République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi-Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Sciences de la matière



MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique

Thème :

APPLICATION DU DOCKING MOLÉCULAIRE PAR MOE POUR ÉTUDIER L'ACTIVITÉ ANTIPYRÉTIQUE DE LA PLANTE MENTHAPULEGIUM

Présenté par :

Laouar hadil

Devant le jury :

Hadjar Samah	M.C.B	Université de Tébessa	Président
El hassasna Souhir	M.C.B	Université de Tébessa	Rapporteur
Dinar karim	M.C.A	Université de Tébessa	Examinateur

Date de soutenance : 11-06-2025

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi-Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Sciences de la matière



MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique

Thème :

APPLICATION DU DOCKING MOLÉCULAIRE PAR MOE POUR ÉTUDIER L'ACTIVITÉ ANTIPYRÉTIQUE DE LA PLANTE MENTHAPULEGIUM

Présenté par :

Laouar hadil

Devant le jury :

Hadjar Samah	M.C.B	Université de Tébessa	Président
El hassasna Souhir	M.C.B	Université de Tébessa	Rapporteur
Dinar karim	M.C.A	Université de Tébessa	Examinateur

Date de soutenance : 11-06-2025


بسم الله الرحمن الرحيم

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, je remercie, du plus profond de mon cœur, Dieu le Tout-Puissant, de m'avoir donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Je souhaite également exprimer ma sincère reconnaissance à Dr EL HASSASNA Souhir, maître de conférences B au département des Sciences de la Matière à l'Université de Tébessa, pour son encadrement rigoureux, ses conseils avisés et sa disponibilité tout au long de ce travail. Son exigence intellectuelle et son écoute bienveillante ont constitué un véritable moteur dans l'avancement de mes recherches.

Un grand merci à Dr HADJAR Samah, maître de conférences B à l'Université de Tébessa, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider ce jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Dr DINAR Karim, maître de conférences A à l'Université de Tébessa, pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Enfin, je remercie chaleureusement tout le personnel du Département des Sciences de la Matière de la Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi.

À toutes et à tous, j'adresse un immense merci.

Dédicace

Je dédie ce travail à ma mère, Samia, ma raison d'être, la lanterne qui éclaire mon chemin et m'illumine d'affection et d'amour.

À mon père, Yassine, en signe d'amour et de gratitude pour tous les soutiens et les sacrifices qu'il a consentis pour moi.

À mon frère Adem, à ma sœur Chahd, à LouLou, à Sidra, à ces mains invisibles qui m'ont toujours soutenu, ainsi qu'à tous mes proches et amis.

Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir éclatant et riche de belles promesses.

À tous ceux qui ont cru en moi et qui me donnent l'envie d'avancer, je vous remercie. Vos encouragements et votre soutien me donnent la force de continuer.

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicace

Table de matière

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction **1**

Références Bibliographiques **4**

Chapitre I

LE DOCKING MOLECULAIRE

I. Le docking moléculaire **6**

I.1. Définition **6**

I.2. Intérêt du docking **6**

I.3. Différents types de docking moléculaire **7**

I.3.1. Docking rigide **7**

I.3.2. Docking flexible **7**

I.3.3. Docking semi-flexible **8**

I.3.4. Les interactions protéine-ligand **8**

I.3.4.1. Les force de Van Der Waals **9**

I.3.4.2. Liaisons hydrogènes **9**

I.3.4.3. Les interactions électrostatiques **10**

I.3.4.4. Les interactions hydrophobes **10**

I.4. Les outils du docking moléculaires **11**

I.4.1. Le récepteur **11**

I.4.2. Le ligand **11**

I.5. Les étapes de docking moléculaires **12**

I.5.1. Searching **12**

I.5.1.1. L'approche classique **12**

I.5.1.2. L'approche rationnelle **12**

I.5.2. Le scoring 12
a. Les fonctions de scoring empiriques 13
b. Les fonctions basées sur un champ de force 13
c. Les fonctions de type knowledge-based 13
I.6. Les programme du docking 14
- AutoDock Vina 14
- DOCK 14
- FlexX 15
- GOLD 15
I.7. Le programme de docking moléculaire MOE 16
I.7.1. Fonctionnalités de MOE 16
I.7.1.1. Docking moléculaire 16
I.7.1.2. Ingénieriedes protéines 16
I.7.1.3. Optimisation de l'affinité 16
I.7.1.4. Analyse pharmacocinétique 16
Références Bibliographique : 18

Chapitre II

MATERIEL ET METHODES

II. Matériel et méthodes 21
II.1. La plante *Menthapulegium* 21
II.1.1.Description des menthes 21
II.1.2.*MenthaPulegium* 21
II.1.2.1.Systématique de *M. pulegium* 22
II.1.2.3. Les constituants des extraits de la plante *Menthapulegium* 23
II.2. Molecular Operating Environment (MOE) 24
II.2.1. Introduction 24
II.2.2. Bases des données 25
II.2.2.1. La base des données PubChem 25
II.2.2.2. Banque de données des protéines 26
II.3. Programmes utilisés 26
II .3.1. SwissADME 26
II.3.1.1. Méthodes d'évaluation in silico des propriétés ADME 27
II.3.1.2. Propriétés physico-chimiques 28
II.3.1.3. Propriétés pharmacocinétiques : 28
II.4. Macromolécule (protéine cible, COX-2) 29
II.4.1. Introduction 29
a.La cyclooxygénase de type 1 (COX-1) 29

b.La cyclooxygénase de type 2 (COX-2) 29
II.4.2.La cyclooxygénase 2 30
II.4.2.1. Définition 30
II.4.2.2. La structure 30
II.4.2.3.Site actif de COX-2 et interaction 31
II.4.2.4. Structure du Site Actif de la COX-2 32
II.4.2.5. Les acides aminés du Site Actif de COX-2 32
II.5. Docking moléculaire 33
II.5.1. Test de fiabilité deprogramme 33
II.5.2. Préparation de la protéine et de ligand 33
Références Bibliographique : 35

Chapitre III

RÉSULTATS ET DISCUSSION

III. Matériel et Méthode 38
III.1. Matériel 38
III.1.1. La plante *Menthapulegium* 38
III.1.1.1. Macération et extraction 38
III.1.1.2. Calcul du rendement 42
III.1.2. Microordinateur 42
III.1.3. Matériel Biologique 43
III.1.3.1. Préparation de protéine 43
III.1.3.1.1. La cyclooxygénase-2 (COX-2) 43
III.1.3.2. Préparation des ligands pour le docking moléculaire 44
III.1.3.2.1. Choix des molécules pour le docking 45
III.2.1.4. Le BOILED-Egg plot 46
III .2.2. Le docking moléculaire 49
III.2.2.1. Résultats et discutions 49
Références bibliographique 57
Conclusion 58

Liste des tableaux

N°	Intitulé des tableaux	Page
CHAPITRE II		
Tableau II.1	Dénomination d'espéces étudiées	23
Tableau II.2	Composition chimique des huiles essentielles de *M. pulegium*	24
Tableau II.3	Smiles et identifiants des molécules testées.	27
CHAPITRE III		
Tableau III.1	Les rendements obtenus de chaque extrait	41
Tableau III.2	Informations structurales et fonctionnelles de la protéine COX-2 (PDB ID : 5JVY).	43
Tableau III.3	Ligands sélectionnés pour l'analyse in silico	45
Tableau III.4	Les propriété ADME de chaque molécule.	47
Tableau III.5	Informations retenues du docking moléculaire avec 5JVY pour les trois ligands	49
Tableau III.6	Score d'énergie de liaison et valeurs RMSD des 5 poses de docking pour chaque ligand.	54

Liste des figures

N°	Intitulé des figures	Page
Chapitre I		
Figure I.1	Présentation de Docking moléculaire	6
Figure I.2	Les différents interaction ligand-récepteur.	8
Figure I.3	Les interactions de Van der wals .	9
Figure I.4	Les interactions des liasonshydrogéne.	10
Figure I.5	Les interactions électrostatiques.	10
Figure I.6	les interactions hydrophobes.	10
Figure I.7	Représentation des étapes du docking.	14
Figure I.8	Les programmes de docking.	15
Figure I.9	Interface du logiciel MOE	17
Chapitre II		
Figure II.1	La plante *Menthe pouliot*	21
Figure II.2	Page d'accueil de la base des données PubChem.	25
Figure II.3	Capture d'écran de la page web de la base de données	26
Figure II.4	Interface principale de l'outil en ligne SwissADME	27
Figure II.5	Voie de la cyclooxygénase	30
Figure II.6	Structure 3D de COX-2.	31
Figure II.7	Sites actifs et structure 3D de la COX-2 avec ces acides aminés essentiel.	33
Chapitre III		
Figure III.1	La plante *M. pulegium*.	37
Figure III.2	Macération de la plante *M. pulegium*.	38
Figure III.3	Montage de l'extraction liquide/liquide.	39
Figure III.4	Organigramme d'extraction et d'évaporation de la plante "*Menthapulegium*" .	40
Figure III.5	Visualisation moléculaire de la structure cristallographique de COX -2 (5JVY) utilisée pour le docking moléculaire.	42
Figure III.6	Représentation BOILED-Eggdes trois ligands sélectionnés via SwissADME	46
Figure III.7	Les interaction entre le ligand « caffeicacid » et le site actif.	51
Figure III.8	Les interaction entre le ligand « Luteolin » et le site actif.	52
Figure III.9	Les interaction entre le ligand « rosmarinicacid » et le site actif .	53

Liste des abréviations

5JVY	Code de Protéine avec propriété antipyrétique
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion
ASN	Asparagine
COX-1	Cyclooxygénase-1
COX-2	Cyclooxygénase-2
DOCK	Docking Of Chemical Knowledge
HIS	Histidine
ICM	InternalCoordinateMechanics
LEU	Leucine
LH	Liaison Hydrogène
MOE	Molecular Operating Environment
PDB	Protein Data Bank
P-gP	Permeability-GlycoProtein
PHE	Phénylalanine
PMF	Potential of Mean Force
RMSD	Root mean square derivation
S	Score
THR	Thréonine
TPSA	Topological Polar Surface Area
VDW	Van der Waals

Résumé

Dans le cadre de ce travail, nous avons évalué le potentiel antipyrétique de composés issus de la plante *Menthapulegium* à travers une approche in silico. Trois molécules, sélectionnées à partir de données bibliographiques, ont été soumises à une étude de docking moléculaire ciblant l'enzyme cyclooxygénase-2 (COX-2), à partir de sa structure cristallographique (PDB ID : 5JVY). L'acide Rosmarinique s'est distingué par une affinité de liaison élevée avec la protéine cible, traduisant un fort potentiel inhibiteur. Une analyse complémentaire via l'outil SwissADME a permis de confirmer ses propriétés pharmacocinétiques favorables, soutenant ainsi son intérêt en tant que candidat antipyrétique naturel.

Mots-clés :

Acide rosmarinique, COX-2, 5JVY, Docking moléculaire, SwissADME, Activité antipyrétique, In silico.

Abstract

This study aimed to evaluate the antipyretic potential of compounds derived from the plant *Mentha pulegium* using an in-silico methods. Three molecules, selected based on literature data, were subjected to molecular docking analysis targeting the cyclooxygenase-2 (COX-2) enzyme, using its crystallographic structure (PDB ID: 5JVY). Rosmarinic acid showed the highest binding affinity to the target protein, indicating strong inhibitory potential. Further analysis using the SwissADME tool confirmed its favorable pharmacokinetic properties, supporting its relevance as a promising natural antipyretic candidate.

Keywords:

Rosmarinic acid, COX-2, 5JVY, Molecular docking, SwissADME, Antipyretic activity, In silico.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط الخافض للحرارة لبعض المركّبات المستخلصة من نبتة *Mentha pulegium*، وذلك باستخدام مقاربة حاسوبية (In silico) .تم اختيار ثلاث جزيئات اعتماداً على بيانات ببليوغرافية سابقة ، وخضعت لدراسة الارتباط الجزيئي (Docking) مع إنزيم السيكلوأوكسجيناز2- (COX-2) باستخدام البنية البلورية لهذا الإنزيم(PDB ID: 5JVY) أظهر حمض الروزمارينيك أعلى قدرة على الارتباط بالإنزيم، مما يشير إلى قدرته التثبيطية القوية. كما أكّدت تحاليل إضافية باستخدام أداةSwissADMEالخصائص الحركية الدوائية الجيدة لهذا المركب، مما يدعم اعتباره مرشحاً واعداً كمضاد طبيعي للحمّى.

الكلمات المفتاحية:

حمض الروزمارينيك, 5JVY , COX-2 ,الارتباط الجزيئي,SwissADME,النشاط الخافض للحرارة In silico,



Introduction

Ce travail s'inscrit dans le domaine de la recherche de nouveaux agents thérapeutiques d'origine naturelle **[01]**, en se concentrant spécifiquement sur l'évaluation du potentiel antipyrétique de composés issus de la plante *Menthapulegium*, communément appelée *Menthe pouliot*.L'activité antipyrétique observée pour l'extrait de la plante *Menthapulegium* pourrait être étroitement liée à son activité anti-inflammatoire. En effet, la fièvre constitue l'un des symptômes classiques de l'inflammation et résulte principalement de la production de prostaglandines au niveau de l'hypothalamus, induite par des médiateurs pro-inflammatoires tels que les cytokines. Ainsi, l'inhibition de la synthèse de ces médiateurs par certains composés bioactifs présents dans l'extrait pourrait expliquer la diminution de la température corporelle observée. Cette corrélation suggère que l'effet antipyrétique de l'extrait pourrait découler, au moins en partie, de son action anti-inflammatoire.

L'enzyme cyclooxygénase-2 (COX-2) représente une cible thérapeutique majeure pour le développement de médicaments antipyrétique, en raison de son rôle clé dans la production de médiateurs pro-inflammatoires **[02]**. L'objectif principal de cette étude est d'explorer, par une approche combinant l'analyse phytochimique et la modélisation moléculaire, la capacité de certains constituants de *Menthapulegium* à interagir avec la COX-2 et potentiellement inhiber son activité**[03].**

.

Dans le cadre de ce travail, nous avons adopté une approche combinant l'expérimentation et la modélisation moléculaire dans le but d'évaluer le potentiel antipyrétique de notre plante. Après l'obtention de plusieurs extraits à l'aide de solvants de polarité croissante (diéthyléther, acétate d'éthyle et n-butanol), il n'a pas été possible d'identifier précisément les constituants chimiques présents dans ces extraits, faute de moyens analytiques appropriés. Pour pallier cette limite, nous avons eu recours à des données issues de la littérature scientifique, en particulier une publication antérieure ayant étudié la même plante et rapporté l'isolement de plusieurs composés bioactifs. Ces molécules ont été sélectionnées pour réaliser une étude de docking moléculaire ciblant l'enzyme COX-2, dans le but de prédire leur interaction potentielle et leur contribution à une éventuelle activité antipyrétique. Ce mémoire est ainsi structuré en trois chapitres comme suit :

- Le premier chapitre détaille ainsi les principes théoriques du docking, ses différentes approches (rigide, flexible, semi-flexible), les types d'interactions moléculaires mises en jeu (forces de Van der Waals, liaisons hydrogène,

interactions électrostatiques et hydrophobes), ainsi que les étapes clés du processus, notamment la génération de conformations (searching) et l'évaluation de l'affinité de liaison (scoring). Une attention particulière est accordée aux outils logiciels couramment utilisés, en introduisant spécifiquement la plateforme Molecular Operating Environment (MOE) **[04]**, qui sera employée pour les simulations de docking dans cette étude.

- Le deuxième chapitre expose en détail le matériel et les méthodes spécifiques mis en œuvre. Il commence par une description botanique et phytochimique de la plante étudiée, *Menthapulegium*. La composition chimique de ses extraits. Ensuite, la cible moléculaire, l'enzyme COX-2, est présentée en détail, incluant sa structure tridimensionnelle (obtenue à partir de la Protein Data Bank, PDB ID: 5JVY), son rôle biologique dans la cascade inflammatoire, et les caractéristiques de son site actif qui le distinguent de l'isoforme COX-1. Ce chapitre décrit également la préparation rigoureuse de la structure protéique et des ligands sélectionnés (acide caféique, lutéoline, acide rosmarinique), identifiés comme des constituants potentiellement actifs de *Menthapulegium*, en vue des simulations de docking réalisées à l'aide du logiciel MOE.

