



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID
TLEMCEM



MEMOIRE

Présenter à

FACULTE DES SCIENCES DEPARTEMENT
DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité Chimie des Produits Naturels

Par :

M^{lle} MELLAL Meriem

**Elucidation théorique et expérimentale de l'activité anti-
inflammatoire de "*Inula viscosa*" qui est utilisée en médecine
traditionnelle dans la région de Tlemcen et vérification théorique
de l'activité des extraits contre le cancer**

Soutenu le 27 Septembre 2020 devant le jury composé de :

Mme MERAD Nouria	MCA	Université de Tlemcen	Présidente
Mme GHOMRI Amina	MCA	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mr MISSOUM Nouredine	MCB	Université de Chlef	Encadrant

2019-2020

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À ma chère et honorable mère BENHADOU Fatima

Vous représentez pour moi la source de la tendresse et l'exemple de la fidélité. Vous avez fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je vous dédie ce travail en signe de mon profond amour. Que Dieu Tout-Puissant vous protège et vous chérisse santé, longévité et bonheur.

À mon cher père, MELLAL Fouad

Pour moi, vous avez toujours été l'exemple d'un père respectueux et honnête. Je voudrais vous remercier pour votre amour, votre générosité et votre compréhension...Cet humble travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

Mes trois chers frères, Benouda, Abdeljalil Yassine, Mohamed Amine

Vous avez toujours été présent dans mon cœur. Votre passion et votre soutien m'ont beaucoup aidé toute ma vie, je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

À mes grands parents maternels et paternels.

À tous les membres de ma famille, petits et grands.

À tous mes amis

Et à tous ceux qui me sont chers.

MELLAL Meriem

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu Tout-Puissant, le miséricordieux de m'avoir donné la santé, le courage et la volonté d'accomplir ce travail qui a été réalisé au sein du Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives LASNABIO de la Faculté des Sciences de l'Université de Tlemcen.

Je tiens à remercier énormément la première personne Monsieur MISSOUM Noureddine MCB à Université de Chlef, pour sa patience, sa disponibilité, son aide, son objectivité et surtout de m'avoir donné l'opportunité de bénéficier de ses connaissances scientifiques et ses sages conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

J'exprime mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance à madame MERAD Nouria, MCA qui m'a honoré de sa présence en acceptant de présider le jury de cette soutenance.

J'adresse mes plus vif remerciement à Madame GHOMRI-MEDJDOUB Amina MCA à l'Ecole supérieure des Sciences appliquées de Tlemcen d'avoir accepté de juger mon travail, prendre le temps pour m'écouter et même pour ses critiques constructives et ses qualités personnelles et professionnelles.

Mes remerciements à Monsieur ALLALI Houcine pour ses conseils éclairés, et pour son soutien et son aide.

Ma gratitude va également au responsable du Master CPN le Pr. Mohamed el Amine DIB pour ses conseils et son orientation durant mes études en Master et à tous les professeurs et les enseignants de département de chimie qui nous ont enseigné et qui nous ont soutenus par leurs compétences dans la poursuite de nos études.

MELLAL Meriem

Liste des tableaux

Tableaux	TITRES
CHAPITRE II	
N°01	Les parties de la plante d' <i>Inula viscosa</i>
N°02	Classification de la plante d' <i>Inula viscosa</i>
N°03	La composition chimique de l'HE d' <i>inula viscosa</i> par hydrodistillation en Algérie
CHAPITRE IV	
N°04	Les champs de forces
CHAPITRE V	
N°05	Les caractéristiques des récoltes d' <i>Inula viscosa</i>
N°06	Les propriétés organoleptiques
CHAPITRE VI	
N°07	Les propriétés chimiques des ligands étudiés
N°08	Les propriétés des ligands étudiés
N°09	Les données cristallographiques de l'enzyme
N°10	Résultats de Rmsd de ligand de référence
N°11	Résultats du Docking moléculaire des différents inhibiteurs avec COX 1
N°12	Energies des molécules étudiées
N°13	Les interactions avec le ligand de référence de COX1
N°14	Les propriétés chimiques des ligands étudiés
N°15	Les propriétés des ligands de étudiés
N°16	Les données cristallographiques de l'enzyme mTOR
N°17	Résultats de Rmsd de ligand de référence
N°18	Résultats du Docking moléculaire des différents ligands avec mTOR
N°19	Energies des molécules étudiées
N°20	Interactions avec le ligand de référence de mTOR (RAP)
N°21	Interactions avec le ligand T2
N°22	Interactions avec le ligand T3
N°23	Interactions avec le ligand T4
N°24	Interactions avec le ligand T5
N°25	Interactions avec le ligand A1

Liste des figures

FIGURES	TITRES
<u>CHAPITRE I</u>	
N°01	Les marqueurs cliniques de l'inflammation
<u>CHAPITRE II</u>	
N°02	Les tiges de l' <i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)
N°03	Les fleurs de l' <i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)
N°04	Les feuilles de l' <i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)
N°05	Les fruits d' <i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)
N°06	Les racines d' <i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)
N°07	La répartition géographique d' <i>Inula viscosa</i> dans le bassin méditerranéen
<u>CHAPITRE III</u>	
N°08	La structure des composés des terpènes et des terpénoïdes
N°09	La structure Hydroxytoluène butylé
N°10	Montage d'hydrodistillation
N°11	Montage d'entraînement à la vapeur d'eau
N°12	Montage d'extraction par micro-onde
N°13	Montage d'extraction par solvant
<u>CHAPITRE V</u>	
N°14	Les feuilles d' <i>Inula viscosa</i> séchées
N°15	Le montage d'hydrodistillation du type Clevenger (LASNABIO)
N°16	La séparation des deux phases
<u>CHAPITRE VI</u>	
N°17	Protocole de calcul pour le Docking moléculaire
N°18	Les structures des ligands de COX1 (inuviscolide et ses dérivés)
N°19	COX1 téléchargée
N°20	COX 1 simplifiée
N°21	Le site actif de l'enzyme COX1
N°22	Diagramme 3D de ligand de référence de COX 1 validée
N°23	Diagramme d'interaction entre COX 1 et C1
N°24	Diagramme d'interaction entre COX 1 et C2
N°25	Diagramme d'interaction entre COX 1 et C3
N°26	Diagramme d'interaction entre COX 1 et C4
N°27	Diagramme d'interaction entre COX 1 et C5
N°28	Les structures des ligands de mTOR
N°29	mTor téléchargée

