



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
ZERROUG Ibtihel et REZGUI Chaima

Le : mercredi 10 juillet 2019

Thème

Évaluation des interactions moléculaires entre la Cyclooxygénase 2 et les flavonoïdes de *Citrus reticulata* : approche *in silico*

Jury :

M .	Aggouni Madjed	MAA	Université de Biskra	Président
M .	Rebai Redouane	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	Meddour Asma	MCB	Université de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

*Avant tout, nous adressons nos remerciements à **Allah**, le Tout-Puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné la patience et la force et nous a accordé la connaissance et le savoir pour nous permettre de mener à bien ce travail.*

Notre mémoire touche à sa fin après un long parcours. Nous tenons à exprimer notre sincère remerciement à tous ceux qui nous ont aidés à rassembler ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre respect à notre superviseur Monsieur **REBAI Redouane**, pour sa rigueur et sa honnêteté scientifique, ses précieuses remarques et conseils et pour sa persévérance dans le suivi de ce travail.*

Nous tenons également à remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre mémoire.

Dédicace

Grâce à Dieu tout-puissant, qui m'a donné la volonté, la force et la patience et qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai réussi à réaliser ce modeste travail que je dédie à :

*À ma sœur **Enfele** celui qui m'encourage et m'inspire, son aide, son soutien et ses remarques ont été pour moi une source de courage et de confiance. Je prie a Dieu de préserver et récompenser avec le meilleur et de lui apporter le bonheur, et de l'aider à réaliser tous ses souhaits.*

*A mes merveilleux **parents**, pour lesquels il n'y a pas de mots qui puissent expliquer le grand amour et les gratitudes que je ressens pour eux. C'est grâce à leur soutien indéfectible, leurs sacrifices, leur incroyable patience et la confiance qu'ils m'ont témoignée tout au long de mes années d'études.*

*A mes chers frères que j'aime et respecte, et a mon binôme **Chaima Rezgui** mon amie et ma collègue de travail ces 3 dernières années je lui souhaite le meilleur dans sa vie.*

Enfin, A tous mes amies et collègues de la promotion de Biochimie Appliquée 2022 j'ai passé des merveilleux souvenirs avec vous, merci pour tout votre amour et votre soutien.

IBTIHEL

Je dédie Ce travail:

*À mes **parents**, mon **frère** et ma **sœur** qui sont toujours fiers de moi, pour mon cher mari **Belkacem B.** qui me soutient et m'encourage depuis que je le connais.*

*À mon binôme **Ibtihel.Zg** qui est une travailleuse acharnée et une amie qui me soutient tout le temps, je lui souhaite le meilleur pour son avenir et pour sa sœur aussi, qui nous ont aidés à comprendre de nombreuses choses sur notre travail.*

*À tous mes amis de promotion de master : **Imen Y.**, **Lilia D.**, **Kenza R.** et je n'oublie pas mon meilleur amie **Selma T.***

*Enfin, une dédicace au chauffeur de bus, **M. Djaloul**, notre père et notre protecteur durant les cinq dernières années.*

CHAIMA

REMERCIEMENT

DEDICACE

Table des matières

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1
Première partie : Synthèse Bibliographique	
Chapitre 01 : L'inflammation et la cible enzymatique	
I. L'inflammation.....	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Les médiateurs de l'inflammation.....	3
I.2.1. La voie de la cyclooxygénase.....	3
I.3. Les médicaments Anti-inflammatoire.....	4
I.3.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	4
I.3.2. Les principaux effets indésirables des AINS.....	5
II. La cible enzymatique.....	5
II.1. Cyclooxygénases.....	5
Chapitre 02: Les flavonoïdes et Citrus Reticulata	
I. Les flavonoïdes.....	6
I.1. Définition et la structure chimique des flavonoïdes.....	6
I.2. Les activités biologiques des flavonoïdes.....	6
I.3. La biosynthèse des flavonoïdes	7
II. Citrus Reticulata.....	7
II.1. L'espèce de Citrus Reticulata	7
Chapitre 03 : Les Méthodes de modélisation des interactions Protéine-Ligand	
I. Docking moléculaire	8
I.1. Les types des méthodes du docking	8
I.1.1. Docking avec ligand flexible	8
I.1.2. Algorithmes de recherche.....	9
I.1.2.1. Recherche aléatoire ou stochastique	9
I.1.3. Fonctions de score	9
II. Évaluation des méthodes de docking moléculaire	10
II.1. Écart quadratique-moyenne-racine (RMSD).....	10
III. Propriétés ADMET	10

Deuxièmes partie : Expérimentale
Chapitre 04 : Matériel et Méthodes

I. Analyse Phytochimique.....	11
I.1. Extraction de flavonoïdes.....	11
II. Docking moléculaire.....	11
II.1. Matériel	11
II.1.1 Micro-ordinateur.....	11
II.1.2. Programmes.....	11
II.1.3. Banques de données et les sites utilisé.....	12
II.2. Méthodes.....	13
II.2.1. Préparation du récepteur.....	13
II.2.2. Préparation des ligands.....	13
II.2.3. Réalisation de docking moléculaire.....	14
II.2.4. Calcule des grilles de potentiel.....	15
II.2.5. Évaluation des propriétés ADMET.....	15
II.2.6. Les propriétés du drug-likness.....	16

Chapitre 05 : Résultats et discussions

I. L'évaluation de la fiabilité du programme de docking.....	17
I.1. Le Test de RMSD.....	17
I.1.1. La superposition des ligands.....	19
I.2.Coefficient de corrélation linéaire (r).....	21
II. Docking moléculaire	22
III. Analyse in silico des paramètres de biodisponibilité et d'ADMET des inhibiteurs de Cox2.28	
III.1. Propriétés ADMET.....	28
III.2. Propriétés de Drug-likness.....	31
Conclusion.....	34
Bibliographie	36

Annexes

Résumé

List des figures

Figure 1.	Métabolisme de l'acide arachidonique : voie de la cyclooxygénase	4
Figure 2.	Structures chimiques de quelques anti-inflammatoire non stéroïdiens	4
Figure 3.	Stéréo diagramme du mode de liaison inhibiteur de l'acide arachidonique à la COX-2 (bleu) aligné avec le mode de liaison productif, observé dans la COX-1 (beige).....	5
Figure 4.	Structure de base des flavonoïdes.....	6
Figure 5.	Les fruits et les feuilles de la mandarine	7
Figure 6.	La méthode de docking.....	8
Figure 7.	Formule du RMSD entre deux composés A et B (x, y et z : coordonnées cartésiennes, n : nombre d'atomes du composé)	10
Figure 8.	Les Structure 2D des 24 ligands.....	14
Figure 9.	Position de la boîte d'amarrage au niveau de 5KIR.....	15
Figure 10.	Résultats en % obtenus par Autodock4 à deux intervalles de RMSD (Å).....	19
Figure 11.	Superposition de ligand de référence co-cristallisé (NU1) de complexe 4PAX (coloré en rose) et dockée avec l'autodock4 (coloré on Blue) a RMSD = 0,000.....	19
Figure 12.	Superposition de ligand de référence co-cristallisé (DA3) de complexe 2HDR (coloré on rose) et dockée avec l'autodock4 (coloré on Blue) a RMSD = 0,000.....	20
Figure 13.	Superposition de ligand de référence co-cristallisé (NOC) de complexe 1LI4 (coloré on rose) et dockée avec l'autodock4 (coloré on Blue) a RMSD = 0,205.....	20
Figure 14.	Superposition de ligand de référence co-cristallisé (112) de complexe 1HWJ (coloré on rose) et dockée avec l'autodock4 (coloré on Blue) a RMSD = 0,561 Å.....	20
Figure 15.	Corrélation entre l'activité biologique (pIC50) et l'énergie de liaison avec la LOX-2 donnée par Auto dock 4.....	22
Figure 16.	Représentation schématique du site actif de la cyclooxygénase.....	23
Figure 17.	Prédiction de l'absorption des médicaments pour 24 occurrences d'activité anti-inflammatoire. Discotrés Studio 2.1 (Accelrys, San Diego, CA). Descripteurs ADMET, surface polaire 2D (PSA 2D) en Å ² pour chaque composé est tracée contre leur coefficient de partage de type atomique calculé correspondant (ALogP98)	32

List de tableaux

Tableau 1.	Valeurs de RMSD de 20 complexes inhibiteurs et le complexes 5KIR-refloxib.....	18
Tableau 2.	Valeurs de RMSD des quatre complexes étudiés.....	19
Tableau 3.	Résultats de l'analyse par régression linéaire sur les 18 inhibiteurs de la lipoxgénase..	21
Tableau 4.	Résultats Docking des quelque flavonoïde testé et une molécule de référence	25
Tableau 5.	Visualisation des interactions des complexes ligand-5KIR.....	26
Tableau 6.	Propriétés ADMET in silico des 24 composés.....	29
Tableau 7.	Les propriétés de Drug-likness	33

List des abréviations

A	
AA	Acide Aminé
ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADT	AutoDockTools
AGL	L'Algorithme Génétique Lamarckien
AINS	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
B	
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
C	
CA	California
CCRB	Center for Computational Structural Biology
CoA	CO-enzyme A
COX	Cyclo-oxygénase
COX-1	Cyclo-oxygénase -1
COX-2	Cyclo-oxygénase -2
CYP2D6	CYtochrome P450 2D6
Cys	Cysteine
D	
DS	DiscoveryStudio
E	
E.S.I.	ElectroSpray Ionization
Etc	ET Cetera
F	
Fig	Figure
G	
Gln	Glutamine
Glu	Glutamate
H	

HBA	Hydrogen Bond Acceptor
HBD	Hydrogen Bond Donor
HIA	Human Intestinal Absorption
His	Histidine
HPLC	High-performance liquid chromatography
	I
IC50	The half-maximal Inhibitory Concentration
	L
LC	Liquid chromatography
	M
MA	Maladie d'Alzheimer
MBDs	Membrane-Binding Domains
MGL	Molecular Graphics Laboratory
MMFF	Merck Molecular Force Field
MS	Mass Spectrometry
MW	Molecular Weight
	P
PBB	Plasma Protein Binding
PDB	Protein Data Bank
Pdbqt	Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)
PG	Prostaglandin
PGD2	Prostaglandin D2
PGE2	Prostaglandin E2
PGF2α	Prostaglandin F2α
PGHS	Prostaglandine H2 Synthase
PGI2	Prostaglandine I2
Phe	Phenylalanine
PHY	Phytol
Pkcsm	Predicting Small-molecule pharmacokinetic properties
PLA2	Phospholipase A2

PMV	Python Molecular Viewer
Pro	Proline
PSA	Polar Surface Area
	R
R&D	Recherche et Développement
RBN	Number of Rotatable Bonds
RMSD	Root-Mean-Square Deviation
	S
SBDD	Structure-Based Drug Design
Ser	Serine
SNC	Système Nerveux Central
	T
TxA2	Thromboxane A2
Tyr	Tyrosine
	U
UFF	Universal Force Field
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
USA	United States of America
V	V
Val	Valine
ΔG	Delta G

Introduction

Il est généralement admis que la découverte et le développement des médicaments sont des processus qui prennent beaucoup de temps et d'argent (Bannigan *et al.*, 2021 ; Gil et Martinez, 2021). On s'efforce de plus en plus d'appliquer l'évolution de la technologie et la puissance de calcul à l'espace biologique et chimique combiné afin de rationaliser la conception et l'optimisation des médicaments qui pourrait entraîner une réduction allant jusqu'à 50 % du coût (Reker, 2019 ; Kiriiri *et al.*, 2020).

Dans le domaine biomédical, la conception assistée par ordinateur « *in silico* » est utilisée pour accélérer et faciliter l'identification des nouvelles molécules médicamenteuses et optimiser l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et le profil de toxicité. Les approches informatiques « *in silico* » couramment utilisées comprennent la conception de médicaments basée sur le ligand et la conception de médicaments basée sur la structure 3D de la cible enzymatique tel que la méthode de docking moléculaire (Lin *et al.*, 2020 ; Cox et Gupta, 2022). Dans notre étude, nous allons focaliser sur le docking moléculaire pour sélectionner des inhibiteurs puissants de COX-2 qui sont parmi les cibles désignées dans le traitement de l'inflammation.

L'inflammation est une réaction physiologique élaborée par le corps humain face à des stimuli dommageables tels que l'infection, les substances toxiques, l'irradiation et les lésions tissulaires (Shah *et al.*, 2020). On distingue deux sortes d'inflammation : inflammation aiguë et inflammation chronique. Les symptômes de l'inflammation aiguë comprennent le gonflement, la chaleur, l'immobilité, la rougeur et la douleur, qui peuvent durer plusieurs jours (Rohleder, 2019 ; Stone *et al.*, 2021). Cependant, une inflammation chronique peut conduire au développement de maladies comme la goutte, la spondylarthrite ankylosante, l'arthrose, la polyarthrite rhumatoïde, la maladie d'Alzheimer, la colite ulcéreuse, la dépression, l'épilepsie et le cancer (Nasef *et al.*, 2017 ; Shah *et al.*, 2020). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont régulièrement prescrits pour les maladies inflammatoires chroniques. Les AINS inhibent l'enzyme cyclo-oxygénase 2 (COX2). La COX2 est responsable de la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandines, qui déclenchent les événements inflammatoires dans une cellule (Rohleder, 2019 ; Shah *et al.*, 2020).

L'effet ulcérogène des AINS est attribué à l'inhibition de la COX-1, et l'action anti-inflammatoire est attribuée à l'inhibition de la COX-2 (Ahmed *et al.*, 2019 ; Bajaj *et al.*, 2021). C'est sur cette base que le célécoxib, le rofécoxib et l'étoricoxib ont été mis au point comme inhibiteurs spécifiques de la COX-2 (Majchrzak-Celińska *et al.*, 2021 ; Sağlık *et al.*, 2021). Cependant, le risque cérébrovasculaire et la toxicité ont été signalés comme des effets indésirables de certains inhibiteurs de la COX-2, en particulier

à la dose standard, par exemple, le rofécoxib (Fanelli *et al.*, 2017 ; Sağlık *et al.*, 2021). En conséquence, les chercheurs médicaux attendent avec impatience de développer de nouveaux anti-inflammatoires dépourvus des effets indésirables susmentionnés et présentant un profil de sécurité gastrique prometteur (Danielewski *et al.*, 2022).

Les flavonoïdes sont un groupe de produits naturels largement répandus, avec une diverse activité pharmacologique, notamment des activités antioxydantes, anticancéreuses et anti-inflammatoires (Karak, 2019 ; Jucá *et al.*, 2020). L'activité anti-inflammatoire serait due à l'inhibition de la lipoxigénase et la cyclooxygénase 2 par les flavonoïdes (Sene *et al.*, 2016). La littérature rapporte que les activités anti-inflammatoires et anticancéreuses des polyphénols peuvent être liées les unes aux autres en raison de la surexpression de la COX-2 dans certains types de cancers. Au vu de ces résultats de la littérature, nous avons décidé de fixer une série de flavonoïdes au site actif de la COX-2 et d'étudier les interactions des complexes (Cerella *et al.*, 2010 ; Mahboubi Rabbani et Zarghi, 2019).

L'objectif de cette étude consiste à évaluer le mode et l'énergie de liaison (ligand-protéine) de quelques flavonoïdes naturels avec la cible COX-2 en faisant appel aux approches de modélisation des interactions protéine-ligand par le docking moléculaire et l'analyse des propriétés ADMET *in silico*.

Ce travail est scindé en cinq chapitres :

Le premier chapitre : nous aborderons, l'état des connaissances bibliographiques incluant des notions générales sur les maladies inflammatoires chroniques et la cible enzymatique cyclo-oxygénase 2 (COX2).

Le deuxième chapitre : nous procédons à une présentation des flavonoïdes (définitions, caractéristiques, structure chimique et leurs activités), suivie par une description botanique de l'espèce *Citrus reticulata* (mandarine), sa composition et son utilisation thérapeutique.

Le troisième chapitre : nous donnons un aperçu général sur le docking moléculaire qui permet de déterminer d'interaction le plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur (cible thérapeutique) ce qui aide au développement des molécules en un temps limité et surtout parfois sans avoir à synthétiser celles-ci.