- Enfin, le troisième chapitre est consacré à la présentation et à la discussion des résultats obtenus, tant sur le plan expérimental que computationnel. Il décrit d'abord le protocole d'extraction des composés à partir des feuilles de *Menthapulegium*. La partie computationnelle expose ensuite les résultats de l'évaluation in silico des propriétés pharmacocinétiques, (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion - ADME) des ligands sélectionnés, réalisée à l'aide de l'outil SwissADME, afin d'estimer leur potentiel en tant que candidats médicaments. Le cœur de ce chapitre réside dans l'analyse détaillée des résultats du docking moléculaire : les énergies de liaison calculées et les modes d'interaction prédits (liaisons hydrogène, interactions hydrophobes, etc.) entre les composés naturels étudiés et le site actif de la COX-2 sont présentés et interprétés. La discussion met en perspective ces résultats pour évaluer l'affinité de liaison et le potentiel inhibiteur de ces molécules vis-à-vis de la COX-2 , contribuant ainsi à la compréhension de la base moléculaire de l'activité anti-inflammatoire potentielle de *Menthapulegium*.

Ce mémoire, structuré en trois chapitres, débute par une introduction générale et se termine par une conclusion récapitulative.

Références Bibliographiques

[01]Laib, A. (2024). Innovation pharmaceutique:revue bibliographique du potentiel thérapeutique des métabolites fongiques [Thèse de doctorat, Faculté de Pharmacie de Marseille, Aix-Marseille Université].

[02] Aya, K. H. E. N. I. O. U. I., HOUSSINE, B., & CHEKROUD Zeyneb, C. (2023). Étude in silico des interactions de nouveaux inhibiteurs sur la Cyclooxygénase, cible enzymatique impliquée dans les phénomènes d'inflammation. Doctoral dissertation, University center of AbdalhafidBoussouf-MILA.

[03] Djaoudi, T. (2024).Caractéristiques des extraits phénoliques de deux plantes aromatiques(*Menthepulegium* et Allium triquètrum L.) provenant de la région de Tizi-Ouzou .

[04] Roy, U., & Luck, L. A. (2007). Molecular modeling of estrogen receptor using molecular operating environment. Biochemistry and MolecularBiology Education, 35(4), 238-243.



Chapitre I

LE DOCKING MOLECULAIRE

I. Le docking moléculaire

I.1. Définition

Le **docking moléculaire** (également appelé ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) désigne une approche de simulation combinant différentes méthodes pour analyser les interactions entre deux molécules. Le plus souvent, il s'agit d'une macromolécule, généralement une protéine servant de cible, et d'une petite molécule, appelée ligand. Par défaut, le terme **docking** fait généralement référence au **docking protéine-ligand**.

Ce procédé englobe l'ensemble des mécanismes et interactions impliqués dans la formation de complexes moléculaires. Il trouve des applications concrètes en **ingénierie des protéines** ainsi que dans la **conception de nouveaux médicaments**. Selon les types d'interactions étudiés, on distingue plusieurs catégories de docking : **ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine** et **ADN-protéine[01].**

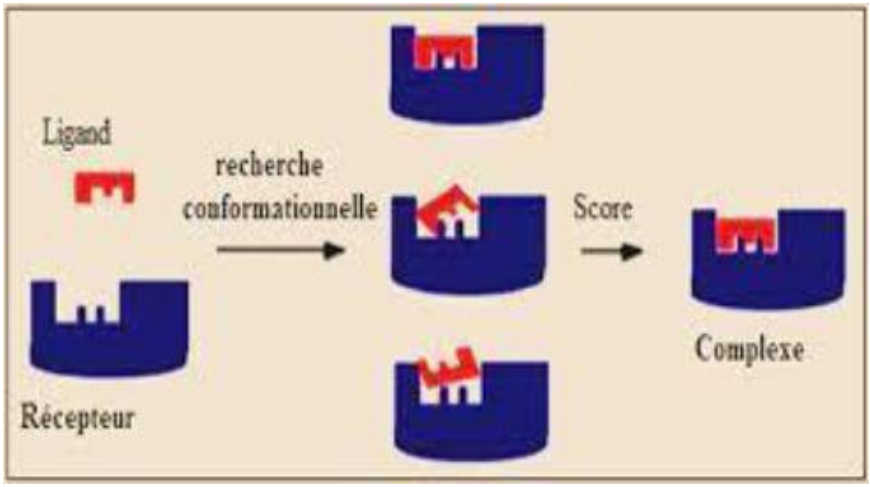


Figure 1 : Présentation de Docking moléculaire.

On peut dire que le docking est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport àune autre pour avoir le complexe le plus stable. Il est fréquemment utilisé sur l'étude des médicaments et réduire les essais expérimentaux. En générale il y’a deuxapproches, l'une basée sur la complémentarité des surfaces et l'autre basée sur le calcul de l'énergiedu complexe.

I.2. Intérêt du docking

Le docking permet de prédire l'effet biologique de nombreuses molécules en peu de temps, en réduisant ensuite le nombre de composés à synthétiser ou tester sur une cible spécifique. Son objectif principal est d'analyser et anticiper les interactions entre le ligand et

les acides aminés de la cible. Il permet également de prédire la conformation la plus optimale du ligand dans son récepteur**[02].**

I.3. Différents types de docking moléculaire

On distingue deux types de classification pour le dockingmoléculaire : le type d'interaction (protéine-protéine, protéine-ligand, protéine-nucléotide) et le type de docking selon la flexibilité (rigide, flexible, semi-flexible)**[03].**

I.3.1. Docking rigide

Le ligand et le récepteur sont considérés comme des entités rigides, et l'objectif est de déterminer la pose optimale du ligand en explorant toutes ses rotations et translations possibles au sein du site d'interaction. Les poses incompatibles avec le site actif sont ensuite écartées, et un score est attribué aux poses retenues, qui sont ensuite optimisées. L'exploration se limite aux degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand par rapport à la protéine. Cette approche est couramment utilisée pour l'amarrage de macromolécules, où une exploration efficace des conformations est nécessaire dans des délais de calcul raisonnables, et elle reste la méthode la plus simple, notamment pour l'amarrage protéine-protéine**[04].**

I.3.2. Docking flexible

Dans le docking flexible, le ligand et la protéine sont flexibles (la flexibilité du récepteur concerne les chaines latérales des résidus du site actif). Les degrés de liberté conformationnels du récepteur peuvent être limités à certaines chaines latérales ou bien considérer également des mouvements plus larges impliquant par exemple les différents arrangements possibles entre domaines d'une protéine. Cette approche est plus réaliste en intégrant des modèles de liaison du ligand au récepteur, tels que l'ajustement induit ou la sélection conformationnelle. C'est la méthode la plus couramment utilisée dans les logiciels de docking, car elle permet d'évaluer rapidement de grandes bases de données de molécules. Cependant, elle reste approximative, et l'exploration complète des degrés de liberté du ligand et du récepteur soulève des défis significatifs en raison des temps de calcul nécessaires pour un docking flexible efficace**[05]**.

I.3.3. Docking semi-flexible

Dans le docking semi-flexible, le ligand est flexible tandis que la protéine reste rigide. L'échantillonnage des degrés de liberté du ligand inclut des explorations translationnelles et rotationnelles. Cette approche repose sur l'hypothèse que la conformation de la protéine utilisée et est capable de reconnaître le ligand. Elle est considérée comme "asymétrique" et est principalement utilisée pour l'amarrage protéine-ligand**[06].**

Les méthodes de docking semi-flexible ou flexible sont couramment employées pour modéliser les interactions entre protéines et ligands.

I.3.4. Les interactions protéine-ligand

Les systèmes biologiques reposent sur des mécanismes complexes d'assemblage et de reconnaissance, fondés sur des interactions moléculaires non-covalentes de faible énergie. À l'échelle d'une protéine, c'est l'équilibre entre les forces attractives et répulsives non-covalentes qui détermine sa structure tridimensionnelle, et par conséquent, son activité biologique.

Ces interactions peuvent être classées en différents types :

- Les force de Van Der Waals
- Liaisons hydrogènes
- Les interactions électrostatiques
- Forces liées aux solvant (effet hydrophobe)

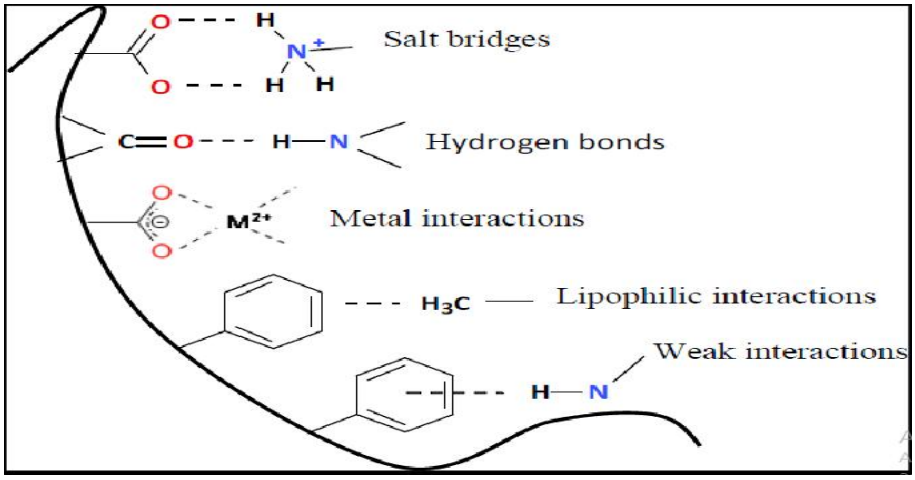


Figure 2 : Les différents interaction ligand-récepteur.

I.3.4.1. Les force de Van Der Waals

Les interactions de Van der Waals (VdW), aussi appelées interactions de London ou forces de dispersion, résultent de dipôles instantanés. Bien qu'elles soient de faible intensité, elles jouent un rôle crucial en raison de leur nombre élevé. Bien que cela puisse sembler simple, ce sont principalement ces interactions de VdW qui assurent la complémentarité stérique lors des processus de liaison moléculaire.

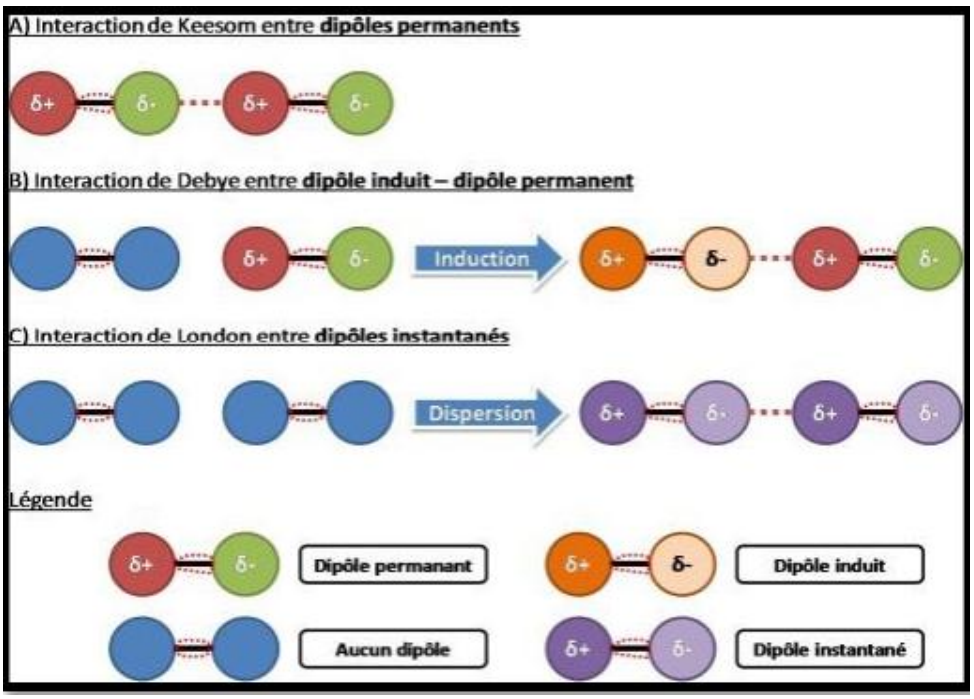


Figure 3 : Les interactions de Van der wals .

I.3.4.2. Liaisons hydrogènes

Les liaisons hydrogène (LH) sont des interactions électrostatiques entre un atome électronégatif, appelé "accepteur" (portant une charge partielle δ-), et un atome d'hydrogène polaire (ayant une charge partielle δ+), qui est lui-même lié de manière covalente à un autre atome électronégatif, dit "donneur" (avec une charge partielle δ-).

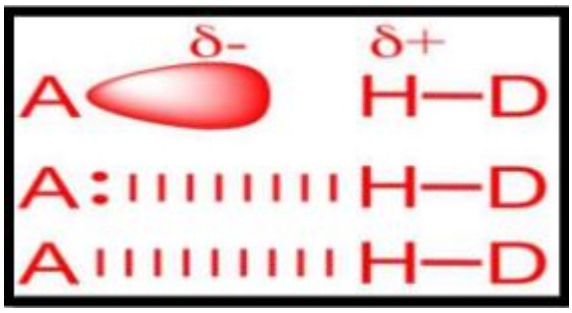


Figure 4 : Les interactions des liasonshydrogéne.

I.3.4.3. Les interactions électrostatiques

Les groupements fonctionnels chargés des acides aminés sont responsables de la formation d'interactions électrostatiques à distance **[07]**.

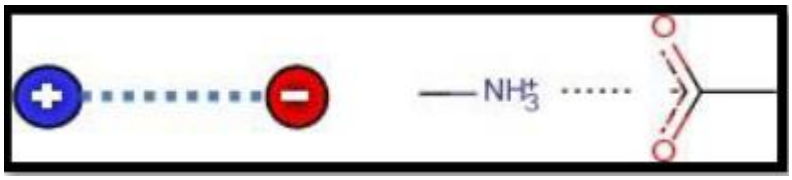


Figure 5 : Les interactions électrostatiques.

I.3.4.4. Les interactions hydrophobes

Une protéine est constituée d'une chaîne d'acides aminés. Chacun de ces acides aminés possède un radical apolaire et hydrophobe, formant ainsi la région hydrophobe de la protéine. Cette zone ne forme pas de liaisons hydrogène avec les molécules d'eau.

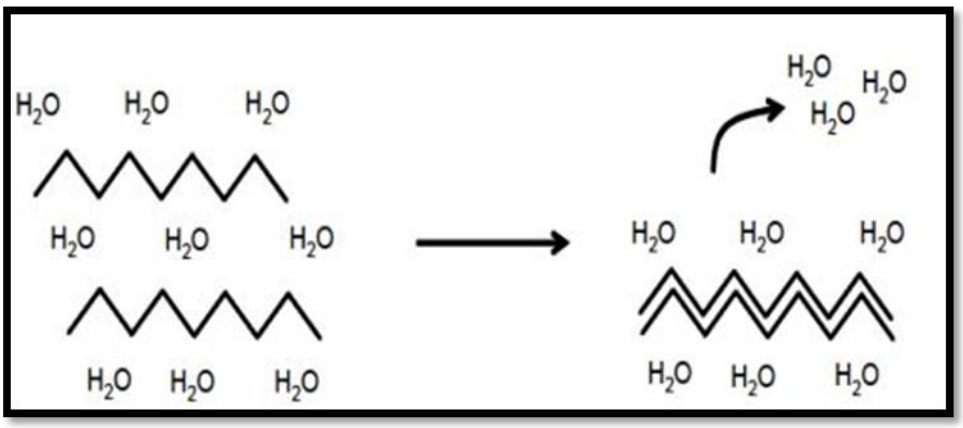


Figure 6 : les interactions hydrophobes.

