.1.2 Anti-COX-1 préférentiels.....	9
4.1.3 Anti-COX-2 préférentiels.....	9
4.1.4 Anti-COX-2 sélectifs.....	9
4.2 <i>Inhibiteurs d'origine naturelle : Cis-stilbènes</i>	9
4.2.1 <i>Structure</i>	9
4.2.2 <i>Activités des Cis-stilbènes</i>	10
4.2.2.1 <i>Activité anti-inflammatoire</i>	10
4.2.2.2 <i>Activité anti-oxydante</i>	10
Références Bibliographie.....	11

Chapitre 2 : Matériels et méthodes utilisés

1. Introduction	13
2. Méthodes de la chimie théorique	13
2.1 <i>Mécanique Quantique</i>	13
2.1.1 Equation de Schrödinger.....	13
2.1.2 Approximation de Born-Oppenheimer.....	14
2.2 <i>Méthodes de calcul en chimie quantique</i>	14
2.2.1 Méthode ab-initio.....	14

2.2.2 Méthodes semi-empiriques.....	15
2.2.3 Théorie de la fonctionnelle de la densité.....	15
2.3 Mécanique Moléculaire.....	16
2.3.1 Champ de force.....	17
3. Processus ADMET.....	19
4. Méthodes de Drug Design.....	22
4.1 Approche « rceptor-based ».....	22
4.1.1 Principe de docking moléculaire.....	23
4.1.2 Différents types de docking.....	24
Références Bibliographique.....	28

Chapitre 3 : Résultats et Discussions

Partie 1 : Etude ADMET d'une série de dérivés de cis-stilbène inhibant la Cyclooxygénase

1. Méthodologie utilisée.....	31
1.1 Présentation des molécules étudiées.....	31
1.2 Modélisation des structures.....	33
2. Résultats et discussions.....	33
2.1 Application de la règle de Lipinski.....	33
2.2 Propriétés de chimie médicinale.....	34
2.3 Etude ADMET.....	35
2.3.1 Absorption.....	35
2.3.2 Distribution.....	37
2.3.3 Métabolisme.....	38
2.3.4 Elimination.....	39
2.3.5 Toxicité.....	40

Partie 2 : Etude par docking moléculaire des modes de reconnaissance d'une série de sept stilbène inhibant la cyclooxygénase

1. Méthodologie et matériaux utilisés.....	42
1.1 Ligand.....	42
1.2 Récepteur.....	42
1.3 Protocole du docking.....	43
1.3.1 Préparation de la cible.....	43

1.3.2 Génération de la grille.....	44
1.3.3 Préparation des ligands.....	44
2. Résultats et discussions.....	44
2.1 <i>Validation des paramètres du docking.....</i>	44
2.2 <i>Analyse des modes de liaison des molécules étudiées.....</i>	45
Conclusion générale.....	51

Liste des figures

Figure 1.1 : Structure 2D de l'acide arachidonique.....	4
Figure 1.2 : Cascade métabolique de l'acide arachidonique.....	5
Figure 1.3 : Structure 3D de la cyclooxygénase.....	7
Figure 1.4 : Principales différences structurales entre le site actif de COX-1 et COX-2.....	8
Figure 1.5 : Structure chimique des Stilbenes : (a) trans, (b) cis.....	10
Figure 2.1 : Illustration des Interactions intramoléculaires entre atomes liés et non liés.....	18
Figure 2.2 : Classification des méthodes de drug design.....	22
Figure 2.3 : Illustration schématique du processus de docking.....	23
Figure 2.4 : Schéma illustrant le principe de «la clé et de la serrure» d'Emile Fisher.....	24
Figure 2.5 : Changement de conformation d'un ligand au contact d'un récepteur.....	26
Figure 2.6 : Principales étapes d'un docking moléculaire.....	25
Figure 3.1 : Représentation 3D de 6COX.pdb.....	43
Figure 3.2 : Structure chimique de SC-558.....	43
Figure 3.3 : Superposition des deux conformations de SC-558 dans la COX-2.....	45
Figure 3.4 : Mode de liaison du M4 dans COX-2.....	47
Figure 3.5 : Mode de liaison du M2 dans COX-2.....	47
Figure 3.6 : Mode de liaison du M3 dans COX-2.....	47
Figure 3.7 : Mode de liaison du M1 dans COX-2.....	48

Liste des tableaux

Tableau 3.1 : code, structure 2D et valeur IC50 de chaque composé étudié.....	32
Tableau 3.2 : Vérification de la règle de Lipinski	34
Tableau 3.3 : Valeurs des propriétés de chimie médicale.....	35
Tableau 3.4 : Valeurs des propriétés d'absorption.....	36
Tableau 3.5 : Valeurs des propriétés de distribution.....	37
Tableau 3.6 : Valeurs des propriétés de métabolisme.....	39
Tableau 3.7 : Valeurs des propriétés d'élimination.....	39
Tableau 3.8 : Valeurs des propriétés permettant de prédire la toxicité des composés étudiés.	40
Tableau 3.9 : Résultats du docking relatifs aux composés étudiés.....	46
Tableau 3.10 : Interactions entre les résidus de la COX-2 et les différents ligands.....	49

INTRODUCTION GENERALE

Grâce aux avancées significatives des technologies informatiques, tels que plus d'espace de stockage, des calculs plus rapides, de meilleures possibilités de graphisme, la création de logiciels scientifiques, ainsi que la multiplication de langages et de plateformes informatiques, la modélisation moléculaire a bénéficié de nouveaux outils permettant de franchir de nouveaux domaines et d'améliorer la qualité des résultats obtenus. Cela offre aux chimistes une meilleure compréhension des problèmes moléculaires et atomiques, ainsi qu'un nouvel outil de recherche et d'analyse dans le domaine de la chimie structurale.

La modélisation moléculaire peut aussi être utilisée pour l'obtention de modèles pouvant prédire et comprendre les structures, les propriétés et les interactions moléculaires. La cohérence et la fiabilité des résultats obtenus sont vérifiées grâce à leur confrontation aux informations disponibles dans la littérature.

Les travaux rapportés dans ce mémoire de master, relèvent du domaine de la modélisation moléculaire et sont réalisés à l'aide de certaines méthodes et concepts de la chimie théorique et drug design. Ils consistent à prédire et mieux comprendre les propriétés pharmacodynamiques de quelques dérivés de cis-stilbène, qui sont dotés d'un profil anti-inflammatoire [1].

D'après les recherches menées, l'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) est principalement liée à la suppression de la synthèse des prostaglandines (PGs) en bloquant la cyclo-oxygénase (COX). La COX est une protéine membranaire qui existe sous deux formes : COX-1 et COX-2 [2]. La COX-1 est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme, alors que la COX-2 est principalement induite par l'inflammation. La COX-2 est impliquée dans de nombreuses maladies inflammatoires chroniques, telles que l'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde, et est responsable de la douleur et de l'inflammation. Les effets physiologiques et indésirables de ces isoenzymes ont conduit au développement d'AINS sélectifs pour la COX-2, qui présentent une marge de sécurité plus favorable.

Notre propos, dans ces travaux de mémoire, consiste à déterminer et analyser les propriétés physico-chimiques décrivant les différentes étapes du processus ADMET (absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité) de sept composés dérivés de cis-stilbène

inhibant la cyclooxygénase, d'une part, et d'autre part, d'étudier les modes de reconnaissance de ces composés sélectionnés et la cible COX-2.

Après une introduction générale où nous présentons le but du travail, ce mémoire s'articule autour de trois chapitres suivis d'une conclusion générale.

Dans le premier chapitre, nous résumons les résultats de notre recherche bibliographique concernant les entités impliquées dans le processus inflammatoire et des composés non stéroïdiens, synthétiques et d'origine naturelle, connus pour leur effet anti-inflammatoire.

Le second chapitre est consacré à la présentation des approches de la modélisation moléculaire et, en particulier celles utilisées dans nos travaux de recherche.

Le dernier chapitre de ce manuscrit est consacré à la présentation et à la discussion des résultats obtenus. Il est structuré en deux parties successives. La première porte sur une étude de processus ADMET permettant de prédire le devenir d'une série de molécules d'origine naturelle dérivant de cis-stilbène dans l'organisme. La deuxième partie consiste à étudier au moyen du docking moléculaire, les modes de liaison de la série de molécules sélectionnée sur la cible COX-2.

En conclusion générale de nos travaux, nous y résumons les principaux apports de nos recherches. Aussi, nous reportons quelques perspectives permettant d'affiner nos résultats et d'aller plus loin dans nos investigations.

Références bibliographiques

- [1] Bouakouk-Chitti Zohra, Feddal Samira, Meyar Meriem and Safia Tairi-Kellou (2017)
Ligand-based studies on cis-stilbene derivatives as cyclo-oxygenase inhibitors. Medicinal Chemistry Research, DOI : 10.1007/s00044-017-1890-1.
- [2] Vane JR (1971) Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for Aspirin like drugs. Nature, 231: 232-235.

Chapitre 1

Processus inflammatoire et ses médiateurs

1. INTRODUCTION

L'inflammation est un ensemble de mécanismes de défense par lesquels un organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont nocives, quelle que soit leur origine : exogène (physique, chimique et infectieuse) ou endogène (cellules cancéreuses) [1]. Le processus inflammatoire implique un réseau complexe de médiateurs et de cellules impliqués de diverses manières, selon l'agent causal, le site et l'individu. Nous décrivons ci-dessous le mécanisme biologique et les médiateurs impliqués dans l'inflammation, ainsi que les classes d'inhibiteurs actuellement développés.

2. Métabolisme des prostaglandines

Une réponse inflammatoire se caractérise par une rougeur, une douleur, une chaleur et un gonflement. Ces quatre manifestations ou symptômes sont la conséquence directe d'agents biologiques appelés prostaglandines [2]. Ces médiateurs sont synthétisés selon un mécanisme que nous décrivons ci-dessous appelé la cascade arachidonique.

2.1 Cascade de l'acide arachidonique

L'acide arachidonique ou eicosa-5, 8, 11, 14-tétraénoïque, acide gras à 20 atomes de carbone, est un constituant essentiel des membranes cellulaires issu de l'élongation et de la désaturation hépatique de l'acide linoléique (**figure 1.1**) [2]. Sa libération est principalement assurée par les phospholipases A2, qui sont activées par des stimuli physiologiques ou par certaines cytokines pro-inflammatoires [3].

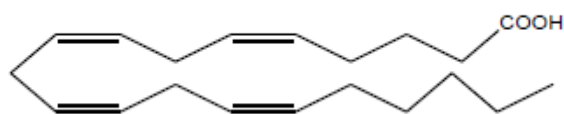


Figure 1.1 : Structure 2D de l'acide arachidonique

L'acide arachidonique ainsi formé va ensuite être métabolisé :

- ✓ Soit par la voie de la cyclo-oxygénase (COX), conduisant à la formation de prostaglandines, de thromboxanes ou de prostacyclines, qui sont également appelés prostanoides
- ✓ Soit par la voie de la lipo-oxygénase, produisant des leucotriènes [4].

Dans notre travail, nous ciblons la voie COX, qui permet la synthèse des prostanoïdes. Les cyclooxygénases sont des enzymes bifonctionnelles qui catalysent les premières étapes du métabolisme des AA. La première activité dioxygénase, constituée de deux molécules d'oxygène liées à l'AA, conduit à la formation de la prostaglandine G2 (PGG2). La deuxième étape est une activité peroxydase responsable de la réduction de la PGG2 en prostaglandine H2 (PGH2). Ces deux fonctions, dioxygénase et peroxydase, sont situées sur deux sites, fonctionnellement et spatialement distincts [1]. Des mécanismes d'isomérase ou de synthétase vont transformer de façon sélective les PGH2 en prostaglandines (PGE2, PGF2 α et PGD2), en thromboxanes A2 (TXA2) ou en prostacyclines (PGI2) (**Figure 1.2**).

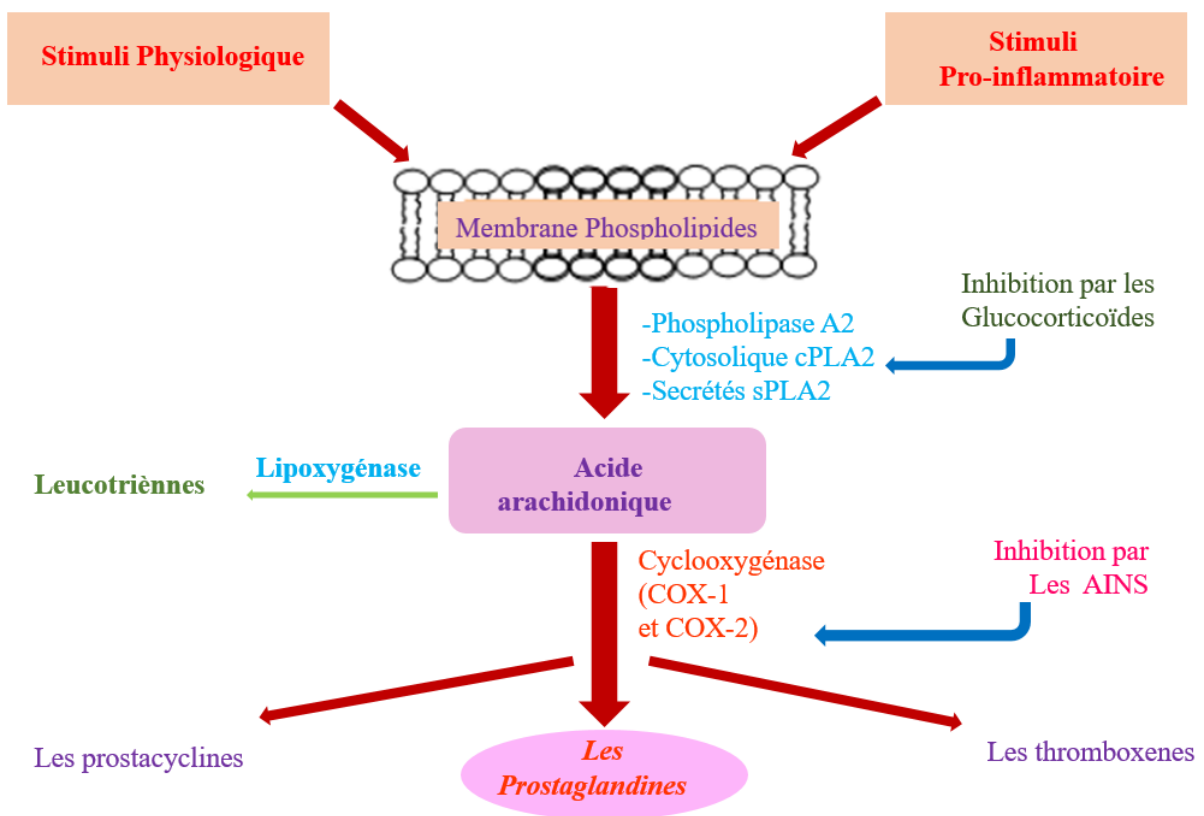


Figure 1.2 : Cascade métabolique de l'acide arachidonique.