Le quatrième chapitre : aborde la méthode de docking moléculaire et l'analyse ADMET.

Le cinquième chapitre : renferme la discussion des résultats obtenus.

Enfin nous achèverons ce travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Partie

Bibliographique

Chapitre 01 :
Inflammation

et

Cible enzymatique

I. Inflammation

I.1. Définition

L'inflammation est l'un des processus de réponse défensive dont dispose l'organisme pour répondre à une agression, et ainsi assurer la préservation de l'intégrité du "soi" (Boudjida et Halit-Sahnoun, 2017).

C'est une réaction coordonnée des cellules immunitaires, de la paroi vasculaire et des médiateurs chimiques/humoraux. Sur le plan clinique ces événements aigus entraînent les manifestations classiques suivantes : rougeur, gonflement, douleur et chaleur (Xiao et Harrison, 2020). Les attaques sont de différents types. Elles peuvent être d'origine traumatique, chimique, physique, infectieuse, ou d'origine allergique (Boudjida et Halit-Sahnoun, 2017).

En effet, on distingue deux types d'inflammation, une inflammation aigue qui dure peu de temps et se manifeste rapidement et celle qui est chronique, survient lorsque l'inflammation aigüe ne disparaît pas.

I.2. Médiateurs de l'inflammation

Les médiateurs impliqués dans le processus d'inflammation proviennent soit du plasma soit des cellules (histamine, sérotonine, prostaglandines, leucotriènes... etc.) (Zhao *et al.*, 2021). Dans cette étude, nous nous concentrerons sur les prostaglandines et plus particulièrement sur la voie de la cyclo - oxygénase.

I.2.1. Voie de la cyclooxygénase

Les prostaglandines (PGE₂, PGF₂ α , PGD₂, PGI₂ et TxA₂) sont des vasodilatateurs et des agents prolifératifs qui contribuent à l'érythème, à l'œdème, à la douleur et à la fièvre. Comme présente la figure 1 Ils sont formés à partir d'acide arachidonique par l'action de la cyclooxygénase et d'autres enzymes de synthèse. COX-1 est le composant principal de l'enzyme, est exprimé dans tout le corps et remplit plusieurs fonctions homéostatiques, telles que le maintien d'une muqueuse gastrique normale. En revanche, COX2, la forme inductible, est exprimée en réponse à des stimuli inflammatoires, à d'autres stimuli physiologiques et à des facteurs de croissance...etc (Ripon *et al.*, 2021 ; Zhao *et al.*, 2021).

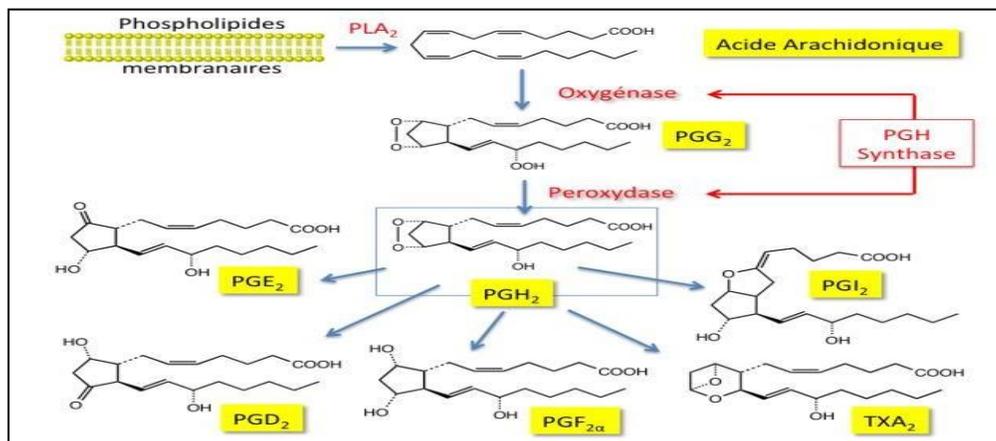


Figure 1. Métabolisme de l'acide arachidonique : voie de la cyclooxygénase (Nuhrich, 2015).

I.3. Médicaments Anti-inflammatoire

Les médicaments anti-inflammatoires agissent de manière purement symptomatique sur la réponse spécifique des tissus à l'agent envahissant et évitent le passage de la phase inflammatoire aiguë à la phase chronique (Muster, 2005). Il existe deux types d'anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Madyawati *et al.*, 2020). Dans notre étude nous nous baserons sur les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

I.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS comprennent un groupe de molécules présentant des effets anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques, la figure 2 présenté quelques structures de ces derniers. L'efficacité des AINS est comme leurs effets secondaires est liés à leur principal mécanisme d'action, c'est-à-dire leur inhibition des Cyclooxygénases, (Ferrer *et al.*, 2019) l'enzyme responsable de la synthèse des prostaglandines et du thromboxane.

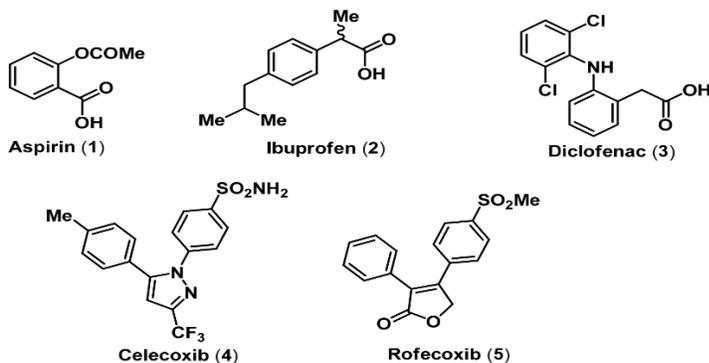


Figure 2. Structures chimiques de quelques anti-inflammatoire non stéroïdiens (Rao *et al.*, 2010).

I.3.2. Principaux effets indésirables des AINS

Comme tous les médicaments, les AINS exposent à des effets indésirables pouvant être graves, en particulier gastro-intestinaux (les AINS en agissant sur les COX inhibent la formation de PG actifs qui ont un effet protecteur sur la muqueuse gastro-intestinale). Dysfonctionnement (douleurs à l'estomac, indigestion, Ainsi, les nausées, diarrhées, etc. sont fréquentes et réversibles à l'arrêt du traitement (Shamsud in Khan, 2017 ; Monteiro *et al.*, 2022). En générale Les AINS peuvent être responsables de maux de tête ou de vertiges, réactions allergiques (éruption cutanée, asthme) et d'insuffisance rénale dans certaines circonstances rares (Jahnavi *et al.*, 2019 ; Thakur, 2022).

II. Cible enzymatique

II.1. Cyclooxygénases

Les cyclo-oxygénases, également appelées prostaglandine H2 synthase (PGHS), sont des hémoprotéines homodimériques à activité demi-site. Chaque monomère contient un site cyclooxygénase et un site peroxydase. La COX-1 se trouve dans toutes les cellules dans le réticulum endoplasmique tandis que la COX-2 est fixée à la membrane cellulaire (Emon *et al.*, 2021 ; Stachowicz, 2021).

Le site actif de la cyclooxygénase illustré dans la figure 3 est séparé de l'ouverture proche du domaine de liaison membranaire par une constriction constituée des résidus Arg-120, Tyr-355, et Glu-524 (Fig.3) (Xu *et al.*, 2019). Les structures cristallines des enzymes COX avec des acides carboxyliques contenant des AINS, montrent que les inhibiteurs sont positionnés de manière similaire avec leurs carboxylates coordonnés à Arg-120 et Tyr-385 (Das Chagas Pereira De Andrade & Mendes, 2020). Dans cette étude, la structure 3D humaine de la COX-2 (Code PDB : 5KIR) va être étudié *in silico* afin de tester l'activité inhibitrice des flavonoïdes de la plante *Citrus reticulata Blanco* (mandarine) vis-à-vis de la protéine (COX-2. PDB : 5KIR) afin de prédire leur efficacité en tant qu'agents anti-inflammatoires non stéroïdiens naturels.

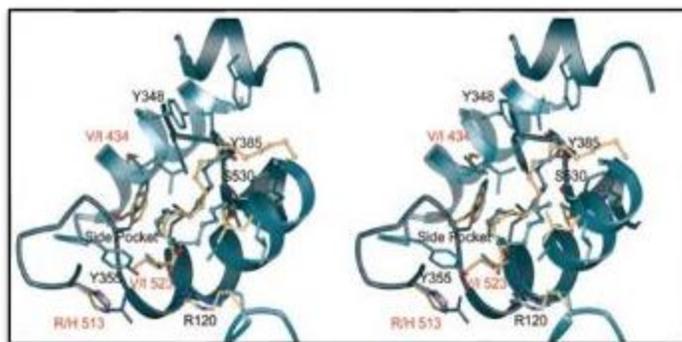


Figure 3. Stéréodiagramme du mode de liaison inhibiteur de l'acide arachidonique à la COX-2 (bleu) aligné avec le mode de liaison productif, observé dans la COX-1 (beige) (Stachowicz, 2021).

Chapitre 02 :

Flavonoïdes
et
Citrus reticulata

I. Flavonoïdes

I.1. Définition et structure chimique des flavonoïdes

Les flavonoïdes appartiennent à la grande famille des polyphénols, sont des métabolites secondaires ubiquistes dans les plantes. L'expression « flavonoïde » provenant du mot latin flavus qui signifie jaune (Chenini et Boumegouas, 2020). Chimiquement, les flavonoïdes sont classés en six sous-classes : les flavanones, les flavones, les flavonols, les flavanes, les isoflavones et les anthocyanidines (Ledesma-Escobar *et al.*, 2016).

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitués de deux noyaux aromatiques A et B, liés par un hétérocycle C oxygéné, portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (Boussouf *et al.*, 2020), la figure 4 présente la structure de base des flavonoïdes.

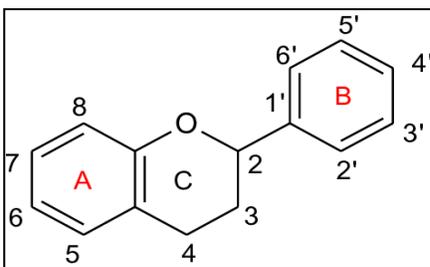


Figure 4. Structure de base des flavonoïdes (Abedini, 2013).

I.2. Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une activité antioxydant, ils peuvent empêcher les dommages oxydatifs soit par capture des radicaux hydroxyles, super oxydes et peroxydes soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires (Abbassi et Touil, 2019).

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries tel que : *Escherichia coli*. Ils inhibent la réplication par l'inhibition de l'enzyme gyrase qui assure la réplication de l'ADN (Nur Farisya *et al.*, 2020). La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être : veino-actifs. Ils agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique (P), pour diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et renforcer leur résistance (Ben Seddik K. et Ben Seddik M., 2021). Les flavonoïdes ont d'autres activités tel qu'activité anti-inflammatoire, antifongique,

Antiviral et une activité contre le cancer. Aussi ont un rôle préventif contre la cardiotoxicité et L'atteinte hématologique (Boussouf *et al.*, 2020 ; Mansouri *et al.*, 2021).

I.3. Biosynthèse des flavonoïdes

La biosynthèse des flavonoïdes commence avec la chalcone qui est un précurseur commun à tous les autres flavonoïdes. À partir de la chalcone, l'enzyme chalcone isomérase forme des flavanones. Ensuite, les flavanones sont métabolisées sous l'action de la flavonol synthase et de la flavone synthase en flavonols et flavones respectivement. la flavanone-3-hydroxylase forme les dihydroflavonols et le complexe enzymatique isoflavone synthase conduit aux isoflavones. Comme suit, à partir des dihydroflavonols, la dihydroflavonol réductase et l'anthocyanidine synthase forment respectivement des flavan 3,4 diols et des anthocyanidines (Mechiki *et al.*, 2019 ; Elkali *et al.*, 2021).

II.4. Espèce *Citrus reticulata*

Citrus (Citrus reticulata Blanco) ou mandarine présenté dans la figure 4, est un fruit tropical ou subtropical largement distribué dans le monde entier comme l'un des fruits les plus consommés (Tahsin *et al.*, 2017). Ses arbres sont petits, épineux, avec sommet dense de branches élancées, à feuilles persistantes et buissonnant, qui atteint 2 à 8 m de haut. Ils sont une source précieuse de d-limonène, de flavonoïdes, de caroténoïdes, de fibres alimentaires, de sucres solubles, de cellulose, d'hémicellulose, de pectine, de polyphénols, d'huiles essentielles (Dosoky et William, 2018 ; Boudaoud et Noui, 2021).

Plusieurs études ont rapporté une variété de bioactivités, comme des propriétés antioxydantes, anticancéreuses, anti-inflammatoires et antidiabétiques. Beaucoup de ces bioactivités sont attribuées aux flavonoïdes qui sont abondants dans les agrumes (Wang *et al.*, 2017). A l'heure actuelle, en plus d'être utilisés comme aliments frais, les agrumes sont principalement utilisés pour produire des conserves, des jus de fruits et d'autres produits (Shu *et al.*, 2020).



Figure 5. Les fruits et les feuilles de la mandarine (Boudaoud et Noui,2021).

Chapitre 03 :

Docking moléculaire

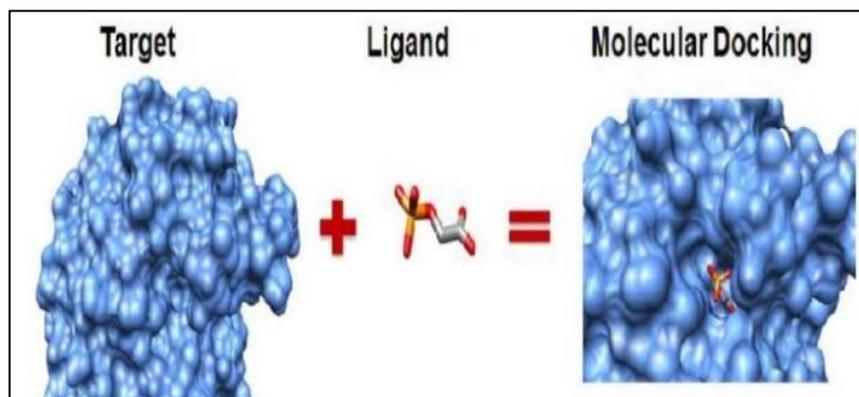
« In silico »

I. Docking moléculaire

Le docking moléculaire est une méthode de calcul utilisée pour prédire l'interaction de deux molécules en générant un modèle de liaison (Kribaa et Nouioua, 2021). Il s'agit d'une technique informatique qui permet de prédire les interactions probables entre les ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés qui composent la structure d'une protéine en se basant sur une simulation de la conformation et de l'orientation du ligand qu'il adopte lors de sa liaison au récepteur comme illustre la figure 6. Le docking permet aussi d'identifier véritables ligands du récepteur parmi plusieurs molécules étudiées (Tao *et al.*, 2020 ; Taj *et al.*, 2021).

À cet effet, Le logiciel de docking y parvient en combinant l'utilisation d'un algorithme de recherche conformationnelle, qui permet au ligand de générer des modes de liaison (poses) dans le récepteur, avec une fonction de score, que l'on peut considérer comme un indice d'affinité molécule - récepteur, qui utilisée pour classer les différentes poses en fonction d'un score qui prédit l'affinité (Barril et Soliva, 2006).

Figure 6. La méthode de docking (Hernández-Santoyo *et al.*, 2013).



I.1. Types des méthodes du docking

Le docking est divisé en deux catégories basées sur la flexibilité du ligand et de la protéine pendant le processus de docking : le docking rigide (ligand rigide) et le docking flexible (ligand flexible) (Zerroug, 2020). Dans notre étude nous allons travailler avec la deuxième classe.

I.1.1. Docking avec ligand flexible

La flexibilité du ligand, permettant d'explorer les conformations qu'il prend pendant la fixation du site de liaison afin de déterminer les bonnes poses du ligand avec l'énergie libre de liaison la plus faible (Mohan *et al.*, 2005 ; Zerroug, 2020).