I.4. Les outils du docking moléculaires

Les logiciels de docking jouent un rôle essentiel en pharmacie et en médecine, car la majorité des principes actifs sont de petites molécules (ligands) conçues pour interagir, au niveau moléculaire, avec leurs protéines cibles (récepteurs). Cette interaction permet d'influencer les voies biologiques dans lesquelles ces protéines sont impliquées, facilitant ainsi la conception et l'optimisation de nouveaux médicament**[08].**

I.4.1. Le récepteur

Les récepteurs sont des macromolécules essentielles à la transmission des signaux inter- et intracellulaires. Ils peuvent être localisés soit à la surface de la membrane cellulaire, soit dans le cytoplasme. Une fois activés, ils modulent directement ou indirectement divers processus biochimiques cellulaires, tels que la conductance ionique, la phosphorylation des protéines, la transcription de l'ADN ou encore l'activité enzymatique.

Les structures tridimensionnelles utilisées proviennent de la **Protéine Data Bank (PDB)**, la plus vaste archive de données structurales sur les macromolécules biologiques, incluant les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN). Créée en 1971 avec seulement sept structures, cette base de données s'est considérablement enrichie au fil du temps**[09].**

La PDB fournit des informations détaillées telles que la séquence des macromolécules, leurs coordonnées atomiques, les conditions expérimentales (comme la résolution) et des représentations 3D. Elle est réputée pour sa fiabilité, car elle est régulièrement mise à jour et validée par plusieurs centres de recherche. Les coordonnées atomiques y sont enregistrées dans un format standard, appelé **PDB**, qui est compatible avec divers logiciels de visualisation, de modélisation et de criblage virtuel.

I.4.2. Le ligand

Dans le docking moléculaire, la sélection du ligand constitue une étape cruciale. Il est essentiel de choisir un ligand adapté à la spécificité du site actif de la cible afin d'éviter des tests inutiles sur des molécules inappropriées.

De plus, le ligand doit être disponible sous une forme tridimensionnelle (3D) pour être utilisé en docking. Actuellement, il existe deux principales approches pour obtenir la structure

chimique d'un ligand donné. La première repose sur l'utilisation de bases de données commerciales de structures chimiques, appelées chimiothèques ou espaces chimiques. La seconde méthode consiste à exploiter des ligands issus de la PDB ou de la littérature scientifique, que l'on peut modéliser, optimiser et sauvegarder sous divers formats (pdb, mol, mol2, etc.) à l'aide de logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, ArgusLab, Titan ou Sybyl.

I.5. Les étapes de docking moléculaires

I.5.1. Searching

La principale préoccupation du docking est la flexibilité des deux entités. Un algorithme de docking nécessite au préalable une recherche conformationnelle complète de la molécule organique. La génération et la sélection des conformères peuvent se faire de différentes manières. Plusieurs stratégies existent pour déterminer les conformations les plus stables, avec deux approches principales : classique et rationnelle.

I.5.1.1. L'approche classique

L'approche « classique » englobe les méthodes permettant de générer un jeu de conformères sans prendre en compte spécifiquement les acides aminés du site actif. Toutefois, pour modéliser l'intérieur de la protéine, la molécule à analyser est explorée dans des conditions physico-chimiques d'hydrophilie et de lipophilie. La difficulté réside dans la définition des proportions d'hydrophilie et de lipophilie au sein du site actif, ces proportions variant selon la protéine étudiée**[10].**

I.5.1.2. L'approche rationnelle

Cette approche permet de générer les conformères à plus faible énergie en tenant compte de la protéine. En effet, les techniques de construction incrémentale sont réalisées sous l'influence de la protéine, ce qui réduit l'espace conformationnel et conduit à un nombre réduit de solutions finales, souvent plus pertinentes.

I.5.2. Le scoring

Le score est une valeur numérique qui permet d'évaluer le degré de complexation d'un ligand avec un récepteur. Il représente globalement une approximation de l'énergie libre associée à la transition de la forme libre de la protéine et du ligand à leur état complexe**[11].**

L'utilisation des fonctions de score permet d'identifier la conformation optimale du ligand et de classer les premières poses de chaque ligand, établissant ainsi un classement des molécules les plus prometteuses. Ces fonctions, qui reflètent la prédiction de l'interaction protéine-ligand, peuvent être réparties en trois grandes catégories : empirique, champs de force et knowledge-base.

a. Les fonctions de scoring empiriques

Les termes correspondant aux différents types d'interactions présentes dans le complexe (liaison hydrogène, contact hydrophobe, interaction ionique, surface de contact ligand-protéine, et parfois les contributions entropiques) sont pris en compte. La pondération de chaque terme est définie à l'aide de méthodes de régression multi variées appliquées à un ensemble d'apprentissage.

b. Les fonctions basées sur un champ de force

Les fonctions de score basées sur un champ de force évaluent, par mécanique moléculaire, l'énergie d'interaction du complexe récepteur-ligand (interactions intermoléculaires) ainsi que l'énergie interne du ligand. Les interactions entre récepteur et ligand incluent généralement des termes de Van der Waals et électrostatiques, tandis que l'énergie interne du ligand est formulée de manière similaire.**[12,13]** ; Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force sont par exemple : Goldscore**[14]**, DOCK **[15]** et Autodock**[16]**.

c. Les fonctions de type knowledge-based

Ces fonctions de score sont basées sur des règles dérivées d'une analyse statistique des complexes protéine-ligand résolus expérimentalement. La fonction PMF (Potential of Mean Force) appartient à cette catégorie de fonctions **[17].**

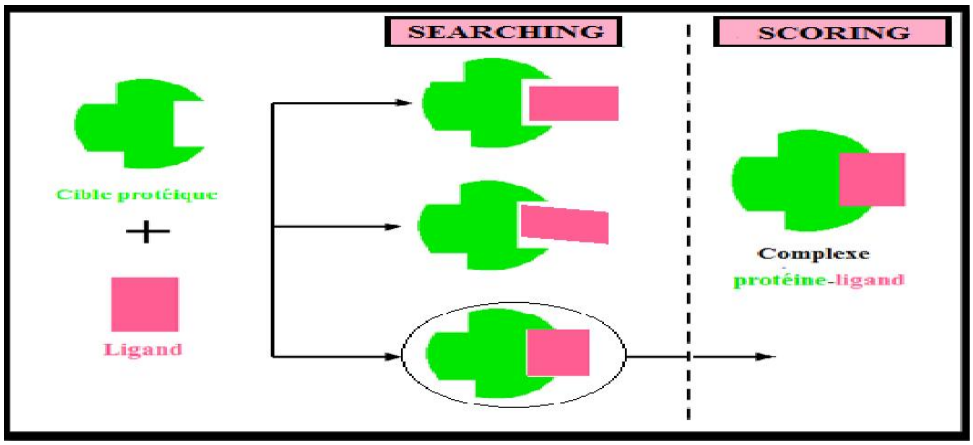


Figure 7 : Représentation des étapes du docking.

I.6. Les programme du docking

Un programme de docking moléculaire vise à prédire avec précision le mode d'interaction entre deux entités chimiques et à identifier le meilleur parmi ces modes. À l'heure actuelle, plusieurs programmes de docking moléculaire (commerciaux ou non) sont disponibles, les plus souvent mentionnés étant :AutoDockVina, DOCK , GOLD, FlexX **[18],** et ICM **[19].**

- AutoDock Vina

AutoDock Vina est un programme de docking dérivé d'AutoDock4, comme son nom l'indique, développé par le groupe d'Arthur J. Olson au Scripps Research Institute (http://autodock.scripps.edu/). Son objectif principal est d'améliorer la vitesse d'exécution tout en offrant des résultats équivalents, voire supérieurs, à ceux d'AutoDock4. Cette amélioration de la vitesse est due à l'intégration du parallélisme dans l'algorithme, permettant l'exécution simultanée de plusieurs tâches sur plusieurs processeurs (multi-core) via le multithreading.

- DOCK

Le DOCK est l'un des logiciels de docking ligand-protéine les plus anciens et les plus réputés. Sa version initiale travaillait avec des ligands rigides, mais la flexibilité a été ajoutée plus tard, permettant la construction incrémentielle du ligand dans la poche de liaison. Le DOCK repose sur une méthode de fragments et utilise des approches de complémentarité chimique et de forme pour générer différentes orientations du ligand. Ces orientations peuvent

être évaluées à l'aide de trois fonctions de score distinctes, bien qu'aucune d'elles ne prenne en compte explicitement les liaisons hydrogène, la solvatation/désolvatation ou l'hydrophobicité.

- FlexX

FlexX est une méthode basée sur des fragments qui utilise des ligands flexibles et des protéines rigides. Elle fait appel à la base de données d'angles de torsion MIMUMBA pour générer des conformations. MIMUMBA est une base de données géométrique d'interactions qui permet de décrire précisément les formes d'interaction intermoléculaires. Pour le scoring, la fonction de Boehm, avec quelques ajustements pour le docking, est utilisée. FlexX est mentionné ici pour souligner l'importance des fonctions de score. Bien que FlexX et DOCK soient toutes deux des méthodes fragmentaires, leurs résultats sont souvent très différents.

- GOLD

Le logiciel GOLD (Genetic Optimisation for Ligand Docking) est l'un des programmes de docking les plus performants et largement utilisés. Il résulte d'une collaboration entre l'Université de Sheffield, GlaxoSmithKline plc et le CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre).

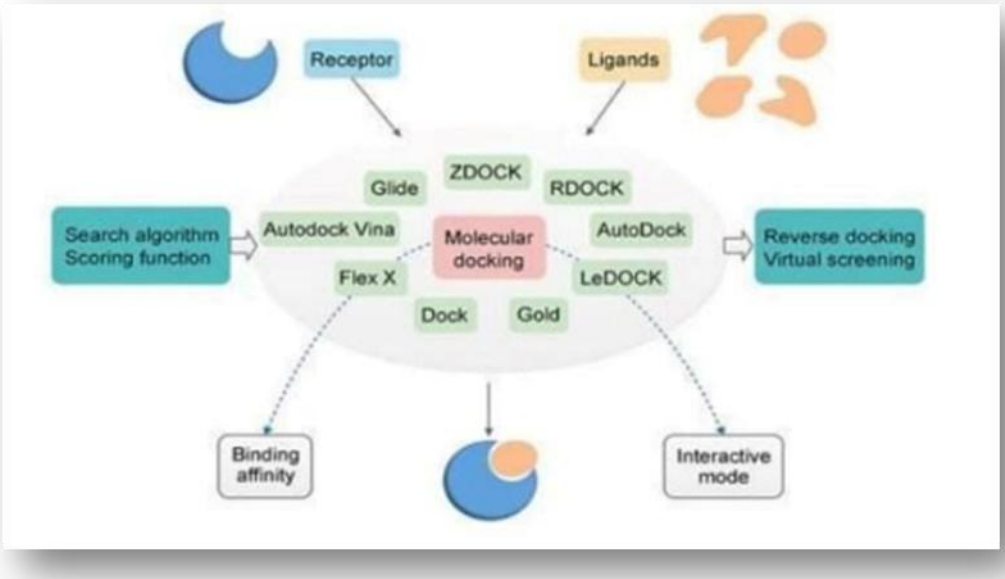


Figure 8 : Les programmes de docking.

I.7. Le programme de docking moléculaire MOE

Le Molecular Operating Environment (MOE) a été utilisé pour les études d'amarrage moléculaire. Cette plate-forme, employée en pharmacologie et biotechnologie, propose diverses applications regroupées dans un seul package, incluant la visualisation, la modélisation, la simulation et le développement de méthodes**[20].**

MOE offre plusieurs avantages pour le docking moléculaire, en général, MOE permet une intégration complète des simulations et des analyses nécessaires pour le docking, y compris la modélisation des protéines et des ligands, ainsi que la gestion des données moléculaires.

I.7.1. Fonctionnalités de MOE

I.7.1.1. Docking moléculaire

MOE permet de prédire la structure tridimensionnelle des complexes moléculaires en simulant l'interaction entre une protéine et un ligand. Cela aide à identifier les positions les plus favorables du ligand dans le site actif de la protéine.

I.7.1.2. Ingénieriedes protéines

MOE est utilisé pour concevoir et optimiser les protéines en modifiant leur structure pour améliorer leur fonctionnalité ou leur stabilité.

I.7.1.3. Optimisation de l’affinité

Il permet d'optimiser l'affinité entre une protéine et un ligand, ce qui est crucial dans la conception de médicaments.

I.7.1.4. Analyse pharmacocinétique

MOE peut être utilisé pour évaluer les propriétés pharmacocinétiques des composés, telles que leur absorption, distribution, métabolisme et élimination (ADME).

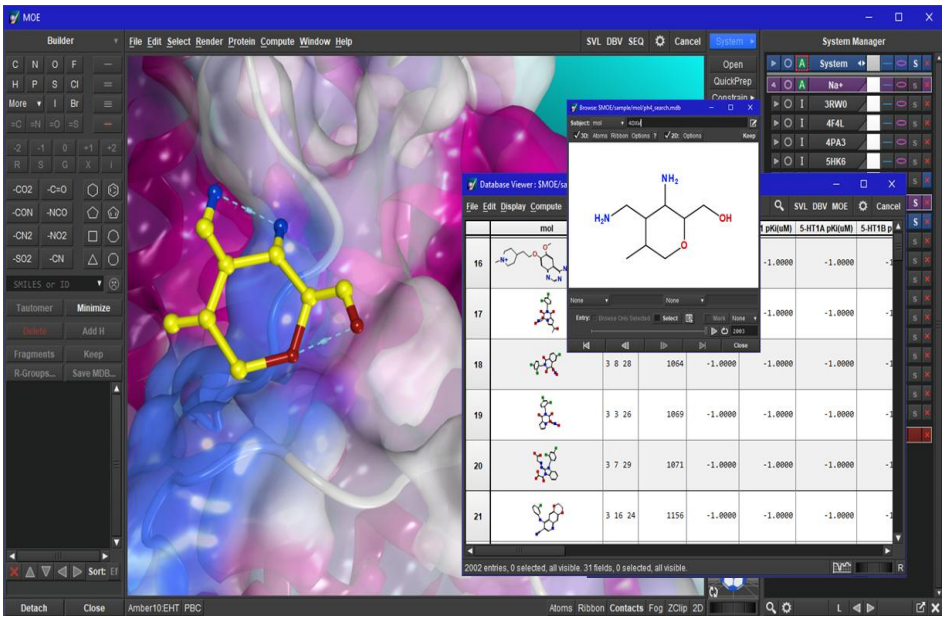


Figure 9 : Interface du logiciel MOE.

MOE est largement utilisé dans la recherche pharmaceutique pour la conception de médicaments, ainsi que dans d'autres domaines comme l'agrochimie et l'industrie agroalimentaire. Il est particulièrement utile pour prédire comment un ligand potentiel interagit avec une protéine cible, ce qui aide à identifier de nouveaux candidats médicamenteux.

Références Bibliographique :

[01] Oliveira, E. B. (2009).Simulation moléculaire appliquée à l'acétylation de flavonoïdes catalysés par des lipases : influence des structures de la lipase et des flavonoïdes sur la régiosélectivité de la bioconversion (Thèse de doctorat). Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France.

[02] Kadri, H., Kellai, S., Kebir, A., &Ladjimi, C. (2021). Place de la modélisation moléculaire dans le domaine pharmaceutique, étude par docking moléculaire de deux nouvelles séries antifongiques.

[03] OUARI, M. (2022). L'utilisation de docking moléculaire pour la recherche des chélateurs des métaux lourds inspirés des métallothionéines .

[04] MANSOURI, H. M. L.(2022) Etude par Docking moléculaire de l'effet anticancéreux des métabolites secondaires extraits d'Ephédra Alata

[05] TIFOURAK, D. (2019). Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse.

[06] Adjref**,** A**.** (2023). Docking moléculaire et criblage ADME/Toxicité pour des inhibiteurs de l'alpha-amylase et de l'alpha-glucosidase.

[07] Kadri, H., Kellai, S., Kebir, A., & Ladjimi, C. (2021). PLACE DE LA MODELISATION MOLECULAIRE DANS LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE, ETUDE PAR DOCKING MOLECULAIRE DE DEUX NOUVELLES SERIES ANTIFONGIQUES.