N°30	mTOR simplifiée
N°31	Le site actif de l'enzyme mTOR
N°32	Diagramme 3D de ligand de référence de mTOR validée
N°33	Diagramme d'interaction entre mTOR et I1

Liste des abréviations

PAM : Plante aromatique et médicinale	MOE : Molecular Operating Environment
HE : Huile essentielle	IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry
IV : <i>Inula viscosa</i>	CID : Compound ID
AIS : Anti-inflammatoires Stéroïdiens	Rmsd : Root-Mean-Square Deviation
AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens	TPSA : Topological polar surface area
PLA2 : Phospholipase A2	N ROT : Nombre de rotation
AA : Acide arachidonique	H-don : H-donneur
COX1 : Cyclooxygénase-1	H-acc : H-accepteur
PGHS1 : Prostaglandine G / H synthase 1	Log S : Coefficient de solubilité
COX2 : Cyclooxygénase -2	Log P : Coefficient de partage
THS : Traitement hormonal substitutif	S : Score
mTOR : Mechanistic Target of Rapamycin	DIF : Diclofénac
PIKK : Phosphoinositidekinase-related kinase	VDW : Van Der Waals
RAPTOR : Regulatory associated protein of TOR	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
RICTOR : Rapamycin insensitive companion of TOR	A° : Angstrom
AFNOR : Association Française de Normalisation	RH+ : Récepteurs hormonaux positifs
IR : Indice De Réfraction	RE : Récepteurs aux estrogènes
MM : Modélisation moléculaire	RP : Récepteurs à la progestérone
DM : Dynamique moléculaire	RAP : Rapamycine
E l : L'énergie de liaisons covalentes	Arg : Arginine
E θ : L'énergie d'angles de valence	Ser : Sérine
E τ : L'énergie de torsion des angles dièdres.	Tyr : Tyrosine
E ω : L'énergie de dièdres impropres	Asp : Aspartate
E_{vdw} : L'énergie d'interaction entre les atomes non liés.	Gln : Glutamine
E_{élec} : L'énergie d'interaction électrostatique	Gly : Glycine
	Ile : Isoleucine
	Lys : lysine

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION GENERALE	01
CHAPITRE I : LE PROCESSUS DE L'INFLAMMATION ET DU CANCER DU SEIN	
I.PROCESSUS DE L'INFLAMMATION	03
I.1. Généralité sur l'inflammation	03
I.2. Étiologies	03
I.3. Types d'inflammation.....	03
I.4. La réaction inflammatoire	03
I.4.1. Phase vasculaire (vasculo-exsudatifs)	04
I.4.2. Phase cellulaire (amplification)	04
I.4.3. Phase de réparation et cicatrisation	04
I.5.Traitements.....	04
I.5.1. Les Anti-inflammatoires Stéroïdiens (AIS) ou Corticoïdes	04
I.5.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	04
I.6. L'enzyme responsable a l'inflammation	04
II.LE CANCER DU SEIN	05
II.1. L'épidémiologie	05
II.2. Les facteurs de risque et de protection	05
II.3. Les œstrogènes et les récepteurs ostrogéniques.....	06
II.4. La protéine de Mechanistic Target of Rapamycin	06
II.5. La thérapie ciblée dans le cancer du sein	07
CHAPITRE II : ETUDE BOTANIQUE DE L'INULA VISCOSA	
I.LA DESCRTIPTION BOTANIQUE DU GENRE Inula	08
II.DEFINITION DE LA PLANTE InulaViscosa	08
III.CLASSIFICATION DE L'Inula Viscosa	09
IV.CARACTERISTIQUE DU SOL	10
V.REPARTITION GEOGRAPHIQUE	10
VI.TRAVAUX ANTERIEURS	10
VI.1 Travaux antérieurs sur la composition de l'HE d'inula viscosa.....	11
VI.2 Les travaux antérieurs sur les propriétés thérapeutiques.....	12
CHAPITRE III : LES HUILES ESSENTIELLES	
I.DEFINITION D'UNE HUILE ESSENTIELLE	13
II.CARACTERISTIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	13
III.PROPRIÉTÉS PHYSIQUES	13

III.1. Densité (Masse Volumique)	13
III.2. Le Potentiel d'Hydrogène (pH)	13
III.3. Le Pouvoir Rotatoire	14
III.4 Indice de Réfraction (IR)	14
IV.COMPOSES CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	14
IV.1. Les terpènes et les terpénoïdes	14
IV.2 Les Composés Aromatiques	15
IV.3 Autres Composés	15
V.TOXICITE DES DES HUILES ESSENTIELLES.....	15
VI.METHODES D'EXTRACTION	15
VI.1 Hydro-Distillation (Water Distillation)	16
VI.2 Distillation à Vapeur d'Eau (Stream distillation).....	16
VI.3 Technique CO ₂ Supercritique.....	16
VI.4 Extractions Par Micro-onde.....	17
VI.5 Extraction Par Solvant (Soxhlet)	17
CHAPITRE IV : METHODE DE MODELISATION MOLECULAIRE	
INTRODUCTION	18
I.METHODE NON QUANTIQUE	19
I.1. Mécanique moléculaire	19
<i>I.1.1. Fonction d'énergie potentielle</i>	19
<i>I.1.2. Différents types de champs de force en mécanique moléculaire</i>	20
I.2. Dynamique moléculaire	21
<i>I.2.1. Thermalisation</i>	21
<i>I.2.2. Equilibration</i>	21
<i>I.2.3. Dynamique productive</i>	21
I.3. Docking moléculaire	21
<i>I.3.1. Docking (première étape)</i>	21
<i>I.3.2. Scoring (deuxième étape)</i>	21
CHAPITRE V: RESULTATS ET DISCUSSION (PARTIE EXPERIMENTAL)	
I.MATERIELS ET METHODES	22
I.1. Préparation du matériel végétal	22
<i>I.1.1. Récolte du matériel végétal</i>	22