2.2 Rôle physiologique des prostaglandines

Les prostaglandines (PGs) sont secrétées dans différentes parties de notre organisme et jouent un rôle fondamental, d'où leur nécessité pour son bon fonctionnement.

-**PGD2** : Elle est détectée dans plusieurs organes ; le cerveau, les poumons, l'estomac, le foie, l'intestin et la peau. Il existe de grandes concentrations de PGD2 synthétase dans le système nerveux central [5]. La PGD2 est une substance capable d'induire le sommeil [6].

-**PGF2 α** : Elle est surtout retrouvée dans le poumon, la rate et le rein [7].

-**PGE2** : Elle constitue le produit majeur de la voie des PGHS et est présente dans de nombreux tissus (estomac, rein, poumon, cerveau...). Elle participe principalement au maintien de la perfusion rénale par son activité vasodilatatrice [8].

-**PGI2** : Elle est purifiée dans le plasma. Elle est un puissant vasodilatateur et également un inhibiteur de l'agrégation plaquettaire [9]. En outre, elle constitue un puissant anti-acide gastrique par le maintien de l'intégrité de la muqueuse gastro-intestinale.

-**TXA2** : Elle est exprimée dans les plaquettes, les leucocytes, les monocytes, les macrophages, le foie, les poumons et la rate [10]. Le TXA2 est un régulateur de l'agrégation plaquettaire, vasoconstricteur et pro-agrégant.

Il faut noter que ces multiples actions des prostanoïdes découlent de l'existence de deux isoformes de la cyclo-oxygénase : COX-1 et COX-2, nommés aussi prostaglandine endoperoxyde synthase 1 (PGHS-1) et prostaglandine endoperoxyde synthase 2 (PGHS-2) [11].

3. Cible biologiques (cyclooxygénase)

3.1 Structure

La cyclooxygénase (COX) est appelée également la prostaglandine endoperoxyde synthétase (PGHS). En 1991, deux isoformes de la COX ont été identifiées : COX-1 et COX-2. La première est constitutivement exprimée dans le système gastro-intestinal, les reins, le muscle lisse vasculaire et les plaquettes. La COX-2 est indétectable dans la plupart des tissus, mais son expression peut être rapidement induite par une variété de stimuli : facteurs de croissance, cytokines liées à la réponse inflammatoire ou promoteur de tumeur [12]. La structure tridimensionnelle de la COX a été publiée au milieu des années 90 aussi bien pour COX-1 que pour COX-2 [13, 14]. Ces enzymes sont structurées en homodimères. Chaque unité présente trois domaines distincts (**figure 1.3**) :

- ✓ un domaine N-terminal EGF-like « Epidermal Growth Factor like » formé de deux doubles feuillets β .
- ✓ un domaine de liaison à la membrane ou ancrage membranaire MBD (Membrane Binding Domain) composé de 4 hélices α permettant aussi bien l'insertion du dimère que le transit de l'acide gras membranaire.

- ✓ un domaine catalytique en C-terminal globulaire, de type héminique, comprenant un site di-oxygénase et un site peroxydase distincts et représentant environ 80% de la protéine. Les deux sites actifs sont séparés fonctionnellement puisque la plupart des inhibiteurs de la fonction di-oxygénase, n'affecte pas la fonction peroxydase [13, 14]

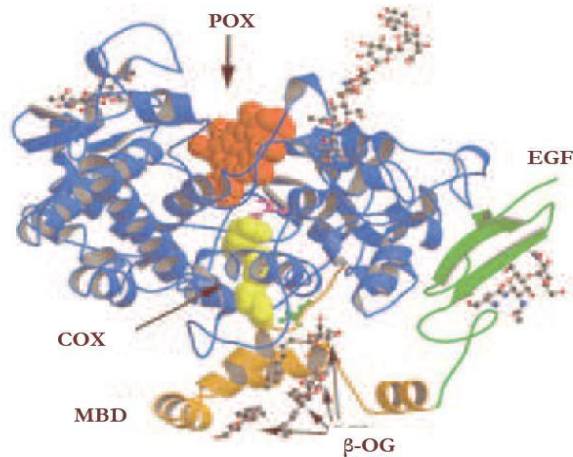


Figure 1.3 : Structure 3D de la cyclooxygénase.

3 domaines distincts :

MBD : ancrage membranaire (marron), **EGF-like** : assemblage monomères (vert)

Domaine catalytique : Sites dioxygénase (jaune) et Peroxydase (rouge) distincts

3.2 Caractéristiques du site actif

Les deux sites actifs des COXs représentent le domaine catalytique. Les résidus composant le site actif confirment le rôle commun essentiel de plusieurs acides aminés. Il est reporté dans la littérature que deux résidus sont essentiels à l'activité de la cyclo-oxygénase sur le ligand endogène et qui sont :

- ✓ **Tyr³⁸⁵** : située au sommet du site actif, il initie la réaction enzymatique en servant à l'insertion d'une première molécule d'oxygène sur l'acide arachidonique [15].
- ✓ **Arg¹²⁰** : située à l'entrée du site actif et maintenue sous une forme protonée, son groupement guanidine intervient dans une liaison électrostatique avec la fonction acide du ligand endogène ou des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui contiennent une fonction carboxylique (COO⁻). La structure des iso-enzymes présente des similitudes, mais aussi des différences : Les deux iso-enzymes ont chez l'espèce humaine plus de 60% d'homologie de séquence [16].

Le site actif de la COX-2 est plus large (+25%) et plus volumineux (+17%) que celui de COX-1 ; ce qui lui donne une sélectivité importante des AINS. Le site actif de la COX-2 possède une poche latérale supplémentaire par rapport à celui de la COX-1. Cette différence étant due à la substitution d'un acide aminé très volumineux de COX-1 (Leu523) par un acide aminé peu volumineux dans la COX-2 (Val509) (voir **figure 1.4**). La COX-2 est plus flexible que la COX-1, car elle peut exister sous plusieurs conformations [17].

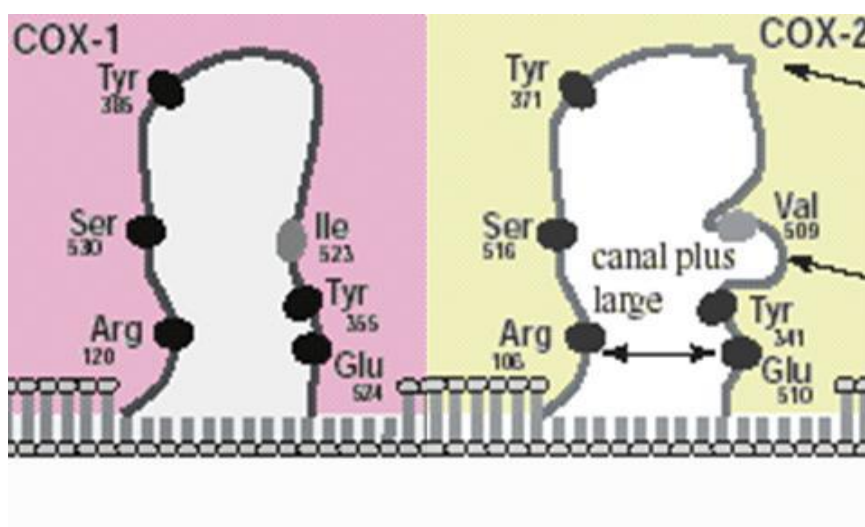


Figure 1.4 : Principales différences structurales entre le site actif de COX-1 et COX-2.

4. Inhibiteurs de la cyclooxygénase

4.1 Inhibiteurs d'origine synthétique

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une large classe de molécules aux propriétés complexes. Plusieurs classifications ont été proposées. Ils reposent soit sur la structure chimique des AINS, soit sur leur puissance, soit encore sur leur sélectivité anti-COX. La classification actuelle basée sur la sélectivité anti-COX est la plus raisonnable.

Nous donnons ci-dessous, une classification des AINS basée sur la sélectivité anti-COX, ainsi que quelques exemples d'AINS, dont certains ont été retirés du marché.

4.1.1 Anti-COX non sélectifs

Les anti-COX non sélectifs, appelés aussi inhibiteurs réversibles compétitifs COX-1 et COX-2, sont des AINS qui inhibent la COX-1 et la COX-2 aux différentes posologies

utilisées. Parmi les médicaments de cette catégorie, nous pouvons citer : Le *Diclofénac*, l'*Ibuprofène* et le *Naproxène* [1].

4.1.2 Anti-COX-1 préférentiels

Les anti-COX-1 préférentiels sont définis comme des inhibiteurs préférentiels de la COX-1 et affectent peu COX-2 à faible posologie. Parmi eux on cite : l'*Aspirine*, l'*Indométhacine* et le *Piroxicam* [1].

4.1.3 Anti-COX-2 préférentiels

Les anti-COX-2 préférentiels ou inhibiteurs lents COX-1 et COX-2, affectent peu la COX-1 à faible posologie, mais aux posologies maximales inhibent préférentiellement la COX-2. Parmi eux nous citons : Le *Meloxicam*, le *Nimésulide* et l'*Etodolac* [1].

4.1.4 Anti-COX-2 sélectifs

Étant donné que les effets analgésiques et anti-inflammatoires des AINS sont médiés par l'inhibition de la COX-2, et leurs effets secondaires gastro-intestinaux principalement par l'inhibition de la COX-1. Les AINS qui inhibent sélectivement la COX-2 pourraient réduire le risque de toxicité gastro-intestinale par rapport aux autres AINS. Les anti-COX-2 sélectifs appelés aussi coxibs, sont des AINS inhibant spécifiquement l'iso-enzyme COX-2. En 1997, Penning et ses collaborateurs ont découvert un diarylpyrazole inhibant sélectivement COX-2 : le *Célecoxib* (IC₅₀ : COX-2/ COX-1= 0.002). Les relations structure-activité issues de cette recherche ont été prises en compte pour la conception de nouveaux coxibs tels que : le *Rofécoxib*, le *Valdécoxib* et le *Lumiracoxib* [1].

4.2 Inhibiteurs d'origine naturelle : Cis-stilbènes

4.2.1 Structure

Les stilbènes sont une classe de composés naturels polyphénoliques présents dans les plantes supérieures. Leur structure est caractérisée par deux cycles aromatiques liés par une fraction éthylène. Les stilbène existent sous deux formes diastéréoisomères, l'E-1,2-diphényléthylène (configuration *trans*) et le Z-1,2-diphényléthylène (configuration *cis*), tandis que l'isomère E est la configuration la plus courante [18].

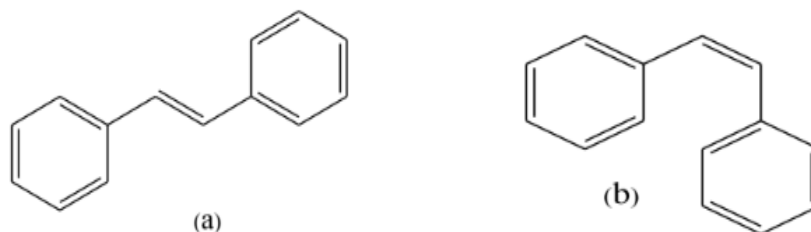


Figure 1.5 : Structure chimique des Stilbenes : (a) trans, (b) cis

Les stilbènes naturels sont produits par plusieurs plantes pour se protéger contre les conditions de stress telles que l'irradiation excessive aux ultraviolets (UV), l'exposition à la chaleur, les attaques d'insectes et les infections fongiques ou bactériennes [19]. Outre la grande variété de stilbènes naturels, notamment hydroxylés [20, 21], méthoxylés [22, 23], glycosylés [24], ou dérivés prénylés [25], les diverses modifications chimiques du stilbène naturel ont été conçues pour augmenter la puissance, la sélectivité et améliorer les propriétés physicochimiques, biochimiques et pharmacocinétiques et ainsi créer l'immense bibliothèque de structures utiles.

4.2.2 Activités des cis-stilbènes

4.2.2.1 *Activité antioxydante*

Les cis-stilbènes présentent une activité antioxydante importante en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres et à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. Une étude a montré que le cis-stilbène inhibe efficacement la peroxydation lipidique induite par le fer dans le cerveau des rats [25].

4.2.2.2 *Activité anti-inflammatoire*

Les cis-stilbènes ont également une activité anti-inflammatoire en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires. Des études ont montré que les cis-stilbènes tels que le trans-resvératrol inhibent la production de cytokines telles que l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α dans les cultures de cellules macrophages stimulées par le lipopolysaccharide (LPS) [26].

Références Bibliographiques

- [1] Bouakouk-Chitti Z (2014) Modélisation moléculaire et étude structurale des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase. Mémoire de Magister, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Algérie.
- [2] Eberhart CE, Dubois RN (1995) Eicosanoids and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, 109, 285-301.
- [3] Jouzeau JY, Daouphars M, Benani A, Netter P (2004) Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroenterol Clin. Biol.* 28,7-17.
- [4] Monassier (2005/2006) Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Faculté de Médecine de Strasbourg, Module de Pharmacologie Générale DCEM1.
- [5] Kargman S, Charleson S, Cartwright M, Frank J, Riendeau D, Mancini J, Evans J, O'Neill G (1996). *Gastroenterology*, 111(2) : 445-54.
- [6] Goodwin JS, Ceuppens J, Clin (1983). *J. Immunol.* 3: 295-315.
- [7] Coleman RA, Smith WL, Narumiya S (1994) *Pharmacol. Rv.* 46: 206-229.
- [8] Utsunomiya I, Nagai S, Oh-Ishi S (1994). *J. Pharmacol Eur.* 252 :213-218.
- [9] Dirig DM, Yaksh TL (1999) *Pharmacol Br.* 126: 1333-40.
- [10] Bresnahan BA, Le Breton GC, Lianos EA (1996) Localization of authentic thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor in the rat kidney. *Kidney international*, 49(5), 1207-1213.
- [11] Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL (1991) Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1; 88(7):2692-2696.
- [12] Vane JA, Bakhle YS, Botting RM (1998) Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38, 97–120.
- [13] Picot D, Loll PJ, Garavito RM (1994) The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H₂ synthase-1. *Nature*, 6460, 243-9.
- [14] Luong C, Miller A, Barnett J, Chow J, Ramesha C, Browner MF (1996) Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2. *Nat. Struct. Biol.* 3, 927-33.
- [15] Jouzeau JY, Daouphars M, Benani A, Netter P (2004) Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroenterol Clin. Biol.* 28, C7-C17.
- [16] Hla T, Neilson K (1992) Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89,29 7384-7388.
- [17] Garavito RM, Malkowski MG, Dewitt DL (2002) The structures of prostaglandin

- endoperoxide H synthases-1 and -2. *Prostaglandins & Other Lipid Mediat.* 68- 69, 129-52.
- [18] Giacomini E, Rupiani S, Guidotti L, Recanatini M, Roberti M (2016) The Use of Stilbene Scaffold in Medicinal Chemistry and Multi- Target Drug Design. *Curr. Med. Chem.* 23, 2439–2489.
- [19] Sirerol JA, Rodríguez ML, Mena S, Asensi MA, Estrela JM, Ortega AL (2016). Role of Natural Stilbenes in the Prevention of Cancer. *Oxid. Med. Cell. Longev*, DOI: 10.1155/2016/3128951.
- [20] Pezzuto JM (2019) Resveratrol: Twenty Years of Growth, Development and Controversy. *Biomol. Ther. (Seoul)* 27(1), 1–14.
- [21] Piotrowska H, Kucinska M, Murias M (2012) Biological activity of piceatannol: Leaving the shadow of resveratrol. *Mutat. Res*, 750, 60–82.
- [22] Lin WS, Leland JV, Ho CT, Pan MH (2020) Occurrence, Bioavailability, Anti-inflammatory, and Anticancer Effects of Pterostilbene. *J. Agric. Food Chem.*
- [23] Sherbet GV (2020) Combretastatin analogues in cancer biology: A prospective view. *J. Cell. Biochem.* 121, 2127–2138.
- [24] Bisson J (2012) Développements méthodologiques en chromatographie de partage: application aux stilbénoides. Thèse de Doctorat de l'université Bordeaux 2.
- [25] Arraki K (2014) Les stilbénoides chez les Cypéracées: isolation, identification et étude de leurs activités biologiques: identification et dosage des stilbènes dans des vins Tunisiens. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.
- [26] Qureshi AA, Guan XQ, Reis JC, Papasian CJ, Jabre S, Morrison DC, Qureshi N (2012) Inhibition of nitric oxide and inflammatory cytokines in LPS-stimulated murine macrophages by resveratrol, a potent proteasome inhibitor. *Lipids Health Dis.* 10 ; 11 :76.