[08] Gann, M., & Fred, M. (2011). Pose prediction and virtual screening accuracy. Journal of Chemical Information and Modeling*,* 51*,* 578-596.

[09] Martin, L. (2006*).* Développement d'une plateforme bio-informatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK(Thèse de doctorat). Université Montpellier 2, Montpellier, France.

[10] Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., & Ferrin, T. E. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. Journal of Molecular Biology*,* 161*,* 269-288.

[11] Kollman P.A., Massova.I., Reyes.C., Kuhi.B., and al., 2000.- Calculating Structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models, Acc. Chem. Res., 33: 889-897

[12] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., &Bajorath, J. (2004). Drug discovery. Drug Discovery*,* 3*,* 935-949.

[13] Bissantz, C., Folkers, G., &Rognan, D. (2000). Journal of medicinal chemistry. Journal of Medicinal Chemistry*,* 43, 4759-4767.

[14] Verdonk, M. L., Cole, C., Hartshorn, M. J., Murray, C. W., & Taylor, R. D. (2003). Proteins: Structure, Function, and Genetics. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 52, 609-623.

[15] Ewing, T. J. A., Makino, S., Skillman, A., & Kuntz, I. D. (2001). Journal of Computer-Aided Molecular Design. Journal of Computer-Aided Molecular Design, 15, 411-428.

[16] Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T., & Klebe, G. (1996). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. Journal of Molecular Biology, 261, 470-489.

[17] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., &Bajorath, J. (2004). Drug discovery. *Drug Discovery, 3,* 935-949.

[18] TIFOURAK, D. (2019). Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse.

[19] Grosdidier A. (2007), Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. [thèse de doctorat en pharmacie. grenoble: université joseph fourier]. France.. 90 p.

[20] Yakhleff, I., Reffesse, K. (2022). Étude par docking moléculaire de l'effet anti-inflammatoire des métabolites secondaires d'Ephedraalata .



Chapitre II

MATERIEL ET METHODES

II. Matériel et méthodes

II.1. La plante *Menthapulegium*

II.1.1.Description des menthes

Les Menthes, du nom latin Mentha, sont des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiacées, Autant les Menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride.

Ce sont des plantes peu exigeantes et se répandent rapidement quand elles sont dans un sol sableux, humifère et frais, et peuvent former des tapis aromatiques très décoratifs. Au soleil, elle attire également tous les insectes butineurs.

Il existe de nombreuses espèces de menthe sauvage dont certaines, telles *M. pulegium* et *M. rotundifolia*, poussent spontanément en Algérie. Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie **[01].**

II.1.2.*MenthaPulegium*

M. pulegium, est très répandue dans l'aire méditerranéenne, elle est connue sous le nom de « menthe pouliot ». Et fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique

En Algérie, *Menthapulegium L.* est très abondante et pousse spontanément, Elle se rencontre dans les zones humides et généralement marécageuses, près des routes, et elle est plus abondante dans les pâturages de montagnes **[02].**



Figure 1: La plante *Menthe pouliot*

II.1.2.1.Systématique de *M. pulegium*

La position qu'occupe Menthapulegium dans la systématique est la suivante **[03] :**

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Mentha
Espèce	Menthapulegium L.
Nom vernaculaire algérien	fliyou .

II.1.2.2. Description botanique

La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites ; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen, Le genre Mentha comprend 25-30 espèces présentes dans le monde.

Les Menthes sont des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des labiacées, elles se distinguent par la grande diversité de leurs usages et leur place importante en thérapeutique.

Tableau 1 :Dénomination d'espèces étudiées

Nom scientifique	Menthapulegium
Nom français	Menthe pouliot
Nom arabe/Kabyle	Fliou/Felgou
Synonymes	Herbes de saint. Laurant . Herbes aux puces. Petit baume.

II.1.2.3. Les constituants des extraits de la plante *Menthapulegium*

L'huile essentielle extraite de *Menthapulegium* renferme principalement de la pulegone (90,2%) ; les autres composants détectés, à des teneurs comprises entre 3,9% et 0,6%, sont respectivement le trans-acétate de piperitol, le menthol, l'α- terpinène, l'α-pinène et le myrcène.cette composition chimique est riche en pulégone **[04].**

Tableau 2 : Composition chimique des huiles essentielles de *M. pulegium*

IK	Constituant	M. pulegium
939	α-pinène	0,7
953	camphène	0,1
976	sabinène	0,5
980	β-pinène	0,2
991	Myrcène	0,6
1005	α-phellandrène	-
1018	α-terpinène	0,7
1031	Limonène	0,2
1050	β-ocimène	-
1143	Camphre	0,5
1165	Bornéol	-
1173	Menthol	1,3
1177	terpinène-4-ol	-
1213	trans-pulégol	0,3
1237	pulégone	90,2
1252	pipéritone	0,1
1273	acétateisopulégol	0,1
1336	trans-acétate de piperitol	3,9
1418	caryophyllène	0,2
1440	α-humulène	0,3
1606	époxide II humulène	0,1
1725	chamazulène	-
Total		**100%**

II.2. Molecular Operating Environment (MOE)

II.2.1. Introduction

Les développements rapides dans notre compréhension des structures biomoléculaires et de leur relation directe avec la fonction ont transformé la biochimie à un nouveau niveau. L'intégration de ces connaissances dans un cadre facilement disponible est essentielle et cela peut être réalisé par la visualisation des structures tridimensionnelles des biomolécules à l'aide de graphiques informatiques interactifs. En outre, la modélisation moléculaire joue un rôle important dans la conception de médicaments à structure basse dans les sociétés pharmaceutiques, les entreprises de biotechnologie et la recherche universitaire puisqu'elle est utile pour prédire les structures des macromolécules, ainsi que pour l'analyse des fonctions

chimiques et biologiques de ces molécules. Pour ces raisons, la modélisation moléculaire interactive est maintenant devenue une partie intégrée des cours standard de Biochimie et/ou de « Biomolecular Science » enseignés dans beaucoup d'universités**.**

Le MOE est très polyvalent et peut être utilisé sur une grande variété de plates-formes allant des ordinateurs Intel fonctionnant sous Microsoft Windows TM, Linux à Mac OS X, IBM eServer, Sun Microsystems, Hewlett-Packard et les systèmes SGI. Ce programme puissant est généralement disponible pour une utilisation en classe à un coût académiquement réduit. Nous avons trouvé la plate-forme PC (Windows) la plus utile pour nos objectifs **[05].**

II.2.2. Bases des données

II.2.2.1. La base des données PubChem

PubChem est une base de données américaine regroupant des informations sur les molécules chimiques, administrée par le « National Center for Biotechnology Information » (NCBI),une division de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la National Institut of Health (NIH).

PubChem répertorie en ligne, gratuitement, des millions de composés, accompagnés de données détaillées sur leurs propriétés biochimiques, chimiques, pharmacologiques, de fabrication et toxicologiques**[06]**.

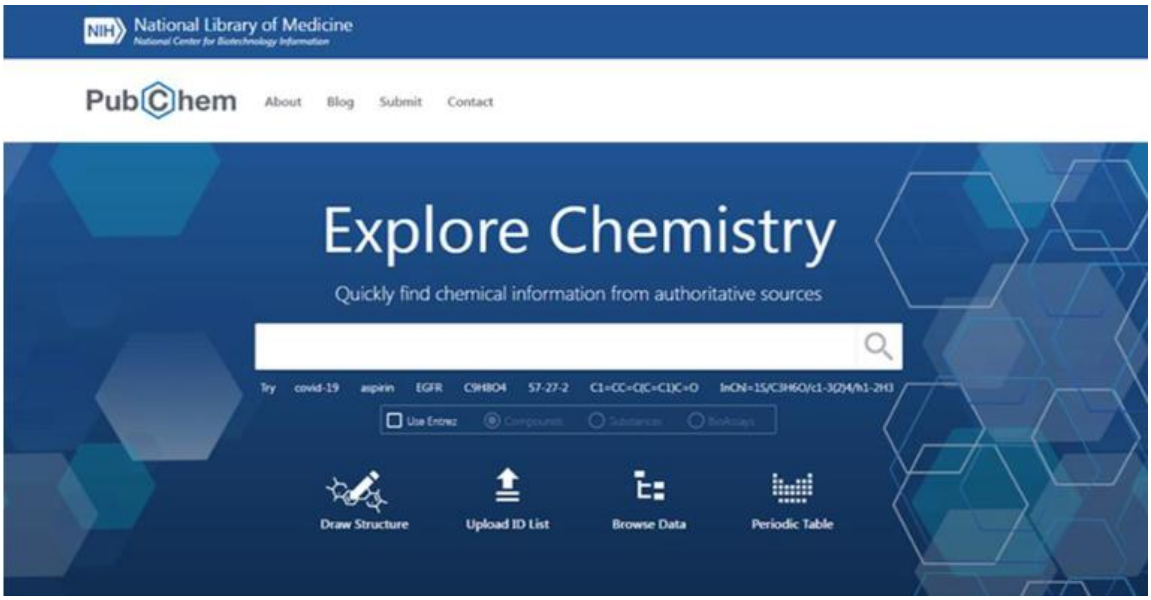


Figure 2 : Page d'accueil de la base des données PubChem.

II.2.2.2. Banque de données des protéines

La base de données protéiques RCSB (ResearchCollaboratory for Structural Bioinformatics), connue sous le nom de Protein Data Bank (PDB), a été utilisée pour obtenir la structure de protéinecibles. Cette base constitue la source principale d'informations en biologie structurale et offre un accès privilégié aux structures tridimensionnelles de protéines présentant un intérêt pharmaceutique **[07].**

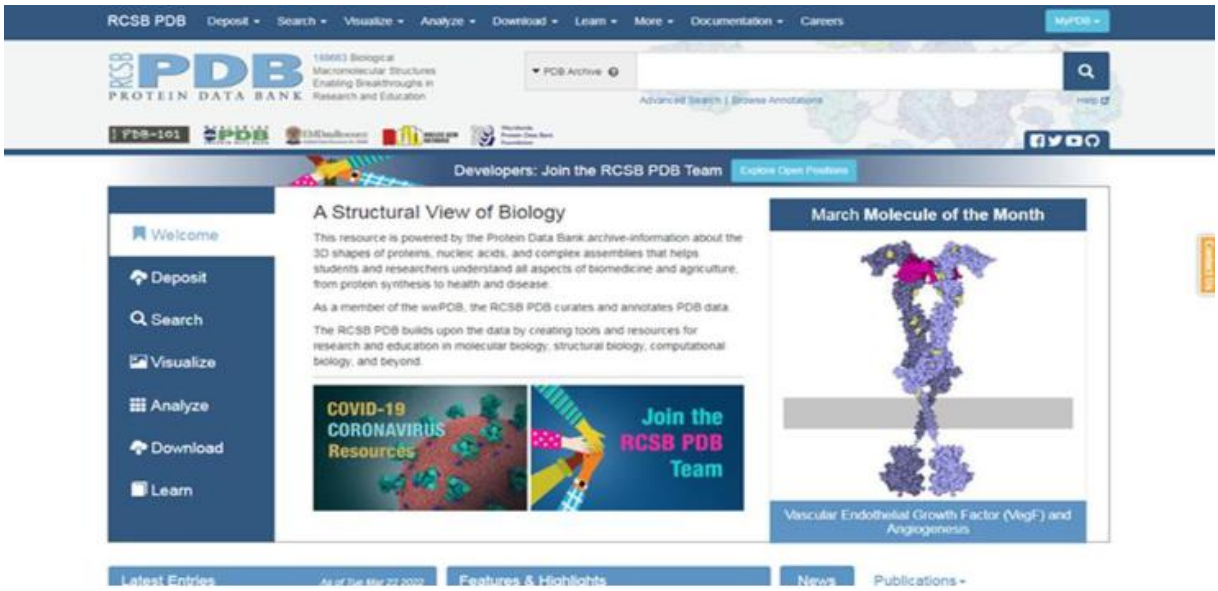


Figure 3: Capture d'écran de la page web de la base de données RCSB(https://www.rcsb.org/).

II.3. Programmes utilisés

II .3.1. SwissADME

Afin de compléter l'analyse in silico des ligands sélectionnés, une prédiction des propriétés pharmacocinétiques, de la biodisponibilité et de la "drug-likeness" a été réalisée à l'aide de l'outil en ligne **SwissADME** (http://www.swissadme.ch/), développé par l'Institut Suisse de Bioinformatique**[08]**.

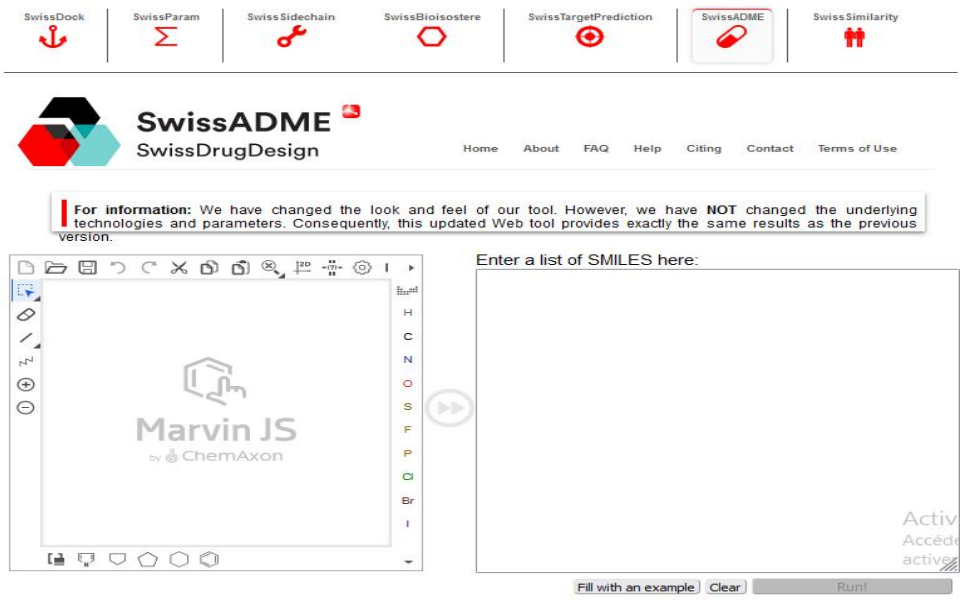


Figure 4: Interface principale de l'outil en ligne SwissADME

La structure canoniques SMILES de chacune de ces molécules a été copiée à partir de la base des données PubChem.

Tableau 3 : Smiles et identifiants des molécules testées.

ID-Pubchem	Composé	canonicalsmiles
689043	Acide caffeique	C1=CC(=C(C=C1/C=C/C(=O)O)O)O
5280445	Luteoline	C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O
5281792	Acide Rosmarinique	C1=CC(=C(C=C1C[C@H](C(=O)O)OC(=O)/C=C/C2=CC(=C(C=C2)O)O)O)O

II.3.1.1. Méthodes d'évaluation in silico des propriétés ADME

Les propriétés ADMET des candidats médicaments ou des substances chimiques sont essentielles en découverte de médicaments et en évaluation des risques environnementaux.

Pour qu'un médicament soit efficace, la molécule active doit atteindre sa cible en quantité suffisante et y rester assez longtemps sous forme bioactive. L'évaluation des propriétés ADME intervient de plus en plus tôt dans le développement, à un stade où les composés sont nombreux mais les échantillons physiques limités **[09].**

II.3.1.2. Propriétés physico-chimiques

- **La règle de Lipinski (règle des 5)**

Une molécule candidat-médicament doit pouvoir survivre dans l'organisme humain suffisamment longtemps pour pouvoir exercer cette activité biologique. Les propriétés d'ADME de ces molécules se vérifient lors de la première phase clinique, c'est-à-dire chez le sujet sain **[10].**

- Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da),
- Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté logP, doit être inférieur à 5,
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5,
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10.

Les composés dont les propriétés physico-chimiques ne respectent pas au moins 2 règles sont les plus susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméation.

- **Solubilité dans l'eau**

La solubilité dans l'eau est une mesure de la quantité de substance chimique pouvant se dissoudre dans l'eau à une température donnée. L'unité de solubilité est généralement exprimée en mg / L (milligrammes par litre) ou en ppm (parties par million).