<i>I.1.2. Séchage de la plante</i>	22
I.2. Huiles essentielles	23
<i>I.2.1. Extraction de l'HE par hydrodistillation</i>	23
<i>I.2.2. Mode opératoire</i>	23
<i>I.2.3. Le rendement</i>	23
II.RESULTATS ET DISCUSSION	24
II.1. L'extraction de l'huile essentielle	24
<i>II.1.1. Le rendement</i>	24
<i>II.1.2. Les propriétés organoleptiques</i>	24
CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)	
INTRODUCTION	25
A. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE	
I.MATERIELS ET METHODES	26
I.1.Matériels	26
<i>I.1.1. Logiciel utilisé</i>	26
<i>I.1. 2. Présentation de l'enzyme COX1</i>	26
<i>I.1.3. Présentation des ligands</i>	27
<i>I.1.4. Les propriétés des ligands</i>	28
I.2. Méthodes	29
<i>I.2.1. Préparation de l'enzyme</i>	29
<i>I.2.2. Préparation des ligands</i>	31
I.3.Docking moléculaire	31
II. Résultats et discussion de COX1	31
II.1. Docking et Énergie d'interaction	31
II.2. La distance	33
II.3. Discussion	35
B. ACTIVITE ANTICANCEREUSE	
INTRODUCTION	36
I.MATERIEL ET METHODE	37
I.1.Matériels	37
<i>I.1.1. Présentation de l'enzyme mTOR</i>	37
<i>I.1.2. Présentation des ligands</i>	38
<i>I.1.3. Les propriétés des ligands</i>	39
I.2. Méthodes	40
<i>I.2.1. Préparation de l'enzyme</i>	40

<i>I.2.2. Préparation des ligands</i>	41
I.3. Docking moléculaire	41
II. Résultats et discussion de Mtor	42
II.1. Docking et Énergie d'interaction	42
II.2. La distance	43
II.3. Discussion	47
CONCLUSION GENERALE	49
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	51
Résumé	

*INTRODUCTION
GENERALE*



INTRODUCTION GENERALE

Depuis antiquité, les plantes sont utilisées dans l'alimentation, les préparations médicinales, chauffage, parfumeries et même pour les rites religieux. Jusqu'à maintenant, elles sont utilisées pour se soigner contre les maladies, bien qu'il existe des chimistes essayent de synthétiser des nouveaux composés, ayant même effets thérapeutiques [1].

Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) sont connues par la richesse en principes actifs, ce qui permet leur utilisation dans différents domaines : cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire...

Les huiles essentielles (HEs) sont extraites à partir des plantes aromatiques, ces plantes appartiennent à certaines familles de Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées. Elles ont des activités biologiques, pharmaceutiques ou elles sont utilisées comme des bases des parfums ou comme des additifs alimentaires. Elles étaient utilisées pour la conservation des momies. Les HEs sont stockées dans les fleurs, les feuilles, les fruits, les graines, les racines.

L'Algérie est un pays méditerranéen avec une grande variabilité climatique ce qui signifie une grande variété des plantes (2840 espèces dont 256 plantes endémiques spécifiques ce qui se traduit par un taux de 9.01% d'espèces endémiques), mais malheureusement qu'elles restent une culture traditionnelle. La valorisation des ressources végétales permet de développer l'économie nationale [2].

Dans le cadre de valorisation des PAM poussé en Algérie et leurs vertus médicinales nous avons étudié la plante médicinale : Aunée visqueuse.

Inula viscosa (IV) est une plante médicinale très ancienne, pousse dans les alentours de bassin méditerranéen. Elle est très utilisable dans la médecine traditionnelle dans la région de Tlemcen.

Objectif de notre travail est de valoriser la plante d'*inula viscosa* et mettre en évidence les composantes principales responsables de l'activité anti-inflammatoire et anticancéreuse de son HE, en utilisant la méthode de la modélisation moléculaire.

INTRODUCTION GENERALE

Ce travail s'organise autour de six chapitres :

- **Le premier chapitre** est axé sur le processus inflammatoire et le cancer du sein hormono-dépendant dans lesquels nous avons cité une généralité sur l'inflammation, l'étiologie, le traitement et l'enzyme impliquée et pour le cancer nous avons également cité les facteurs de risque, l'enzyme impliquée et la thérapie ciblée.
- **Le deuxième chapitre** est consacré à la description botanique d'*Inula viscosa*, utilisation traditionnelle et les travaux publiés sur la composition chimique et les propriétés thérapeutiques.
- **Le troisième chapitre** est porté sur les huiles essentielles, ses caractéristiques, sa composition et les différentes méthodes d'extraction.
- **Le quatrième chapitre** est basé sur la méthode de modélisation moléculaire et surtout sur les méthodes non quantiques qui contiennent mécanique moléculaire, dynamique moléculaire et docking moléculaire.
- **Le cinquième chapitre** décrit le volet expérimental développé, à savoir, le matériel utilisé dans l'extraction de l'HE de l'*Inula viscosa*.
- **Le sixième chapitre** est consacré à étudier les interactions entre les ligands de l'*Inula viscosa* et l'enzyme impliquée dans l'inflammation et le cancer du sein hormono-dépendant en utilisant la méthode de la modélisation moléculaire.

CHAPITRE I :
LE PROCESSUS DE
L'INFLAMMATION
ET DU CANCER DU SEIN



I. PROCESSUS DE L'INFLAMMATION

I.1. Généralité sur l'inflammation

C'est un processus biologique contre un agent agresseur. Elle permet de détecter l'agent, de l'éliminer ou l'isoler du reste de l'organisme et réparer les tissus lésés [3].

L'inflammation connue par des marqueurs cliniques : rougeur, œdème, chaleur,

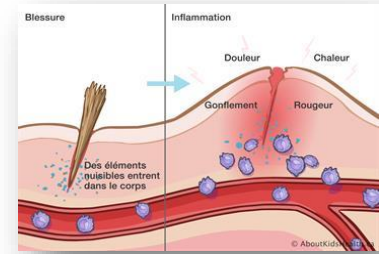


Figure 01: Les marqueurs cliniques de l'inflammation

I.2. Étiologies

Inflammation se déclenche grâce à des facteurs [3] :

- ✓ Micro-organismes (bactéries, virus, champignons, parasites...)
- ✓ Agents physiques : Traumatisme (plaie), nécrose tissulaire (infarctus), chaleur (brûlure), froid (gelure)...
- ✓ Agents chimiques (venin).

I.3. Types d'inflammation

- ✓ **Inflammations aiguës** : Réponse normale de l'organisme pour défendre contre un agent, elle dure quelques jours à quelques semaines. Elle est caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Ayant tendance à la guérison spontanée ou avec un traitement [4].
- ✓ **Inflammation chronique** : Elle évolue en persistance ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. Elle nécessite obligatoirement un traitement [4].