De nombreux algorithmes d'arrimage améliorent aujourd'hui la complexité du problème en incluant une certaine flexibilité sur le récepteur (Zerroug, 2020). En réalité, l'augmentation du nombre de degrés de liberté que cela représente est synonyme d'un décuplement du temps de calcul. Par conséquent, l'approche la plus largement utilisée est l'arrimage de ligands flexibles avec des protéines rigides (Mohan *et al.*, 2005).

1.1.1. Algorithmes de recherche

Les algorithmes de recherche sont définis par un ensemble de règles et de paramètres appliqués pour prédire les conformations (Dias *et al.*, 2008). Les origines des algorithmes de recherche de docking moléculaire remontent aux études d'analyse computationnelle des interactions intermoléculaires.

1.1.1.1. Recherche aléatoire ou stochastique

Les algorithmes de recherche aléatoire, également connus sous le nom d'algorithmes stochastiques, génèrent de nouvelles conformations de ligands ou une population de ligands en apportant des modifications aléatoires aux variables de translations, rotations et torsions, qui sont acceptées ou rejetées selon une fonction de probabilité appelée "fitness" (Leonhart *et al.*, 2019 ; Maia *et al.*, 2020).

L'un des programmes de docking moléculaire les plus connus qui utilisent l'AGL est le programme AUTODOCK. Depuis sa création dans les années 1990, cet algorithme a subi de nombreuses modifications visant à améliorer la vitesse et la précision du criblage virtuel (Dias *et al.*, 2008).

1.1.2. Fonctions de score

Au cours du docking moléculaire, plusieurs poses possibles du ligand sont générées au sein du site actif de la protéine. Chaque pose est évaluée par une fonction de score, qui guide et détermine les poses de ligand (Radan *et al.*, 2021). Les fonctions de score sont des approches d'approximation mathématique permettant d'estimer l'affinité de liaison qui sont utilisées pour évaluer et classer les poses afin de découvrir le mode de liaison "vraie" des composés et les ligands les plus prometteurs dans le criblage virtuel (Leonhart *et al.*, 2019 ; Zerroug, 2020).

II. Évaluation des méthodes de docking moléculaire

Les méthodes de criblage virtuel doivent être évaluées afin d'assurer leur performance et, par conséquent, la validité de leurs résultats (Zerroug, 2020).

II.1. Écart quadratique-moyenne-racine (RMSD)

Le RMSD est la mesure de la distance moyenne l'entre les positions atomiques entre la structure du ligand déterminée expérimentalement (telle qu'elle est liée à la protéine) et la pose calculée par l'algorithme de docking (la formule est présenté dans la figure 7). Plus la valeur RMSD est faible, plus la prédiction du positionnement est précise, et moins les écarts entre les deux structures sont importants (Marzolf *et al.*, 2021).

$$RMSD(A,B) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n ((A_{ix} - Y_{ix})^2 + (A_{iy} - Y_{iy})^2 + (A_{iz} - Y_{iz})^2)}$$

Figure 7. Formule du RMSD entre deux composés A et B (x, y et z : coordonnées cartésiennes, n: nombre d'atomes du composé) (Kirchmair *et al.*, 2008).

III. Propriétés ADMET

La diversité moléculaire des chimiothèques criblées expérimentalement ou virtuellement est un critère important pour augmenter les chances d'identifier des nouvelles molécules médicamenteuses. Les molécules doivent également avoir les propriétés physico-chimiques comme la biodisponibilité et les propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité.) caractérisant un médicament (Butina *et al.*, 2002 ; Tabti *et al.*, 2020).

Partie

Expérimentale

Chapitre 04 :

Matériel et méthodes

I. Analyse Phytochimique

I.1. Extraction de flavonoïdes

La série des composés de 24 flavonoïdes (ligands) est obtenue à partir de travail de Fu *et al.* (2019). Ils ont fait l'analyse des métabolites secondaire (flavonoïdes) dans les écorces de Citrus (*Citrus reticulata* "Dahongpao") en utilisant le système La chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS).

La technique de chimie analytique de la chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS) combine les capacités de séparation physique de la chromatographie liquide (ou HPLC) avec les capacités d'analyse de masse de la spectrométrie de masse (MS) (Zhang *et al.*, 2019). A l'intermédiaire d'une étape de l'Electrospray (E.S.I.) comme une source de d'ionisation "douce", ce qui signifie que relativement peu d'énergie est communiquée à l'analyse, et donc peu de fragmentation des molécules se produit. Ce qui est en contraste avec d'autres sources d'ionisation MS classique (Rüger *et al.*, 2021).

II. Docking moléculaire

Dans notre travail, nous avons évalué *in silico* par le docking moléculaire, l'affinité d'une 24 molécule vis-à-vis du site actif de la cyclooxygénase-2 (PDB : 5KIR), en utilisant le logiciel Auto dock 4. Ces 24 inhibiteurs sont ensuite soumis à une analyse de leurs propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques, en appliquant l'analyse ADMET et les propriétés Drug-likeness (la règle de 5 de Lipinski) par le logiciel DiscoveryStudio (DS 2.0) et Pkcsim, respectivement.

II.1. Matériel

II.1.1 Micro-ordinateur

Dans cette étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur ayant un processus de 2.50 GHz Intel Core i5-6300U et une mémoire vive de 8.00 Go, sous le système d'exploitation Windows 7. 32 bits version 2010.

II.1.2. Programme

Lors notre étude, nous avons utilisé les programmes suivants :

➤ **Avogadro**

Avogadro est un logiciel gratuit, un éditeur moléculaire et un outil de visualisation moléculaire. Le logiciel permet aussi de se familiariser avec les bases de la mécanique moléculaire en proposant différents champs de force (MMFF94, MMFF 94s, UFF et Ghemical) (Hanwell *et al.*, 2012 ; Pansanel J., 2013 ; Rayan, B et Rayan, A., 2017). Dans ce travail on a utilisé Avogadro pour minimiser l'énergie de nos ligands.

➤ **Auto Dock 4**

L'Auto Dock est un programme de docking moléculaire et un ensemble de trois sous-programmes destinés à prédire la conformation la plus favorable et la plus stable d'un ligand au sien de son récepteur. Le test des paramètres déterminant les propriétés du ligand qui est réalisé avec le sous-programme Auto Tors. Le sous-programme AutoGrid calcule des différentes grilles de potentiel. Et à la fin, le sous-programme Auto Dock réalise les calculs d'amarrage moléculaire parfaitement. Il ya deux versions à savoir, AutoDock4 et Auto Dock Vina (Forli et Olson, 2012 ; Lokesh et Kannabiran, 2016 ; Makhloufi et Lazreg, 2019). Dans cette étude, on travaille avec Auto Dock 4.2.6.

➤ **MGL Tools**

MGLTools est connu sous le nom de Molecular Graphics Laboratory (MGL), utilisé pour la visualisation et l'analyse des structures moléculaires, MGLTools comprend Python Molecular Viewer (PMV), AutoDockTools (ADT) et un environnement de programmation visuel. Le téléchargement est gratuit sur le site <https://ccsb.scripps.edu/mgltools/downloads> (Aguinaldo *et al.*, 2022).

➤ **Discovery Studio**

Discovery est un logiciel de bio-informatique commercialisé qui renferme beaucoup de fonctionnalités, Principalement le criblage virtuel, la visualisation, et l'analyse des protéines et des petites molécules ainsi qu'analyser les propriétés pharmacocinétique. Dans notre étude, nous avons utilisé le DS pour la visualisation des complexes et leurs interactions, et pour le calculer les propriétés d'ADMET (Boukia et Bessa, 2021).

➤ **Pymol**

Pymol est un logiciel de visualisation moléculaire, édité par la société Delano Scientific. Il s'agit d'un logiciel libre et gratuit (Bendib et Manaa, 2021).

➤ Excel 2019

Dans ce travail, on utilise Excel pour tracer le diagramme du RMSD et pour calculer le coefficient de corrélation et tracer leur diagramme.

II.1.3. Banques de Données et les sites utilisés

➤ Protein Data Bank (PDB)

La banque des données des protéines PDB (PDB <http://www.rcsb.org/pdb/>) est une collection mondiale de données structurales (structures 3D) des protéines et des acides nucléiques. Elle a été créée en 1971 en tant qu'archive des structures cristallines des macromolécules biologiques. Ces structures sont déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN (Boudjizza et Regad, 2019).

➤ Pubchem

Pubchem est une banque de données américaine gratuite de substances chimiques et leurs activités biologiques. Lancé en 2004 et géré par le National Center for Biotechnology Information (NCBI). (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) (Kim *et al.*, 2016 ; Ghadhab et Soufi, 2020).

➤ Pkcsim

Est un outil web gratuit qui permet d'évaluer la pharmacocinétique, le potentiel thérapeutique et la facilité d'utilisation en chimie médicinale de petites molécules.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation du récepteur

La structure cristalline de COX-2 a été obtenue depuis la banque de données des protéines (code PDB: 5kir, résolution: 2,70 Å). Des atomes d'hydrogène ont été ajoutés à la protéine en utilisant DS 2.5. Des molécules d'eau explicites et cofacteurs ont été supprimées et sauvegardées sous forme pdb.

II.2.2. Préparation des ligands

Les ligands étudiés ont été téléchargés via la chimiothèque Pubchem. À l'aide du logiciel Avogadro nous avons déterminé l'optimisation géométrique de nos 24 composés présentés dans la figure 8 inhibiteurs de COX-2 en utilisant la Merck Molecular Force Field « MMFF94 » qui est particulièrement bon avec les composés organiques tels que les alcanes, les alcools et les phénols. À la fin les ligands sont sauvegardés sous forme pdb.

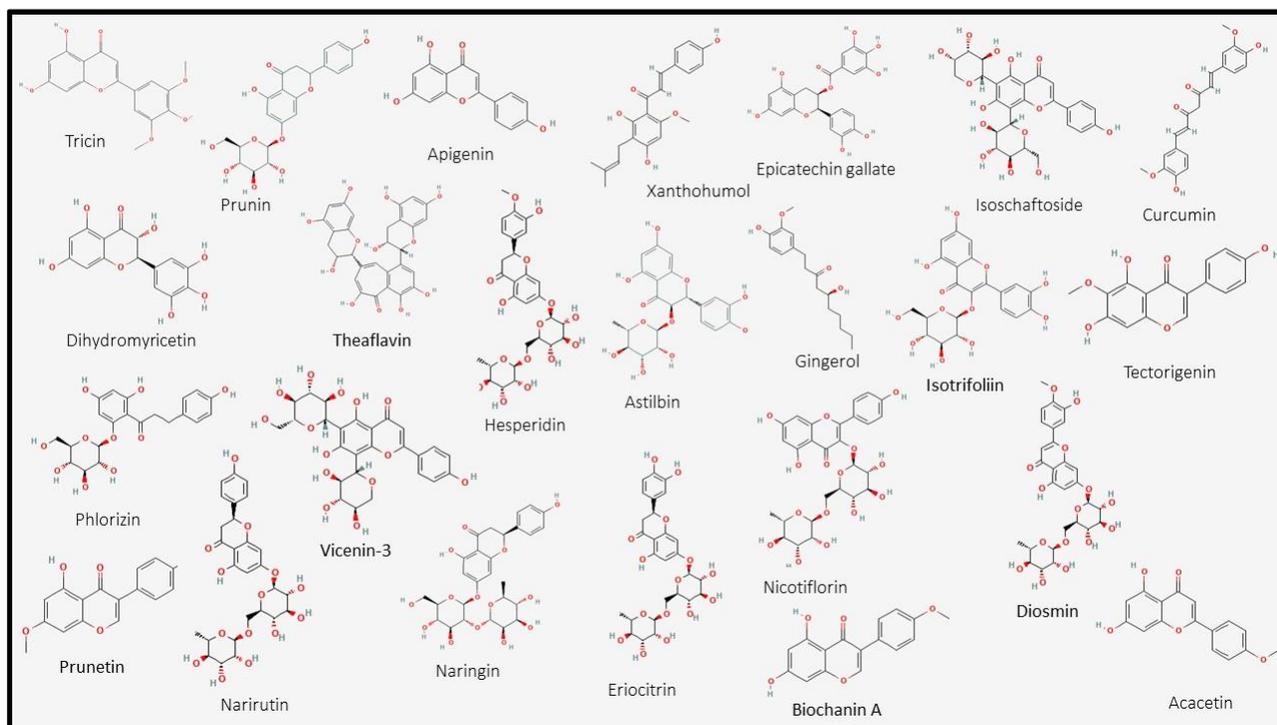


Figure 8. Les Structure 2D des 24 ligands.

II.2.3. Réalisation de docking moléculaire

Lors de la préparation de la cible (PDB :5kir) nous avons défini les charges partielles des atomes par l'intermédiaire du sous-programme Auto dock Tools (ADT) qui attribue des charges de type « Kollman" and guster computer ». Il est aussi nécessaire de rajouter au récepteur les hydrogènes-polaires. Ensuite,

Nous avons intégré les paramètres de solvation des atomes de l'enzyme (types d'atomes) avant de l'enregistrer sous le format pdbqt (format propre à Auto Dock). Les 24 composés de flavonoïdes ont été préparés par Auto Dock 4 et enregistré sous format pdbqt.

II.2.4. Calcule des grilles de potentiel

Le programme Auto Dock utilise une grille de potentiel tridimensionnelle à fin d'augmenter la vitesse d'évaluation de l'énergie du système. Le Box de grille est placé dans l'enzyme 5KIR englobant largement le site actif de la protéine étudiée et permettant la libre rotation du ligand dans ce site. Le centre de cette boîte est déterminé par les coordonnées X et Y et Z.

La figure 9 illustre l'espacement ou la maille de la grille est fixé 0.375 Å, La boîte est donc placée au centre du ligand et ses dimensions sont proportionnelles à la taille de tous les ligands examinés.

L'Algorithme Génétique Lamarckien (LGA) a été sélectionné pour rechercher des meilleurs conformères des ligands dans le site actif de la cible, nous choisissons 50 positions (poses des ligands au sien de site actif de la cible). Les résultats d'Auto Dock est alors analysés pour étudier les interactions et l'énergie de liaison de la structure dockée.

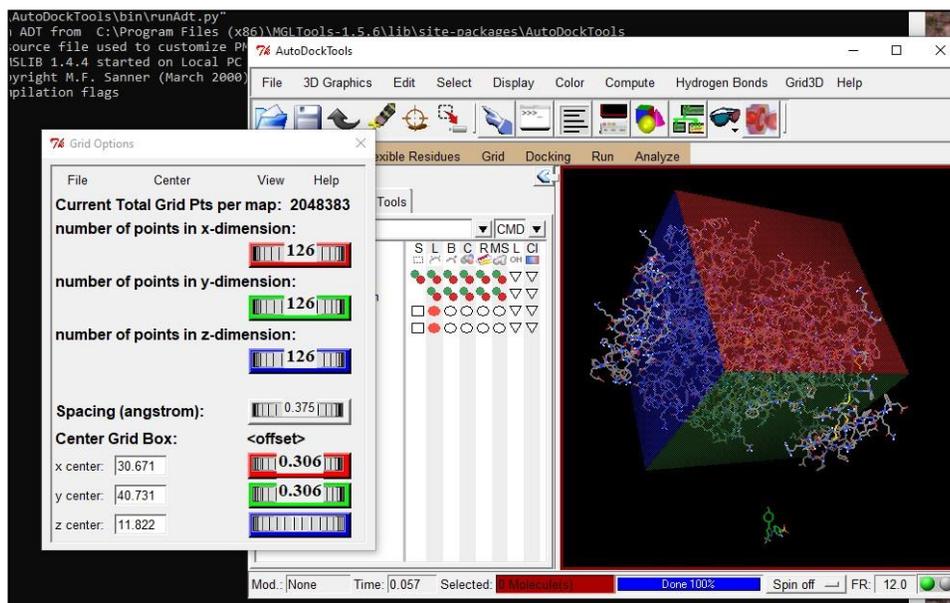


Figure 9. Position de la boîte d'amarrage au niveau de 5KIR.