II.3.1.3. Propriétés pharmacocinétiques :

- ✓ **Absorption gastro-intestinale (GI)**

Ce descripteur reflète la capacité d'un composé à franchir la barrière gastro-intestinale pour rejoindre la circulation sanguine, selon l'un des trois mécanismes : diffusion facilitée, diffusion passive ou transport actif.

- ✓ **La perméabilité BB**

La barrière hématoencéphalique (BBB) protège le système nerveux central en isolant le cerveau de la circulation sanguine. Formée par l'endothélium cérébral, elle limite l'entrée des grosses molécules et ne laisse passer que celles solubles dans l'eau, les lipides ou transportées sélectivement. Elle exprime aussi des transporteurs actifs, comme la glycoprotéine P, pour bloquer les neurotoxines lipophiles.

✓ **Inhibition de CYP 450**

Les cytochromes sont des protéines clés dans la production d'énergie cellulaire, jouant un rôle dans la chaîne respiratoire en tant que transporteurs d'électrons pour la synthèse d'ATP (adénosine triphosphate). Certains, comme les cytochromes P450, ont une activité enzymatique. Leur implication dans la métabolisation des médicaments n'a été reconnue que depuis les années 1980, à la suite d'interactions médicamenteuses ayant causé des effets indésirables graves.

II.4. Macromolécule (protéine cible, COX-2)

II.4.1. Introduction

La cyclooxygénase (COX), aussi appelée prostaglandine G/H synthase (PGHS), est une enzyme clé de la cascade de l'acide arachidonique, responsable de la production de médiateurs chimiques comme les prostanoïdes, impliqués dans l'inflammation.

La COX existe sous deux isoformes : COX-1, COX-2 :

a.La cyclooxygénase de type 1 (COX-1) :C'est une enzyme exprimée en permanence dans l'organisme. Son inhibition peut entraîner des altérations de la fonction rénale ainsi que des troubles gastro-ulcéreux.

b.La cyclooxygénase de type 2 (COX-2) :C'est une isoforme induite par certains stimuli, responsable d'une forte production de prostaglandines lors de l'inflammation, provoquant fièvre, douleur et gonflement. L'enjeu thérapeutique principal est de cibler spécifiquement cette isoforme.

Des recherches ont identifié une troisième isoforme, la COX-3, qui, toutefois, ne produirait pas de prostaglandines actives chez l'humain**[11].**

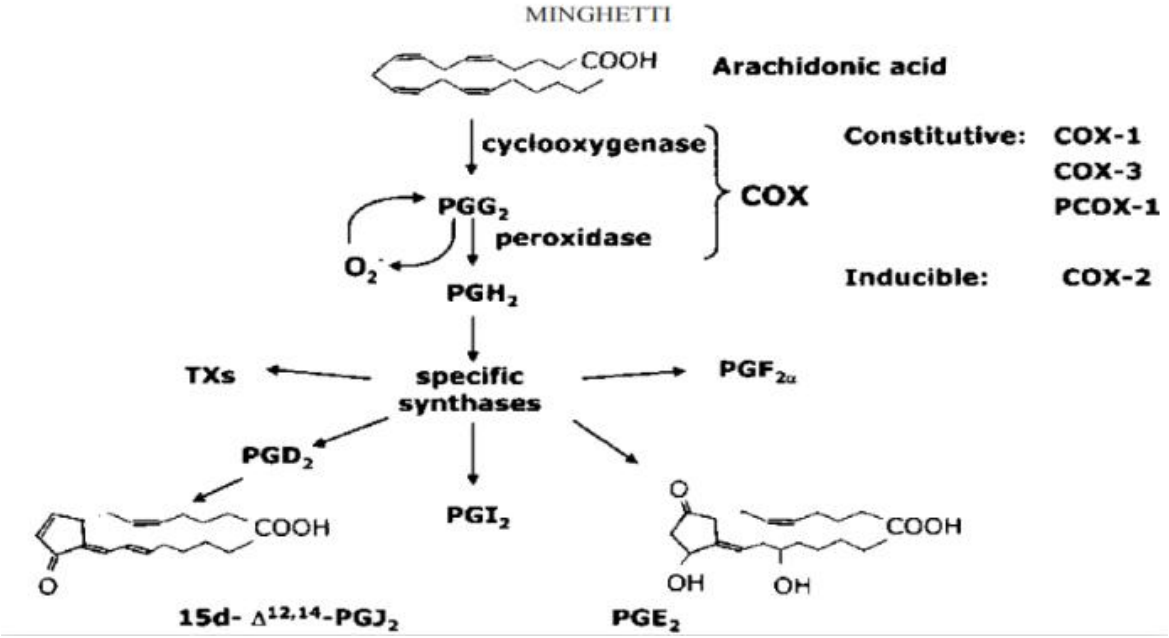


Figure 5: Voie de la cyclooxygénase.

II.4.2.La cyclooxygénase 2

II.4.2.1. Définition

Découverte au début des années 1990, la COX-2 a rapidement été liée aux phénomènes inflammatoires. Des études ont montré une augmentation de sa production en contexte inflammatoire, révélant son caractère inductible.

La COX-2 humaine, composée de 604 acides aminés pour une masse de 74 kDa, partage environ 60 % de similarité avec la COX-1. Inductible, elle est activée par l'inflammation et contribue à l'aggraver en produisant des prostaglandines pro-inflammatoires. La COX-2 est essentiellement une enzyme inductible, la COX-2 est aussi présente dans certains tissus comme le cerveau et les reins. On la retrouve physiologiquement dans la prostate, l'utérus, les testicules et les poumons, et dans l'ensemble des tissus après induction, où elle participe au maintien de fonctions vitales.

II.4.2.2. La structure

L’enzyme COX-2, dotée d’un site actif plus large adapté à la diversité de ses substrats, se localise dans le réticulum endoplasmique et surtout dans l’enveloppe nucléaire — sa zone d’activité privilégiée — notamment dans les monocytes, cellules endothéliales et fibroblastes.

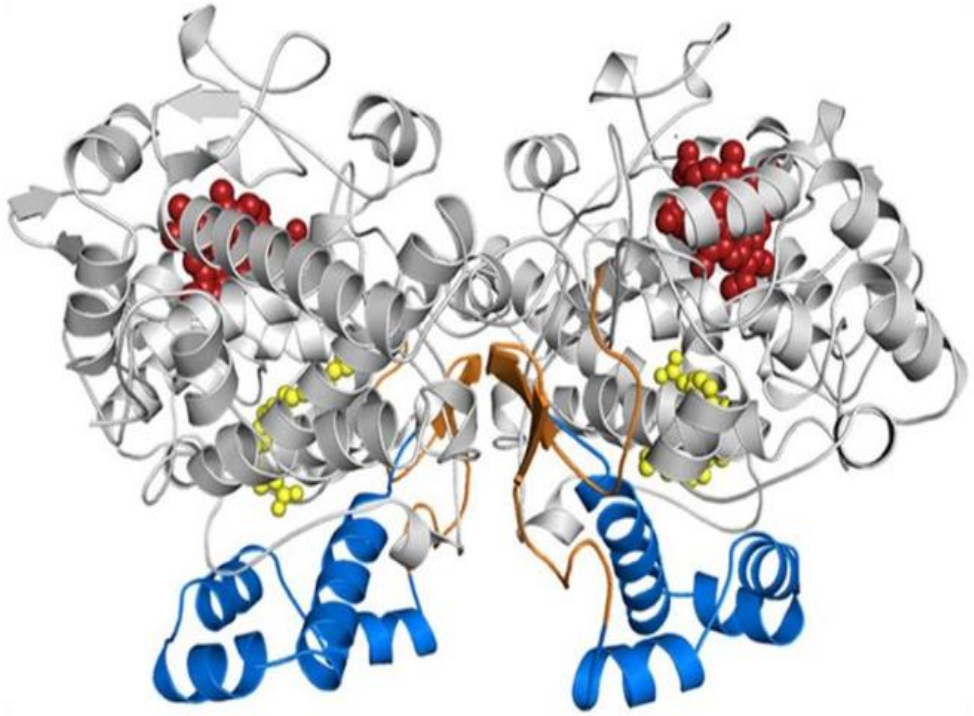


Figure 6: Structure 3D de COX-2.

II.4.2.3.Site actif de COX-2 et interaction

L'enzyme COX-2 contient deux sites actifs, un pour la liaison à l'oxygène et un pour laliaison au substrat. Le site a une affinité élevée pour le substrat, parce que la nature chimique des acides aminés du site et leur arrangement spatial forment une région complémentaire de certains groupements de la molécule de substrat. De plus, cette enzyme est également connue pour interagir avec d'autres protéines et lipides, ce qui en fait un acteur clé dans les voies de signalisation cellulaire et indiquant son rôle important dans les processus biologiques.

La découverte du site actif de la COX-2 a conduit au développement de plusieurs médicaments ciblant cette enzyme, comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les inhibiteurs sélectifs de la COX-2. Ces médicaments ont été utilisés pour traiter diverses affections, notamment l'arthrite, les crampes menstruelles et la douleur aiguë.Au cours des

dernières années, le site actif COX-2 a été étudié en profondeur en raison de son implication dans la pathogenèse de nombreuses maladies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives.

II.4.2.4. Structure du Site Actif de la COX-2

La structure 3D de la COX-2, déterminée en 1996 par Luong et Coll., a permis de constater une grande similitude entre les deux isoformes (COX-1 et COX-2), il existe environ 60% d'homologie dans les séquences peptidiques, et représente le site de liaison de l'acidearachidonique, des substrats naturels et des AINS. Il existe une très grande analogie dans les séquences d'aminoacides des deux isoenzymes, Ces enzymes, organisées en homodimères, sont globalement identiques, et présentent trois sous-domaines :

- ✓ Un domaine N-terminal « Epidermal Growth Factor like ».
- ✓ Un motif en hélice de liaison à la membrane ;
- ✓ Un domaine catalytique en C-terminal représentant environ 80% de la protéine.

Le site actif des deux isoformes de la COX présente quelques spécificités essentielles : la différence de trois acides aminés (Arg120, Tyr355 et Glu524) rend le site actif de la COX-2 plus grand et plus accessible. Ainsi, celui-ci comprend une poche de liaison au substrat supplémentaire du fait.Ces différences entre les sites actifs des deux isoformesde la COX sont à l'origine des mécanismes d'action distincts entre les AINS traditionnels et ceux qui sont spécifiques de la COX-2.

II.4.2.5. Les acides aminés du Site Actif de COX-2

Le site actif COX-2 est composé de plusieurs résidus d'acides aminés qui jouent un rôle clé dans la catalyse de la réaction enzymatique. Les aminoacides essentiels à la fixation du substrat (Arg120) ou à la réaction d'oxygénation (Tyr385) sont également retrouvés dans la COX-2. Toutefois, des remplacements ponctuels de certains résidus vont entraîner des modifications d'ordre stérique au niveau du site enzymatique. De plus, il existe deux acides aminés essentiels à l'activité de cyclooxygénation sur l'acide arachidonique.

• Tyr385 : situé au sommet du canal, il initie la réaction enzymatique et sert de passerelle vers le site de peroxidation, il est le principal intervenant de la réaction d'oxydation.

• Arg120 : son groupement guanidine intervient dans une liaison électrostatique avec la fonction acide de l'AA (ou de certains inhibiteurs de type anti-inflammatoires non stéroïdiens)

en entrée de tunnel et assure la bonne position du ligand, cet acide aminé étant le plus important pour l'activité de COX et le docking des AINS **[12].**

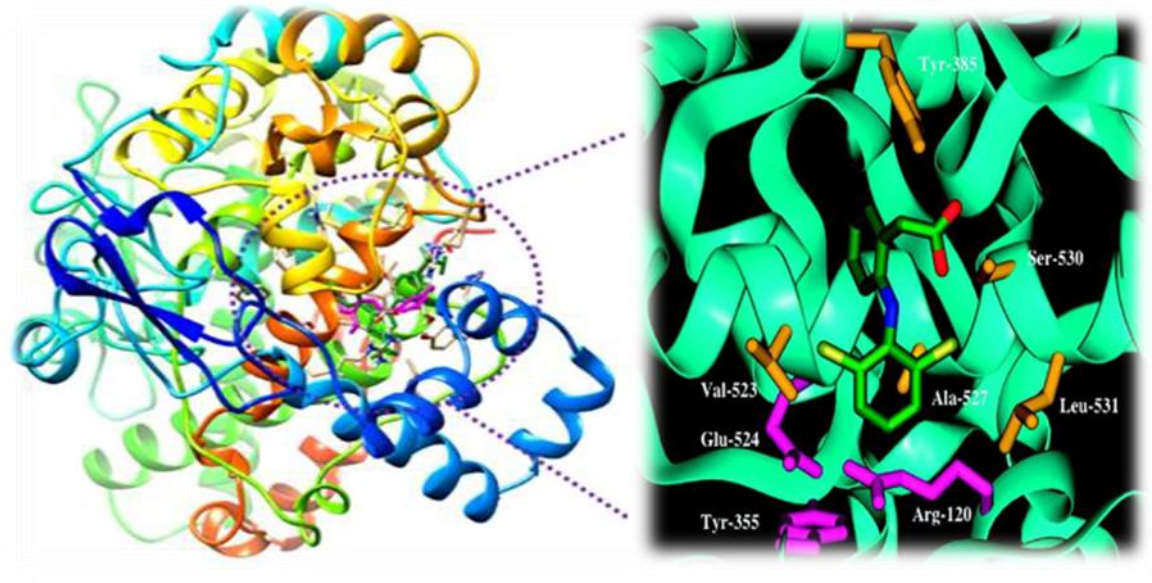


Figure 7: Sites actifs et structure 3D de la COX-2 avec ces acides aminés essentiel.

II.5. Docking moléculaire

II.5.1. Test de fiabilité deprogramme

La fiabilité des procédures est évaluée selon deux critères :

- L'écart quadratique moyen (RMSD) (Root Mean Square Déviation) entre la position initiale du ligand cristallin et celle obtenue après redocking avec MOE, un seuil maximal de 2Å est souvent utilisé pour discriminer une bonne position d'une autremauvaise.
- Une analyse visuelle des ligands analogues superposés aux ligands co-cristallisés.

II.5.2. Préparation de la protéine et de ligand

Les complexes protéine-ligand ont été téléchargés au format PDB à l'aide de leurs codes ID, puis les structures du ligand et de la protéine ont été préparées avant le docking.

- Les molécules d'eau ont été retirées pour la stabilité des protéines.
- Certains résidus non impliqués dans la catalyse enzymatique, tels que les sels et les métaux, sont supprimés.

- Les atomes d'hydrogène polaires ont étéajoutés.
- L'énergie des structures de la protéine et du ligand co-cristallisé a été minimisée à l'aide du champ de force Amber99 intégré dans MOE **[13].**

Références Bibliographique :

[01] Aliane, T, &Imrazene, O. (2020). Etude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de la menthe pouliot (*MenthapulegiumL.)* sur la bruche chinoise CallosobruchuschinensisL.(Coleoptera:Chrysomelidae) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

[02] Abou Nabila, .FarehKholoud (2017). Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de Menthapulegium L.

[03] SAIDI, G. (2023). Impact de l'huile essentielle de la fleur de *Menthapulegium* sur une espèce de moustique Culisetalongiareolata(Doctoral dissertation, Université EchahidChikh Larbi Tébessi-Tébessa).

[04] Hmiri, S., Amrani, N., &Rahouti, M. (2011). Détermination in vitro de l'activité antifongique des vapeurs d'eugénol et d'huiles essentielles de *Menthapulegium L*. et de Tanacetumannuum L. vis-à-vis de trois champignons responsables de la pourriture des pommes en post-récolte. Acta Botanica Gallica, 158(4), 609-616.

[05] Roy, U., & Luck, L. A. (2007). Molecular modeling of estrogen receptor using molecular operating environment. Biochemistry and MolecularBiology Education, 35(4), 238-243.

[06] Manal, A. B. D. (2022). Détermination de mode de liaison de la thymoquinone et ses dérivées contre la xanthine oxydoréductase avec la simulation informatique (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).