I.4. La réaction inflammatoire

C'est une réaction qui permet aux cellules du système immunitaire comme leucocytes, globules blancs et les substances produites telles qu'anticorps et cytokines d'accéder rapidement à la place infectieuse.

Cette réaction se fait en trois étapes :

I.4.1. Phase vasculaire (vasculo-exsudatifs):

Elle est caractérisée par les quatre signes d'inflammation aiguë : rougeur, chaleur, tuméfaction, douleur, elle dépend l'origine d'agression extérieure ou intérieure et elle met en jeu une première série d'acteurs [5].

I.4.2. Phase cellulaire (amplification):

Elle se traduit par la mobilisation et l'activation de seconde série d'acteurs [3].

I.4.3. Phase de réparation et cicatrisation :

La réparation tissulaire se fait suite à une détersion complète et peut prendre deux formes la régénération pour les tissus lésés et la cicatrisation.

I.5. Traitements

Les médicaments anti-inflammatoires visent à éliminer ou à réduire les conséquences de l'inflammation [6].

I.5.1. Les Anti-inflammatoires Stéroïdiens (AIS) ou Corticoïdes :

AIS sont des hormones qui ont des propriétés anti-inflammatoires. Ils s'opposent l'action de la phospholipase A2 (PLA2) ce qui permet de bloquer ou stopper la libération de l'acide arachidonique (AA) donc ils sont considérés comme la première ligne pour calmer l'inflammation [7].

I.5.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS):

AINS permettent de stopper la dégradation de l'AA par la voie cyclooxygénase (COX) ce qui permet de bloquer la production des médiateurs de l'inflammation (prostaglandines et thromboxane A2) [3].

I.6. L'enzyme responsable a l'inflammation

➤ Cyclooxygénase -1 :

Cyclooxygénase -1 (COX1) connu aussi par prostaglandine G / H synthase 1(PGHS1), exprimée de façon constitutive, présent dans la majorité des tissus de l'organisme. Elle est impliquée dans la régulation des fonctions physiologiques [8].

COX1 est inhibée par les AINS puisqu'elle donne naissance à la prostaglandine, prostacycline et thromboxane A2 qui sont des médiateurs de l'inflammation [9].

Il existe des inhibiteurs de COX1 qui sont sélectifs comme l'Aspirine® et autres inhibiteurs sont non sélectifs, réduisant l'inflammation et ils sont prescrits au COX1 et COX2 [10].

Les effets secondaires des AINS peuvent provoquer des effets indésirables à long terme tels que : saignement et ulcères peptiques, tension artérielle, l'insuffisance rénale [11]...

II. LE CANCER DU SEIN

II.1. L'épidémiologie

Le cancer du sein est le cancer le plus courant chez les femmes dans les pays développés et même dans les pays en développement (en 2008, 1.4 millions de femmes sont infectées et 460 000 sont décès) [15].

Le cancer du sein affecte principalement les femmes ménopausées. Il infecte rarement les femmes entre 30 et 40 ans, et il est moins courant chez les femmes moins de 30 ans [16].

En Algérie, le cancer du sein est le premier cancer identifié en nombre d'infections (6625 cas diagnostiqués en 2012). L'âge moyen des femmes infectées selon le registre d'Alger est de 47 ans [17].

II.2. Les facteurs de risque et de protection

Le cancer du sein est associé à une liste de facteurs de risque tels que l'âge (le risque augmente entre 30 et 70 ans), le sexe (les femmes plus touchantes que les hommes), les antécédents génétiques, les antécédents familiaux, les antécédents personnels, les hormones exogènes (traitement hormonal substitutif THS, les contraceptifs oraux), les hormones endogènes (les œstrogènes), le manque d'activité physique et l'obésité [18].

Il existe également des facteurs préventifs tels que l'allaitement (allaitement prolongé protège certaines femmes contre le cancer du sein) et l'activité physique (réduit le pourcentage d'infection) [19].

II.3. Les œstrogènes et les récepteurs ostrogéniques

Les œstrogènes sont des hormones produites par les ovaires, ils entrent dans plusieurs processus physiologiques [20] et ils favorisent le développement des cancers, en particulier le cancer du sein, une maladie hormono-dépendante [21].

Les récepteurs ostrogéniques sont des protéines impliquées dans nombreux processus physiologiques. Il existe deux voies de signalisation des récepteurs ostrogéniques [22]:

- ✚ Voie de signalisation génomique.
- ✚ Voie de signalisation non génomique.

Le dysfonctionnement des œstrogènes et ses récepteurs provoquent le cancer du sein hormono-dépendant. Ils sont considérés comme des cibles majeures dans le traitement de cancer du sein hormono-dépendant [20].

Le cancer du sein hormono-dépendant est le premier cancer à subir un ciblage thérapeutique [23], où la stratégie suivie consiste à enrayer la propagation des cellules en diminuant le taux des œstrogènes. La diminution se fait en stoppant l'activité des récepteurs ou en inhibant l'activité de l'enzyme responsable à l'expression des œstrogènes (Aromatase) [20].

II.4. La protéine de Mechanistic Target of Rapamycin

mTOR Mechanistic Target of Rapamycin, précédemment elle était connue par Mammalian Target of Rapamycin qui signifie cible de la rapamycine chez les mammifères, elle est appelée également FRAP, RAF1, RAPT1 [24].

mTOR est une protéine appartient à la famille PIKK (phosphoinositidekinase-related kinase). Elle est découverte en 1994, à activité sérine-thréonine kinase [25].

Elle fonctionne à travers deux complexes distincts [24]:

- ✚ **mTORC1** : Associée avec RAPTOR (Regulatory associated protein of TOR) elle permet de contrôler la croissance cellulaire.
- ✚ **mTORC2** : Liée avec RICTOR (Rapamycin insensitive companion of TOR) elle permet de contrôler la survie cellulaire et la résistance aux médicaments.

mTOR joue un rôle important dans la croissance cellulaire, la prolifération cellulaire et l'angiogenèse et régule aussi le métabolisme cellulaire [26]. Cependant, sa dysrégulation conduit à divers types de cancers, dont cancer du sein, ce qui rend la protéine la plus attractive de la thérapie ciblée [24].

II.5. La thérapie ciblée dans le cancer du sein

Le traitement du cancer du sein dépend de la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie et l'hormonothérapie [19].