II.2.5. Évaluation des propriétés ADMET

Des études ADMET *in silico* ont été réalisées en utilisant l'algorithme ADME intégré dans logiciel. Divers paramètres pharmacocinétiques tel que : la solubilité aqueuse, la barrière hémato - encéphalique (BHE), la liaison CYP2D6, l'absorption intestinale, l'hépatotoxicité et la liaison aux protéines plasmatiques (PBB) ont été estimés pour notre série de 24 composés inhibiteurs de COX-2.

II.2.6. Propriétés du drug-likeness

Il était indispensable de compléter ce travail en calculant les propriétés pharmacocinétiques des composés ayant présenté les meilleurs scores d'énergie afin de nous renseigner sur leur biodisponibilité par voie orale, en appliquant les deux règles suivantes en utilisant le site Pkcsml :

1. La règle de 5 de Lipinski est (Lipinski *et al.*, 1997):

- Le poids moléculaire (**MW**) du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da).
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (**HBD**) doit être inférieur à 5.
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (**HBA**) doit être inférieur à 10.
- Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté LogP, doit être compris entre -2 et 5.

2. La règle de Veber (Veber *et al.*, 2002) :

- Le nombre de liaisons rotatives (RBN) < 10.
- La surface polaire Le PSA (surface polaire) < 140 Å².

Chapitre 05 :

Résultats et Discussion

I. Evaluation de la fiabilité du programme de docking

Afin de réaliser le protocole de docking moléculaire des inhibiteurs de COX-2, nous avons évalué la fiabilité du programme AutoDock 4 via le test RMSD et l'analyse visuelle de la position du ligand dockée et le ligand de référence co-cristallisé. Ainsi la qualité du programme est jugée par le coefficient de corrélation entre les valeurs d'énergie liaison des molécules retenues dans cette étude et leurs pIC50.

I.1. Test de RMSD

L'efficacité d'un programme à prédire le positionnement exact d'un ligand dans le site actif est évalué par la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean square dérivation) simulée par le programme Autodock4. Par rapport à au ligand Co-cristallisé dockée et le ligand co-cristallisé présentant au site actif de la cible intégré dans la PDB. La prédiction est acceptable si la valeur du RMSD obtenue est $> 2\text{Å}$. (Bendib et Manaa, 2021).

Afin de nous assurer la fiabilité de ce programme nous avons étudié spécifiquement 20 complexes protéines-ligands pris de manière arbitraire de la PDB et le complexe enzymatique utilisé dans cette étude (pdb : 5kir). Après avoir extrait le ligand co-cristallisé de la cible donnée et repositionné ce dernier par docking dans le site actif.

D'après le tableau 1 la valeur de RMSD du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure co-cristallisé ne dépasse pas 2Å dans la plupart des complexes étudiés plus le complexe 5KIR-refloxi (Tableau 1). Les deux valeurs de RMSD supérieur à 2Å correspondant au complexe suivant : 1DTQ, 2RGU.

Le graphe illustré dans la figure 10, montre les résultats obtenus lors de l'évaluation de programme Autodock 4 pour sa capacité à reproduire les modes d'interaction expérimentaux des ligands vis-à-vis de leurs récepteurs, les résultats sont montrés en pourcentage (%) à deux intervalles ($< 2\text{Å}$ et $> 2\text{Å}$) (Smith *et al.*, 2012).

Tableau 1. Valeurs de RMSD de 20 complexes inhibiteurs et le complexes 5KIR-refloxi.

PDB_ID	Ligand_ID	RMSD (Å)
5KIR	Refocoxib	1,38
1A5X	Y31	0,00
11GS	EAA	1,299
1DTQ	FPT	2,344
102M	HEM	0,001
1AXB	FOS	0,869
2BMW	HEM	0,000
2BPZ	3IN	2,393
2QPL	BTY	0,000
1LI4	NOC	0,205
1CX2	S58	1,488
2P15	EZT	0,069
2HDR	DA3	0,000
2I3Z	LIR	0,615
2RGU	356	2,350
4PAX	NU1	0,000
1HWJ	112	0,561
2D1J	D01	0,093
2P15	EZT	0,001
1XOZ	CIA	0,001
1A6N	HEM	0,000

D'après ces résultats, le programme Autodock4 reproduit bien les données expérimentales, en effet, 80% des valeurs de RMSD sont inférieures ou égale à 2Å (Graphe), la majorité des bonnes RMSD se situe dans l'intervalle de 0 à 1,4 Å, et que seulement 20 % des résultats sont supérieurs à 2Å (Smith *et al.*, 2012).

Ces résultats montrent que le programme Autodock 4 simule correctement les interactions protéine - ligand.

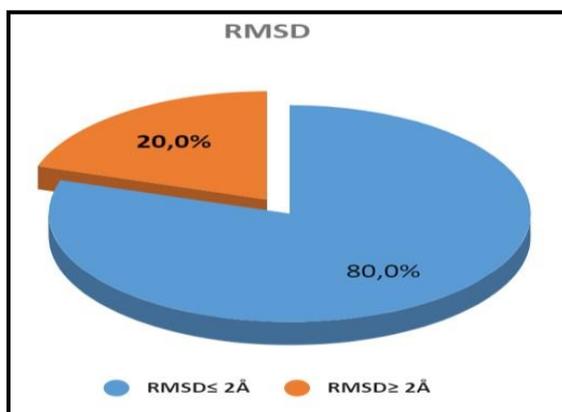


Figure 10. Résultats en % obtenus par Autodock4 à deux intervalles de RMSD (Å).

I.1.1. Superposition des ligands

L'analyse visuelle faisant suite au test RMSD est aussi une étape essentielle pour évaluer la performance de programme autodock4. Elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD, La visualisation a été effectuée par le programme pymol.

Tableau 2 : Valeurs de RMSD des quatre complexes étudiés.

	Codes PDB	Codes des ligands	RMSD (Å)
Complexe 1	4PAX	NU1	0,000
Complexe 2	2HDR	DA3	0,000
Complexe 3	1LI4	NOC	0,205
Complexe 4	1HWJ	112	0,561

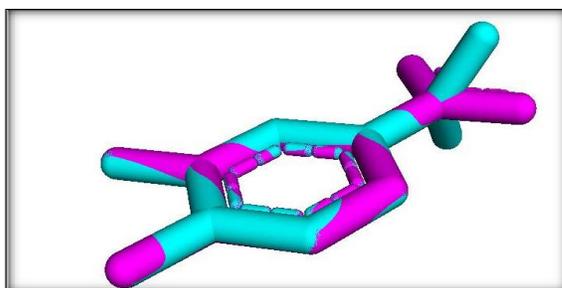


Figure 11. Superposition de ligand de référence co-cristallisé (NU1) de complexe 4PAX (coloré en rose) et dockée avec l'autodock4 (coloré on Blue) a RMSD = 0,000 Å.

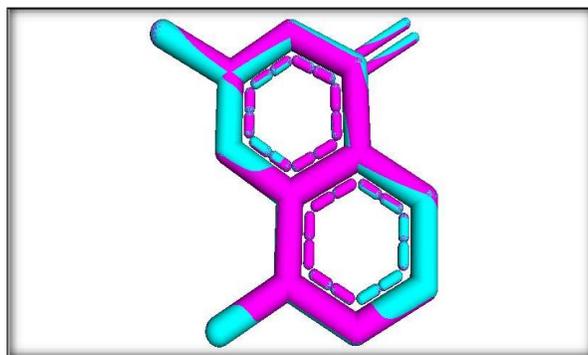


Figure 12. Superposition de ligand de référence co-cristallisé (DA3) de complexe 2HDR (coloré on rose) et dockée avec l'autodock4 (coloré on Blue) a $\text{RMSD} = 0,000 \text{ \AA}$.

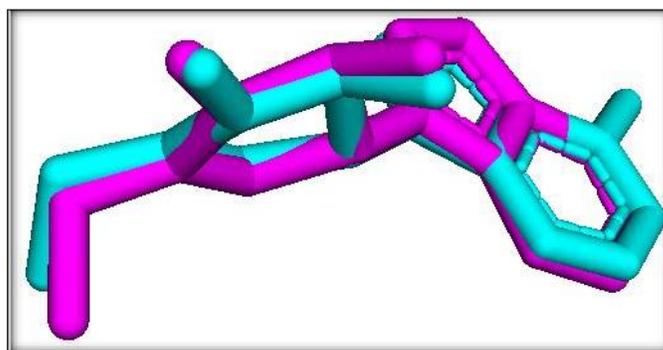


Figure 13. Superposition de ligand de référence co-cristallisé (NOC) de complexe 1LI4 (coloré on rose) et dockée avec l'autodock4 (coloré on Blue) a $\text{RMSD} = 0,205 \text{ \AA}$.

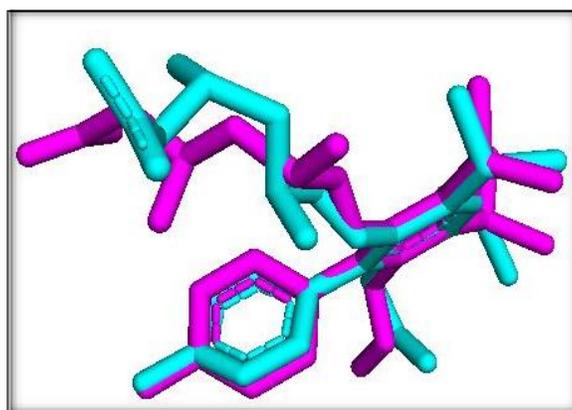


Figure 14. Superposition de ligand de référence co-cristallisé (112) de complexe 1HWJ (coloré on rose) et dockée avec l'autodock4 (coloré on Blue) a $\text{RMSD} = 0,561 \text{ \AA}$.

I.2. Coefficient de corrélation linéaire (r)

Dans le même objectif de valider la fiabilité de programme, nous avons fait un deuxième test qui consiste principalement à évaluer le degré de corrélation qui existe entre les affinités de 18 inhibiteurs de la lipoxigénase calculées par autodock4 et les valeurs de leurs IC₅₀ déterminées expérimentalement dans la littérature (Jan *et al.*, 2020).

Le coefficient de corrélation linéaire (Régression linéaire) de Bravais-Pearson permet de mesurer l'intensité du lien entre deux caractères quantitatifs. La corrélation entre l'activité biologique (pIC₅₀) et l'énergie de liaison obtenue par le docking moléculaire fut pour nous un des moyens pour tester la fiabilité d'Autodock utilisé dans cette étude. La valeur du coefficient de corrélation doit être dans l'intervalle qui va de -1 à +1, Une valeur égale ou proche de +1 indique l'existence d'une relation linéaire (fonctionnelle) parfaite entre les deux variables, Par contre, ce coefficient est nul ($r = 0$) lorsqu'il n'y a pas de relation linéaire entre les variables (Ganti, 2020).

Les inhibiteurs ont été dessinées par le logiciel Chemdraw et téléchargées puis traitées par Avogadro où elles ont été minimisées et téléchargées au format pdb. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3. Résultats de l'analyse par régression linéaire sur les 18 inhibiteurs de la lipoxigénase.

Number	Ligand	Score	IC ₅₀ (μM)	pIC ₅₀
1	3a	-8,08	78,3	4,10623824
2	3b	-7,36	36	4,4436975
3	3C	-8,52	130,5	3,88438949
4	3D	-8,12	69,18	4,16001944
5	3e	-7,13	56,2	4,25026368
6	3f	-7,13	26,83	4,57137933
7	3g	-8,15	18,44	4,73423908
8	3h	-7,69	98,55	4,00634337
9	3i	-7,01	21,31	4,67141655
10	3j	-7,86	16,15	4,79182747
11	3k	-7,58	62,38	4,20495463
12	3l	-7,24	53,45	4,27205229
13	13a	-6,34	0,81	6,09151498
14	13b	-7,07	5,29	5,27654433
15	13c	-7,48	4,74	5,32422166
16	13d	-6,8	12,59	4,89997427
17	13e	-7,37	0,86	6,06550155
18	Zileuton	-6,64	0,63	6,20065945

PS: $pIC_{50} = -\text{Log } IC_{50}$

Le tableau 3 correspond à des 18 inhibiteurs testés par Autodock4. Dont la valeur du coefficient de corrélation est de 0.64 est adéquate à celle de la référence qui est de -1 à +1. Il y a donc corrélation significative entre les deux paramètres analysés, à savoir l'activité biologique représentée ici par le pIC_{50} et les énergies de liaison données par le programme Autodock4 présenté par la figure 15, ce qui nous permet de conclure que le programme Autodock4 représente un outil de choix pour prédire les interactions biologiques des structures moléculaires données. Cela est confirmé par les travaux de Tangyuenyongwatana et Jongkon (2016) qui ont indiqué que l'Autodock 4 a montré un coefficient de corrélation de 0.6849 et aussi 0.87 dans les travaux de Ibrahim *et al.* (2019).

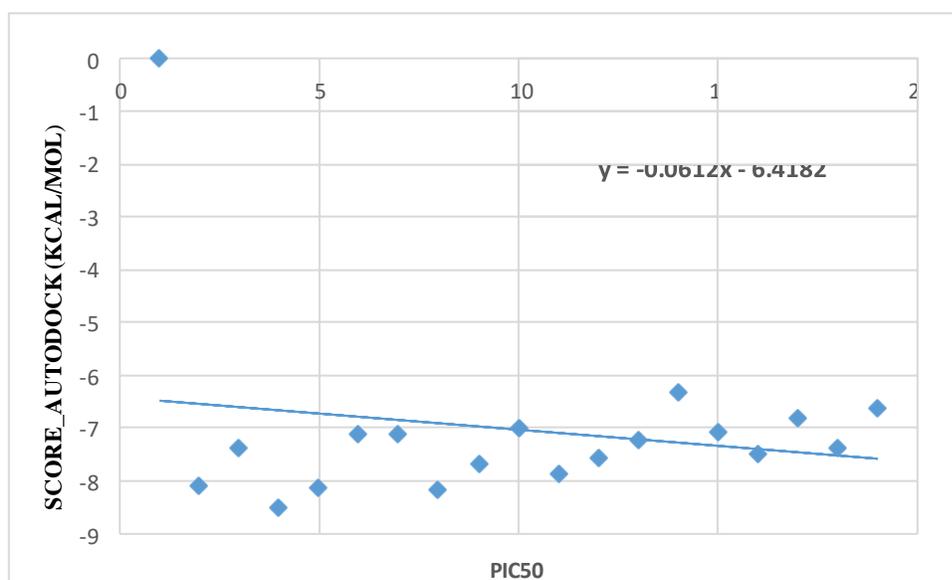


Figure 15. Corrélation entre l'activité biologique (pIC_{50}) et l'énergie de liaison avec la LOX-2 donnée par autodock 4.

II. Docking moléculaire

L'enzyme COX-2 humaine est un homodimère de 581 acides aminés dont chaque sous-unité est constituée de trois domaines, le domaine du facteur de croissance épidermique (résidus 34-72), comme présente la figure 16 le domaine de liaison à la membrane (MBDs) (résidus 73-116) et le domaine catalytique. Ce dernier constitue la majeure partie de la protéine, qui contient le site actif de la

Cyclooxygénase, peroxydase et de groupe prosthétique de l'hème (Rouzer et Marnett, 2009 ; Perez *et al.*, 2019).

Le site active de COX-2 est contenu dans un long canal hydrophobe illustré dans la figure 16 est représenté le site de liaison de l'aa, substrat naturel et les AINS (Chakraborti *et al.*, 2010).