[07] Yakhleff, I., Reffesse, K. (2022). Étude par docking moléculaire de l'effet anti-inflammatoire des métabolites secondaires d'Ephedraalata .

[08] Aziza CHABIRA, Z. D.(2021) La prédiction in silico des propriétés ADME des molécules d'huile essentielle de Lavanduladentata.

[09] MALLEM Yousra, G. F.(2021) .La prédiction in silico des propriétés ADME des molécules des huiles essentielles d'Eucalybtusglobulus.

[10] MANSOURI, H. M. L.(2022). Etude par Docking moléculaire de l'effet anticancéreux des métabolites secondaires extraits d'Ephédra Alata

[11] Schwab, J. M., Schluesener, H. J., Meyermann, R., & Serhan, C. N. (2003). COX-3 the enzyme and the concept: steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics?.Prostaglandins, leukotrienes and Essential fattyacids, 69(5), 339-343.

[12] Aya, K. H. E. N. I. O. U. I., HOUSSINE, B., & CHEKROUD Zeyneb, C. (2023). Étude in silico des interactions de nouveaux inhibiteurs sur la Cyclooxygénase, cible enzymatique impliquée dans les phénomènes d'inflammation (Doctoral dissertation, University center of AbdalhafidBoussouf-MILA).

[13] Lamis, S. D. R.(2022) . Étude par docking moléculaire de l'effet antioxydant des métabolites secondaires extraits d'Ephedraalata.



Chapitre III

Résultats et discussion

III. Matériel et Méthode

III.1. Matériel

III.1.1. La plante *Menthapulegium*

La récolte d'échantillon de *M. pulegium*, a été effectuée en Janvier 2025 dans la wilaya de Tébessa, respectivement, à El Ma Labiodh, les feuilles de *Menthapulegium* séchées à l'ombre à une température ambiante pendant des semaines.



Figure 1 : La plante *M.pulegium*.

Les feuilles sèchesplacéesdans un endroit sec à température ambiante, et à l'abri del'humidité et la lumière jusqu'à son utilisation.

III.1.1.1. Macération et extraction

Dans le cadre de cette étude, l'extraction des composés bioactifs de la plante a été réalisée en plusieurs étapes. Tout d'abord, la plante, obtenue après séchage, a été soumise à une macération avec du méthanol pur pendant plusieurs jours à température ambiante, afin d'extraire efficacement les métabolites secondaires.



Figure 2 : Macération de la plante *M.pulegium*.

L'extrait méthanolique brut obtenu a ensuite été filtré puis concentré sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le concentré a ensuite été dilué dans de l'eau chaude, étape qui a permis de solubiliser les composés hydrophiles tout en facilitant l'élimination de la chlorophylle et d'autres impuretés non polaires. Ce filtrat aqueux a ensuite fait l'objet d'une extraction liquide-liquide séquentielle, débutée par l'éther de pétrole afin d'éliminer les composés lipophiles résiduels. Par la suite, des extractions successives ont été réalisées à l'aide de solvants de polarité croissante : le diéthyléther, l'acétate d'éthyle, puis le n-butanol. Chaque phase organique a été séparée, concentrée sous vide, puis conservée à température ambiante en vue des analyses phytochimiques.



Figure 3 : Montage de l'extraction liquide/liquide.

Le schéma suivant présente le protocole d'extraction pour chaque phase :

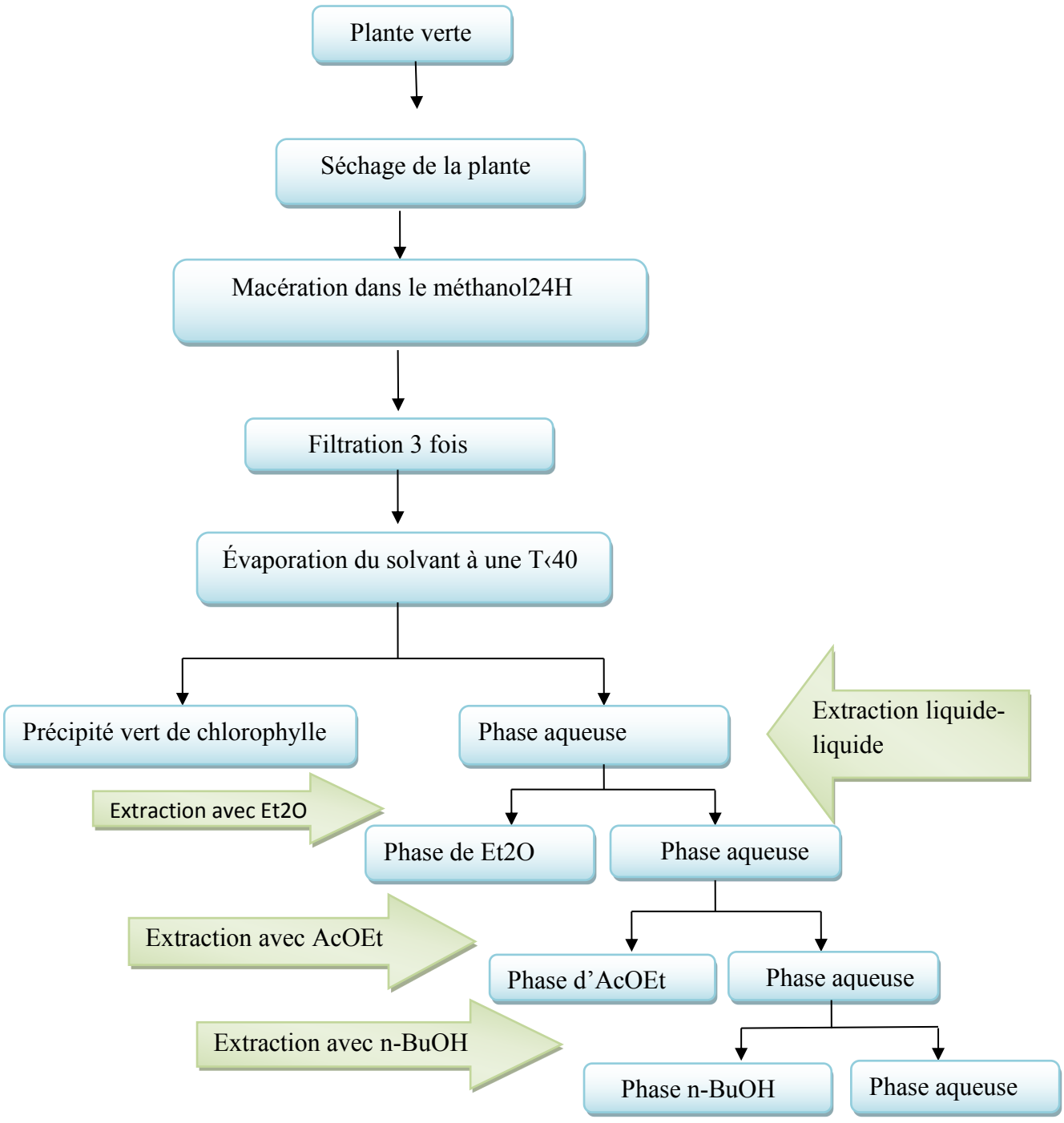


Figure 4 : Organigramme d'extraction et d'évaporation de la plante "*Menthapulegium*" .

III.1.1.2. Calcul du rendement

Le rendement d'extraction a été déterminé selon la formule :

Rendement (%) = $m_{extrait}/m_{plante}$ * 100

où :

- $m_{extrait}$ = masse de l'extrait sec obtenu.
- m_{plante}= masse de la plante sèche.

Tableau 1 : Les rendements obtenus de chaque extrait

Solvant	Masse d'extrait (g)	Rendement (%)
Éther diéthylique	0.4	0,25 %
Acétate d'éthyle	1	0,625 %
n-Butanol	3	1,875 %

.

III.1.2. Microordinateur

Dans le cadre de cette étude in silico, les simulations de docking moléculaire ont été réalisées à l'aide d'un ordinateur personnel équipé du système d'exploitation **Windows 8**. Cet environnement de travail a permis l'installation et le bon fonctionnement des logiciels nécessaires à la modélisation moléculaire, notamment [**MOE 2019**]. L'ordinateur utilisé disposait d'une configuration matérielle adéquate pour le traitement des calculs de docking, comprenant notamment un processeur multicœur, une mémoire vive suffisante (RAM) et un espace de stockage adapté à la gestion des fichiers de structures 3D, des résultats d'analyses et des rendus visuels. L'ensemble des simulations a été réalisé localement, sans recours à un serveur distant, assurant ainsi un contrôle direct sur les paramètres de calcul et la visualisation des interactions ligand-récepteur.

III.1.3. Matériel Biologique

III.1.3.1. Préparation de protéine

III.1.3.1.1. La cyclooxygénase-2 (COX-2)

Dans cette étude, la **cyclooxygénase-2 (COX-2)** a été sélectionnée comme cible moléculaire pour les simulations de docking. Il s'agit d'une enzyme clé impliquée dans le processus inflammatoire, catalysant la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines. COX-2 est une isoforme inductible de la cyclooxygénase, surexprimée en réponse à des stimuli pro-inflammatoires, et constitue une cible thérapeutique majeure dans le développement d'anti-inflammatoires sélectifs. La structure tridimensionnelle cristallographique utilisée dans ce travail correspond à la **protéine COX-2 humaine**, identifiée dans la **Protein Data Bank (PDB) sous le code 5JVY**.

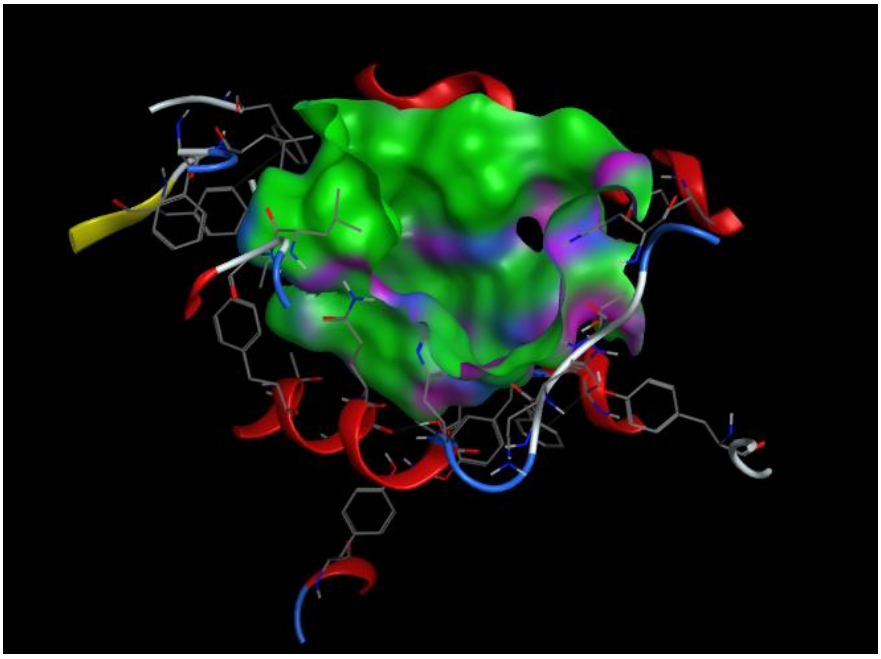


Figure 5 : Visualisation moléculaire de la structure cristallographique de COX -2 (5JVY) utilisée pour le docking moléculaire.

Le tableau ci-dessous représente les principales caractéristiques de la structure cristallographique de la cyclooxygénase-2 (COX-2) murine, mutant S121P, utilisée comme cible dans les études de docking moléculaire. Les données sont issues de la Protein Data Bank (PDB ID : 5JVY) et incluent des informations sur la méthode de résolution, les chaînes protéiques, les ligands co-cristallisés et la classification fonctionnelle de l'enzyme**[01]**.

Tableau 2 : Informations structurales et fonctionnelles de la protéine COX-2 (PDB ID : 5JVY).

Code PDB	5JVY
Organisme source	Mus musculus (souris)
Méthode de résolution	Diffraction des rayons X
Résolution	2,36 Å
Ligands co-cristallisés	COH, NAG, AKR, BOG
Les chaines	A , B
Ligand réf	COH
Classification	Oxidoreductase

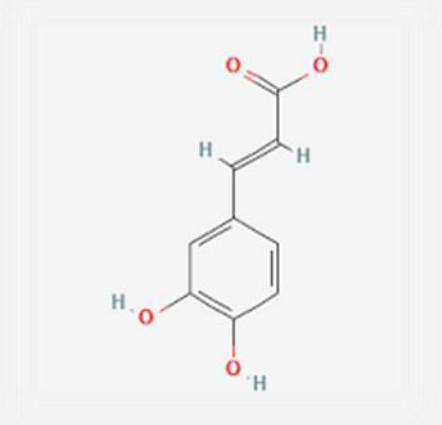
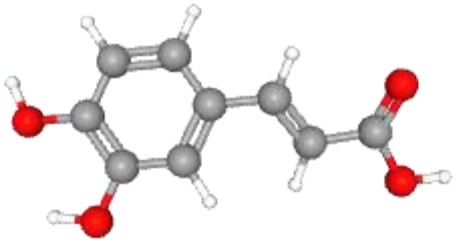
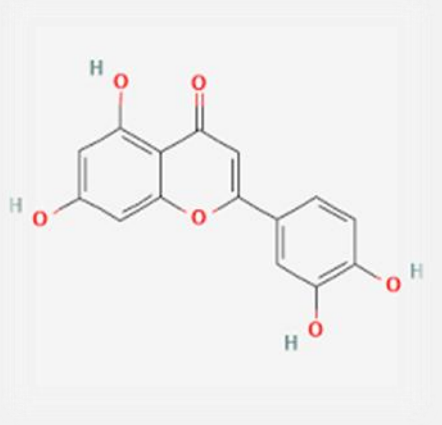
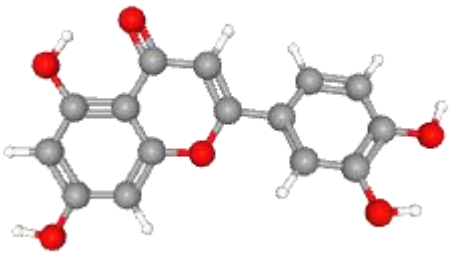
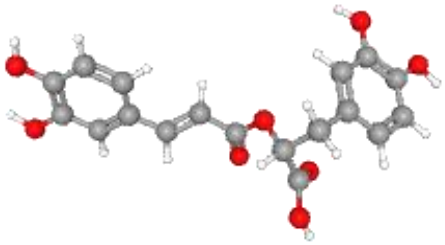
III.1.3.2. Préparation des ligands pour le docking moléculaire

Dans le cadre de cette étude in silico, les ligands sélectionnés pour le docking moléculaire sont des composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle extraite de la même espèce végétale étudiée. Ces molécules ont été choisies à partir des résultats rapportés dans une publication scientifique antérieure**[02]**, où une analyse détaillée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) avait permis d'identifier les constituants chimiques de l'huile essentielle. En raison de contraintes de temps et de l'indisponibilité d'équipements de caractérisation moléculaire, il n'a pas été possible d'effectuer l'analyse expérimentale des extraits de notre propre récolte. Ainsi, les composés utilisés dans cette étude ont été sélectionnés sur la base des données fiables publiées, dont les conditions d'extraction et d'analyse sont similaires à celles de notre démarche. Les structures 2D des molécules ont été récupérées à partir de bases de données chimiques publiques (PubChem), puis converties au format tridimensionnel (.mol). Elles ont ensuite été optimisées et préparées à l'aide du logiciel [MOE 2019], en vue de leur intégration dans le site actif de la protéine cible (5JVY).

III.1.3.2.1. Choix des molécules pour le docking

Dans le cadre de cette étude in silico, un ensemble de molécules a été sélectionné à partir de l'huile essentielle d'une plante médicinale déjà étudiée dans la littérature. Ces composés, identifiés dans une publication antérieure, ont été retenus à titre exploratoire, dans le but d'évaluer leur comportement potentiel vis-à-vis de la cyclooxygénase-2 (COX-2) par des techniques de docking moléculaire. Bien qu'aucune activité biologique n'ait été confirmée expérimentalement pour ces molécules dans le contexte précis de cette étude, leur présence majoritaire dans l'huile essentielle et leurs structures chimiques diversifiées en font des candidats intéressants pour une première évaluation théorique. Cette approche permet de proposer des pistes pour d'éventuelles investigations futures, notamment par des tests biologiques in vitro ou in vivo.