Chapitre 2

Matériels et méthodes utilisés

1. Introduction

La modélisation moléculaire consiste à construire un modèle représentatif du système réel, présentant de la simplicité dans sa manipulation mais devant permettre de refléter au mieux les paramètres sur lesquels va porter l'étude. La modélisation moléculaire via un ordinateur implique généralement une représentation graphique de la géométrie de la molécule, suivie de l'application d'une méthode de la chimie théorique [1].

Dans ce chapitre nous présentons, d'une part, les différentes méthodes de la chimie théorique dites de base : ce sont la mécanique quantique et la mécanique moléculaire, ainsi que les méthodes du drug design dont certaines sont utilisées dans le cadre de notre travail. D'autre part, nous donnons la définition des propriétés calculées pour l'ensemble des molécules étudiées. Une description succincte de logiciel permettant la détermination de ces propriétés sera également présentée.

2. Méthode de la chimie théorique

2.1 Mécanique quantique

2.1.1 Equation de Schrödinger

La mécanique quantique est un domaine fondamental de la physique qui étudie les phénomènes à l'échelle atomique et subatomique. Son application à la chimie théorique permet de comprendre les propriétés électroniques et les interactions moléculaires. Les méthodes de modélisation basées sur la mécanique quantique (MQ) consistent à décrire les systèmes microscopiques au moyen d'une fonction d'onde Ψ qui peut être déterminée par la résolution de l'équation de Schrödinger relative aux états stationnaires et qui s'écrit comme suit [2]:

$$H\Psi = E\Psi \quad (1)$$

Cette équation signifie que l'opérateur hamiltonien, noté H , agissant sur la fonction d'onde Ψ , fonction des coordonnées de toutes les particules (noyaux et électrons), donne la même fonction Ψ multipliée par un nombre E . Le scalaire E est l'énergie du système. L'équation admet généralement un ensemble de solutions E , correspondant aux différentes énergies possibles. On a donc un ensemble de niveaux d'énergie *discrets* pour la molécule, c'est-à-dire discontinus, ce qui est une caractéristique primordiale de la mécanique quantique.

L'opérateur hamiltonien H pour un système moléculaire comprenant des électrons de coordonnées (r) et des noyaux de coordonnées (R) s'écrit (en u a) :

$$\hat{H} = \hat{T}_E(r) + \hat{T}_N(R) + \hat{V}_{EE}(r) + \hat{V}_{NN}(R) + \hat{V}_{EN}(r, R) \quad (2)$$

Dans cette expression les termes \hat{T}_E et \hat{T}_N sont les opérateurs énergie cinétique des électrons et des noyaux, s'exprimant tous deux sous la forme de sommes de contributions individuelles.

Les termes \hat{V}_{EE} , \hat{V}_{NN} et \hat{V}_{EN} sont respectivement les opérateurs énergie potentielle électron-électron, noyau-noyau et électron-noyau.

L'opérateur hamiltonien du système étant fonction des coordonnées électroniques et nucléaires, la fonction d'onde totale du système $\Psi(r, R)$ est également fonction des coordonnées électroniques (r) et nucléaires (R) ; ce qui rend la résolution mathématique de l'équation de Schrödinger (1) pour les systèmes moléculaires, très complexe. De ce fait, la résolution de cette équation nécessite de faire appel à des approximations.

2.1.2 Approximation de Born-Oppenheimer

L'approximation de Born-Oppenheimer [3] est utilisée pour simplifier le problème moléculaire en séparant les mouvements électroniques et nucléaires. Cette approximation permet de traiter séparément le mouvement des noyaux et des électrons. Les noyaux étant beaucoup plus lourds et lents que les électrons, le principe est de négliger leur mouvement devant celui de l'électron. Cette approximation conduit à séparer les variables et à rechercher Ψ_{tot} comme le produit d'une fonction nucléaire Ψ_{nucl} et une autre électronique Ψ_{elec} .

2.2 Méthodes de calcul en chimie quantique

Les méthodes dérivant la mécanique quantique sont nombreuses et chacune présente des avantages et des inconvénients. Choisir la plus exacte n'est pas nécessairement une garantie de succès : il convient d'identifier celle qui se prêtera le mieux aux études envisagées.

2.2.1 Méthodes ab initio

Dans les méthodes de type ab initio [4], la résolution des équations Hartree-Fock-Roothaan (HFR) se fait sans aucune approximation. Les intégrales (**rs//tu**) sont calculées exactement sans introduction de paramètres empiriques. Cependant, bien que tous les électrons et toutes les intégrales soient pris en compte, les solutions des équations de Hartree-Fock-Roothaan ne sont pas très exactes. En effet, elles dépendent du choix de la base d'orbitales atomiques et du niveau

de traitement de la corrélation électronique, laquelle n'est pas prise en compte dans un calcul de type Hartree-Fock.

Les méthodes ab-initio sont caractérisées par l'introduction d'une base arbitraire pour étendre les orbitales moléculaires et alors le calcul explicite toutes les intégrales exigées qui impliquent cette base.

La théorie de ces méthodes est basée sur les considérations suivantes :

- les interactions électroniques sont traitées de manière explicite et quantique ;
- les interactions des noyaux sont calculées de manière classique (énergie d'interaction coulombienne).

2.2.2 Méthodes semi-empiriques

Dans un calcul ab initio la plus grande proportion du temps de calcul est invariablement pour l'évaluation des intégrales. Certaines de ces intégrales sont faciles à calculer, telles que les intégrales mono-électroniques, tandis que d'autres sont beaucoup plus difficiles, en particulier les intégrales bi-électroniques à trois et quatre centres qui apparaissent au cours du processus de résolution. La voie la plus évidente pour réduire ce temps de calcul est de négliger un certain nombre de ces intégrales à évaluer ou encore de les approcher d'une manière efficace, c'est la principale motivation des méthodes semi-empiriques.

Une méthode semi empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs Hartree-Fock, sont soit négligés ou remplacés par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales. Les méthodes semi empiriques [5] ne considèrent que les électrons de valence ; les électrons des couches internes soient inclus dans le cœur nucléaire.

Plusieurs méthodes semi-empiriques ont été développées telles que **CNDO**, **MNDO**, **NDDO**, ...etc. Les méthodes les plus connues sont la méthode **AM1** "Austin Model 1" [6] et la méthode **PM3** "Parametrization Model 3 » [7] qui offrent des avantages réellement significatifs concernant la rapidité du calcul et une plus grande flexibilité dans la dimension du système à étudier.

2.2.3 Théorie de la fonctionnelle de la densité

Le principe de la théorie de la fonctionnelle de la densité (Density Functional Theory : DFT), présenté en 1964 par Hohenberg et Kohn [8], est que les propriétés exactes de l'état fondamental d'un système formé de noyaux et d'électrons sont totalement déterminées par sa densité électronique. Puis en 1965, Kohn et Sham explicitent la forme de l'énergie. Ils

déterminent le système d'équations à résoudre en montrant qu'il existe une fonctionnelle universelle permettant de calculer l'énergie d'un système quantique à N particules à partir de la densité électronique (ρ) [9].

$$\rho(\vec{r}) = N \int \dots \int |\Psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N)|^2 d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 \dots d\vec{r}_N \quad (3)$$

Pour un potentiel donné $v(r)$, l'énergie de l'état fondamental est :

$$E[\rho] = \int v(r) \rho(r) dr + F[\rho] \quad (4)$$

Pour un système constitué d'électrons et de noyaux, $v(r)$ correspond à l'attraction coulombienne électron-noyaux et $F[\rho]$ à la somme des contributions des énergies cinétique, coulombienne électron-électron, d'échange et de corrélation. Les formules de ces deux derniers termes sont inconnues. Pour pallier à ce problème Kohn et Sham ont proposé de remplacer le système réel de particules en interaction par un système fictif sans interaction et qui possède une densité électronique identique à celle du système réel. Dans ce cas, l'opérateur de l'énergie cinétique sera connu. La fonctionnelle exacte d'énergie prend donc la forme suivante :

ergie prend donc la forme suivante :

Avec :

$T_0[\rho]$: énergie cinétique de l'état fondamental du système fictif,

$V_{e-e}[\rho]$: énergie potentielle de répulsion entre les électrons,

$V_{e-N}[\rho]$: énergie potentielle d'attraction noyaux-électrons, et

$V_{XC}[\rho]$: la fonctionnelle de l'échange-corrélation (contient un terme correspondant à la différence de l'énergie cinétique entre les systèmes réel et fictif ; $\Delta T = T_{\text{réel}} - T_0$).

Des expressions empiriques approchées de V_{xc} calculées sur un ensemble standard de molécules sont proposées. Nous distinguons 4 grandes familles de fonctionnelles, dérivant de diverses approximations : l'approximation de la densité locale [10], Approximation de gradient généralisé (GGA) [11], fonctionnelle méta-GGA [12] et le fonctionnel hybride [13].

2.3 Mécanique moléculaire

Le principe de calcul de la mécanique moléculaire est de considérer que les électrons des atomes du système adoptent une distribution optimale ; ce qui permet de décrire l'énergie d'une molécule en fonction de la position des noyaux. La mécanique moléculaire considère le système

moléculaire comme un modèle de type « boules et tiges ». Elle a pour but de calculer l'énergie potentielle d'une molécule en fonction des coordonnées des atomes.

L'énergie potentielle du système moléculaire est exprimée en fonction des paramètres géométriques des atomes liés et les interactions entre les atomes non liés de type électrostatique, van der Waals et liaison hydrogène [14].

L'idée directrice de cette méthode est d'établir, par le choix des fonctions énergétiques et des paramètres qu'elles contiennent, un modèle mathématique, appelé « CHAMP DE FORCES », qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle en fonction de la géométrie moléculaire.

2.3.1 Champ de forces

Champ de forces est un modèle mathématique basé sur les principes fondamentaux de la spectroscopie vibrationnelle, permet de déterminer l'énergie potentielle. Cette énergie est exprimée sous la forme d'une somme de contributions bidimensionnels, associées aux écarts de la structure par rapport aux paramètres de référence (longueur de liaison, angle de valence...). Cette énergie potentielle peut être écrite comme une somme de termes décrivant les interactions covalentes et non covalentes [15] (**figure 2.1**) :

$$E = E_l + E_a + E_t + E_{vdw} + E_{elec} + E_{HB} + \dots \quad (6)$$

Où :

E_l : est l'énergie de liaison covalente entre deux atomes,

E_a : l'énergie associée aux angles formés par deux liaisons consécutives,

E_t : est associée aux angles de torsion,

E_{vdw} : est l'énergie des interactions non-covalentes de van der Waals,

E_{elec} : est l'énergie des interactions électrostatiques,

E_{HB} : est associée aux liaisons hydrogènes.

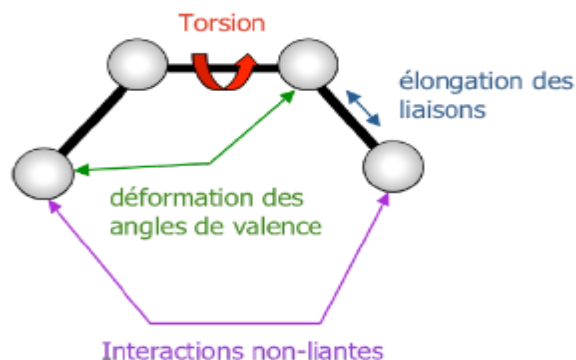


Figure 2.1 : Illustration des Interactions intramoléculaires entre atomes liés et non liés

Différents champs de force sont proposés dans la littérature, qui se distinguent les uns des autres par les termes dans le développement de l'expression de l'énergie stérique. Chacun a un domaine d'application spécifique de sorte que le choix d'un champ de force dépend des propriétés et de son application sur le système que l'on veut étudier :

Les champs de force les plus fréquemment utilisés sont :

✓ **MM2/MM3/MM4**

MM2 est le premier champ de force développé par le groupe d'Allinger [16]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcanes, alcènes, alcynes non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) et MM4 (1996) peuvent traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

OPLS : Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. Il est développé par Jorgensen et Tirado Rives en (1988) [17].

MMFF94 : (Merck Molecular Force Field) C'est l'un des champs de force de mécanique moléculaire les plus récents, il a été développé par Tom Halgren [18]. Les termes d'énergie d'élongation, de valence et de torsion sont les mêmes que ceux de MM3. MMFF94 comprend des termes croisés de liaison-valence.

Les paramètres de MMFF94 découlent de calculs *ab initio* et non pas d'observations expérimentales. MMFF94s est une variante du champ de force MMFF94 (s: statique) qui incorpore des paramètres éliminant la flexion des géométries concernant les systèmes à azote trigonal délocalisés [19].

3. Processus ADMET

La conception de médicaments ou DRUG DESIGN est une procédure d'optimisation multi paramètres dont le but est de créer des molécules avec une bonne activité biologique et des propriétés pharmacocinétiques souhaitables, cependant, en raison d'une mauvaise absorption, d'une mauvaise biodisponibilité, d'une faible efficacité et/ou d'une forte toxicité, ces paramètres sont essentiels pour déterminer la dose efficace [20].