➤ Les inhibiteurs du mTOR :

La rapamycine connue également par sirolimus, est un antibiotique appartenant à la famille des macrolides [25]. Initialement, elle était développée grâce à ses propriétés antifongiques et immunosuppressives. Secondairement, Elle permet d'inhiber la protéine mTOR (propriétés antitumorales) [24].

Dans le domaine de l'oncologie, la rapamycine n'a pas été développée. Contrairement à ses analogues sont en cours de développement comme des traitements antitumoraux [24].

À titre exemples de ses analogues :

- Le temsirolimus (Torisel®) [25].
- Le deforolimus (AP23573) [26].
- Le deforolimus (AP23573) [25].

CHAPITRE II :
ETUDE BOTANIQUE
DE L'INULA VISCOSA



CHAPITRE II : ETUDE BOTANIQUE DE L'*INULA VISCOSA*

I. LA DESCRIPTION BOTANIQUE DU GENRE *Inula*

Inula est nom très ancien, vient de l'espèce d'*Inula helenium*. Inule est un genre de la famille des composées, contient environ de 90 espèces [1]. Les plantes de ce genre sont vivaces et herbacées [27].


- *Inula viscosa* L. —————> Anti-inflammatoire [11]
- *Inula britannica* L. —————> Antitumorale, Antihépatique [28]
- *Inula helenium* L. —————> Antiproliférative [29]
- *Inula royleana* L. —————> Insecticide, Désinfectant [30]

II. DESCRIPTION DE LA PLANTE *InulaViscosa*

Inula viscosa(L) est une plante qui appartient à la famille des astéracées, elle s'appelle aussi *Dittrichia viscosa* à cause de la présence des poils glanduleux [31, 32].

Le nom inula est dérivé du grec Inéo qui signifié-je purge et viscosa veut dire visqueuse à cause à son feuillage [1].

Inula viscosa est connue par des noms communs comme inule, aunée visqueuse [1]. Elle peut nommer aussi par *Dittrichia viscosa* Greuter, *Cupularia viscosa* (L) [31]. Le nom usuel de cette plante diffère d'une région à une autre. En kabyle, elle est connue par Amagramane (magar : rencontre, aman : eau) [33] et dans le reste des villes algériennes, elle est nommée par Mersit ou Magraman[27]. Son nom en arabe littéraire est El-Tayoune (الطيون) .

Partie aérienne		
Les tiges	Ils sont assez ramifiés, pourvues d'un feuillage dense, rougeâtres. Elles deviennent ligneuses et foncées à la base avec l'âge. [1, 27].	 Figure 02 : Les tiges de l' <i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)

CHAPITRE II : ETUDE BOTANIQUE DE L'*INULA VISCOSA*





Les fleurs	La floraison de l' <i>Inula viscosa</i> commence à partir de moins de septembre. Les fleurs sont jaunes, regroupées en capitule. Elles ont une odeur forte. [31,32]	 <p>Figure 03 : Les fleurs de l'<i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)</p>
Les feuilles	Les feuilles sont visqueuses, entières ou dentées, aiguës, collantes sur les deux faces, insérées directement sur la tige. [1, 27].	 <p>Figure 04 : Les feuilles de l'<i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)</p>
Les fruits	Les fruits de cette plante sont des fruits secs (des akènes) à aigrets grisâtres, un peu ovoïdes et cylindriques [27].	 <p>Figure 05 : Les fruits d'<i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)</p>
Partie souterraine		
Les racines	Les racines sont pivotantes, fortes et pouvant atteindre 30 cm de [32].	 <p>Figure 06 : Les racines d'<i>Inula viscosa</i> (photo personnelle)</p>

Tableau 01 : Les parties de la plante d'*Inula viscosa*

III. CLASSIFICATION DE L'*Inula Viscosa* [33]

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous Classe	Astéridées

CHAPITRE II : ETUDE BOTANIQUE DE L'*INULA VISCOSA*

Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Inula Viscosa</i>

Tableau 02 : Classification de la plante d'*Inula viscosa*

IV. CARACTERISTIQUE DU SOL

Aunée visqueuse est une plante qui pousse dans les champs sauvages, garrigues, rocailles aussi dans les terrains argileux un peu humides [27]. Elle est cultivée dans les alentours du bassin méditerranéen, et apprécie les sols secs et calcaires.

V. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Inula viscosa est très répandue dans le bassin méditerranéen c'est-à-dire dans le nord d'Afrique (Algérie, Maroc) et le sud d'Europe (France, Italie, Turquie). Elle existe aussi en Asie occidentale (Palestine, Turquie) [1,33].

En Algérie, elle est fréquente dans les régions humides et dans les bordes des routes.

Parmi ces régions : Oran, Tlemcen, Constantine, Bejaïa, Boumerdes...

VI. UTILISATION TRADITIONNELLE [1, 33]

Inula viscosa est une plante très ancienne et très utilisable grâce à ses vertus médicales. Cette plante est favorisée beaucoup plus pour les villageois par rapport à la médecine moderne.

El TAMIMI (le médecin arabe) a préparé une boisson à partir d'inule visqueuse et de miel. Elle est appelée la boisson du roi qui permet de lutter contre les rhumes et le rhumatisme.



Figure 07: La répartition géographique d'*Inula viscosa* dans le bassin méditerranéen

CHAPITRE II : ETUDE BOTANIQUE DE L'*INULA VISCOSA*

Ses feuilles sèches et broyées sont appliquées pour les plaies et les brûlures et elles ont des activités anti-inflammatoires et antiseptiques. La poudre des feuilles sèches a mélangé avec une huile pour les peaux sèches. Ainsi, la préparation d'une pommade à partir d'huile d'olive avec la poudre est applicable pour les hémorroïdes.

L'extrait aqueux de l'*inula viscosa* est consommé pour hypertension artérielle, le diabète, la bronchite et les infections respiratoires.

Huile essentielle d'inule permet de traiter les maladies du système urinaire et digestif.