Tableau 3: Ligands sélectionnés pour l'analyse in silico

Ligand	Sturcture 2D	Sturcture 3D
Caffeicacid		
Luteolin		
Rosmarinic acid		

III.2.1.4. Le BOILED-Egg plot

Le BOILED-Egg plot de SwissADME est un excellent outil visuel pour prédire la biodisponibilité orale et la capacité de pénétration dans le système nerveux central (SNC) des molécules.

Le graphique BOILED-Egg (Figure 6) permet d'estimer la probabilité d'absorption gastro-intestinale (zone blanche) et la pénétration dans le système nerveux central (zone jaune) des ligands. Chaque point correspond à un ligand analysé. Les positions sont calculées à partir du log P (lipophilie) et de la polarité topologique (TPSA). Les molécules situées dans la zone blanche sont considérées comme ayant une bonne absorption orale, tandis que celles dans la zone jaune sont supposées capables de traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE). La coloration bleue des points indique les composés substrats de la glycoprotéine P, ce qui peut limiter leur biodisponibilité.

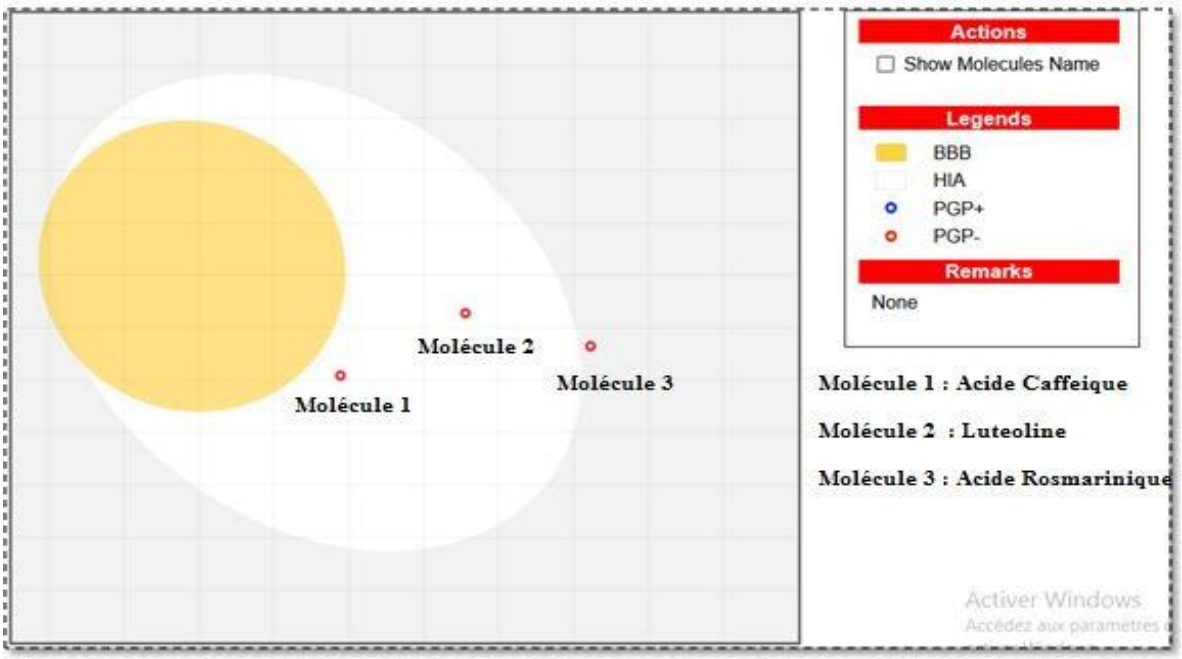


Figure 6 : Représentation BOILED-Eggdes trois ligands sélectionnés via SwissADME

L'analyse des trois ligands sélectionnés (acide caféique, lutéoline, acide rosmarinique) à l'aide du modèle BOILED-Egg de SwissADME permet de prédire leur potentiel de biodisponibilité orale et de passage à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE).

- Lutéoline se positionne généralement dans la zone blanche du graphique, ce qui suggère une bonne absorption gastro-intestinale. Elle se trouve en dehors de la zone jaune, indiquant une faible probabilité de pénétration dans le système nerveux central. Cette molécule ne semble pas être un substrat de la glycoprotéine P, ce qui est favorable à sa biodisponibilité.

- L'acide caféique, en raison de sa polarité relativement élevée (TPSA > 90 Å²), se situe souvent à la limite ou en dehors de la zone blanche, ce qui suggère une absorption intestinale modérée à faible. Il est également exclu de la zone jaune, montrant

une probabilité très faible de franchissement de la BHE. Il peut éventuellement être reconnu comme substrat de la glycoprotéine P, ce qui pourrait limiter davantage sa biodisponibilité.

- L'acide rosmarinique, du fait de sa structure plus complexe et de sa forte polarité (TPSA élevé), se positionne clairement en dehors de la zone blanche et de la zone jaune. Cela indique une faible absorption orale potentielle et une impossibilité de traverser la barrière hémato-encéphalique. Ce composé présente des caractéristiques peu compatibles avec une bonne perméabilité intestinale.

En résumé, la lutéoline apparaît comme le composé le plus favorable en termes d'absorption orale, tandis que l'acide rosmarinique présente des limites importantes à ce niveau. Ces prédictions ne remplacent pas les tests biologiques, mais fournissent une base théorique utile pour la hiérarchisation des candidats.

Le tableau 5 résume les principales propriétés pharmacocinétiques prédictives des ligands analysés, incluant la lipophilie (Log P), la solubilité, la surface polaire (TPSA), la conformité aux règles de Lipinski, ainsi que leur potentiel d'absorption intestinale et de passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE), telles que prédites par SwissADME.

Tableau 4 : Les propriété ADME de chaque molécule.

Propriété	Molécule 1	Molécule 2	Molécule 3
Poids Moléculaire	180.16 g/mol	286.24 g/mol	360.31 g/mol
H-accepteur	4	6	8
H-donneur	3	4	5
Log P	1.25	1.73	1.29
TPSA (surface polaire)	77.76	111.13	144.52
Absorption intestinale	Modérée	Bonne	FAIBLE
Passage BBB	Non	Non	Non

D'après les résultats du tableau on peut dire que :

- Lutéoline est la molécule la plus prometteuse en termes d'absorption orale et de conformité pharmacocinétique.

- L’acide rosmarinique, malgré son intérêt pharmacologique potentiel, présente des limitations importantes (faible absorption, forte polarité).
- L’acide caféique montre un profil intermédiaire, mais son statut probable de substrat P-gp pourrait nuire à son efficacité.
- Les trois sont < 500 → favorables pour la biodisponibilité orale
- TPSA > 140 (rosmarinique) : faible perméabilité membranaire.
- Faiblement lipophiles : favorisent la solubilité mais limitent la perméabilité.
- Tous sont modérément solubles (valeurs > −4 = acceptable pour la formulation orale).

III .2.2. Le docking moléculaire

III.2.2.1. Résultats et discutions

L’analyse des résultats du docking moléculaire des trois ligands — acide caféique, lutéoline et acide rosmarinique — sur la protéine COX-2 (5JVY) révèle des différences notables en termes d’affinité de liaison et d’interactions moléculaires.

Le tableau ci-dessous résume les valeurs des distances ainsi que les énergies et le type de liaison obtenues par le docking moléculaire**.**

Tableau 5 : Informations retenues du docking moléculaire avec 5JVY pour les troisligands.

		5JVY		
		Interaction	**Distance**	**Energie (kcal/mol)**
Acid Caféique	Position 1	H-donneur (PHE 211) pi-H (HIS 387)	2.97 4,19	-1.0 -0.6
	Position 2	H-donneur(ALA 200) pi-H(HIS 387)	2.87 4.10	-0.6 -1.0
	Position 3	H-donneur (THR 207) pi-H (HIS 387)	2.97 4.09	-0.5 -0.9
	Position 4	H-donneur(PHE 211) H-donneur(THR 207) pi-H(HIS 387)	2.94 3.07 4.07	-1.0 -0.5 -0.8
	Position 5	H-donneur (THR 207) pi-H (HIS 387)	3.05 4.16	-1.2 -0.7
Lutéoléine	Position 1	pi-H (LEU 392)	3.57	-0.5
	Position2	H-donneur (PHE 211) pi-H (HIS 208)	3.06 3.39	-0.7 -2.8
	Position 3	H-donneur (THR 207) pi-H (HIS 387) pi-pi (HIS 387)	3.04 4.15 3.68 3.75	-0.9 -0.9 -0.0 -0.0
	Position 4	pi-H (HIS 208) pi-H (HIS 387) pi-H(TRP 388)	3.69 4.37 4.45	-1.9 -0.5 -0.5
	Position 5	pi-H (HIS 387) pi-pi (HIS 387) pi-pi(HIS 387)	4.10 3.84 3.76	-0.7 -0.0 -0.0
Acide Rosmarinique	Position 1	H-pi (LEU 392)	4.27	-0.5
	Position 2	H-donneur(PHE 211) H-accepteur (ASN 383)	2.97 3.15	-0.9 -1.1
	Position 3	H-accepteur (ASN 383) H-accepteur (HIS 387) H-pi (HIS 387)	3.35 3.01 3.96	-0.8 -1.5 -1.1
	Position 4	H-donneur(THR 213) H-donneur(HIS 389)	3.03 3.00	-1.5 -2.1
	Position 5	H-donneur(PHE 211)	3.00	-0.8

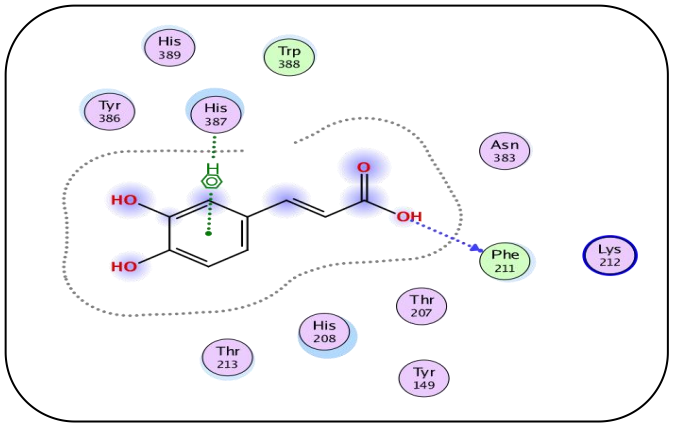
- La lutéoline se distingue par les valeurs d'énergie de liaison les plus forte, atteignant jusqu'à – 2.8 kcal/mol, ce qui suggère une interaction stable et potentiellement efficace avec le site actif de la protéine. Elle forme aussi plusieurs liaisons avec des résidus catalytiques clés tels que LEU 392, PHE 211,THR 207et HIS 208,HIS 387, et enfin le TRP 388, tout ça renforce sa capacité d'ancrage dans la poche active.

- L'acide rosmarinique, malgré sa taille et sa polarité plus élevées, affiche également des interactions stables (énergie minimale de −2.1 kcal/mol). Il montre des liaisons H-accepteur, H-donneur, H-pi, notamment avec LEU 392 et PHE 211, ASN 383, HIS 387,THR 213, HIS 389, ce qui reflète un bon potentiel de fixation.

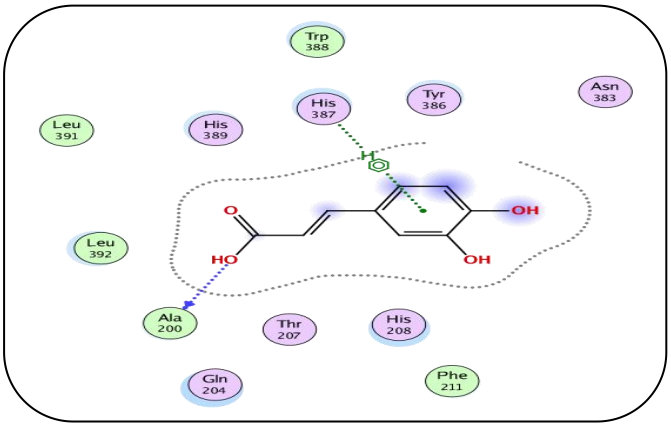
- Quant à l'acide caféique, il présente une affinité modérée (énergie variante entre −0.5 et −1.2 kcal/mol), avec des interactions moins nombreuses ou moins profondes dans le site actif. Sa taille réduite et son faible degré de conjugaison pourraient expliquer cette affinité plus faible.

Les figures 7,8,9 nous montre les interactions entre la protéine et les trois ligands dans ces 5 positions.

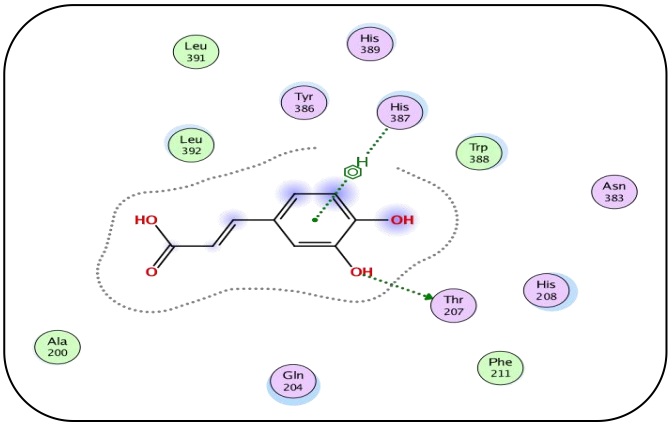
POSE 1



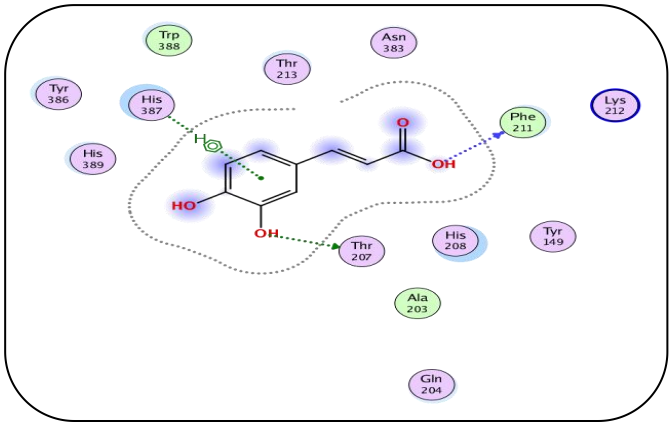
POSE 2



POSE 3



POSE 4



POSE 5

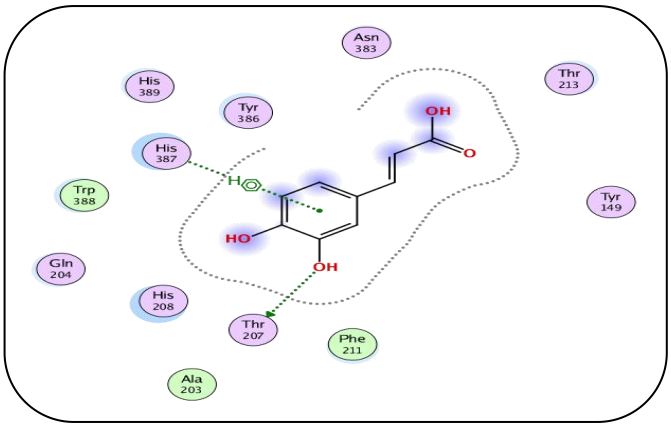
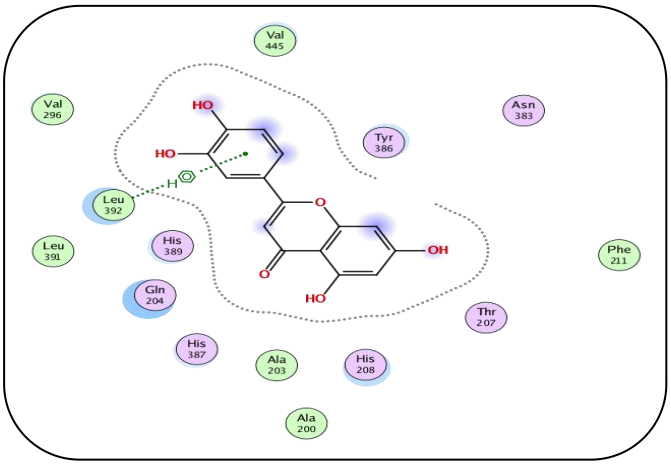
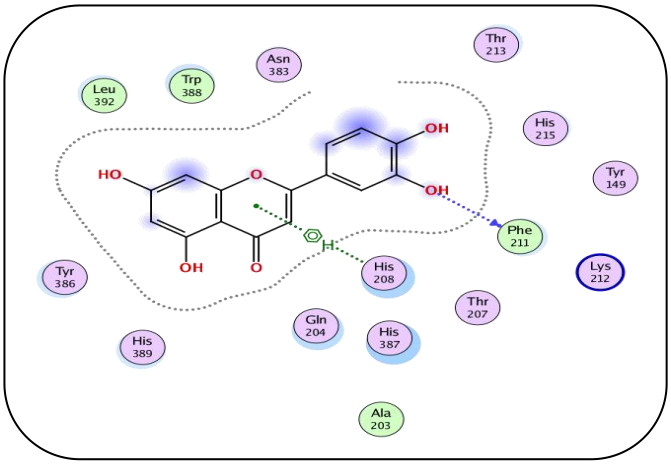


Figure 7: Les interaction entre le ligand « caffeicacid » et le site actif.