Pour pallier à ces problèmes, des études de profil pharmacocinétique et toxicologique *in silico*, ont trouvé leur place comme des méthodes alternatives de l'expérimentation sur l'animal avec la performance et la rapidité voulue. Cette prédiction *in silico* va permettre de réduire significativement les cas échoués de la conception des médicaments causés par les paramètres pharmacocinétiques inappropriés. Nous présentons dans cette partie du chapitre 2, les définitions des propriétés permettant d'examiner les différentes étapes de processus ADMET pour les sept composés considérés dans notre étude.

3.1 Propriétés d'absorption

✓ **Perméabilité Caco-2** : Les cellules Caco-2 sont une lignée cellulaire de cancer épithélial du côlon humain utilisée comme modèle d'absorption intestinale humaine de médicaments. Ces cellules permettent d'évaluer la perméabilité intestinale des médicaments *in vivo*, grâce à leurs similitudes morphologiques et fonctionnelles. Il s'agit d'une absorption par laquelle les molécules peuvent traverser la membrane des entérocytes par des mécanismes de diffusion passive [21].

✓ **Les cellules (MDCK)** : ont été développées comme modèle *in vitro* pour le dépistage de la perméabilité. Elle reflète la solubilité d'une molécule dans l'eau à 25°. Les médicaments hydrosolubles sont mieux absorbés que les médicaments liposolubles [21].

✓ **HIA (*humain intestinal absorption*)** : L'intestin représente le principal site d'absorption pour les médicaments administrés par voie orale. Donc la prédiction de ce paramètre reflète la prédiction de la proportion du médicament absorbé par l'intestin grêle. C'est un élément qui conditionne l'efficacité du médicament en influençant la biodisponibilité [21].

3.2 Propriétés de la distribution

Les paramètres utilisés pour prédire la distribution sont :

✓ **Pénétration BBB (*blood-brain barrier*)** : C'est l'une des barrières les plus sélectives qui sépare le sang circulant du système nerveux central. Les médicaments qui agissent dans le SNC

doivent traverser la barrière hématoencéphalique (BHE) pour atteindre leur cible biologique. L'avantage de prédire les médicaments perméables de BBB est d'identifier les substances toxiques pour le cerveau et connaître les drogues ayant une cible au niveau central [21].

✓ **PPB (plasma proteins binding ou Liaison aux protéines plasmatiques)** : L'un des principaux mécanismes d'absorption et de distribution des médicaments est la liaison aux protéines plasmatiques, cette liaison influence fortement sur le comportement pharmacodynamique d'un médicament. Elle peut avoir un impact direct sur la biodisponibilité orale du médicament [21, 22].

✓ **VD (volume de distribution)** : Le volume de distribution est un concept théorique qui relie la dose administrée à la concentration initiale réellement présente dans la circulation. C'est un paramètre important pour décrire la distribution, in vivo, des médicaments et qui peut décrire les caractères de distribution des molécules inconnues comme les conditions de liaisons aux protéines plasmatiques, la quantité distribuée dans les fluides corporelles, et la quantité absorbée par les tissus [21].

3.3 Propriétés de prédiction de métabolisme

Les paramètres de prédiction de métabolisme calculés sont :

✓ **Les inhibiteurs et les substrats des cytochromes P450 :**

Le P450 est une enzyme de détoxification dans le corps, il peut inhiber plusieurs médicaments comme il peut activer d'autres. Le cytochrome P450 joue un rôle dans l'oxydation des médicaments pour faciliter leur excrétion. La connaissance des médicaments inhibés par ces isoenzymes est importante. Ces derniers sont divisés en deux catégories : isoenzymes de la phase I (réactions oxydatives) et de la phase II (réactions de conjugaisons). La famille du cytochrome P450 humain (enzymes de phase I) contient 57 isoenzymes dont les principales : 1A2, 3A4, 2C9, 2C19 et 2D6. Le siège principal des cytochromes responsables des réactions de phase I est le foie [21].

Il est important d'évaluer si un composé peut être un substrat du cytochrome P450, les deux principaux isomères responsables de métabolisme des médicaments sont 2D6 et 3A4 [21].

3.4 Propriétés de prédiction de l'élimination

✓ **Clairance (Cl)** : Est un processus par lequel le corps élimine les médicaments, généralement associé aux médicaments peu ou très hydrophiles, son siège principal est le rein. La clairance

peut être utilisée pour estimer la dose qui doit être administrée pour qu'un composé puisse fournir l'effet thérapeutique voulu (si on prend des médicaments dont la clairance est élevée, ils nécessitent des doses plus élevées pour atteindre les seuils) [23, 24].

✓ **Demi-vie ($T_{1/2}$)** : La demi-vie est le temps nécessaire pour que la concentration de la substance diminue de moitié dans le corps. Ce paramètre dépend de volume de distribution et de la clairance, mais il est beaucoup plus significatif est un concept qui implique le volume de distribution, et la clairance rénale, donc ce paramètre permet de les estimer. C'est un paramètre qui permet l'estimation de la fréquence dont la dose doit être redéfinie pour permettre de maintenir la concentration thérapeutique [25, 24].

3.5 Propriétés de prédiction de toxicité

✓ **Bloqueurs HERG** : HERG (Le gène humain lié à l'éther-a-go-go) est un gène qui code pour un canal cardiaque de potassium voltage-dépendant, si ce canal est bloqué il y aura par conséquent un syndrome du QT long, des arythmies et une torsade de pointe (TdP), qui entraînent des palpitations, des évanouissements ou même une mort. Ce paramètre était une des causes principales de retrait des médicaments du marché ou restriction de leur usage [21, 26].

✓ **H-HT (hépatotoxicité humaine)** :

Les H-HT sont considérés comme la cause majeure de retrait des médicaments du marché, en plus les effets hépatiques indésirables dans les essais cliniques conduit souvent à un arrêt tardif et coûteux des programmes de développement du médicament. Si une molécule présente au moins un évènement hépatique pathologique ou son administration peut être associée à une perturbation de la fonction hépatique, cette molécule est classée comme étant hépatotoxique [21, 22].

✓ **Toxicité AMES (effet mutagène)** : Test utilisé pour évaluer le potentiel mutagène de la molécule qui peut être responsable d'un effet cancérigène plus tard en utilisant des bactéries [21, 22].

✓ **Toxicité respiratoire** : La toxicité respiratoire est devenue la principale cause de sevrage médicamenteux. La toxicité respiratoire induite par les médicaments est généralement sous-diagnostiquée car elle peut ne pas présenter des signes ou des symptômes précoces distincts dans les médicaments courants et peut survenir avec une morbidité et une mortalité importante. Par conséquent, une surveillance et un traitement attentif de la toxicité respiratoire sont d'une grande importance [21].

4. Méthode de Drug Design

Le processus de découverte de médicaments via la synthèse chimique est à la fois très long et coûteux, puisqu'il nécessite la sélection de milliers de molécules afin d'aboutir à seulement quelques candidats. Heureusement, les récents progrès dans les domaines de la chimie-informatique et de la bio-informatique structurale ont ouvert la voie à une nouvelle approche computationnelle appelée « Drug Design » permettant la sélection des molécules à caractère candidat médicament [27, 28].

Les méthodes de Drug Design sont regroupées en deux grandes classes, selon les informations disponibles (Figure 2.2) : les approches fondées sur la connaissance des ligands (ligand-based ou QSAR) et celles basées sur la structure du récepteur (receptor-based, ou Docking) [29].

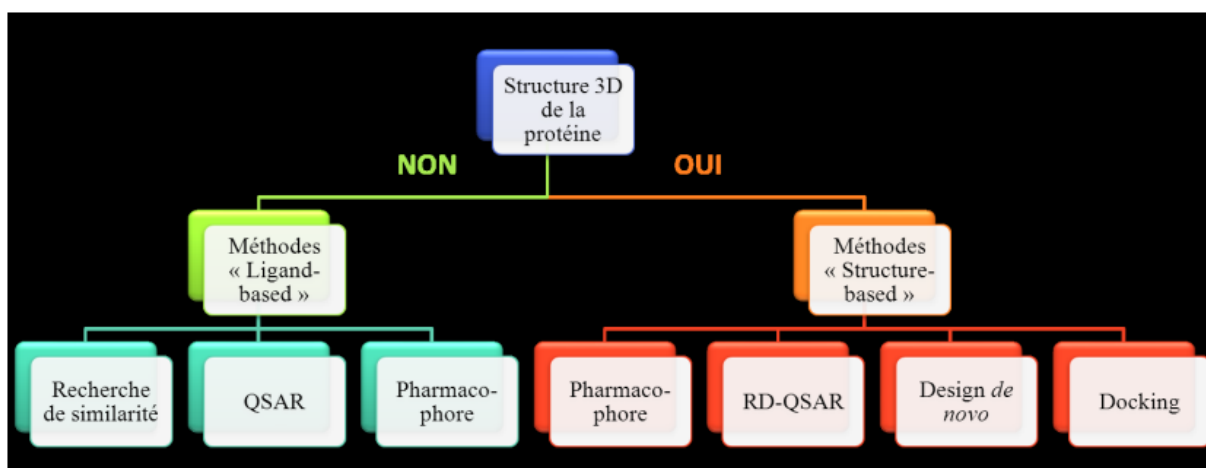


Figure 2.2 : Classification des méthodes de drug design.

Dans la suite, nous nous sommes particulièrement intéressés aux approches receptor-based.

4.1 Approche receptor-based

La technique de conception de médicaments « receptor-based » se concentre sur la création de médicaments qui interagissent avec des récepteurs spécifiques dans le corps. Le but est de concevoir des médicaments qui ciblent spécifiquement les récepteurs en question, tout en évitant les effets secondaires indésirables. Cette approche utilise des informations sur les structures des récepteurs et des ligands (molécules qui se lient aux récepteurs) pour concevoir des médicaments qui se lient de manière spécifique aux récepteurs d'intérêt. Les médicaments sont conçus pour se lier de manière sélective aux récepteurs, en modifiant leur structure chimique de manière à optimiser l'affinité et la spécificité de liaison [30].

4.2 Principe du docking moléculaire

En 1980, le docking moléculaire est devenu une méthode de recherche très importante dans le domaine de la conception du médicament assistée par ordinateur. Il fait partie de criblage structure-Based. C'est une méthode de filtrage plus rapide et moins couteuse à l'inverse des méthodes expérimentales [31]. Le docking moléculaire ou 'arrimage moléculaire' est une technique bio-informatique qui permet de prédire la structure d'un complexe formé à partir d'un récepteur et un ligand. Le récepteur est généralement une protéine ou une enzyme ou un acide nucléique et le ligand est soit une petite molécule soit une autre protéine (**Figure 2.3**).

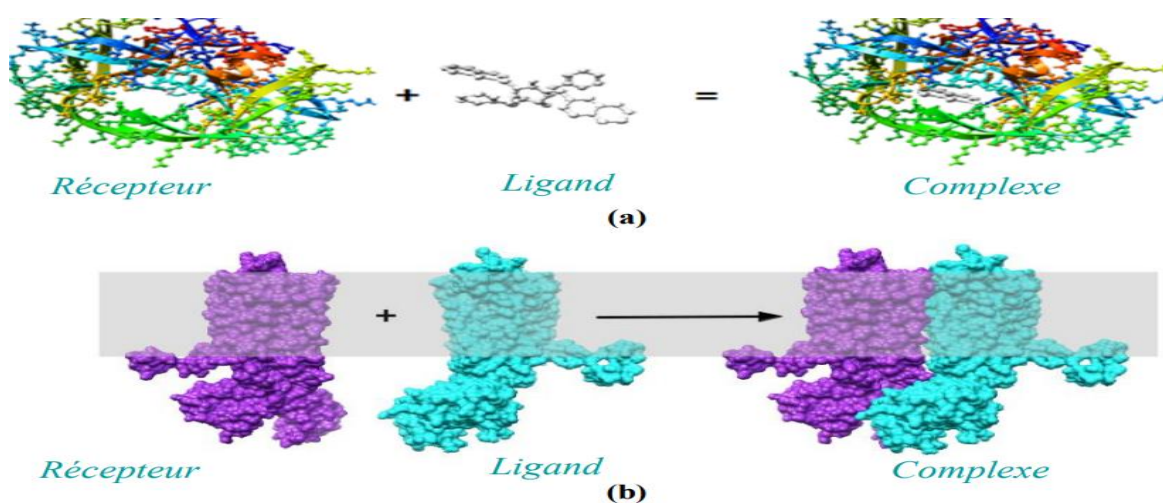


Figure 2.3 : Illustration schématique du processus de docking

(a) le ligand est une petite molécule.

(b) le ligand est une macromolécule.

Le principe des logiciels de docking moléculaire repose sur un algorithme développé à partir de données biophysiques (RMN, fluorescence) et biochimiques (modifications chimiques, mutagenèse, protéolyse), de données de complexes ligand-récepteur de référence (RMN, DRX), ainsi que des lois de la physico-chimie et des calculs statistiques. Grâce à cela, cet algorithme permet de prédire le mode d'interaction entre un ligand et un récepteur en utilisant uniquement les structures 3D des deux systèmes moléculaires. [32,33]

3.1.2 Différents types du Docking

Il existe trois catégories du docking, selon la prise en compte de la flexibilité du ligand et/ou du récepteur :

➤ *Docking rigide*

Le ligand et la protéine sont tous les deux considérés comme étant rigides. Le docking rigide prend en compte uniquement les rotations et les translations du ligand ce qui limite la spécificité et la précision des résultats [34]. C'est une méthode qui reflète le principe de clé et la serrure, seul le ligand (la clé) qui possède la bonne taille et la bonne forme peut ouvrir la protéine ou la cible (la serrure) (**Figure 2.4**).

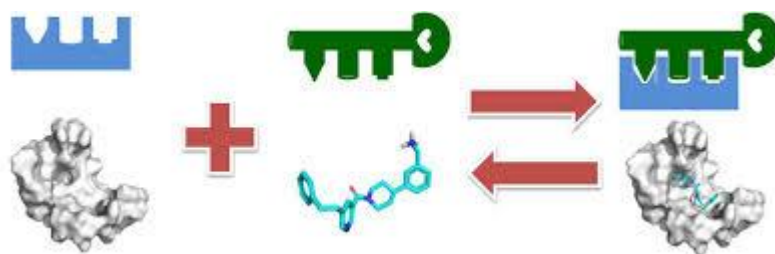


Figure 2.4 : Illustrant le principe de «la clé et de la serrure» d'Emile Fisher

➤ *Docking semi-flexible*

Dans l'arrimage semi-flexible, le ligand est considéré comme flexible, la protéine est maintenue rigide. Il est important de considérer cette flexibilité dans un docking, car ça permet d'explorer les conformations adoptées par un ligand lors de sa fixation au site du récepteur (**Figure 2.5**). Cette approche est utilisée dans la plupart des logiciels de docking car elle nécessite un temps de calcul relativement court. Néanmoins, elle reste approximative, du fait qu'elle ne tient pas compte de la flexibilité de la cible. La raison pour laquelle la flexibilité est souvent limitée au ligand est directement liée à la capacité informatique, car la prise en compte de la flexibilité du récepteur augmente considérablement le degré de liberté (nombre de translations et rotations) et donc la complexité du système étudié.