Dans cette étude, nous avons évalué par le docking moléculaire le potentiel d'inhibition de 24 flavonoïdes vis-à-vis de la cyclooxygénase 2 (pdb : 5KIR). Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

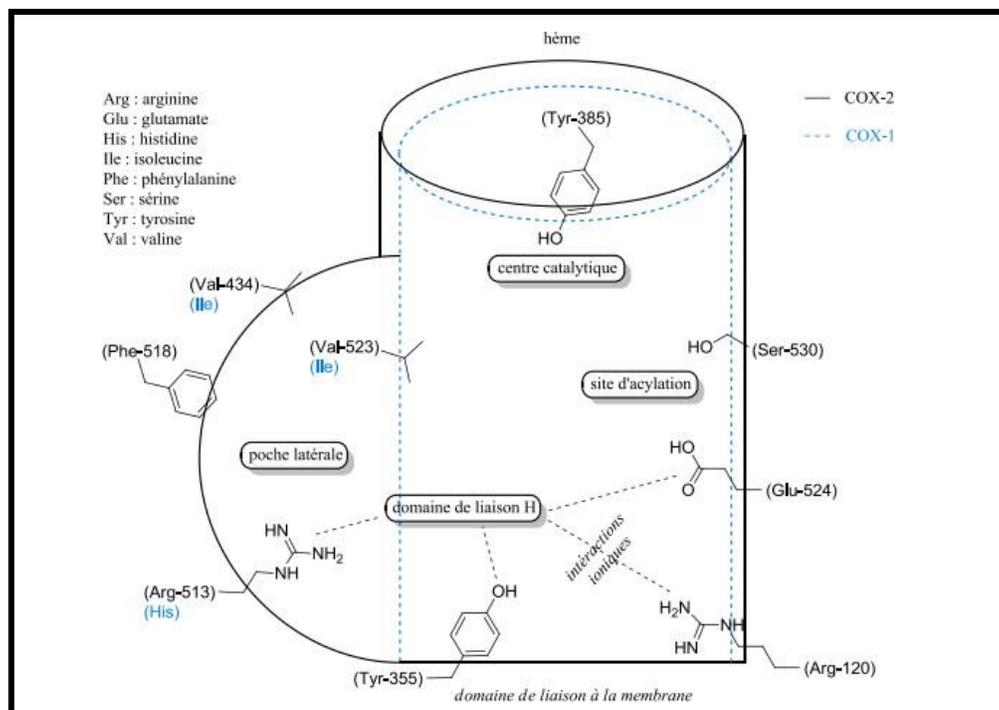


Figure 16. Représentation schématique du site actif de la cyclooxygénase (Chakraborti *et al.*, 2010).

D'après le tableau 4, les composés acacétine, l'apigénine et biochanine A ont une énergie de liaison important de -8.82, -8.72 et -8.18 Kcal/mol respectivement. Ces 3 composés ont des interactions de type de liaisons hydrogènes avec les acides aminés clés du site actif et la poche latérale plus précisément : Val523, Arg120, Phe518, Ser530, Ser353, Tyr355, Phe381, Tyr385, Arg513, His 90. Les liaisons d'hydrogène sont formées entre le C5-OH de cycle A de l'acacétine et l'apigénine avec His90, Ser 535 de 5KIR. D'autres interactions de type hydrogènes sont formé entre LC7-OH de cycles A des ligands acacétine, l'apigénine et biochanine A avec les acides aminés de poche latérale Phe518 et Gln 192. Des interactions de type -Pi sigma- est formé entre l'acide aminé Val523 et les cycle A et C des trois derniers composés.

Les interactions d'hydrogène avec la majorité de acides aminés de la poche latérale notamment : Phe518, Gln192, His 90 et Ala516 indiquent un bon positionnement et stabilisation de ligands dans le site actif. En effet le remplacement de l'isoleucine 523 dans la COX-1 par la valine 523, permet à ce dernier d'être directement impliqué dans la sélectivité des inhibiteurs spécifiques de la COX-2 (Świątek *et al.*, 2019 ; Araújo *et al.*, 2020).

Par contre le C4'-OH de cycle B de ces trois composé forme une liaisons H avec l'acide aminée Tyr385 de centre catalytique avec le composé Apigénine et avec Ser530 dans le cas de ligand acacétine. L'aspirine inactive de manière irréversible la COX-1 et la COX-2, en acétylant la sérine 530 de leur site actif, et empêche la formation de la PGG2 (Christie et Harwood, 2020). Le cycle B de biochanine A a interagit avec Arg120 par une interaction ionique (tableau 5). Ainsi plusieurs études ont montré que l'acide aminé Arg120 se lie aux groupes carboxyliques des acides gras et de nombreux AINS (Perez *et al.*, 2019 ; Smith et Malkowski, 2019 ; Xu *et al.*, 2019 ; Tziona *et al.*, 2022).

D'après ces informations on peut dire que l'interaction d'acacétine l'apigénine et la biochanine A avec le Val523 par une liaison pi-sigma suggère une inhibition sélective de la cyclooxygénase2 par rapport au cyclooxygénase 1 en même temps on peut dire que l'Acacétine a un potentiel d'appliquer une inhibition irréversible sur le COX2 similaire à celle de l'aspirine grâce à l'interaction avec l'acide aminé ser530.

Tableau 4. Résultats Docking des quelques flavonoïdes testés et une molécule de référence.

Ligands	Énergie de liaison kcal/mol	RSMD	Constante d'inhibition estimée (Ki), nM
Astilbine	-11,14	0,00	6,88
Isotrifoliin	-10,18	0,00	34,48
Acacétine	-8,82	0,00	344,62
Apigénine	-8,72	0,00	402,55
Biochanine A	-8,18	0,00	1020
Prunétine	-8,09	0,00	1180
DICLOFENAC	-7.70	0,00	2260

Cependant les composé astilbine, isotrifoliin et prunétine ont présenté les meilleures énergies de liaison vis-à-vis la protéine 5KIR ($\Delta G = -11,14 -10,18$ et -8.09 Kcal/mol) respectivement et ce qui étaient intéressent c'est que ces derniers ont fait des interactions majoritairement Hydrogènes avec les acides aminés distingue de celle de site active (tableau 5) tel que : His39, Gln42, Cys47, Arg44, Pro 153... Etc.

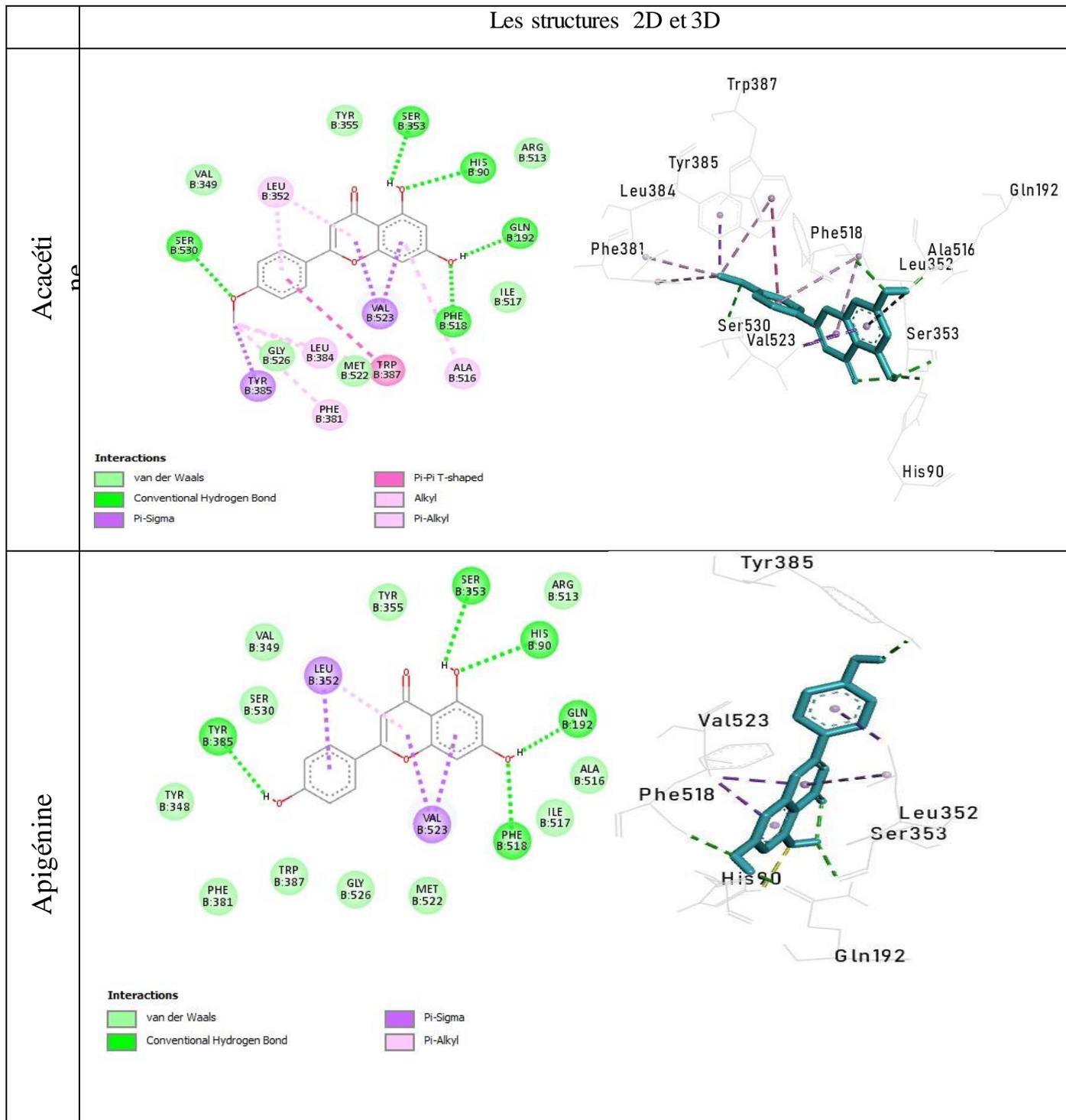
Jain et Rai (2021) ont rapporté que les sites de liaison de la protéine cyclo-oxygénase 2 (pdb : 5KIR) ont été par le serveur Meta Pocket spécialisé dans la prédiction des sites de liaison des ligands, la poche de liaison qui a été extraite et analysé, a renfermé les acides aminés de site actif plus les acides aminés avec les quelle l'astilbine, isotrifoliin et prunétine ont réagi.

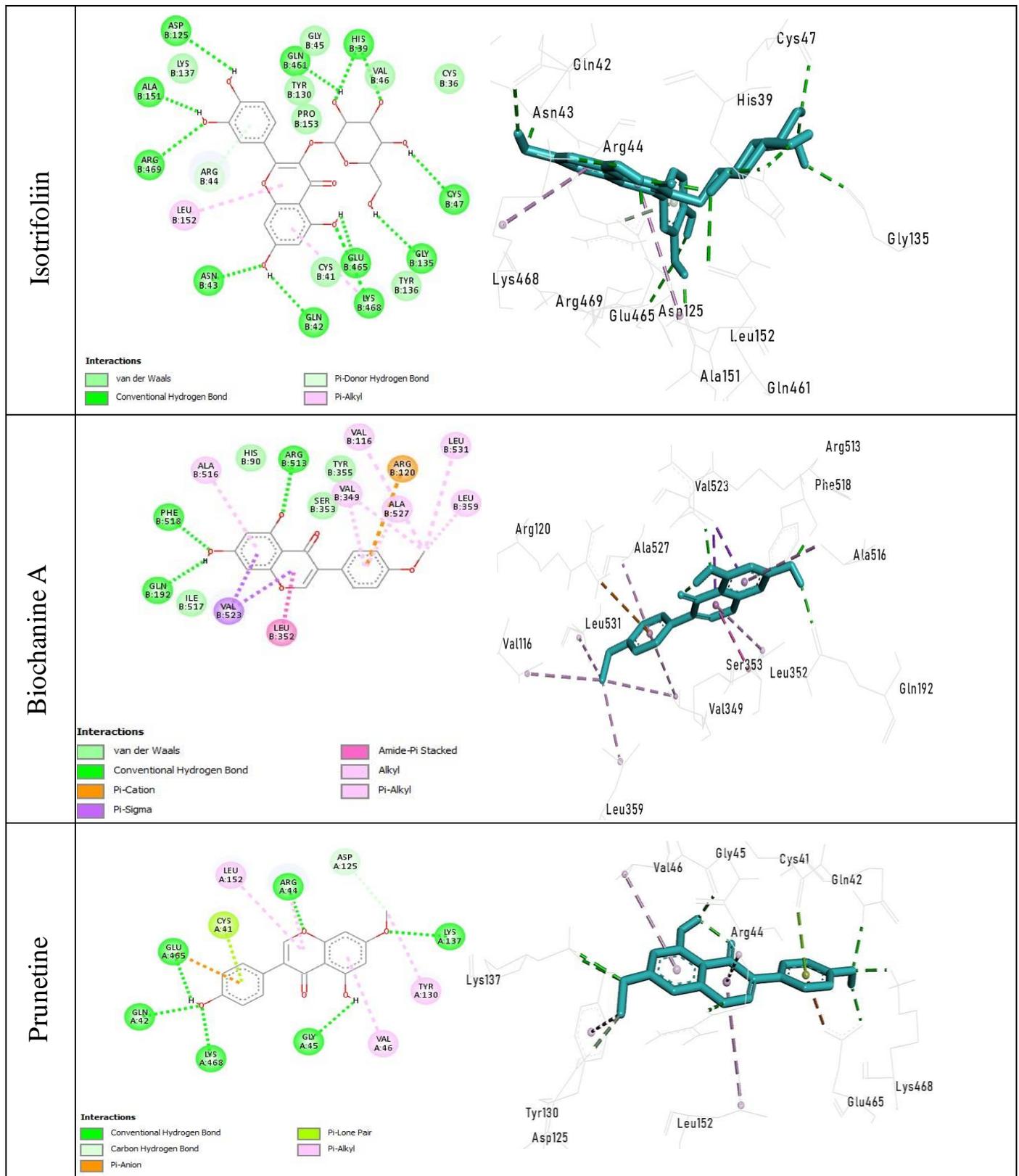
Un autre travaille *in silico* de Islam (2019) sur l'effet antipyrétique du phytol, par l'intermédiaire de la voie d'inhibition de la COX-2 dépendante du 5KIR., a montré que l'interactions du complexe PHY- 5KIR étaient avec la même orientation par des liaisons H entre phytol et les acides aminés CYS 41, ARG 44 des liaisons Alkyl avec PRO 153, CYS 47 PRO 156 CYS 36. Une autre étude sur les dérivés de phytol et l'inhibition de 5KIR a montré les mêmes interactions avec le system D-NH2-5KIR ou le ligand a interagie avec Pro153, Pr156, et Cys36 (Islam *et al.*, 2020). Les mêmes interactions ont été aussi observé avec les quelques ligands à base de pyridazine testé comme des inhibiteurs de la COX2 (Jain et Rai., 2021).

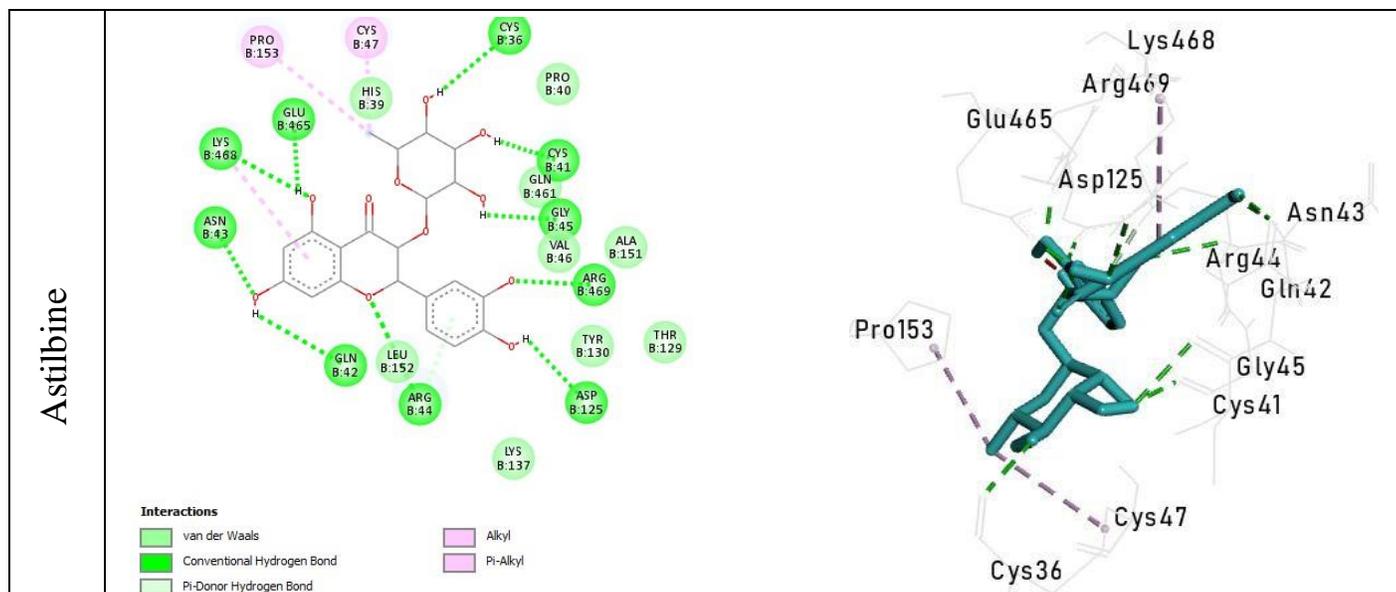
Enfin l'inhibiteurs de références Diclofénac a montré une énergie de liaison de -7.70 Kcal/mol (tableau 4) inférieure inférieure aux molécules précédentes.