VII. TRAVAUX ANTERIEURS

VII.1 Travaux antérieurs sur la composition de l'HE d'*inula viscosa*

Composés	Pourcentages
Menthol	0.22
Hydroxytoluènebutylé	4.11
1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-triméthyl	0.63
Caryophyllèneoxide	0.17
Fokienol	3.37
C ₁₅ H ₂₂ O	1.79
C ₁₅ H ₂₄	0.14
C ₁₅ H ₂₂ O	1.14
C ₁₅ H ₂₄	0.77
C ₁₅ H ₂₂	0.32
C ₁₅ H ₂₄ O	0.52
C ₁₅ H ₂₂ O	0.89
Isobutyrate de 3-méthoxycuminyll	0.71
C ₁₅ H ₂₄ O	0.33
3,7,11-Triméthyl dodéca-1,6,10 triène,3,9-diol	0.85
C ₁₅ H ₂₂ O	0.85
Phytone	0.31
C ₁₅ H ₂₂ O ₂	4.65
Acide pentadécanoïque	1.85
12-Carboxyudesma-3,11 (13) diene	28.88
Acide n-hexadécanoïque	5.38
Phytol	2.96
Acide 9,12-Octadécadiénoïque	2.03

Acide linolénique	7.80
Tricosane	1.50
Tétracosane	0.80
Eicosanol	2.46
Pentacosane	5.43
Hexacosane	0.89
Eptacosane	4.82
Sesquiterpènes hydrocarbonés	1.23
Sesquiterpènes oxygénés	46.7
Acides gras	17.06
Alcanes	13.44
Alcools	6.9
Autres	1.24
Totale	86.57

Tableau 03 : La composition chimique de l'HE d'*inula viscosa* par hydrodistillation en Algérie [34].

VII.2 Les travaux antérieurs sur les propriétés thérapeutiques

Inule possède différentes propriétés thérapeutiques, c'est pour cela elle est considérée comme une reine des plantes médicinales. Parmi les travaux publiés :

- Activité anti-inflammatoire [11, 35].
- Activité antimicrobienne [36].
- Activité antifongique [37].
- Évaluation de la cytotoxicité et génotoxicité[38].
- Activité antioxydante [39, 40].
- Activité antivirale [41].
- Étude hypoglycémique et hypolipidémie [42].
- Activité anticancéreuse [43].

CHAPITRE III :
LES HUILES ESSENTIELLES



I. DEFINITION D'UNE HUILE ESSENTIELLE

Huile essentielle est un extrait huileux volatil et odorant obtenu à partir des plantes aromatiques plus précises dans les organes sécréteurs.

D'après Association Française de Normalisation (AFNOR) l'HE est défini comme « des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques. »[44].

II. CARACTERISTIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

Les HEs sont l'ensemble des composés aromatiques, volatils, huileux, liquides à température ambiante sauf quelques-unes qui sont solides (menthe du Japon...), inflammables. Elles peuvent être incolores, de couleurs jaunâtres ou avec d'autres couleurs (HE d'inule odorante verte) et d'odeurs désagréables et piquantes. Elles sont solubles dans les huiles végétales et les graisses, un peu solubles dans l'eau et plus au moins soluble dans l'alcool et éther [44].

III. PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

III.1. Densité (Masse Volumique)

La densité est un caractère physique de la masse d'HE par unité de volume, mesurée par un pycnomètre. Généralement, elle est inférieure à 1 sauf quelques-unes (la cannelle (1.052 à 1.070), clou de girofle (1.052 à 1.065)). Ce paramètre permet de déterminer la qualité d'une HE dans plusieurs domaines tels que pharmaceutique, cosmétique [2].

III.2. Le Potentiel d'Hydrogène (pH)

Le pH est un indice qui permet de déterminer la concentration des ions d'hydrogènes présents dans une solution aqueuse c'est-à-dire le degré d'acidité mesurée avec le pH-mètre.

CHAPITRE III : LES HUILES ESSENTIELLES

Le pH des HEs de qualité est environ de 5 donc elles constituent des composées acides [2].

III.3. Le Pouvoir Rotatoire

Le pouvoir rotatoire d'une HE est un angle pour tourner le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde. Il est exprimé en milli-radian ou en degrés et mesuré par un polarimètre [2].

III.4 Indice de Réfraction (IR)

L'indice de réfraction est un paramètre physique qui permet d'identifier et vérifier la pureté des HEs (plus la valeur obtenue est proche de l'intervalle plus la pureté est grande).

Chaque HE correspond à un IR spécifique. Il est mesuré à l'aide d'un réfractomètre [2,45].

IV. COMPOSES CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

IV.1. Les terpènes et les terpénoïdes

Les terpènes les plus présents dans les HEs sont ceux qui contiennent la masse molaire la plus basse comme les monoterpènes qui représentent la majorité dans les HEs (90%). Les terpènes peuvent être structurales, acycliques, monocycliques, polycycliques.

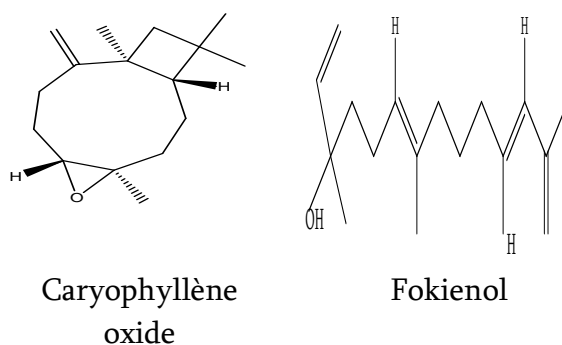


Figure 08 : La structure des composés des terpènes et des terpénoïdes

IV.2 Les Composés Aromatiques

Les composés aromatiques sont des dérivés de phénylpropane C₆C₃, ils sont présents dans les HEs à des faibles pourcentages. Ils ont des caractères organoleptiques et ils peuvent être des alcools ou des aldéhydes [45].

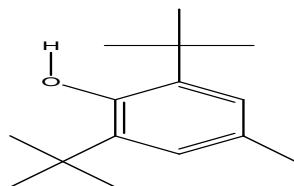


Figure 09 : La structure Hydroxytoluène butylé

IV.3 Autres Composés

Les autres composés présents dans les HEs à des faibles masses moléculaires telles que les composés azotés, les composés soufrés, les aldéhydes, les alcools, les composés de dégradations des terpènes... [2].

V. TOXICITE DES DES HUILES ESSENTIELLES

Les HEs sont très utilisables grâce à ses bénéfices, mais peuvent être dangereuses et toxiques lorsqu'il y a un manque de respect des règles d'utilisation.

La toxicité des HEs varie selon la dose car elles sont très concentrées des principes actifs. Le type d'exposition comme l'ingestion qui peuvent provoquer des problèmes respiratoires et peuvent aussi attaquer le foie et les reins (HE de famille des lamiacées à forte dose), elles présentent des risques au niveau cutané telle l'irritation qui dépend le degré de dilution(ne dépasse pas 5%), le déclenchement des allergies et l'apparition des taches sur la peau lors d'expositions au soleil après l'utilisation (HE des citrus) [45].