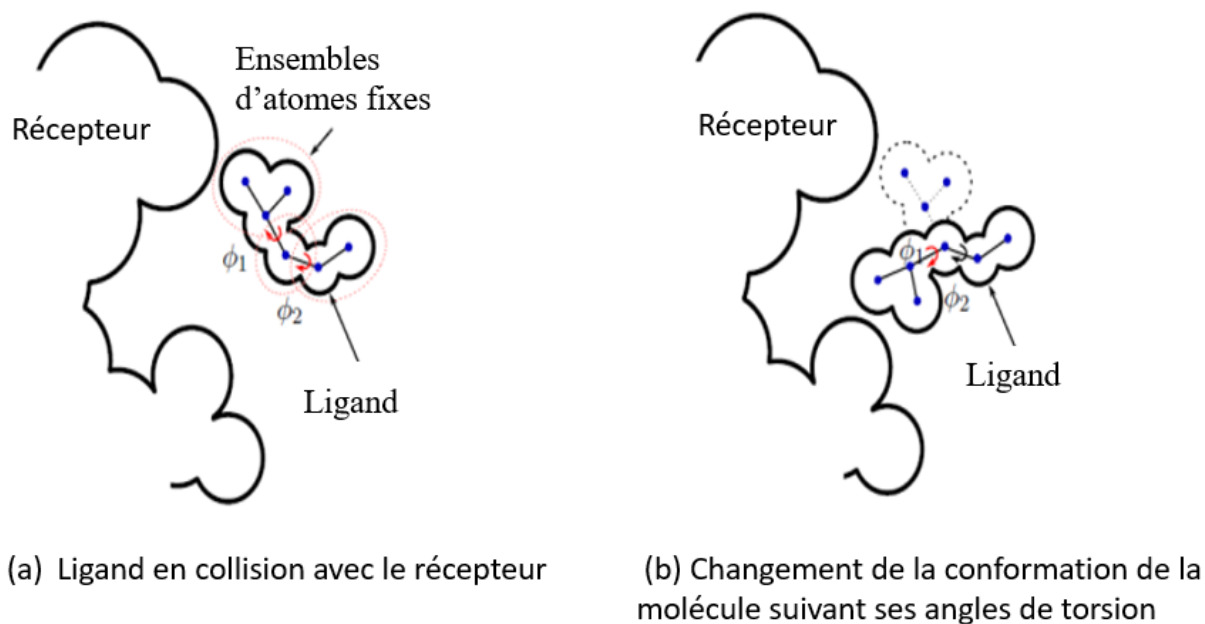


Figure 2.5 : Changement de conformation d'un ligand au contact d'un récepteur

➤ *Docking flexible*

Les logiciels de docking flexible considèrent les deux entités; ligand et récepteur comme étant flexibles. Cependant, la flexibilité est partielle concernant la cible ; elle est limitée aux résidus entourant le site actif dont certains sont dits pertinents car révélés jouant un rôle favorable dans l'interaction avec le ligand. Ce type de docking a l'avantage de mieux simuler la réalité mais présente un coût trop élevé, en termes de temps de calcul (CPU) [35,36].

3.1.3 Principales Etapes d'un docking moléculaire

De façon générale, un docking moléculaire se fait en quatre étapes principales (**figure 2.6**).

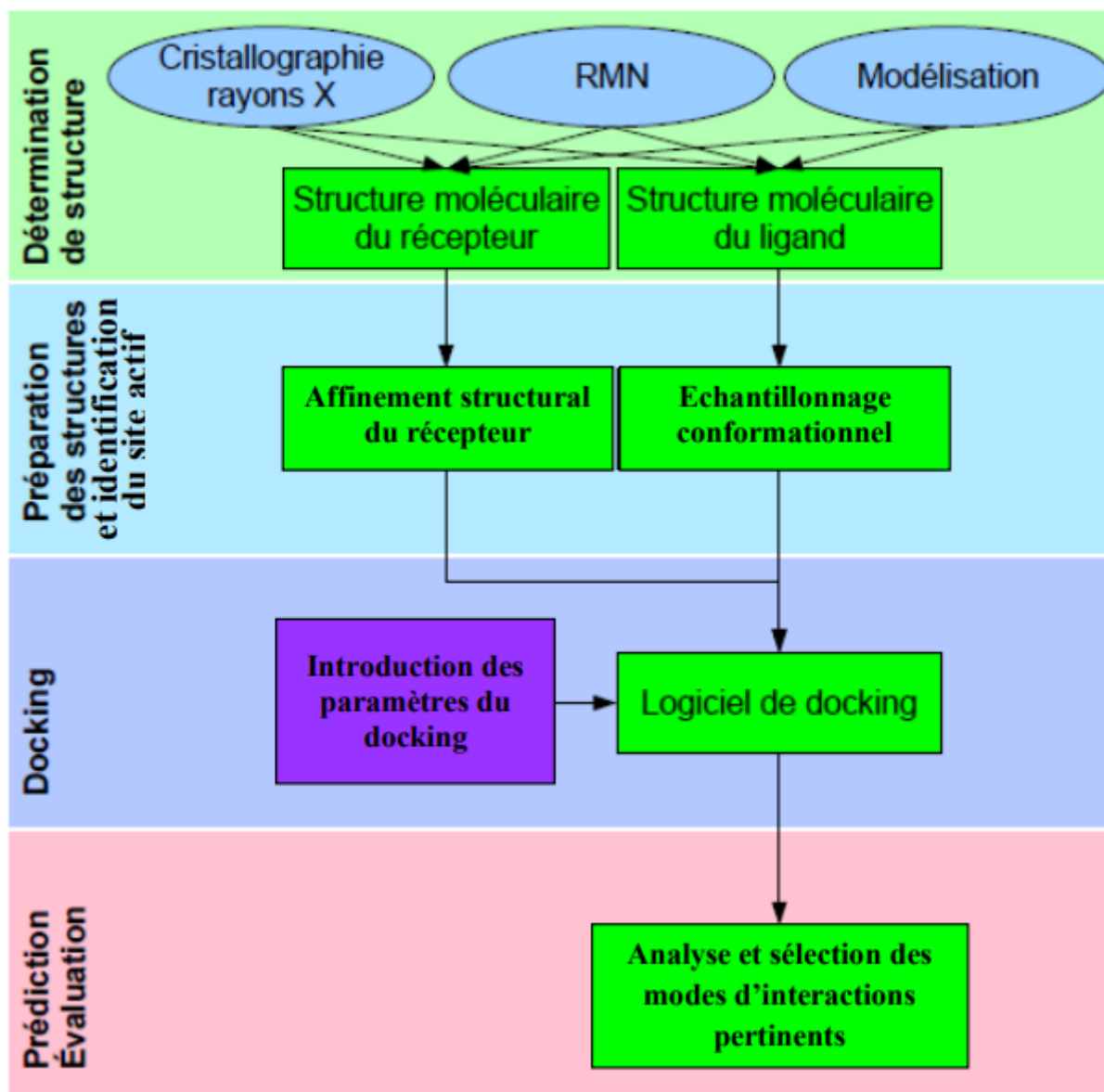


Figure 2.6. Principales étapes d'un docking moléculaire [37]

La procédure typique à mettre en place pour prédire les interactions entre un ligand et son récepteur, passe par plusieurs étapes [37] :

❖ **Détermination de la structure des ligands et celle de la protéine ciblée**

Les sources d'information de ces structures proviennent majoritairement de la cristallographie aux rayons X et de la RMN. Il est important de noter ici, que les principaux paramètres considérés pour évaluer la qualité de la structure d'une cible sont ; la résolution et le facteur R. La résolution mesure la précision avec laquelle le modèle cristallographique reproduit les données expérimentales. En général, une structure cristallographique présentant une résolution inférieure à 2Å est considérée comme une source de donnée fiable [37].

❖ **Détermination du site actif**

L'identification du site actif (ou de liaison) est une étape cruciale dans les approches basées sur la structure d'une macromolécule cible. Une structure du récepteur co-cristallisé avec un ligand existe, son site de liaison peut être utilisé. Un ligand cristallisé avec un récepteur est susceptible de renseigner sur l'emplacement du site actif et les acides aminés le constituant pouvant intervenir dans le mode de reconnaissance du ligand docké [37].

❖ **Orientation du ligand dans le site du récepteur**

Cette étape dans le docking consiste en la génération de différentes poses du ligand. Ces poses correspondent aux différentes conformations favorables, que le ligand peut adopter au sein du site actif de la cible [37].

❖ **Evaluation des conformations du ligand dans le site du récepteur**

- Scoring

Dans une opération du docking, le scoring constitue l'étape de classement et d'évaluation des poses du ligand dans le site actif du récepteur, en leur attribuant un score.

Le score permettra, d'une part, de retenir la meilleure pose d'un même ligand parmi toutes celles proposées et, d'autre part, de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux.

- Fonctions de scores de consensus

Ces fonctions hybrides combinent les résultats issus de diverses fonctions de score, afin de compenser partiellement les faiblesses de chacune des fonctions de score employées, en évitant leurs erreurs individuelles. La combinaison de deux ou plusieurs fonctions de score peut ainsi améliorer l'évaluation des conformations d'un ligand dans le site du récepteur.

Références bibliographiques

- [1] Belaidi S (2009) Thèse de doctorat, Université de Batna.
- [2] Clark T (1985) Handbook of Computational Chemistry, Edition ; Wiley, London.
- [3] Kollman P (1996) Acc. Chem. Res, 29, 462.
- [4] Griffiths, David J (2005) Introduction to Quantum Mechanics, 2nd Edition, Cambridge University Press.
- [5] Cohen-Tannoudji, Diu C, Laloë (2019) Quantum mechanics, volume 3: fermions, bosons, photons, correlations, and entanglement. John Wiley & Sons.
- [6] Sakurai, Jun John (2011) Modern Quantum Mechanics, Revised Edition, Pearson, 2011.
- [7] Stewart JJP (1989) J. Comput. Chem., 10, 209–220.
- [8] Levine IN (2000) Quantum Chemistry, 5th Edition, Prentice Hall.
- [9] Meyer JG, Liu S, Miller IJ, Coon JJ, Gitter A (2019). Learning Drug Functions from Chemical Structures with Convolutional Neural Networks and Random Forests. J Chem Inf Model. 28 ;59(10):4438-4449.
- [10] Bhagat K, Bhagat J, Gupta MK, Singh JV, Gulati HK, Sing A, & Singh Bedi, PM (2019) Conception, synthèse, évaluation antimicrobienne et études de modélisation moléculaire de nouveaux hybrides moléculaires indolinedione-coumarine. ACS *oméga* , 4 (5), 8720-8730.
- [11] White JA and Bird DM (1994) Implementation of gradient-corrected exchange-correlations potentials in Car-Parrinello total-energy calculations. Pys .Rev. B. 50 (70):4957.
- [12] Mazzolari A, Nunes-Alves A, Wahab HA, Amaro RE, Cournia Z, Merz KM Jr (2020). Impact of the Journal of Chemical Information and Modeling Special Issue on Women in Computational Chemistry. J Chem Inf Model. 27;60(7):3328-3330.
- [13] Hassanzadeh K, Akhtari K, Hassanzadeh H, Zarei SA, Fakhraei N, Hassanzadeh K (2014). The role of structural C--H compared with phenolic OH sites on the antioxidant activity of oleuropein and its derivatives as a great non-flavonoid family of the olive components: a DFT study. Food Chem.1;164:251-8.
- [14] Hohenberg P, Kohn W (1964) Inhomogenous electron gas. Physical review, 136(3B):B864.
- [15] Bremner I, Manifestations of excess. Am. J. Clin. Nutr. 1998, 67, 1069.
- [16] Allinger NL, Zhou X, Bergsma J. (1994) Molecular mechanics parameters. Journal of Molecular Structure : *THEOCHEM*, 312(1) ; 69-83.

- [17] Jorgensen WL, Tirado-Rives J (1988) The OPLS Potential Functions for Proteins ; Energy Minimization for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin. *J. Am. Chem. Soc.* 110, 1657.
- [18] Halgren TA (1996) Merck molecular force field. IV. conformational energies and geometries for MMFF94, *J. Comp. Chem.*, 17, 490.
- [19] Kaminski GA, Friesner RA, Tirado-Rives J, Jorgensen WL (2001) Evaluation and Reparametrization of the OPLS-AA Force Field for Proteins via Comparison with Accurate Quantum Chemical Calculations on Peptides. *J. Phys. Chem.* 105, 6474-6487.
- [20] Thomas A, Halgren J (1996) *Comput. Chem.* 17, 5.
- [21] Halgren TA (1996) Merck Molecular Force Field. I. Basis, Form, Scope, Parameterization and Performance of MMFF94. *J. Comput. Chem.* 17, 490-519.
- [22] Halgren TA (1999) MMFF VII. Characterization of MMFF94, MMFF94s and Other Widely Available Force Fields for Conformational Energies and for Intermolecular Interaction Energies and Geometries. *J. Comput. Chem.* 20, 730-748.
- [23] Di L, Kerns EH, Carter GT (2009). Drug-like property concepts in pharmaceutical design. *Curr Pharm Des.* 15(19):2184- 94.
- [24] Edward H. Kerns and Li Di. *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization.* Academic Press is an imprint of Elsevier.
- [25] Douglas E, Pires V, Tom L, Blundell and Ascher DB (2015) pkCSM : Predicting Small Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J. Med. Chem.* 58, 9 ; 4066-4072.
- [26] Mullard A (2017) Approbations de médicaments par la FDA. *Nat Rev Drug Discov.* 16(2):73–76
- [27] Wang X, Richards NGJ (2005) *Curr .Pharm. Des.* 11, 345-356.4
- [28] Kalyanaraman C, Bernacki K, Jacobson MP (2005) *Biochemistry* 44, 2059-2071.
- [29] Patrick GL (2003), *Chimie Pharmaceutique, Bruxelles, de boeck.*
- [30] Bouyer G (2007) *Rendu multimodal en Réalité Virtuelle : Supervision des interactions au service de la tâche.* Doct : Université Paris XI.
- [31] Zerdaoui S, Bounasla S (2020) *Docking moléculaire de deux flavones naturels contre l'acétylcholinestérase et le butylcholinestérase.* Thèse de Doctorat, Université Mohamed Boudiaf-M'sila.
- [32] Salmaso V, Moro S (2018) Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: An overview. *J. Front. Pharmacol.*

Doi.org/10.3389/fphar.2018.00923

- [33] Morris GM, Lim-Wilby M (2008) Molecular docking. *Methods mol biol* Clifton NJ. 443:365-82.
- [34] Chrysanthi P (2021) Les méthodes in silico dans la recherche pharmaceutique. Exemple d'application pour l'étude pharmacocinétique post-autorisation de mise sur le marché des β -bloquants utilisés pour le traitement du glaucome.
- [35] Kuntz ID, Blaney JM, Oatley, Sjetal A (1982) geomoetric approach to macromolecule ligand interactions. *Journal of Molecular Biology*, 161,269-88.
- [36] Judith E (2011) drug design in silico criblage virtuel de protéines à visée thérapeutique. L'université de bordeaux 1 école doctorale des sciences chimiques.
- [37] Aurélien G (2007) Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Université Joseph Fourier, faculté de pharmacie de Grenoble.