Ces résultats suggèrent que les molécules : acacétine ,apigénine ,la biochanine, astilbine, isotrifoliin et prunétine sont des composés à haut potentiel d'inhibition de la cyclooxygénase

Tableau 5. Visualisation des interactions des complexes ligand-5KIR.







III. Analyse in silico des paramètres de biodisponibilité et d'ADMET des inhibiteurs de Cox2

III.1. Propriétés ADMET

Les propriétés ADMET, notamment la solubilité aqueuse, la barrière hémato-encéphalique (BHE), la liaison CYP2D6, l'absorption intestinale, l'hépatotoxicité et la liaison aux protéines plasmatiques (PBB), ont été évaluées pour les 24 molécules. Le profil pharmacocinétique de toutes les molécules étudiées a été prédit à l'aide des descripteurs ADMET dans Discovery Studio 2.5 (Accelrys, San Diego, CA, USA). Le module utilise six modèles mathématiques pour prédire quantitativement les propriétés par un ensemble de règles/clés qui spécifient les caractéristiques ADMET seuils pour la structure chimique des molécules sur la base des informations disponibles sur les médicaments (Ponnan *et al.*, 2013 ; Alam et Khan, 2014). Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau 6, accompagnés d'un bi plot illustré dans la figure 17.

L'absorption ADMET prédit l'absorption intestinale humaine (HIA) après administration orale. Les niveaux d'absorption de l'HIA et le modèle de pénétration de la BHE sont définis par des ellipses de confiance de 95 % et 99 % dans le plan ADMET PSA 2D et ADMET AlogP98 (Egan *et al.*, 2000). Ces ellipses décrivent les régions où l'on s'attend à trouver des composés bien absorbés. La prédiction de la valeur de AlogP98 peut déterminer l'hydrophile du composé. Le PSA est un autre attribut clé lié à la biodisponibilité des médicaments, car les composés ayant un PSA <140 Å² peuvent être absorbés passivement et ont donc une biodisponibilité orale élevée (Egan *et al.*, 2002). Comme le montre la figure

17, les composés apigénine, acacétine, biochanine A, curcumine, 6-gingérol, prunétine, tectorigénine, tricine et xanthohumol possèdent des niveaux de confiance de 99 % pour l'absorption intestinale humaine. Les autres composés se situent en dehors du filtre des ellipses du modèle ADMET, ce qui indique leur faible absorption intestinale et leur faible capacité de pénétration dans la BHE.

Selon le modèle, pour qu'un composé ait une perméabilité cellulaire optimale doit suivre les critères ($PSA < 140 \text{Å}^2$ et $\text{AlogP98} \leq 5$) (Egan *et al.*, 2000). Les composés apigénine, acacétine, biochanine A, runetine, curcumine et 6-gingérol sont conforme aux critères précédents (Tableau 6). Ces paramètres physicochimiques sont associés à une solubilité aqueuse et une perméabilité intestinale acceptables qui sont les premières étapes de la biodisponibilité orale.

Le tableau 6 montre que les composés apigénine, acacétine, biochanine A, prunétine, et curcumine ont des valeurs faibles de pénétration de la BHE et le composé 6-Gingérol a un niveau moyen de pénétration de la BHE. En effet la pénétration de la barrière hémato-encéphalique est critique dans le domaine pharmaceutique, car les composés qui agissent sur le système nerveux central (SNC) doivent la traverser, et les composés inactifs dans le SNC, ne doivent pas y aller afin d'éviter les effets collatéraux du SNC (Novakova *et al.*, 2014). Dans notre cas et en raison de leur rôle important dans la maladie d'Alzheimer (MA) et d'autres troubles neurodégénératifs, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) traversent efficacement la barrière hémato-encéphalique (Novakova *et al.*, 2014 ; Villarejo-Galende *et al.*, 2020 ; OYENEYİN *et al.*, 2021 ; Tampio *et al.*, 2021).

Dans ce cas, le 6-gingérol est le composé idéal pour la production d'anti-inflammatoires destinés au traitement de l'inflammation du SNC.

Tableau 6. Propriétés ADMET *in silico* des 24 composés.

Composantes	Niveau de solubilité ADMET	Niveau ADMET BHE	Prédiction ADMET CYP2D6	ADMET Prédiction hépatotoxique	Niveau d'absorption ADMET	ADMET AlogP98
Dihydromyricétine	3 (Oui,bonne)	4(non défini)	faux(non inhibiteur)	vrai (toxique)	3(Très faible absorption)	1,237
Apigénine	3	3(Faible)	faux	vrai	0(Bonne absorption)	2,41

Acacétine	3	3	faux	vrai	0	2,636
Astilbine	3	4	faux	vrai	3	0,621
Biochanin A	3	3	vrai (inhibiteur)	vrai	0	2,366
Curcumine	3	3	faux	faux (non-toxic)	0	3,554
Ériocitrine	2(Oui,faible)	4	faux	vrai	3	-0,657
6-Gingérol	3	2 (Medium)	faux	faux	0	3,638
Hespéridine	2	4	faux	vrai	3	-0,431
Isotrifoliin	3	4	faux	faux	3	-0,3
Diosminee	2	4	faux	vrai	3	-0,395
Gallate d'épicatéchine	2	4	vrai	vrai	3	3,339
Naringine	2	4	faux	faux	3	-0,415
Narirutine	2	4	faux	faux	3	-0,415
Nicotiflorine	2	4	faux	vrai	3	-0,916
Phloridzine	3	4	faux	faux	3	0,827
Prunétine	3	3	faux	vrai	0	2,366
Tectorigenin	3	3	faux	vrai	0	2,124
Théaflavine	1(trés faible,but possible)	4	faux	vrai	3	2,629
Tricine	3	3	faux	vrai	0	2,377
Vicénine-3	2	4	faux	vrai	3	-1,862
Xanthohumol	2	4	faux	vrai	0	4,816

Isoschaftoside	2	4	faux	vrai	3	-1,862
Prumine	3	4	faux	faux	3	0,444

La solubilité aqueuse joue un rôle critique dans la biodisponibilité des médicaments, les composés dihydromyricétine, apigénine, acacétine, astilbine, biochanine A, curcumine, 6-gingérol, isotrifoliin et Phloridzine ont un bon niveau de solubilité aqueuse acceptable (niveau 3).

La prédiction d'inhibition du CYP2D6 (enzyme de détoxification), la majorité de ces composés ne sont pas des inhibiteurs du CYP2D6 (tableau 6). Cela indique que tous les composés sont bien métabolisés en phase I et qu'aucun n'entraîne de toxicité grave par interaction médicamenteuse.

La liaison d'un médicament aux protéines plasmatiques a une forte influence sur son comportement pharmacodynamique et limite sa distribution corporelle aux espaces extracellulaires (Wang, N. *et al.*, 2017). Mais des rapports récents indiquent que la liaison aux protéines plasmatiques n'affecte pas nécessairement son efficacité (Smith et Kerns, 2010). La prédiction de la propriété de liaison aux protéines plasmatiques (plasma Protein binding PPB) indique que les 5 composés apigénine, acacétine, biochanine A, curcumine et 6-Gingérol sont fortement liés aux protéines porteuses dans le sang (PPB).

En effet, plusieurs études ont confirmé que les AINS se lient fortement aux protéines plasmatiques (principalement à l'albumine) (Czub *et al.*, 2020 ; Graham et scoot, 2021 ; Mohd *et al.*, 2022) de même que plusieurs AINS qui se lient fortement aux PPB sont très bien distribués dans tous les tissus (Bohnert et Gan, 2013).

III.2. Propriétés de Drug-likness

D'après le Tableau 7, les composés qui sont conformes aux règles de Lipinski et Veber (Tableau 6 et Tableau 7) sont : apigénine, acacétine, biochanine A, curcumine 6-gingérol, prunétine, tricine, tectorigenin et xanthohumol, leurs paramètres physico-chimiques sont associés avec une solubilité aqueuse et une perméabilité intestinale acceptables qui sont les premières étapes de la biodisponibilité orale.

Enfin, sur la base de l'analyse ADMET *in silico* et les propriétés Drug-likeness, il ont été constaté que les 6 composés apigénine, acacétine, biochanine A, curcumine 6-gingérol et prunétine ont des caractéristiques ADMET favorables avec une bonne solubilité aqueuse et une perméabilité intestinale acceptables (Tableau 7 et Figure 17) et peuvent atteindre la cible souhaitées et peuvent être développé comme un médicament anti-inflammatoire potentiel.

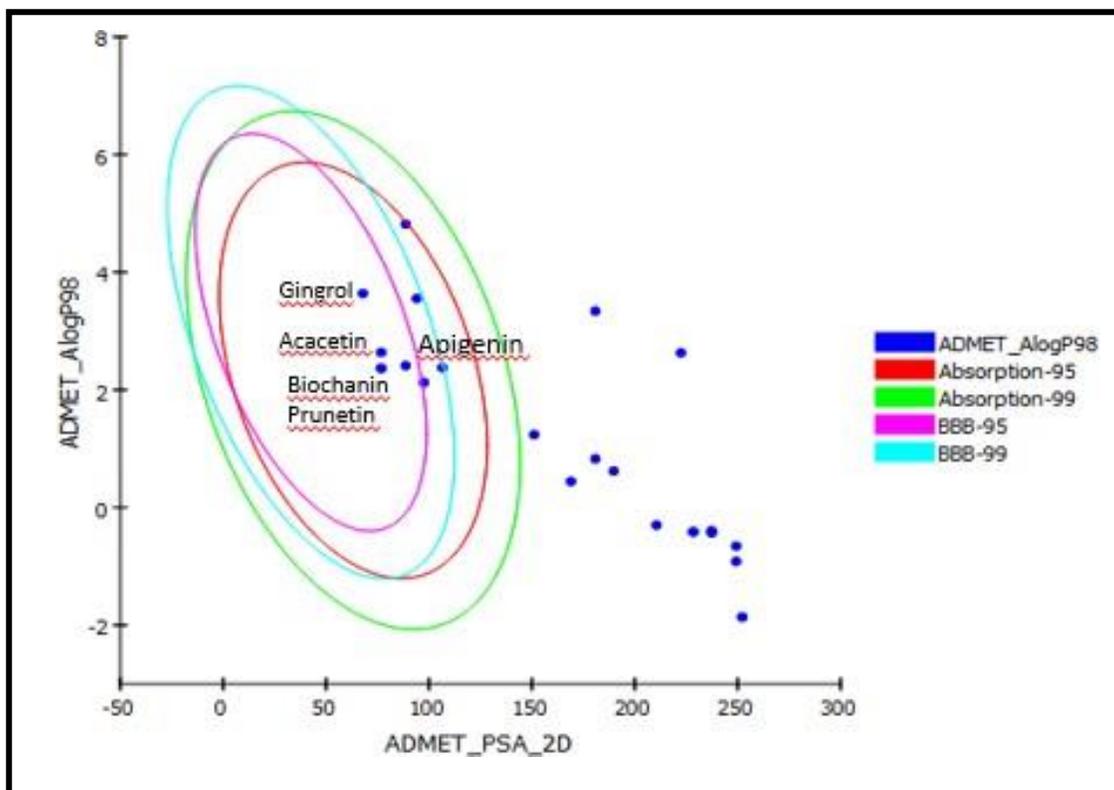


Figure 17. Prédiction de l'absorption de 24 flavonoïdes. Descripteurs ADMET de Discovery Studio 2.1 (Accelrys, San Diego, CA), surface polaire 2D (PSA 2D) en \AA^2 pour chaque composé est tracée contre leur coefficient de partage de type atomique calculé correspondant (ALogP98).

Tableau 7. Les propriétés de Drug-likeness.

Composantes	Pkcsm - pharmacokinetics				
	HBD<5	HBA <10	Log P <5	MW <500	RBN <10
Tricine	3	7	2,594	330,292	3
Prunine	6	10	-0,017	434,397	4
Apigénine	3	5	2,5768	270,24	1
Xanthohumol	3	5	4,2168	354,402	6
Gallate d'épicatechine (ECG)	7	10	2,5276	442,376	3
Curcumine	2	6	3,3699	368,385	8
Dihydromyricétine	6	8	0,8919	320,253	1
Hespéridine	8	15	1,1566	610,565	7
Isoschaftoside	10	14	1,7543	564,496	4
Astilbine	7	11	0,0381	450,396	3
Vicine-3	10	14	1,7543	564,496	4
Ériocitrine	9	15	1,4596	596,538	6
6-Gingérol	2	4	3,2338	294,391	10
Tectorigenin	3	6	2,5854	300,266	2
Phloridzine	7	10	0,2024	436,413	7
Naringine	8	14	1,1652	580,539	6
Nicotiflorine	9	15	1,3927	594,522	6
Acacétine	2	5	2,8798	284,267	2
Isotrifoliin	8	12	0,5389	464,379	4
Biochanine A	2	5	2,8798	284,267	2
Prunétine	2	5	2,8798	284,267	2
Narirutine	8	14	1,1652	580,539	6
Théaflavine	9	12	2,2134	564,499	2
Diosmine	8	15	1,0897	608,549	7

HBD: Donneur de liaison hydrogène, **HBA:** Accepteur de liaison hydrogène, **RBN:** Nombre de liaisons rotatives.

Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour but d'évaluer le potentiel d'inhibition de molécules naturelles sur un enzyme via le docking moléculaire qui permet de modéliser et de mieux appréhender les interactions entre les enzymes et les inhibiteurs.

Pour ce but, nous avons tenté une simulation des interactions de 24 flavonoïdes extrait à partir de la plante *Citrus reticulata* Blanco (mandarine) avec une cible enzymatique fortement impliquées dans divers troubles tel que l'inflammatoires cardiovasculaires : la cyclooxygénase-2 (COX2).

Au préalable, nous avons évalué la fiabilité de programme « Autodock4 », en faisant appel au test RMSD (root-mean-square dérivation) et un test de corrélation. Nous avons appliqué le teste RMSD sur 20 complexes disponibles dans la PDB dont leur résolution inférieure à 2 Å. 80 % de ces complexes ont un RMSD >2Å, d'autre part le teste de régression linéaire a montré un coefficient de corrélation de 0.64. Ces résultats assurent la fiabilité de programme Autdock4 à simuler les interactions de complexes COX2-flavonoïdes.

Dans un deuxième temps, nous avons réalisé un criblage virtuel « docking moléculaire) via l'Autodock4 sur 24 composés de flavonoïdes naturelle, ce que nous a parmi de sélectionner certains composés avec une bonne affinité que l'inhibiteur Diclofenac de référence. Les trois molécules Acacétine Apigénine et Biochanine A ont une énergie de liaison variée entre -9,47 et -8,09. Ces ligands forment des complexes stables avec la cible COX2 au sein de site actif de 5KIR, suggérant une inhibition sélective de ce dernier par des liaisons hydrogènes avec les acides aminés tell que : Val523, Arg120, Phe518, Ser530, Tyr385, et His90. Bien que les résultats du docking aient révélé que les trois composés astilbine, isotrifoliin et prunétine se présentent comme des inhibiteurs puissants de COX2 (PDB : 5KIR) en raison de leur énergie de liaison élevée de -11,14, -10,18 et -8,09 Kcal/mol respectivement, ce qui est remarquable est qu'ils ont interagi avec 5KIR au sien d'un nouveau site de liaison par des laissons majoritairement hydrogènes avec d'autres acides aminés tels que : Cys39, Cys41, Arg44, Pro153 et Pr156.