VI. METHODES D'EXTRACTION

Il y a deux méthodes qui sont admises par la pharmacopée française, AFNOR et ISO :

- Entraînement à la vapeur d'eau
- Expression à froid [48]

CHAPITRE III : LES HUILES ESSENTIELLES

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par différents techniques :

VI.1 Hydro-Distillation (Water Distillation)

Hydro-distillation est une méthode d'extraction des HEs, simple, ancienne et minimise les altérations des HEs. Le principe de cette méthode consiste à mettre la matière végétale (sèche ou fraîche) en contact direct avec l'eau dans un ballon (laboratoire) ou dans un alambic (industrie), puis porter à l'ébullition sous pression atmosphérique. Le mélange azéotropique obtenu est séparé en deux phases : phase organique (HE) et phase aqueuse (hydrolat ou eau florale) [47,].

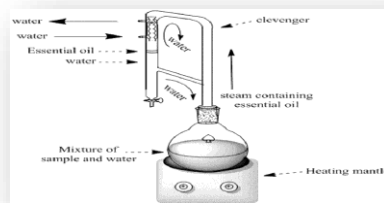


Figure 10: Montage d'hydrodistillation

VI.2 Distillation à Vapeur d'Eau (Stream distillation)

C'est un procédé d'extraction des HEs qui met la matière végétale en contact avec les vapeurs d'une chaudière qui permet de charger les composés aromatiques puis condensés au niveau du système de réfrigération. L'obtention d'un mélange « huile+ eau » est séparé en deux phases : phase organique(HE) et phase aqueuse [45, 47].

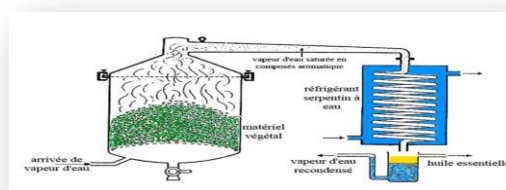


Figure 11 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau

VI.3 Technique CO₂ Supercritique (technique innovante)

Il existe plusieurs fluides à l'état supercritique comme CO₂ supercritique, le plus utilisable dans les industries puisqu'il est ininflammable, inerte, facile à éliminer et peu coûteux. Le principe de cette méthode est basé sur la solubilité des substances

aromatiques dans le CO₂ supercritique, il consiste à charger ces substances pour les extraire, après le CO₂ reprend à l'état gazeux et passé à séparateur pour l'éliminer. Les avantages de cette méthode : augmenter le rendement, minimiser le temps, et obtenir une huile de qualité [48].

VI.4 Extractions Par Micro-onde

Ce procédé basé sur l'extraction des Hess avec les rayonnements de micro-ondes. Le principe de cette méthode consiste à chauffer l'eau de la matière végétale peu de temps, la chaleur permet d'éclater les cellules qui contiennent les composés volatils qui sont ensuite évaporés. L'obtention d'un mélange azéotrope se condense au niveau réfrigérant puis la séparation se fait par décantation. Elle est rapide dix fois qu'hydro-distillation classique, nécessite peu d'énergie et minimise la dégradation thermique [45,46].

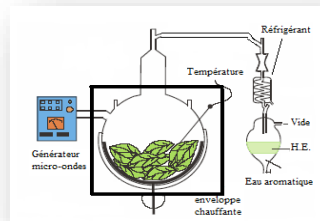


Figure 12 : Montage d'extraction par micro-onde

VI.5 Extraction Par Solvant (Soxhlet)

C'est une méthode d'extraction solide- liquide. Elle consiste à mettre la matière végétale qui est fragile à la chaleur en contact avec un solvant volatil dans un soxhlet afin de dissoudre les substances aromatiques. Après extraction, le filtrat est concentré par évaporation de solvant. Le solvant doit être inerte, sélective, température d'ébullition basse. Cette technique prend beaucoup de temps pour réaliser l'extraction, consommer beaucoup de solvants et le chauffage permet de dégrader les substances chimiques [49].

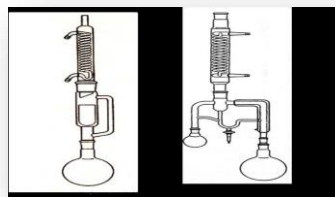


Figure 13 : Montage d'extraction par solvant

CHAPITRE IV :
METHODE DE MODELISATION
MOLECULAIRE



CHAPITRE IV : METHODE DE MODELISATION MOLECULAIRE

INTRODUCTION

Le développement d'un nouveau médicament est long, couteux et nécessite de nombreuses étapes, il est fortement réglementé d'un point de vue juridique en raison des risques pour la santé publique [50]. Pour concevoir et assurer ce nouveau médicament, les entreprises ont besoin de 15 ans de recherches et environ 800 millions d'euros [51].

Actuellement, la recherche et la synthèse chimique et biochimique sont liées à l'étude de la modélisation moléculaire (MM) [52].

La MM peut être définie comme l'ensemble des méthodes théoriques et des méthodes de calcul afin d'expliquer les propriétés des molécules (chimiques, physiques et biologiques) [53], ainsi que dans le but de prévoir la structure et la réactivité des molécules sous différentes conditions [54].

Autres principaux objectifs de la MM :

- Calculer l'énergie de la molécule et obtenir les informations sur le mouvement dynamique.
- Obtenir la conformation optimale de la molécule.
- Identifier les systèmes moléculaires par utilisation des banques des données.

La MM est connue comme un outil scientifique précieux utilisée dans différents domaines de recherche : fondamentaux (chimie, biologie) et appliquées (pharmacie, ingénieries) puisqu'elle permet d'éviter les lourds travaux expérimentaux [52].

Un médicament est un inhibiteur (ligand) d'une enzyme qui participe au processus de développement de certaines maladies. Avec la modélisation moléculaire, l'élucidation de la structure tridimensionnelle de l'enzyme permet de découvrir des ligands qui inhibent le fonctionnement de l'enzyme et minimiser le nombre d'essais afin d'obtenir un nouveau médicament [55].