Chapitre 3

Résultats et discussions

Introduction

Au cours de ces dernières années, les plantes médicinales jouissent d'un énorme regain d'intérêt et stimulent une intense activité de recherche. Par rapport à leurs homologues synthétiques, les molécules naturelles sont biodégradables et surtout moins toxiques.

La thématique développée dans ce travail de master consiste en une étude pharmacodynamique d'une série de dérivés de cis-stilbène inhibant la cyclooxygénase, l'enzyme impliqué dans l'inflammation. Cette étude constituée de deux parties, est réalisé à l'aide des outils de la chimie théorique et les techniques de Drug Design.

Dans la première partie nous avons entrepris une investigation dans le but de prédire le devenir des sept molécules étudiées dans l'organisme durant les quatre étapes de processus ADMET ; absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité. La deuxième partie de notre travail est consacrée à une étude de docking moléculaire permettant l'exploitation du mode de liaison des composés sélectionnés dans le site actif de la COX-2.

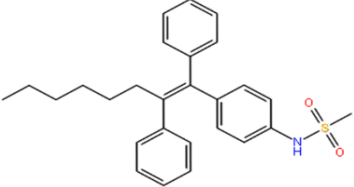
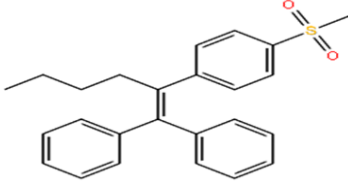
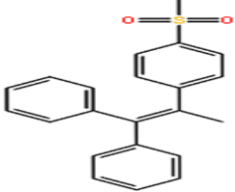
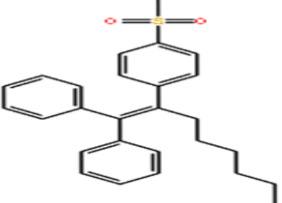
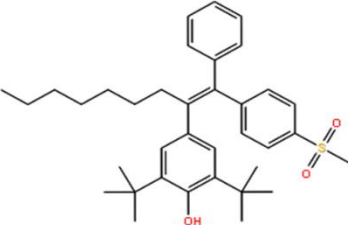
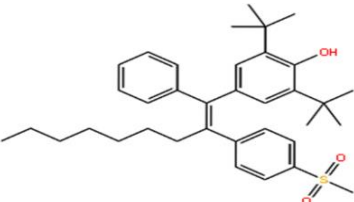
Partie 1 : Etude ADMET d'une série de dérivés de cis-stilbène inhibant la Cyclooxygénase

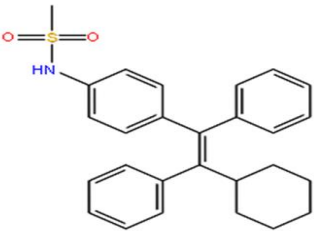
1. Méthodologie utilisée

1.1 Présentation des molécules étudiées

La série des molécules considérées contient sept dérivés de cis-stilbène que nous avons sélectionné de la littérature [1-4]. Les activités de ces composés, mesurées in vitro, sont estimées en termes d'IC₅₀ représentant la concentration nécessaire à inhiber 50% l'activité de l'enzyme. Nous donnons dans le tableau 3.1 ; le code, la structure 2D et la valeur de IC₅₀ sur COX-1 et COX-2 de chaque composé.

Tableau 3.1 : code, structure 2D et valeur IC₅₀ de chaque composé étudié.

Code	Structure 2D	IC ₅₀ (COX-1) (μM)	IC ₅₀ (COX-2) (μM)
M1		>100	0.03
M2		>100	0.014
M3		0.47	0.63
M4		1.70	0.03
M5		4.10	1.00
M6		31.00	0.10

M7		>100	>100
----	---	------	------

1.2 Modélisation des structures

Nous avons dessiné les structures 2D des molécules sélectionnées sur la plateforme en ligne ADMETLab.02 [5]. Après la validation de la structure le logiciel affiche le résultat sous forme de tableaux appropriés pour chaque étape du processus ADMET.

2. Résultats et discussions

2.1 Application de la règle de LIPINSKI

En 1997 Lipinski et al ont proposé « la règle de 5 » également appelée « règle de LIPINSKI » permettant de déterminer si un composé chimique possède des caractéristiques médicamenteuses précises [6]. La règle a été déduite d'analyser de manière empirique la grande quantité d'information accumulée après des décennies de recherche dans le domaine de la pharmacologie. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être disponible oralement s'il respecte **au moins 3 des 4 critères** suivants :

1. Possède une masse moléculaire inférieure à 500 daltons.
2. Un coefficient de partition (log P) ou une lipophilie entre -2 et 5.
3. Ne possède pas plus de 5 donneurs de liaison hydrogène (OH et NH).
4. Ne possède pas plus de 10 accepteurs de liaison hydrogène (O et N).

Nous avons calculé ces 4 critères et les résultats sont donnés dans le tableau 3.2, tel que : **nHA** représente le nombre d'Accepteur de liaison Hydrogène, le **nHD** est le nombre de Donneur de liaison Hydrogène et le log P qui présente le coefficient de partage (octanol-eau).

Tableau 3.2 : Vérification de la règle de Lipinski [5]

Composé	Masse Moléculaire (Dalton)	nHA	nHD	LogP	N° violation	IC ₅₀ (COX-1) (μM)	IC ₅₀ (COX-2) (μM)
M1	433.21	3	1	5.942	1	>100	0.03
M2	390.17	2	0	5.741	1	>100	0.014
M3	348.12	2	0	4.555	0	0.47	0.63
M4	418.21	2	0	6.655	1	1.70	0.03
M5	562.35	3	1	9.025	2	4.10	1.00
M6	560.33	3	1	8.803	2	31.00	0.10
M7	431.19	3	1	5.479	1	>100	>100

D'après les valeurs insérées dans le tableau, nous remarquons que :

-La molécule **M3** ne présente aucune violation de la règle de Lipinski, donc cette molécule pourrait être un bon candidat médicament par voie orale.

-Les molécules **M1**, **M2**, **M4** et **M7** présentent une violation de la règle de Lipinski sur les 4 règles, ce qui suggère que ces composés n'auraient pas des problèmes avec la biodisponibilité orale.

- Les molécules **M5** et **M6** présentent 2 violations sur les 4 règles, d'où probablement ces molécules ne pourraient pas être des candidats médicament par voie orale.

2.2 Propriétés de la chimie médicinale

La chimie médicinale est considérée comme la discipline scientifique qui traite de la découverte, la conception, l'identification et la préparation des composés biologiquement actifs et de l'interprétation de leur mode d'action au niveau moléculaire et de leurs métabolites. La sélection des meilleurs composés est basée sur des paramètres traduisent la capacité d'un composé d'être un candidat médicament. Les paramètres déterminés et présentés dans le tableau 3.3, sont : QED (l'estimation quantitative du drug-likeness) ; le score SA (accessibilité synthétique) ; le score NP : score de ressemblance avec un produit naturel et le Fsp³ (nombre de carbones hybrides sp³).

Tableau 3.3 : Valeurs des paramètres de chimie médicinale.

Composé	CQED	Score SA	Score NP	Fsp ³
M1	0.277	2.133	-0.425	0.259
M2	0.448	2.036	-0.458	0.2
M3	0.617	1.922	-0.538	0.091
M4	0.276	2.078	-0.328	0.259
M5	0.237	3.402	-0.087	0.500
M6	0.198	2.685	-0.191	0.444
M7	0.447	2.133	-0.549	0.259

Interprétation des paramètres de chimie médicinale :

- Le **score SA** est conçu pour estimer la facilité de synthèse des molécules de type médicament (score SA ≥ 6 , **difficile à synthétiser**. Score SA < 6 **facile à synthétiser**) : Nous remarquons que les valeurs de score SA sont **toutes inférieures à 6** ce qui permet de prévoir que ces **molécules seront facile à synthétiser**.
- Le **score NP** : score de ressemblance avec un produit naturel (intervalle : **-5 à 5** ; Plus le score est élevé, plus la probabilité que la molécule soit un produit naturel est élevée). Toutes les valeurs des scores NP des molécules étudiées sont négatives, cela peut s'expliquer par le fait que ces composés sont des dérivés de cis-stiblène.
- L'estimation quantitative du drug-likeness (QED) : Les valeurs QED peuvent aller de zéro (toutes propriétés défavorables) à une (toute propriété favorable). **M3** présente la meilleure estimation quantitative d'être candidat médicament.
- Le **Fsp³** Le nombre de carbones hybrides sp³ / total teneur en carbone, en corrélation avec le point de fusion et solubilité (Fsp³ ≥ 0.42 est considérée comme une valeur appropriée [5]) : Nous remarquons que les molécules M5 et M6 présentent les valeurs les plus appropriées.

2.3 Etude ADMET

2.3.1 Absorption

Nous donnons dans le **tableau 3.4** quelques propriétés jugées intéressantes dans la prédiction du pouvoir d'un médicament à atteindre la circulation sanguine, selon la plateforme ADMETlab 2.0 [5]. Ces propriétés sont : Caco-2 Perméabilité, Perméabilité MDCK ((Madin-Darby Canine Kidney), HIA (Absorption intestinale humaine) et le F20% et F30% (la biodisponibilité orale humaine d'un médicament à 20% et 30% respectivement).

Tableau 3.4 : Valeurs des propriétés d'absorption

Composé	Caco-2 Perméabilité (cm/s)	Perméabilité MDCK (cm/s)	HIA	F 20%	F 30%
M1	-4.947	12 x10 ⁻⁶	0.003	0.51	0.015
M2	-4.693	12x10 ⁻⁶	0.004	0.05	0.022
M3	-4.546	16x10⁻⁶	0.006	0.01	0.007
M4	-4.777	10x10 ⁻⁶	0.004	0.19	0.066
M5	-5.931	4x10 ⁻⁶	0.022	0.96	0.998
M6	-5.914	6x10 ⁻⁶	0.005	0.87	0.964
M7	-5.104	10x10 ⁻⁶	0.003	0.25	0.021

✓ Les **cellules Caco-2** sont une lignée cellulaire de cancer épithélial du côlon humain utilisée comme modèle d'absorption intestinale humaine de médicaments. Selon les valeurs de référence, un composé est considéré comme ayant une bonne perméabilité au Caco-2 s'il a une valeur prédite >-5.15 cm/s.

D'après les valeurs insérées dans le tableau 3.4, nous pouvons conclure que :

-Les molécules **M1, M2, M4 et M7** ont des valeurs supérieures à -5.15, d'où ces molécules présenteraient une bonne absorption.

-**M3** présente la valeur la plus élevée (-4.546), indiquant une meilleure perméabilité que les autres molécules testées. Ce résultat est **en accord avec** l'application de la **règle de lipinski** et qui a sélectionné **M3** comme le meilleur candidat médicament.

-**M5 et M6** ont des valeurs de Caco-2 <-5.15, d'où ces deux molécules seront faiblement absorbées. Cela est en accord avec les résultats de l'application de la règle de lipinski.

✓ Les **cellules MDCK** (Madin-Darby Canine Kidney) ont été développées comme modèle in vitro pour le dépistage de la perméabilité. Un composé est considéré comme ayant une perméabilité MDCK passive élevée > 20 x 10⁻⁶ cm/s, une perméabilité moyenne pour 2-20 x 10⁻⁶ cm/s, une faible perméabilité pour < 2 x 10⁻⁶ cm/s.

-Toutes les molécules étudiées présentent une perméabilité MDCK moyenne.

✓ **Absorption intestinale humaine (HIA)** d'un médicament oral est la condition préalable essentielle à son efficacité apparente. De plus, la relation étroite entre la biodisponibilité orale et l'absorption intestinale a également été prouvée. Les valeurs de référence sont : une HIA ; excellente : 0-0.3, moyenne : 0.3-0.7 et faible : 0.7-1.0 [5].

-les valeurs de HIA calculées sont toutes **inférieures à 0.3**, cela signifie que les sept composés étudiés pourraient avoir une très bonne absorption intestinale.

✓ Le $F_{20\%}$ et $F_{30\%}$ représentent la biodisponibilité orale humaine d'un médicament à 20% et 30% respectivement. Nous rappelons que La biodisponibilité se définit comme étant la fraction de la dose de médicament inchangé administré qui atteint la circulation sanguine. Cette fraction est fonction de la quantité absorbée par l'épithélium digestif (et donc de la dose administrée). Les médicaments avec un facteur $F_{20\%}$ et $F_{30\%}$ compris entre 0-0.3, présenteraient une très bonne biodisponibilité orale [5].

D'après les valeurs $F_{20\%}$ et $F_{30\%}$ insérées dans le **tableau 3.4**, nous remarquons que :

-les molécules M1, M2, M3 et M7 seraient absorbées avec une très bonne biodisponibilité, alors que M5 et M6 seraient faiblement absorbées.

2.3.2 Distribution

Par définition la distribution est un processus de répartition du médicament à partir de la circulation sanguine vers l'ensemble des tissus et organes. Nous donnons dans le **tableau 3.5** quelques propriétés permettant d'examiner la distribution des sept composés étudiés et qui sont : le PPB (Plasma protein binding), Le VD (Volume Distribution) et pénétration BBB (blood–brain barrier).

Tableau 3.5 : Valeurs des propriétés de distribution

Composé	PPB%	VD (l/kg)	Pénétration BBB
M1	99.72	0.733	0.02
M2	97.94	0.637	0.04
M3	97.52	0.634	0.06
M4	98.01	0.722	0.04
M5	101.40	2.808	0.16
M6	102.00	1.436	0.13
M7	99.98	0.729	0.02

L'un des principaux mécanismes d'absorption et de distribution des médicaments est la formation de liaison avec les protéines plasmatiques, ainsi la liaison d'un médicament aux protéines du plasma a une forte influence sur son comportement pharmacodynamique.

✓ le PPB peut nous renseigner sur la concentration libre du médicament, après qu'une fraction se lie aux protéines. Un composé est considéré comme ayant un PPB approprié s'il a une valeur prédite $< 90\%$, et les médicaments à forte liaison aux protéines peuvent avoir un faible indice thérapeutique.

-Toutes les molécules étudiées présentent un $PPB > 90\%$, cela pourrait signifier que ces molécules ont un faible indice thérapeutique.