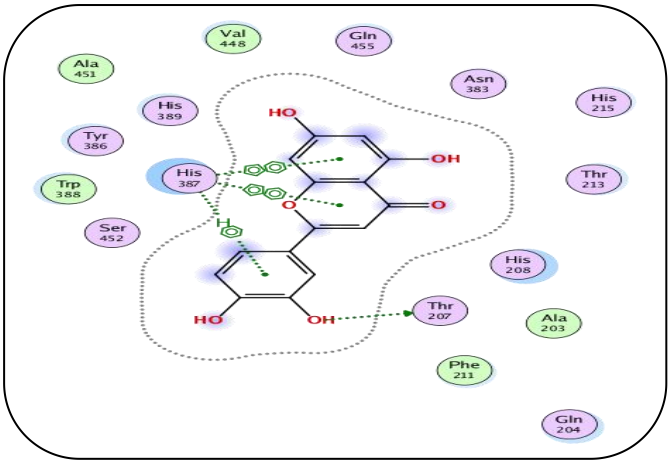
POSE 1



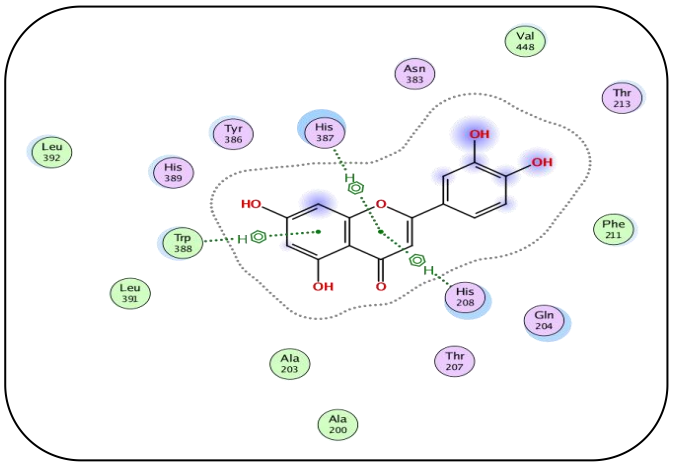
POSE2



POSE 3



POSE 4



POSE 5

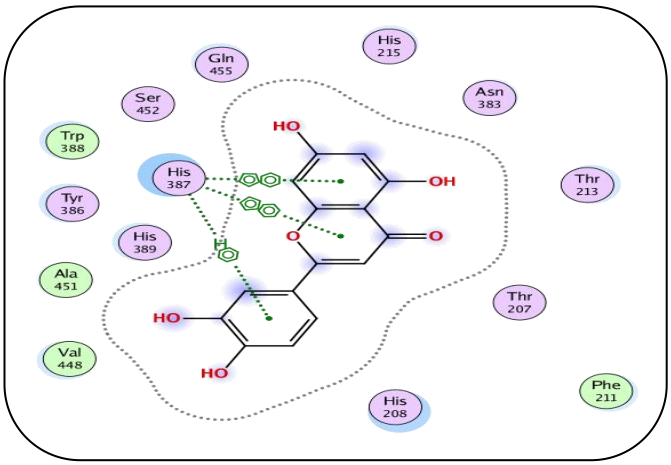
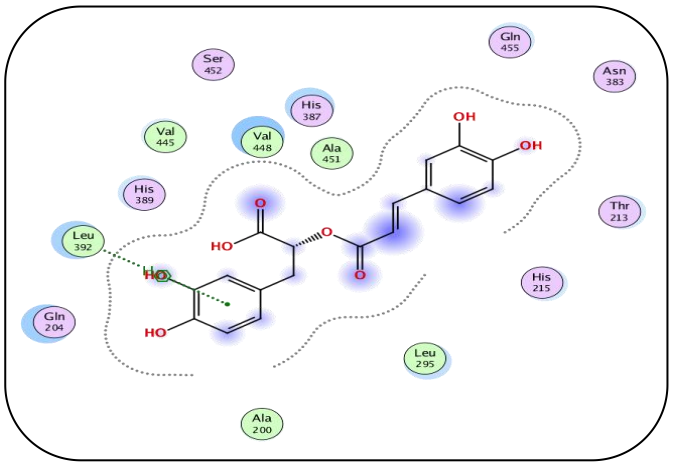
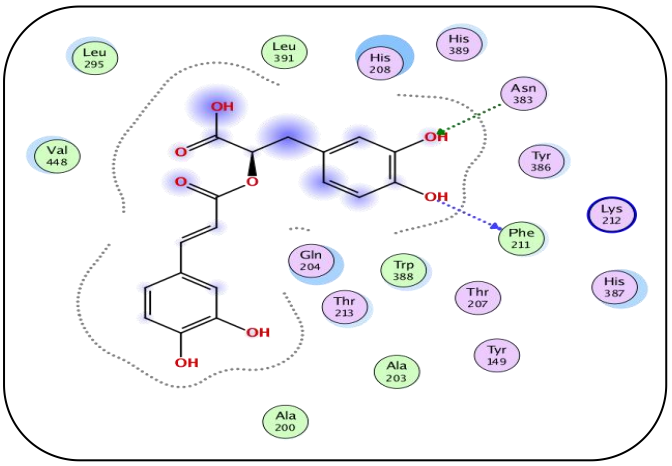


Figure 8 : Les interaction entre le ligand « Luteolin » et le site actif.

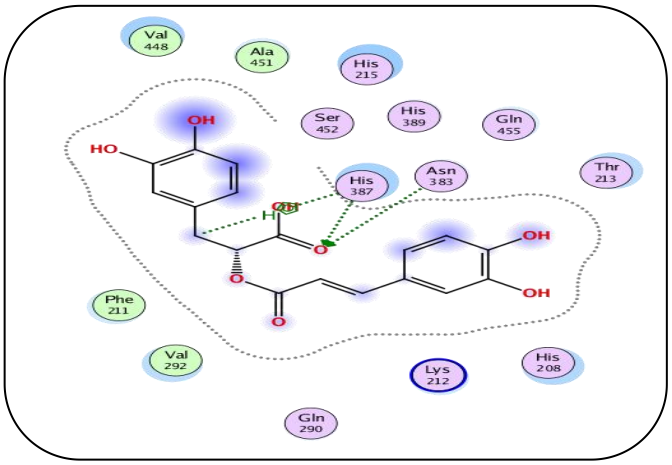
POSE 1



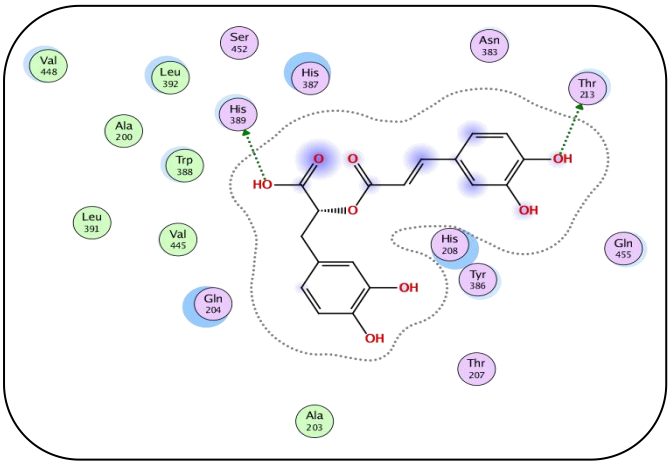
POSE 2



POSE 3



POSE4



POSE 5

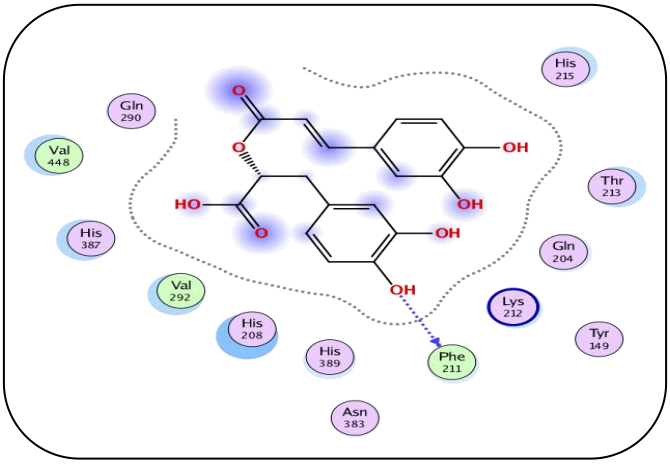


Figure 9 : Les interaction entre le ligand « rosmarinicacid » et le site actif .

Afin d'évaluer la stabilité et la qualité des interactions entre les ligands sélectionnés et la protéine cible COX-2 (PDB ID : 5JVY), une analyse de docking moléculaire a été réalisée. Pour chaque ligand, cinq poses ont été générées à l'aide du logiciel MOE, et les résultats ont été comparés en se basant sur deux critères principaux :

- Le score d'énergie de liaison exprimé en kcal/mol, qui reflète l'affinité entre le ligand et la protéine.
- La valeur RMSD (Root Mean Square Deviation), exprimée en Ångströms, qui mesure la variation de position entre les poses générées et la conformation de référence, et permet d'apprécier la stabilité de la pose obtenue.

Le tableau ci-dessous présente les valeurs obtenues pour chacun des ligands selon leurs cinq poses de docking.

Tableau 6: Score d'énergie de liaison et valeurs RMSD des 5 poses de docking pour chaque ligand.

Ligand	Pose	S (Kcal/ mol)	RMSD (Å)
Ligand 1 Acid Caféique	1	-5.1549	1.1743
	2	-5.1488	0.8552
	3	-5.1352	0 .9469
	4	-5.0674	1.1353
	5	-5.0115	1.0971
Ligand 2 Luteoline	1	-6.2181	1.9112
	2	-6.1610	1.2392
	3	-6.000	1.6546
	4	-5.9963	1.9120
	5	-5.9732	1.1403
Ligand 3 Acid Rosmarinique	1	-23.8155	1.9635
	2	-19.4841	1.9848
	3	-19.1240	1.8537
	4	-17.8084	1.6722
	5	-16.7199	1.3853

Les résultats du docking révèlent que, pour chaque ligand, la meilleure pose (Pose 1) est celle avec l'énergie de liaison la plus faible et un RMSD ≤ 2 Å, ce qui indique une pose fiable et stable.

- L’acide rosmarinique obtient le meilleur score global avec une énergie de liaison de -23.8155 kcal/mol et une RMSD de 1.9635Å, traduisant une pose bien optimisée dans le site actif. Ce résultat est cohérent avec sa forte capacitée d’interaction identifiée précédemment (liaisons H et stacking).
- Luteoline suit avec une énergie de -6.2181kcal/mol, montrant également un bon ancrage et une stabilité conforme (RMSD = 1.9112Å). Sa taille plus importante n’a pas compromis son positionnement.
- L’acide caféique, plus petit, présente la pose la moins favorable avec un score de -5.1549kcal/mol, bien que la valeur RMSD de 1.1743Å reste dans les limites acceptables.

Ces données confirment que les poses générées sont géométriquement cohérentes (RMSD < 2 Å) et que L’acide rosmarinique reste la molécule la plus prometteuse pour une interaction forte et stable avec la COX-2.

Références bibliographique

[01] Orlando, B. J., Malkowski, M. G., & Dong, L. (2016). Crystal structure of S121P murine COX-2 mutant (PDB ID: 5JVY). Retrieved fromMhttps://www.rcsb.org/structure/5JVY

[02] Jebali, J., Ghazghazi, H., Aouinti, C., Elbini-Dhouib, I., Ben Salem, R., Srairi-Abid, N., Marrakchi, N., &Rjiba, G. (2022). Tunisian native *Mentha pulegium*L. extracts: Phytochemical composition and biological activities.HAL Open Science.



Conclusion

Cette étude a exploré de manière approfondie le potentiel anti-inflammatoire des constituants naturels de Mentha pulegium en ciblant l'enzyme COX-2, combinant une analyse phytochimique rigoureuse et une modélisation avancée par docking moléculaire. En s'appuyant sur une méthodologie systématique, depuis la compréhension des principes fondamentaux du docking jusqu'à la préparation minutieuse de la cible protéique (COX-2, PDB: 5JVY) et des ligands d'intérêt (acide caféique, lutéoline, acide rosmarinique) isolés de Mentha pulegium, cette recherche a mis en évidence des interactions in silico prometteuses.

Les résultats des simulations computationnelles ont non seulement validé la robustesse de l'approche in silico par une confirmation des paramètres de docking, mais ont également révélé des profils pharmacocinétiques ADME favorables pour les composés étudiés, suggérant notamment une bonne absorption orale potentielle. Les simulations de docking, réalisées avec le logiciel MOE, ont démontré des affinités de liaison significatives entre les ligands sélectionnés et le site actif de la COX-2. Ces interactions sont caractérisées par des énergies de liaison favorables et des liaisons clés (hydrogène, interactions hydrophobes/pi) avec des résidus essentiels de l'enzyme. Parmi les molécules évaluées, l'acide rosmarinique s'est distingué par un mode de liaison particulièrement prometteur, impliquant des acides aminés essentiels tels que Leu 392, Phe 211, His 287, His 389, Thr 213, ainsi qu'un acide aminé non-essentiel, Asn 383, ce qui suggère un potentiel inhibiteur supérieur vis-à-vis de la COX-2. La lutéoline, quant à elle, a montré le profil le plus favorable en termes d'absorption orale selon les prédictions ADME.

Ces travaux constituent une base scientifique solide et fournissent une justification rationnelle pour la poursuite des investigations sur l'acide caféique, la lutéoline et l'acide rosmarinique en tant que candidats anti-inflammatoires dérivés de Mentha pulegium. L'approche in silico employée ici confirme son efficacité en tant qu'outil de criblage préliminaire, à la fois performant et économique. Il est cependant crucial de souligner le caractère prédictif de ces résultats. Une validation expérimentale approfondie, incluant des tests d'inhibition enzymatique in vitro et des études pharmacologiques in vivo, est désormais indispensable pour confirmer l'activité biologique postulée et évaluer le profil de sécurité de ces composés. Au-delà de la confirmation de ces pistes initiales, cette étude ouvre des perspectives stimulantes pour l'exploration d'autres métabolites de Mentha pulegium et pour des travaux d'optimisation structurale visant à concevoir des inhibiteurs de COX-2 encore

plus puissants et sélectifs, contribuant ainsi à l'avancement de la recherche de nouvelles thérapies anti-inflammatoires d'origine naturelle.