Enfin, l'application de la règle de Lipinski et l'évaluation de profile ADMET des 24 flavonoïdes, nous a montré que les quatre composés apigénine, acacétine, biochanine A et prunétine ont des caractéristiques ADMET favorables avec une bonne solubilité aqueuse et une perméabilité intestinale acceptables et peuvent se présenter comme des nouveaux inhibiteurs de COX-2 et développé comme un médicament anti-inflammatoires potentiel.

Il conviendrait dans le prolongement de ces résultats, il serait prudent d'étudier l'activité des structures nouvellement proposées en utilisant d'autres outils de docking et systèmes de score, car il ne s'agit que d'une étude préliminaire. Les résultats théoriques acquis *in silico* devront ensuite être confirmés dans une recherche expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo*.

De telles expériences viseront à proposer de nouveaux inhibiteurs de la cyclooxygénase-2 à la chimie de synthèse, permettant ainsi de poursuivre cet effort de manière plus pratique et industriel

Bibliographie

Abbassi, L., & TOUIL, H. 2019. Contribution à l'étude phytochimique de feuilles de *Pergularia tomentosa* L. dans la région d'El-Oued.

Abedini, A. 2013. Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit.(Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).

Aguinaldo, R. M. G., Castillo, S. M. J., Emlan, J. K., Gomez, A. C. G., Crisostomo, A. B. C., & de Grano, R. V. R. 2022. In silico evaluation of caffeic acid from coconut (*Cocos nucifera* L.) husks as a potential inhibitor of the human factor Xa. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(3), 01-06.

Ahmed, E. M., Kassab, A. E., El-Malah, A. A., & Hassan, M. S. 2019. Synthesis and biological evaluation of pyridazinone derivatives as selective COX-2 inhibitors and potential anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 171, 25-37.

Alam, S., & Khan, F. 2014. QSAR and docking studies on xanthone derivatives for anticancer activity targeting DNA topoisomerase II α . *Drug design, development and therapy*, 8, 183.

Araújo, P. H., Ramos, R. S., da Cruz, J. N., Silva, S. G., Ferreira, E. F., de Lima, L. R., ... & Santos, C. B. 2020. Identification of potential COX-2 inhibitors for the treatment of inflammatory diseases using molecular modeling approaches. *Molecules*, 25(18), 4183.

Bajaj, S., Fuloria, S., Subramaniyan, V., Meenakshi, D. U., Wakode, S., Kaur, A., ... & Fuloria, N. K. 2021. Chemical Characterization and Anti-Inflammatory Activity of Phytoconstituents from *Swertia alata*. *Plants*, 10(6), 1109.

Bannigan, P., Aldeghi, M., Bao, Z., Häse, F., Aspuru-Guzik, A., & Allen, C. 2021. Machine learning directed drug formulation development. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 175, 113806.

Barril, X., & Soliva, R. 2006. Molecular Modelling. *Molecular Biosystems*, 2(12), 660-681.

BenSADDIK, K.Z., & Ben Seddik, M. O. 2021. L'effet de méthode d'extraction sur la production d'huiles essentielles à partir de *citrus aurantium* (région de Ghardaïa) (Doctoral dissertation).

Bendib S., Manaa H. 2021. Docking moléculaire : Quercétine – SARS-CoV2. Mémoire de Master, Constantine1 Mentouri Frères Université.

Bohnert, T., & Gan, L. S. 2013. Plasma protein binding: from discovery to development. *Journal of pharmaceutical sciences*, 102(9), 2953-2994.

Boudaoud, M., & Noui, M. I. 2021. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne de graines de *Citrus reticulata* et d'écorce de *Citrus sinensis* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).

Boudjida, L., & Halit-Sahnoun, R. 2017. Intérêt de l'électrophorèse capillaire dans le diagnostic du syndrome inflammatoire (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Boudjiza M., Regad A. 2019. Etude comparative de l'efficacité de deux programmes de docking et application à l'inhibition de la MAOB. Mémoire de Master, Université Frères Mentouri Constantine 1.

Boukia S., Bessa C. 2021. Identification de nouveaux inhibiteurs potentiels de la protéine non structurale NSP 13 du SARS-CoV-2 : Etude in silico. Mémoire de Master, Université Frères Mentouri Constantine 1, Constantine.

Boussouf, R., Mena, C., & Boudjouref, M. 2020. Etude des activités biologiques de la plante médicinale *Pituranthus chloranthus* « Guzzah ».

Butina, D., Segall, M. D., & Frankcombe, K. 2002. Predicting ADME properties in silico: methods and models. *Drug discovery today*, 7(11), S83-S88.

Cerella, C., Sobolewski, C., Dicato, M., & Diederich, M. 2010. Targeting COX-2 expression by natural compounds: a promising alternative strategy to synthetic COX-2 inhibitors for cancer chemoprevention and therapy. *Biochemical pharmacology*, 80(12), 1801-1815.

Chakraborti, A. K., Garg, S. K., Kumar, R., Motiwala, H. F., & Jadhavar, P. S. 2010. Progress in COX-2 inhibitors: a journey so far. *Current medicinal chemistry*, 17(15), 1563–1593.

Chenini, A., & Boumegoua, W. 2020. Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits de l'espèce *Ephedra alata*.

Christie, W. W., & Harwood, J. L. 2020. Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators. *Essays in biochemistry*, 64(3), 401-421.

Cox, P. B., & Gupta, R. 2022. Contemporary Computational Applications and Tools in Drug Discovery. *ACS Medicinal Chemistry Letters*.

Czub, M. P., Handing, K. B., Venkataramany, B. S., Cooper, D. R., Shabalin, I. G., & Minor, W. 2020. Albumin-based transport of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in mammalian blood plasma. *Journal of medicinal chemistry*, 63(13), 6847-6862.

Danielewski, M., Zielińska, S., Matuszewska, A., Słupski, W., Włodarczyk, M., Jęskowiak, I. ... & Nowak, B. 2022. Sanguinarine-Chelerythrine Fraction of *Coptis chinensis* Exerts Anti-inflammatory Activity in Carrageenan Paw Oedema Test in Rats and Reveals Reduced Gastrotoxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

Das Chagas Pereira de Andrade, F., & Mendes, A. N. 2020. Computational analysis of eugenol inhibitory activity in lipoxygenase and cyclooxygenase pathways. *Scientific reports*, 10(1), 1-14.

Dias, R., Timmers, L. F. S. M., & Caceres, R. A. De Azevedo Jr., WF .2008. *Curr. Drug Targets*, 9(12), 1040-1047.

Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. 2018. Biological activities and safety of *Citrus* spp. essential oils. *International journal of molecular sciences*, 19(7), 1966.

Egan, W. J., & Lauri, G. 2002. Prediction of intestinal permeability. *Advanced drug delivery reviews*, 54(3), 273-289.

Egan, W. J., Merz, K. M., & Baldwin, J. J. 2000. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *Journal of medicinal chemistry*, 43(21), 3867-3877.

Elkali, Mohamed. Benathmane, Fouad. & Salmouni, Khaled. 2021. Screening Phytochimique et biologique des flavonoïdes. Mémoire de Master, Université Mohamed Boudiaf-M'sila.

Emon, N. U., Alam, S., Rudra, S., Al Haidar, I. K., Farhad, M., Rana, M. E. H., & Ganguly, A. 2021. Antipyretic activity of *Caesalpinia digyna* (Rottl.) leaves extract along with phytoconstituent's binding affinity to COX-1, COX-2, and mPGES-1 receptors: in vivo and in silico approaches. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 5302-5309.

Fanelli, A., Ghisi, D., Aprile, P. L., & Lapi, F. 2017. Cardiovascular and cerebrovascular risk with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase 2 inhibitors: latest evidence and clinical implications. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 8(6), 173-182.

Ferrer, M. D., Busquets-Cortés, C., Capo, X., Tejada, S., Tur, J. A., Pons, A., & Sureda, A. 2019. Cyclooxygenase-2 inhibitors as a therapeutic target in inflammatory diseases. *Current medicinal chemistry*, 26(18), 3225-3241.

Forli, S., & Olson, A. J. 2012. A force field with discrete displaceable waters and desolvation entropy for hydrated ligand docking. *Journal of medicinal chemistry*, 55(2), 623-638.

Fu, W., Chen, L., Chen, H., Chen, S., & Liu, Y. 2019. Analysis of flavonoid metabolites in citrus peels (*Citrus reticulata* “Dahongpao”) using UPLC-ESI-MS/MS. *Molecules*, 24(15), 2680.

Ganti, A. 2020. Correlation coefficient. *Corp. Financ. Account*, 9, 145-152.

Ghadhab E., Soufi M. 2020. Application du Docking moléculaire par SURFLEX Pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la Kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2). Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine1.

Gil, C., & Martinez, A. 2021. Is drug repurposing really the future of drug discovery or is new innovation truly the way forward?. *Expert opinion on drug discovery*, 16(8), 829-831.

Graham, G. G., & Scott, K. F. 2021. Limitations of drug concentrations used in cell culture studies for understanding clinical responses of NSAIDs. *Inflammopharmacology*, 29(5), 1261-1278.

Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. 2012. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of cheminformatics*, 4(1), 1-17.

Hernández-Santoyo, A., Tenorio-Barajas, A. Y., Altuzar, V., Vivanco-Cid, H., & Mendoza-Barrera, C. 2013. Protein-protein and protein-ligand docking. *Protein engineering-technology and application*, 63-81.

Ibrahim, M. A., Abdelrahman, A. H., & Hassan, A. M. 2019. Identification of novel Plasmodium falciparum PI4KB inhibitors as potential anti-malarial drugs: Homology modeling, molecular docking and molecular dynamics simulations. *Computational biology and chemistry*, 80, 79-89.

Islam, M. T. 2019. Antipyretic effect of phytol, possibly via 5KIR-dependent COX-2 inhibition pathway. *Inflammopharmacology*, 27(4), 857-862.

Islam, M. T., Ray, P., Khalipha, A. B. R., Hafiz Hassan, S., Khan, M. R., & Rouf, R. 2020. Molecular docking study of the phytol and its derivatives against COX-2 induced inflammation: A combined density functional study. *Recent Research in Science and Technology*, 12(1), 1–5.

Jahnavi, K., Reddy, P. P., Vasudha, B., & Narender, B. 2019. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: an overview. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(1-s), 442-448.

Jain, M. M., & Rai, G. 2021. A novel formulation with potential for improving osteoarthritis mediated through COX2 and MMP9 receptors. *International Journal of Computational Biology and Drug Design*, 14(4), 237-250.

Jan, M. S., Ahmad, S., Hussain, F., Ahmad, A., Mahmood, F., Rashid, U., & Sadiq, A. 2020. Design, synthesis, in-vitro, in-vivo and in-silico studies of pyrrolidine-2, 5-dione derivatives as multitarget anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 186, 111863.

Jucá, M. M., Cysne Filho, F. M. S., de Almeida, J. C., Mesquita, D. D. S., Barriga, J. R. D. M., Dias, K. C. F., ... & Vasconcelos, S. M. M. 2020. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. *Natural product research*, 34(5), 692-705.

Karak, P. 2019. Biological activities of flavonoids: an overview. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10(4), 1567-1574.

Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., ... & Bryant, S. H. 2016. PubChem substance and compound databases. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1202-D1213.

Kirchmair, J., Markt, P., Distinto, S., Wolber, G., & Langer, T. 2008. Evaluation of the performance of 3D virtual screening protocols: RMSD comparisons, enrichment assessments, and decoy selection—what can we learn from earlier mistakes?. *Journal of computer-aided molecular design*, 22(3), 213-228.

Kiriiri, G. K., Njogu, P. M., & Mwangi, A. N. 2020. Exploring different approaches to improve the success of drug discovery and development projects: a review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 1-12.

Kribaa Khedidja, N. S. 2021. Etude des différentes modes d'interactions entre la monoamine oxydase B et une nouvelle série des molécules: Approche de Docking/dynamique moléculaire et ADME. Mémoire de Master, Université Mohamed Khider de Biskra.

Ledesma-Escobar, C. A., Priego-Capote, F., & Luque de Castro, M. D. 2016. Comparative study of the effect of sample pretreatment and extraction on the determination of flavonoids from lemon (*Citrus limon*). *PloS one*, 11(1), e0148056.

Leonhart, P. F., Spieler, E., Ligabue-Braun, R., & Dorn, M. 2019. A biased random key genetic algorithm for the protein–ligand docking problem. *Soft Computing*, 23(12), 4155-4176.

Lin, X., Li, X., & Lin, X. 2020. A review on applications of computational methods in drug screening and design. *Molecules*, 25(6), 1375.

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.

Lokesh, R., & Kannabiran, K. 2016. A handbook on protein-ligand docking tool: AutoDock 4. *Innovare Journal of Medical Sciences*, 28-33.

Madyawati, L., Muhaimin, M., Amanda, H., Prahandika, G., & Tarigan, I. L. 2020. Anti-inflammatory activities of squalene compound of methanol extract of *Abroma augusta* L. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 9(2), 176-185.

Mahboubi Rabbani, S. M. I., & Zarghi, A. 2019. Selective COX-2 inhibitors as anticancer agents: a patent review (2014-2018). *Expert opinion on therapeutic patents*, 29(6), 407-427.

Maia, E. H. B., Assis, L. C., De Oliveira, T. A., Da Silva, A. M., & Taranto, A. G. 2020. Structure-based virtual screening: from classical to artificial intelligence. *Frontiers in chemistry*, 8, 343.

Majchrzak-Celińska, A., Misiolek, J. O., Kruhlenia, N., Przybył, L., Kleszcz, R., Rolle, K., & Krajka-Kuźniak, V. 2021. COXIBs and 2, 5-dimethylcelecoxib counteract the hyperactivated Wnt/ β -catenin pathway and COX-2/PGE2/EP4 signaling in glioblastoma cells. *BMC cancer*, 21(1), 1-18.

Makhloufi K., Lazreg I. 2019. Conception in silico de nouveaux composés Anticancéreux. Mémoire de Master, Université Mohamed Khider de Biskra.

Mansouri D., Yousra, C., & Abdelkrim, H. 2021. Etude phytochimique et évaluation de l'activité biologique des extraits des feuilles de la plante *malva sylvestris* L. Mémoire de Master. Université Larbi Ben M'hidi (Oum EL Bouaghi).

Marzolf, D. R., Seffernick, J. T., & Lindert, S. 2021. Protein structure prediction from NMR hydrogen–deuterium exchange data. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 17(4), 2619-2629.

Mechiki, I., LAÂLA, I., & Bouguerra, I. 2019. Etude Phytochimique et Extraction des huiles essentielles de l'espèce *Salvia Aegyptiaca*. Mémoire de Master, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila.

Mohan, V., Gibbs, A. C., Cummings, M. D., Jaeger, E. P., & DesJarlais, R. L. 2005. Docking successes and challenges. *Current pharmaceutical design*, 11(3), 323-333.

Mohd A.S., Rehman, M. T., Al-Lohedan, H., & AlAjmi, M. F. 2022. Spectroscopic and Molecular Docking Investigation on the Interaction of Cumin Components with Plasma Protein: Assessment of the Comparative Interactions of Aldehyde and Alcohol with Human Serum Albumin. *International journal of molecular sciences*, 23(8), 4078.

Monteiro, C., Silvestre, S., Duarte, A. P., & Alves, G. 2022. Safety of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in the Elderly: An Analysis of Published Literature and Reports Sent to the Portuguese Pharmacovigilance System. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(6), 3541.

MusterD. 2005 -Médicaments de l'inflammation. Edition Elsevier. p 21-29.

Nasef, N. A., Mehta, S., & Ferguson, L. R. 2017. Susceptibility to chronic inflammation: an update. *Archives of Toxicology*, 91(3), 1131-114.

Novakova, I., Subileau, E. A., Toegel, S., Gruber, D., Lachmann, B., Urban, E., Chesne, C., Noe, C. R., & Neuhaus, W. 2014. Transport rankings of non-steroidal antiinflammatory drugs across blood-brain barrier in vitro models. *PloS one*, 9(1), e86806.