✓ Le VD (Volume Distribution) est un paramètre important pour décrire la distribution in vivo des médicaments. Un composé est considéré comme ayant un VD approprié s'il a un VD dans la plage de 0.04 à 20 l/kg. Tous les composés étudiés présentent un $VD < 20$.

✓ Pénétration BBB concernent les médicaments qui agissent dans le système nerveux central (SNC) et qui doivent traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) pour atteindre leur cible moléculaire. Une valeur de pénétration BBB de 0-0.3 confirme une bonne capacité à traverser la BHE.

-L'ensemble des molécules pourraient présenter **une très bonne pénétration BBB**.

2.3.3 Métabolisme

Le métabolisme d'un médicament correspond à sa transformation par une réaction enzymatique en un ou plusieurs composés, dits métabolites. Le métabolisme est une des phases de l'élimination d'un médicament : les différentes étapes du métabolisme conduisent à la formation de substances hydrosolubles plus facilement éliminées par les milieux aqueux qui sont les urines, la bile, la salive ou la sueur.

Il existe un grand nombre d'isoenzymes du cytochrome P450 ou CYP classées en familles désignées par les chiffres : 1,2,3...chaque famille pouvant se subdiviser en sous-groupes désignées par les lettres A, B, C...chaque famille métabolise préférentiellement des substrats déterminés. Certains médicaments ou substances peuvent avoir un effet particulier sur ces enzymes. Nous donnons dans le tableau 3.6 la probabilité des sept composés étudiés à être inhibiteur ou substrat vis-à-vis quatre enzymes de P450.

Tableau 3.6 : Valeurs des propriétés du métabolisme

Comp.	Inhibiteur du CYP1A2	substrat du CYP1A2	Inhibiteur du CYP2C19	Substrat du CYP2C19	Inhibiteur du CYP2C9	Substrat du CYP2C9	Inhibiteur du CYP2D6	Substrat du CYP2D6
M1	0.839	0.429	0.894	0.109	0.75	0.014	0.288	0.015
M2	0.935	0.748	0.926	0.097	0.747	0.849	0.11	0.027
M3	0.968	0.867	0.958	0.157	0.735	0.818	0.113	0.056
M4	0.861	0.546	0.891	0.08	0.603	0.89	0.079	0.02
M5	0.066	0.953	0.76	0.801	0.665	0.939	0.307	0.092
M6	0.115	0.755	0.707	0.315	0.228	0.023	0.396	0.02
M7	0.673	0.463	0.863	0.117	0.654	0.015	0.251	0.023

-D'après les valeurs du tableau 3.6, nous remarquons que les sept composés étudiés présentent une affinité d'être substrat ou inhibiteur vers la plupart des enzymes du cytochrome P450, ce qui rendra hydrosoluble ces molécules afin de favoriser leur élimination.

2.3.4 Elimination

L'élimination d'un médicament se fait par sortie de l'organisme. Pour étudier l'élimination des composés considérés, nous avons déterminé la clairance (CL) et le temps de demi-vie ($T_{1/2}$). Les résultats sont présentés dans le tableau 3.7.

Tableau 3.7 : Valeurs des propriétés d'élimination

Composé	CL (ml/min)	$T_{1/2}$
M1	1.849	0.064
M2	0.886	0.025
M3	0.735	0.035
M4	1.021	0.018
M5	1.092	0.002
M6	0.972	0.010
M7	1.387	0.042

L'analyse de ces résultats montre que :

✓ CL est la clairance ou la capacité globale de l'organisme à éliminer un médicament. Elle est définie comme le volume de plasma totalement épuré par unité de temps. D'après les valeurs de référence, un médicament est bien éliminé si $CL > 5$.

✓ Les valeurs de la clairance de l'ensemble des molécules étudiées sont **inférieures à 5, ce qui pourrait prédire la faible élimination de ces molécules.**

✓ $T_{1/2}$ est la demi-vie de la molécule, c'est-à-dire le temps nécessaire pour que la concentration de la substance diminue de moitié dans le corps. Ce paramètre dépend de volume de distribution et de la clairance, mais il est beaucoup plus significatif. Les valeurs de référence indiquent qu'une molécule avec un $T_{1/2}$ entre 0 et 0.3 présente une probabilité d'être très bien éliminée [5].

-D'après les valeurs de $T_{1/2}$ des sept composés étudiés, nous pouvons conclure que ces molécules seraient bien éliminées.

2.3.5 Toxicité

Environ 90 % des retraits du marché des médicaments sont dus à leurs toxicités : principalement l'hépatotoxicité et la toxicité cardiovasculaire. Par conséquent, la toxicité des médicaments doit être détectée plus tôt au début de la découverte de médicaments et des études doivent être menées au cours du processus de développement du médicament.

Nous donnons dans le **tableau 3.8** des paramètres permettant d'étudier la toxicité des sept composés considérés et qui sont : Bloqueurs hERG (human ether-a-go-go related gene), H-HT (The human hepatotoxicity), Toxicité AMES et la toxicité aiguë par voie orale chez le rat.

Tableau 3.8 : Valeurs des propriétés permettant de prédire la toxicité des composés étudiés.

Comp.	Bloqueurs hERG	H-HT	Toxicité AMES	Toxicité aiguë par voie orale chez le rat
M1	0.371	0.927	0.218	0.134
M2	0.723	0.802	0.012	0.59
M3	0.962	0.834	0.017	0.439
M4	0.751	0.775	0.012	0.597
M5	0.296	0.240	0.005	0.726
M6	0.128	0.932	0.006	0.275
M7	0.598	0.858	0.068	0.181

✓ hERG joue un rôle majeur dans la régulation de l'échange du potentiel d'action cardiaque et du potentiel de repos. Le blocage hERG peut provoquer une arythmie et une torsade de pointes (TdP), qui entraînent des palpitations, des évanouissements ou même une mort subite. D'après les valeurs de références [5], les molécules avec bloqueurs hERG entre 0 et 0.3 ne présentent pas de risque cardiaque, 0.3-0.7 : risque moyen et 0.7-1 : risque important.

-M3 présente un risque majeur de causer des problèmes cardiovasculaire.

✓ H-HT (The human hepatotoxicity) : Les lésions hépatiques d'origine médicamenteuse sont une grande préoccupation pour la sécurité des patients et une cause majeure de retrait de médicaments du marché.

-Comme tous les anti-inflammatoires, ces molécules étudiées présentent un risque de lésions hépatiques.

✓ La Toxicité AMES est un test pour la mutagénicité. L'effet mutagène a une relation étroite avec la cancérogénicité, et c'est le test le plus largement utilisé pour tester la mutagénicité des composés.

-Toutes les valeurs de la toxicité AMES sont inférieures à 0.3, ce qui montre que ces **composés n'auraient pas de risque de cancérogénicité.**

✓ La détermination de la toxicité d'administration par voie orale chez les mammifères (par exemple, les rats ou les souris) est l'une des tâches les plus importantes pour l'évaluation de la sécurité des candidats-médicaments. D'après les valeurs de référence [5] ; pas de toxicité orale ; 0-0.3, toxicité moyenne ; 0.3-0.7, risque important de toxicité ; 0.7-1.

-M5 présente un grand risque de toxicité orale, ce qui confirme les résultats de la règle de Lipinski.

En conclusion des résultats de l'étude ADMET, nous pouvons mentionner :

-Les molécules M1, M2, M4 et M7 semblent être capables d'atteindre leur cible biologique par voie orale d'après les résultats des paramètres pharmacocinétiques étudiés.

-La molécule M3 est prédite le meilleur candidat médicament, mais elle présente un risque cardiaque et de lésions hépatiques très important.

-Les molécules M5 et M6 présentent une mauvaise biodisponibilité orale, mais pourraient avoir un effet remarquable par autre voie d'administration.

Partie 2 : Etude par docking moléculaire des modes de reconnaissance

d'une série de sept stilbène inhibant la cyclooxygénase

1. Méthodologie et matériaux utilisés

1.1 Ligand

Les sept dérivés de cis-stilbène que nous avons étudié dans la partie 1 sont utilisés dans cette étude de docking moléculaire. Les valeurs des activités anti-inflammatoires mesurées in vitro sont données en termes d'IC₅₀ par rapport au deux iso-enzymes COX-1 et COX-2.

Tout d'abord, nous avons dessiné les structure 2D des composés étudiés. Ensuite, nous avons relaxé ces molécules dans le cadre de la mécanique moléculaire et dans le champ de forces MMFFs.

1.2 Récepteur

Les structures des protéines proviennent de la cristallographie aux rayons X, sont les plus commodes à utiliser dans le cadre de la modélisation et donnent de meilleurs résultats. La qualité des structures des récepteurs obtenues est donc évaluée à l'aide de différents paramètres, en particulier la résolution et le facteur R. En général, une structure cristallographique présentant une résolution inférieure à 2Å est considérée comme une source de données fiable. Le facteur R détermine le pourcentage de différence entre le cristal et le modèle. Il doit être compris entre 0 et 1. Plus le facteur R est proche de 0, plus la prédiction est bonne.

Compte tenu des critères ci-dessus exposés, nous avons extrait de la protein data bank (PDB) la structure de l'enzyme COX-2 codée 6COX.pdb (**Figure 3.1**).

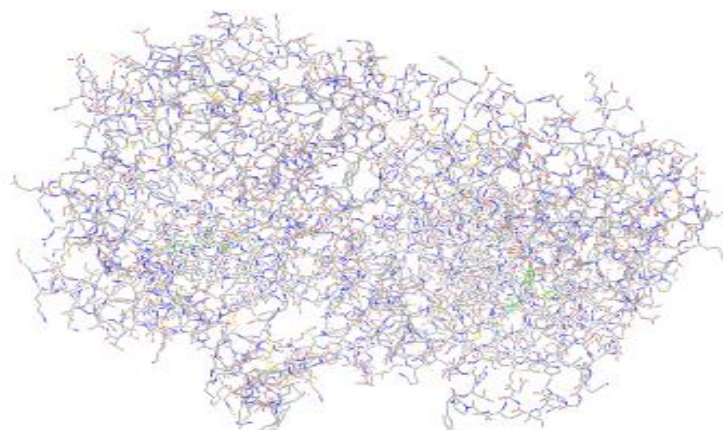


Figure 3.1 : Représentation 3D de 6COX.pdb

Cette cible présente une bonne résolution (2,80Å) et un facteur R de 0,22. En plus de satisfaire les critères décrits dans la littérature, la cible choisie est co-cristallisée avec le ligand SC-558, un analogue du célécoxib, est un inhibiteur sélectif de COX-2 (figure 3.2), et dont la structure présente une grande similitude avec celle des ligands à étudier.

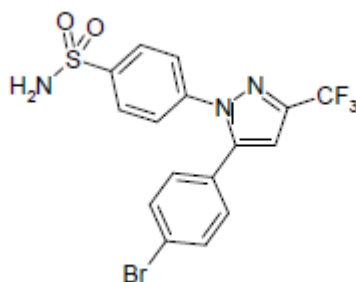


Figure 3.2 : Structure chimique de SC-558

1.3 Protocole du docking

1.3.1 *Préparation de la cible*

Afin de corriger les défauts de la structure, codée 6cox, nous suivons les étapes suivante :

- la structure pdb constituée de 2 chaînes identiques A et B, caractérisant le dimère, a été simplifiée. Nous n'avons retenu qu'une seule chaîne de la protéine. La chaîne B a donc été supprimée,
- la structure de la protéine considérée a été ajustée, en rajoutant les hydrogènes manquants et en connectant les ponts disulfures,
- pour les molécules d'eau, nous avons conservé celles qui se trouvent à une distance de 5 Å du site de liaison,

- nous avons procédé à une protonation des molécules (transfert de H⁺). Elle correspond à la position des atomes d'hydrogène sur une molécule et elle dépend du pH du milieu,
-enfin, nous avons minimisé le complexe en deux étapes afin d'obtenir une structure plus stable, avec une convergence vers un RMSD de 0,3 Å. La minimisation est réalisée en utilisant le champ de force OPLS-2005.

1.3.2 Génération de la grille de récepteur

Afin de faciliter le positionnement du ligand dans le récepteur, nous avons créé une grille. Cette opération consiste à localiser le site actif en se basant sur le site du ligand co-cristallisé dans la structure 6cox.pdb. La grille ainsi générée est sauvegardée dans un fichier de format zip. Ce fichier est utilisable autant de simulations de docking que l'on veut, tant qu'il est sauvegardé.

1.3.3 Préparation des ligands

Nous avons déjà dessiné les sept molécules étudiées dans la partie 1, ces structures sont relaxées dans le cadre de la mécanique moléculaire avec le champ de forces OPLS-2005.

Dans l'étape suivante, nous avons généré un échantillonnage conformationnel des structures optimisées en utilisant le module ConfGen, qui sera ensuite soumis au module LigPrep en vue de préparer les conformations possibles pour le docking, en simulant le milieu physiologique (pH = 7 ± 2).

1.3.4 Docking moléculaire

En premier lieu, nous avons réalisé le docking avec le mode SP (Standard Precision) qui consiste à ancrer, d'une manière flexible, l'échantillonnage conformationnel dans la protéine, maintenue rigide. Les différentes poses obtenues sont classées selon leur glide score (SP GScore) et sont ensuite soumises à un deuxième docking via le mode XP (Extra Precision) qui donne des résultats plus précis. Les poses les mieux classées seront analysées pour étudier les interactions ligand/récepteur.

2. Résultats et discussions

2.1 Validation des paramètres de docking

Avant d'entamer une étude docking, il est toujours préférable de s'assurer que le programme est adéquat pour le récepteur étudié, avant d'envisager le test d'un certain nombre de molécules. Si le programme réussit à reproduire la conformation du ligand telle qu'observée

dans une structure cristalline, il est jugé satisfaisant prédictif pour la macromolécule étudiée. Afin de valider les paramètres du docking utilisés dans cette étude, nous avons comparé les deux conformations de SC-558, à savoir, celle issue du docking utilisant ces paramètres et la conformation expérimentale issue du complexe 6cox.pdb, en les superposant et en calculant le RMSD (Root Mean Square Deviation). La figure 3.3 montre que les conformations se superposent avec un RMSD de 0,33 Å ; ce qui conforte l'utilisation des paramètres établis dans la suite de notre étude.

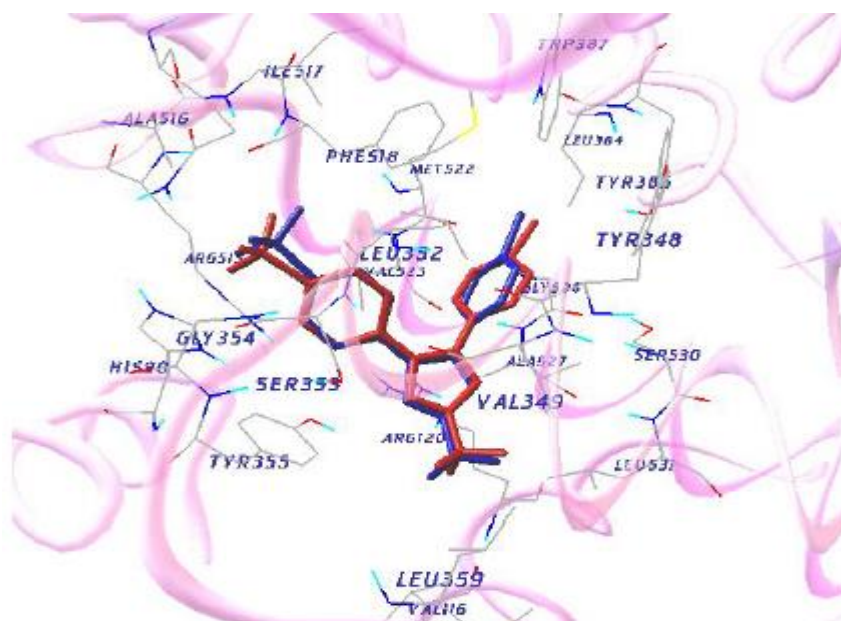


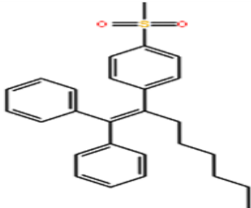
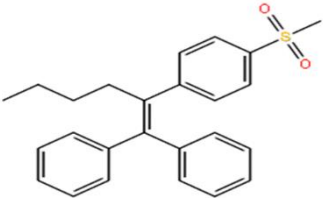
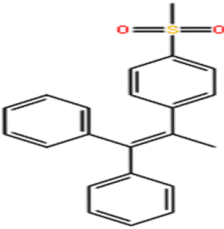
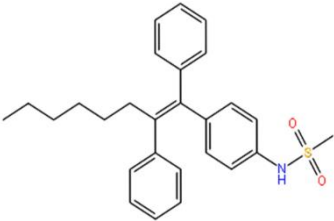
Figure 3.3 : Superposition des deux conformations de SC-558 dans la COX-2

2.2 Analyse des modes de liaison des molécules étudiées

Une fois notre protocole de docking validé, nous avons procédé au docking des structures des composés à étudier, dans le site actif de la cible choisie.

Parmi les sept dérivés de cis-stilbène étudiés, trois composés notés : M5, M6 et M7 ne peuvent pas rentrer dans le site actif de la 6cox. Le reste des molécules s'insèrent bien dans le site actif de la COX-2 : les interactions entre la meilleure conformation dockée de chaque ligand et les résidus du site actif sont récapitulées dans le **tableau 3.9**. Concernant les composés M5, M6 et M7, le processus de docking ne peut être effectué en raison du substituant encombré dans la position R3 (3.5-di-t-Bu, 4-OH).

Tableau 3.9 : Résultats du docking relatifs aux composés étudiés.

Code	Structure 2D	Gscore (XP) (Kcal/mol)	Énergie de Glide (kcal/mol)	IC ₅₀ (COX-2) (μM)
M4		<u>-7.643</u>	-17.036	0.03
M2		-7.181	-20.515	0.014
M3		-7.067	-19.744	0.63
M1		<u>-5.445</u>	-25.999	0.03

Parmi les molécules testées, **M4** est le meilleur inhibiteur de la cible choisie, car elle possède la valeur de glide score (-7.643 Kcal/mol) la plus faible. Ce résultat permet, une part, d'expliquer la forte activité expérimentale (IC₅₀ (COX-2)=0.03 μM), et d'autre part de conforter le protocole du docking adopté.

La visualisation et l'exploration des sites de liaison des complexes 'viabes' obtenus permettent de déterminer les éléments de reconnaissance de chaque complexe ligand-récepteur.

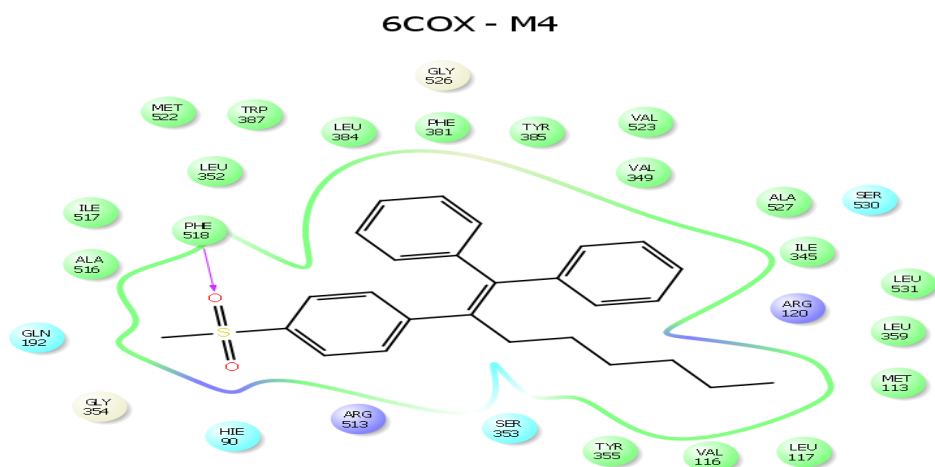


Figure 3.4 : Mode de liaison du M4 dans COX-2

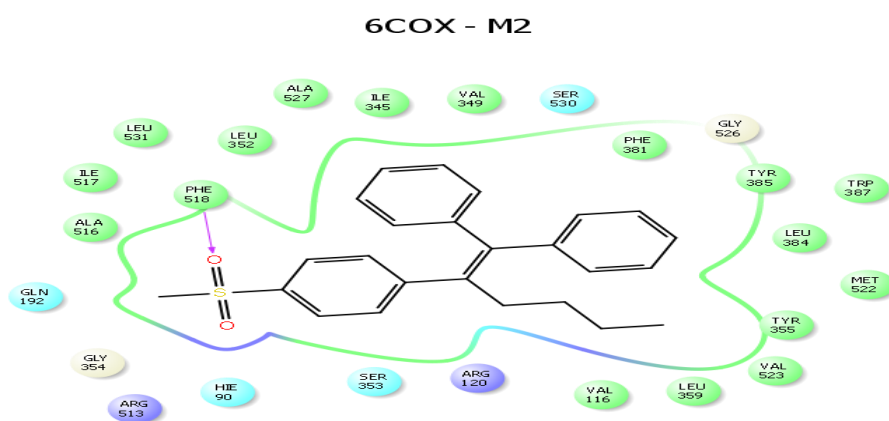


Figure 3.5 : Mode de liaison de M2 dans la COX-2.

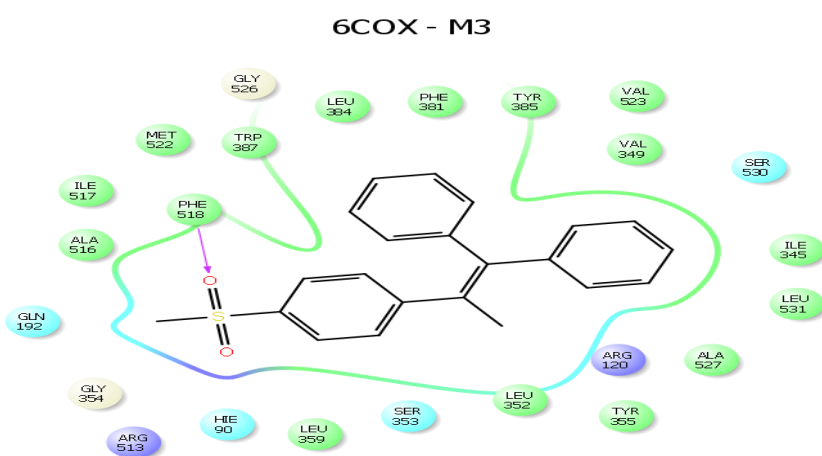


Figure 3.6 : Mode de liaison de M3 dans la COX-2.

Nous observons que les trois composés **M4**, **M2** et **M3**, présentent le même mode d'insertion dans le site actif. Le groupement polaire, méthyle-sulphonyl, se logeant dans la poche de la COX-2. L'analyse visuelle des trois complexes montre que les atomes d'oxygène forment des liaisons hydrogènes avec le résidu Phe518.

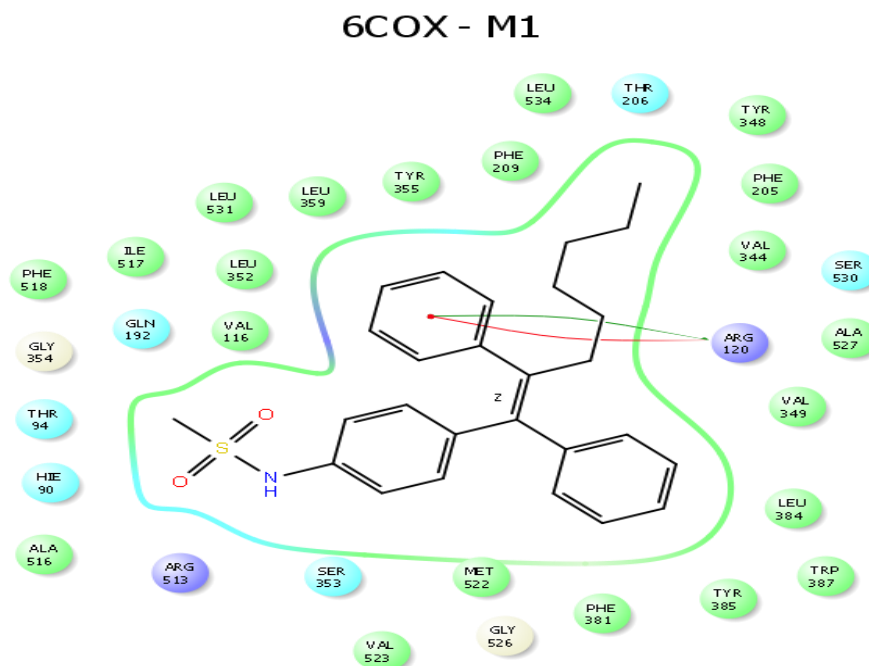


Figure 3.7 : Mode de liaison de M1 dans la COX-2.

Un des groupements phényle du composé M1 est orienté de manière à établir des interactions stabilisatrices avec les chaînes latérales des résidus Arg120 situés à l'entrée du canal de la COX-2. En effet, une interaction de type π -cation entre le groupement guanidinium du résidu Arg120 ($d = 4.023\text{\AA}$, composé M1) a été observée ; ce qui est en accord avec la littérature rapportant que cette interaction joue un rôle important dans la sélectivité de la COX-2.

Les résultats des visualisations des interactions mises en jeu entre les conformations viables et le site actif sont récapitulés dans le **tableau 3.10**.

Tableau 3.10 : Interactions entre les résidus de la COX-2 et les différents ligands.

Ligand	Pont Hydrogène			Interactions Hydrophobes	
	Atome du ligand	Résidu de la cible	Distance (Å)	π - π	π -cation
M4	O(SO2)	PHE518	<u>2.21193</u>	/	/
M2	O(SO2)	PHE518	2.27454	/	/
M3	O(SO2)	PHE518	<u>2.28308</u>	/	/
M1	/	/	/	/	ARG120

Un critère d'extraction des résidus en interaction avec le ligand est exclusivement lié à la distance entre deux atomes : l'un du ligand et l'autre du récepteur. D'après le **tableau 3.10**, nous remarquons que les molécules M4, M2 et M3 échangent une interaction du type pont hydrogène avec le récepteur. La distance la plus petite de la liaison hydrogène donne le complexe le plus stable (M4-COX-2).

Références bibliographiques

- [1] Uddin MJ, Rao PN, Knaus EE (2004) Design and synthesis of acyclic triaryl (Z)-olefins: a novel class of cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 2, 5929–5940.
- [2] Uddin MJ, Praveen Rao PN, Knaus EE (2005) Design and synthesis of (Z)-1,2 diphenyl-1-(4-methanesulfonamidophenyl)alk-1-enes and (Z)-1-(4-azidophenyl)-1,2-diphenylalk-1-enes: novel inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2) with anti-inflammatory and analgesic activity. *Bioorg. Med. Chem.* 13, 417–424.
- [3] Moreau A, Rao PN, Knaus EE (2006a) Synthesis and biological evaluation of acyclic triaryl (Z)-olefins possessing a 3,5-di-tertbutyl-4-hydroxyphenyl pharmacophore: dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases. *Bioorg. Med. Chem.* 14, 5340–5350.
- [4] Moreau A, Chen QH, Praveen Rao PN, Knaus EE (2006b) Design, synthesis, and biological evaluation of (E)-3-(4-methanesulfonylphenyl)-2-(aryl)acrylic acids as dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases. *Bioorg. Med. Chem.* 14, 7716–7727.
- [5] ADMETlab 2.0 (admetmesh.scbdd.com)
- [6] Lipinski, CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ (1997) Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 23, 3–26.

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce mémoire consiste à prédire le devenir de sept composés dérivés du cis-stilbène dans l'organisme. Ces composés sont dotés d'un profil anti-inflammatoire en inhibant les deux enzymes de la cyclo-oxygénase.

Nous avons présenté, dans le chapitre 1, l'état actuel des connaissances concernant les structures mises en jeu lors de ce processus inflammatoire. Cette rétrospective bibliographique est cruciale car elle a permis d'orienter notre protocole de recherches. Nous avons mené ces travaux au moyen de diverses approches théoriques utilisées actuellement en modélisation moléculaire et que nous avons présentées dans le chapitre 2.

Le troisième chapitre, reportant essentiellement les résultats obtenus et les discussions, est structuré en deux parties.

La première partie porte sur une étude des propriétés permettant d'examiner le processus ADMET de sept dérivés de ci-stilbènes. Les résultats obtenus nous ont permis de prédire la capacité pharmacocinétique de chaque composé et d'arriver aux conclusions suivantes :

- Les molécules M1, M2, M4 et M7 semblent être capables d'atteindre leur cible biologique par voie orale d'après les résultats des paramètres pharmacocinétiques étudiés.
- La molécule M3 est prédite le meilleur candidat médicament, mais elle présente un risque cardiaque et de lésions hépatiques très important.
- Les molécules M5et M6 présentent une mauvaise biodisponibilité orale, mais pourraient avoir un effet remarquable par autre voie d'administration.

L'analyse des résultats issus de l'étude de docking moléculaire réalisée dans la deuxième partie, sur les composés déjà sélectionnés, met en évidence le mode de liaison de ces composés dans le site actif de la COX-2.

La combinaison des résultats obtenus par l'étude ADMET et le docking moléculaire permet la sélection de la molécule M4 comme le meilleur candidat médicament. Cette Prédiction est confortée par la valeur de l'activité expérimentale.

En conclusion, les approches théoriques utilisées dans le cadre de nos travaux, guidées par des informations d'ordre expérimental, permettent l'accélération du processus de recherche et de sélection de nouveaux candidats médicaments.