Nuhrich, Alain. 2015. UFR des sciences pharmaceutiques, université de Bordeaux.

OYENEYİN, O., IPINLOJU, N., Nathanael, O. J. O., & AKERELE, D. 2021. Structural Modification of Ibuprofen as new NSAIDs via DFT, Molecular Docking and Pharmacokinetics Studies. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 33(4), 614-626.

Pansanel, J. 2013, May 16. Avogadro: Fiche Logiciel Validé plume. Accueil. Retrieved May 1, 2022, from <https://www.projet-plume.org/fiche/avogadro>.

Perez, Y. R., Alvarez, D., & Combariza, A. 2019. Ligand-Protein Interactions: A Hybrid ab initio/Molecular Mechanics Computational Study.

Ponnan, P., Gupta, S., Chopra, M., Tandon, R., Baghel, A. S., Gupta, G., ... & Raj, H. G. 2013. 2D-QSAR, docking studies, and in silico ADMET prediction of polyphenolic acetates as substrates for protein acetyltransferase function of glutamine synthetase of Mycobacterium tuberculosis. International Scholarly Research Notices.

Radan, M., Bošković, J., Dobričić, V., Čudina, O., & Nikolić, K. 2021. Current computer-aided drug design methodologies in discovery of novel drug candidates for neuropsychiatric and inflammatory diseases. Arhiv za farmaciju, 71(4), 225-256.

Rao, P. P., Kabir, S. N., & Mohamed, T. 2010. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): progress in small molecule drug development. Pharmaceuticals, 3(5), 1530-1549.

Rayan, B., & Rayan, A. 2017. Avogadro program for chemistry education: To what extent can molecular visualization and three-dimensional simulations enhance meaningful chemistry learning? World Journal of Chemical Education, 5(4), 136-141.

Reker, D. 2019. Practical considerations for active machine learning in drug discovery. Drug Discovery Today: Technologies, 32, 73-79.

Ripon, M. A. R., Bhowmik, D. R., Amin, M. T., & Hossain, M. S. 2021. Role of arachidonic cascade in COVID-19 infection: A review. Prostaglandins & Other Lipid Mediators, 154, 106539.

Rohleder, N. 2019. Stress and inflammation—The need to address the gap in the transition between acute and chronic stress effects. Psych neuroendocrinology, 105, 164-171.

Rouzer, C. A., & Marnett, L. J. 2009. Cyclooxygenases: structural and functional insights. Journal of lipid research, 50, S29-S34.

Rüger, C. P., Tiemann, O., Neumann, A., Streibel, T., & Zimmermann, R. 2021. Review on Evolved Gas Analysis Mass Spectrometry with Soft Photoionization for the Chemical Description of Petroleum, Petroleum-Derived Materials, and Alternative Feedstocks. Energy & Fuels, 35(22), 18308-18332.

Sağlık, B. N., Osmaniye, D., Levent, S., Çevik, U. A., Çavuşoğlu, B. K., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. 2021. Design, synthesis and biological assessment of new selective COX-2 inhibitors including methyl sulfonyl moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112918.

Sene, M., Ndiaye, M., Barboza, F. S., Sene, M., Diatta, W., Sarr, A., & Sy, G. Y. 2016. Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq. (ARECACEAE) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(6), 2568-2574.

Shah, S. A. A., Bungau, S., Si, Y., Xu, H., Rahman, M., Behl, T., ... & Nemeth, S. 2020. Chemically diverse and biologically active secondary metabolites from marine Phylum chlorophyta. *Marine Drugs*, 18(10), 493.

Shamsudin Khan, Y. 2017. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Cyclooxygenases 1 and 2: Binding modes and mechanisms from computational methods and free energy calculations (Doctoral dissertation, Acta Universitatis Upsaliensis).

Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Ali Shah, S. A., Khatib, A., Mukhtar, S., & Zakaria, Z. A. 2022. Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation. *Molecules*, 27(4), 1149.

Shu, B., Wu, G., Wang, Z., Wang, J., Huang, F., Dong, L., ... & Su, D. 2020. The effect of microwave vacuum drying process on citrus: drying kinetics, physicochemical composition and antioxidant activity of dried citrus (*Citrus reticulata* Blanco) peel. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(5), 2443-2452.

Smith, D. A., Di, L., & Kerns, E. H. 2010. The effect of plasma protein binding on in vivo efficacy: misconceptions in drug discovery. *Nature reviews Drug discovery*, 9(12), 929-939.

Smith, F. G., Wade, A. W., Lewis, M. L., & Qi, W. 2012. Cyclooxygenase (COX) inhibitors and the newborn kidney. *Pharmaceuticals*, 5(11), 1160-1176.

Smith, W. L., & Malkowski, M. G. 2019. Interactions of fatty acids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and coxibs with the catalytic and allosteric subunits of cyclooxygenases-1 and-2. *Journal of Biological Chemistry*, 294(5), 1697-1705.

Stachowicz, K. 2021. Application potential of modulation of cyclooxygenase-2 activity: a cognitive approach. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 75(1), 837-846.

Stone, W. L., Basit, H., & Burns, B. 2021. Pathology, inflammation. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.

Świątek, P., Gębczak, K., Gębarowski, T., & Urniaz, R. 2019. Biological evaluation and molecular docking studies of dimethylpyridine derivatives. *Molecules*, 24(6), 1093.

Tabti, K., Elmchichi, L., Sbai, A., Maghat, H., Bouachrine, M., Lakhlifi, T., & Ghosh, A. 2022. In silico design of novel PIN1 inhibitors by combined of 3D-QSAR, molecular docking, molecular dynamic simulation and ADMET studies. *Journal of Molecular Structure*, 1253, 132291.

Tahsin, T., Wansi, J. D., Al-Groshi, A., Evans, A., Nahar, L., Martin, C., & Sarker, S. D. 2017. Cytotoxic properties of the stem bark of *Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae). *Phytotherapy Research*, 31(8), 1215-1219.

Taj, M., Mathur, Y., & Hassan, M. I. 2021. InstaDock: A single-click graphical user interface for molecular docking-based virtual high-throughput screening. *Briefings in Bioinformatics*, 22(4), bbaa279.

Tampio, J., Löffler, S., Guillon, M., Hügele, A., Huttunen, J., & Huttunen, K. M. 2021. Improved L-Type amino acid transporter 1 (LAT1)-mediated delivery of anti-inflammatory drugs into astrocytes and microglia with reduced prostaglandin production. *International Journal of Pharmaceutics*, 601, 120565.

Tangyuenyongwatana, P., & Jongkon, N. 2016. Molecular docking study of tyrosinase inhibitors using ArgusLab 4.0.1: A comparative study. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences (TJPS)*, 40(1).

Tao, X., Huang, Y., Wang, C., Chen, F., Yang, L., Ling, L., ... & Chen, X. 2020. Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 33-45.

Thakur, A. 2022. Drugs in Head and Neck Surgery. In *Operative Surgery for Head and Neck Tumours* (pp. 20-30). CRC Press.

Tziona, P., Theodosis-Nobelos, P., Papagiouvannis, G., Petrou, A., Drouza, C., & Rekka, E. A. 2022. Enhancement of the Anti-Inflammatory Activity of NSAIDs by Their Conjugation with 3, 4, 5-Trimethoxybenzyl Alcohol. *Molecules*, 27(7), 2104.

Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. 2002. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12), 2615-2623.

Villarejo-Galende, A., González-Sánchez, M., Blanco-Palmero, V. A., Llamas-Velasco, S., & Benito-León, J. 2020. Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs as Candidates for the Prevention or Treatment of Alzheimer's Disease: Do they Still Have a Role?. *Current Alzheimer Research*, 17(11), 1013-1022.

Wang, N. N., Deng, Z. K., Huang, C., Dong, J., Zhu, M. F., Yao, Z. J., ... & Cao, D. S. 2017. ADME properties evaluation in drug discovery: Prediction of plasma protein binding using NSGA-II combining PLS and consensus modeling. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 170, 84-95.

Wang, Y., Qian, J., Cao, J., Wang, D., Liu, C., Yang, R., & Sun, C. 2017. Antioxidant capacity, anticancer ability and flavonoids composition of 35 citrus (*Citrus reticulata* Blanco) varieties. *Molecules*, 22(7), 1114.

Xiao, L., & Harrison, D. G. 2020. Inflammation in Hypertension. *The Canadian journal of cardiology*, 36(5), 635–647. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.01.013>.

Xu, S., Uddin, M. J., Banerjee, S., Duggan, K., Musee, J., Kiefer, J. R., ... & Marnett, L. J. 2019. Fluorescent indomethacin-dansyl conjugates utilize the membrane-binding domain of cyclooxygenase-2 to block the opening to the active site. *Journal of Biological Chemistry*, 294(22), 8690-8698.

Zerroug, E. 2020. Analyse in silico de plusieurs séries de pharmacomolécules hétérocycliques appliquée à la conception de médicaments. Thèse de doctorat d'état, Université Mohamed Khider – BISKRA.

Zhang, T. Y., Li, S., Zhu, Q. F., Wang, Q., Hussain, D., & Feng, Y. Q. 2019. Derivatization for liquid chromatography-electrospray ionization- mass spectrometry analysis of small-molecular weight compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 119, 115608.

Zhao, H., Wu, L., Yan, G., Chen, Y., Zhou, M., Wu, Y., & Li, Y. 2021. Inflammation and tumor progression: Signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 1-46.

Zimdahl Kahlin, A., Helander, S., Wennerstrand, P., Vikingsson, S., Mårtensson, L. G., & Appell, M. L. 2021. Pharmacogenetic studies of thiopurine methyltransferase genotype-phenotype concordance and effect of methotrexate on thiopurine metabolism. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 128(1), 52-65.

Annexes

Annexe N°1. Propriétés ADMET *in silico* des 24 composés.

Composants	Niveau de solubilité ADMET	Niveau ADMET BHE	Prédiction ADMET CYP2D6	ADMET Prédiction hépatotoxique	Niveau d'absorption ADMET	Prédiction ADMET PPB	ADMET AlogP98	ADMET PSA_2D
Dihydromyricétine	3(Oui, bonne)	4(non défini)	faux(non inhibiteur)	vrai (toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	1,237	151,123
Apigénine	3(Oui, bonne)	3(Faible)	faux(non inhibiteur)	vrai (toxic)	0(Bonne absorption)	vrai (highly bounded)	2,41	88,677
Acacétine	3(Oui, bonne)	3(Faible)	faux(non inhibiteur)	vrai (toxic)	0(Bonne absorption)	vrai (highly bounded)	2,636	76,791
Astilbine	3(Oui, bonne)	4(non défini)	faux(non inhibiteur)	vrai (toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	0,621	189,799
Biochanine A	3(Oui, bonne)	3(Faible)	vrai (inhibiteur)	vrai (toxic)	0(Bonne absorption)	vrai (highly bounded)	2,366	76,791
Curcumine	3(Oui, bonne)	3(Faible)	faux (non inhibiteur)	faux (non-toxic)	0(Bonne absorption)	vrai (highly bounded)	3,554	94,092
Ériocitrine	2(Oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-0,657	249,29
6-Gingérol	3(Oui, bonne)	2 (Medium)	faux (non inhibiteur)	faux (non-toxic)	0(Bonne absorption)	vrai (highly bounded)	3,638	67,861
Hespéridine	2(Oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-0,431	237,405
Isotrifoliin	3(Oui, bonne)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	faux (non-toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-0,3	210,615
Diosmine	2(oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	vrai(toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-0,395	237,405
Gallate d'épicatéchine	2(oui,faible)	4(non défini)	vrai (inhibiteur)	vrai(toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	3,339	180,869

Naringine	2(oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	faux (non-toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-0,415	228,475
Narirutine	2(oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	faux (non-toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-0,415	228,475
Nicotiflorine	2(oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-0,916	249,29
Phloridzine	3(Oui, bonne)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	faux (non-toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	0,827	180,869
Prunétine	3(Oui, bonne)	3(Faible)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	0(Bonne absorption)	faux (poorly bounded)	2,366	76,791
Tectorigénine	3(Oui, bonne)	3(Faible)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	0(Bonne absorption)	faux (poorly bounded)	2,124	97,607
Théaflavine	1(trés faible, but possible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	2,629	222,5
Tricine	3(Oui, bonne)	3(Faible)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	0(Bonne absorption)	vrai (highly bounded)	2,377	106,537
Vicenine-3	2(Oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-1,862	252,246
Xanthohumol	2(Oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	0(Bonne absorption)	vrai (highly bounded)	4,816	88,677
Isoschaftoside	2(Oui,faible)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	vrai (toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	-1,862	252,246
Prunine	3(Oui, bonne)	4(non défini)	faux (non inhibiteur)	faux (non-toxic)	3(Trés faible absorption)	faux (poorly bounded)	0,444	168,984

ملخص

تعتبر الأمراض الالتهابية مشكلة علاجية شائعة. لأن التثبيط الانتقائي لإنزيمات الأكسدة الحلقية 2 يمنع تصنيع البروستاجلاندين احد العناصر الفعالة في عملية الالتهاب، يخصص هذا العمل لدراسة التفاعلات الجزيئية بين سيكلوأكسجيناز 2 والفلافونويد الطبيعي المستخرج من نبات *Citrus Reticulata* عبر الارساء الجزيئي باستخدام **Autodock4** حيث أظهرت النتائج أن Acacétine و apigénine و Biochanine A عبروا عن طاقة ارتباط عالي؛ ($\Delta G = -8.82$, -8.18 و 8.72 Kcal/ mol) - داخل الموقع الفعال لبروتين COX2. كما شكل ال Prunetine مركباً انزيمي مستقراً بالتفاعل مع أحماض أمينية من موقع ربط آخر في COX2 مختلف عن الموقع النشط. أظهر تحليل **ADMET in silico** أن المركبات السابقة تحمل خصائص ADMET الأمثل وتوافر حيوي جيد عن طريق الفم. يمكن اقتراح هذه الجزيئات كمثبطات محتملة جديدة. **الكلمات المفتاحية:** سيكلوأكسجيناز , الالتهاب، الارساء الجزيئي، لفلافونويد، **Autodock4** , **ADMET**.

Résumé

Les maladies inflammatoires constitue un problème thérapeutique courant. Sachant que l'inhibition sélective de la cyclooxygénase 2 empêche la synthèse des prostaglandines, qui sont des médiateurs de l'**inflammation**, Ce travail est consacré à l'évaluation des interactions moléculaires entre la cyclooxygénase 2 et les **flavonoïdes** naturels extraits de la plante *Citrus reticulata* via le **docking moléculaire** en utilisant l'**Autodock4**. Les résultats ont montré que l'Acacétine, l'apigénine et la Biochanine A ont une énergie de liaison importante ($\Delta G = -8.82$ - 8.72 et -8.18 Kcal/mol) au sien de site active de protéine COX2. Le composé Prunetine a formé un complexe stable via des interactions avec des acides aminés d'un autre site de COX2 différent de site actif. L'analyse **ADMET in silico** a montré les molécules précédentes ont profil ADMET optimal et une bonne biodisponibilité orale. Ces molécules peuvent être suggérés comme de nouveaux inhibiteurs potentiels.

Mot clés: Cyclooxygénase 2, Inflammation, Flavonoïdes, Docking moléculaire, Autodock4, ADMET.

Abstract

Inflammatory diseases are a common therapeutic problem. Knowing that selective inhibition of cyclooxygenase 2 prevents the synthesis of prostaglandins, which are mediators of **inflammation** this work is devoted to the evaluation of molecular interactions between **cyclooxygenase 2** and natural flavonoids extracted from the plant *Citrus reticulata* via **molecular docking** using the **Autodock4**. The results showed that Acacatin, Apigenin and Biochanin A have a significant binding energy ($\Delta G = -8.82$ - 8.72 and -8.18 Kcal/mol) at the active site of COX2 protein. The compound Prunetin formed a stable through interactions with amino acids from another COX2 site different from the active site. The in silico **ADMET** analysis showed that the previous molecules have optimal ADMET profile and good oral bioavailability. These molecules can be suggested as potential new inhibitors.

Keywords: Cyclooxygenase 2, Inflammation, Molecular Docking, Autodock4, ADMET.