CHAPITRE IV : METHODE DE MODELISATION MOLECULAIRE

La MM peut être rangé en deux classes [54] :

- ✓ Méthode quantique
- ✓ Méthode non quantique

I.METHODE NON QUANTIQUE

I.1. Mécanique moléculaire

Mécanique moléculaire connue par « calcul par champ de forces empiriques » est une méthode empirique apparue en 1930 et développée en 1960 [52]. Elle est basée sur les principes de la mécanique classique de NEWTON [56].

La mécanique moléculaire est utilisée pour calculer l'énergie d'un système qui contient un grand nombre des atomes comme les molécules et les complexes ayant un intérêt biochimique et biomédical pour obtenir un système plus stable et néglige les électrons [57].

La simplification permet d'étudier les molécules de grande taille comme les protéines, les acides nucléiques, les enzymes ...

En mécanique moléculaire, les molécules sont modélisées sous forme « tiges – boules » c'est à dire des atomes sont considérés comme des balles de différentes tailles reliées entre eux par un ressort de longueur variable (liaison) [58].

1.1.1. Fonction d'énergie potentielle

En mécanique moléculaire, l'énergie potentielle est considérée comme la somme énergétique des termes liés et les termes non liés [54] :

Avec

$$E_{\text{Potentielle}} = E_{\text{liés}} + E_{\text{non liés}}$$

et

$$E_{\text{liés}} = E_l + E_\theta + E_\tau + E_\omega$$

E_{liés} : Énergie des interactions intramoléculaires [52] :

- E_l : L'énergie de liaisons covalentes.
- E_θ : L'énergie d'angles de valence.
- E_τ : L'énergie de torsion des angles dièdres.
- E_ω : L'énergie de dièdres impropres.

$$E_{\text{non liés}} = E_{\text{vdw}} + E_{\text{elec}} + E_H$$

E_{non liés} : Énergie des interactions intermoléculaires [52] :

- E_{vdw} : L'énergie d'interaction entre les atomes non liés.
- E_{elec} : L'énergie d'interaction électrostatique.
- E_H : L'énergie de liaison hydrogène.

CHAPITRE IV : METHODE DE MODELISATION MOLECULAIRE

1.1.2. Différents types de champs de force en mécanique moléculaire

En mécanique moléculaire, le champ de forces (fonction de potentiel) est un modèle mathématique qui représente l'énergie potentielle et exprime la moyenne des interactions électrostatiques entre les atomes.

Il existe plusieurs types de champ de forces qui sont développés à partir des années 1970

Parmi eux [52]:

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement)	Il est écrit par Kollman, paramétré pour les protéines et les acides nucléiques et ne pas adapté aux petites molécules telles qu'AMBER94 et AMBER99 [59]. Il existe aussi des champs de forces développés qui sont paramétrés pour les petites molécules comme Amber10 et Amber12.
MM2/MM3/MM4	MM2 est le premier champ de forces développées par Allinger et col, formé pour les simples molécules comme les alcanes, les alcènes, alcynes non conjugués, les amines ...Après ils ont amélioré ses versions en MM3 (1989) et MM4 (1996) afin de traiter de plus en plus des molécules organiques compliquées [55].
OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations)	Le programme est écrit par W. L Jorgensen et J. Tirado Rives, conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. Ces champs de forces entièrement atomiques paramétrés pour les protéines et quelques petites molécules organiques [60].
GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package)	Il est écrit par Van Gunsteren, utilisé pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les groupements polaires des protéines et les molécules d'eau [54].
CHARM (Bio+)	Il est développé par Karplus, entièrement atomique paramétré pour les protéines, l'ADN l'ARN. Ce champ de forces ne convient pas à la plupart des petites molécules organiques [55].

Tableau O4 : Les champs de forces

I.2. Dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire (DM) est la technique la plus fréquemment utilisée dans le but de simuler l'évolution des systèmes au cours du temps et à une température supérieure à 0 K [52]. Le calcul de la DM se réalise en trois phases distinctes :

I.2.1. Thermalisation :

Il s'agit de chauffer le système jusqu'à atteindre la température choisie, en utilisant la structure minimisée comme une structure initiale. [55].

I.2.2. Equilibration :

Il s'agit d'une étape importante où la température du système est stable, il y a donc un échange important entre l'énergie potentielle et l'énergie cinétique [61].

I.2.3. Dynamique productive :

C'est l'étape réellement utilisable qui dure 60 à 100 ps [61]. Les coordonnées, les énergies et les vitesses sont enregistrées pour une analyse de la dynamique.

I.3. Docking moléculaire

L'objectif de docking moléculaire ou amarrage est la prédiction de la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules.

Dans la majorité des cas, le récepteur macromoléculaire (protéine), la structure tridimensionnelle est connue, interagit avec une petite molécule (ligand) « docking protéine-ligand » [62]. Le docking moléculaire s'effectue en deux étapes :

I.3.1. Docking (première étape)

C'est une étape de sélection qui consiste à mettre le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, les positions et les orientations, en ne retenant que celles représentant les modes les plus favorables d'interagir [55].

I.3.2. Scoring (deuxième étape)

C'est une étape de classement qui consiste à évaluer la similitude entre le ligand et la protéine afin de donner un score à chaque pose. La fonction scoring permet de choisir le meilleur inhibiteur entre elles [55].

CHAPITRE V :
RESULTATS ET DISCUSSION
(PARTIE EXPERIMENTAL)



I.MATERIELS ET METHODES

I.1. Préparation du matériel végétal

I.1.1. Récolte du matériel végétal :

La partie de la plante utilisée est les feuilles d'*Inula viscosa*. Les feuilles ont été récoltées dans la région de Nédroma (la wilaya de Tlemcen). Le choix de cette plante dépend de ses propriétés thérapeutiques et de ses usages multiples traditionnels. L'échantillonnage a été fait dans une région propre et loin de tout impact de pollution.

Le tableau suivant résume les caractéristiques et les conditions de récoltes :

Le nom scientifique de la plante	La partie de la plante utilisée	La région	La date
<i>Inula viscosa</i> L	Les feuilles 	Zaouiet El Yagoubi la région de Nédroma la wilaya de Tlemcen	11 décembre 2019 (début de matinée afin que le matériel végétal soit le plus frais possible.)

Tableau 05: Les caractéristiques des récoltes d'*Inula viscosa*

Après la récolte, les plantes ont été identifiées en utilisant « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales » Tome II, 1963 de QUÉZEL et SANTA et par madame STANBOULI Hassiba née Meziane professeur à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen département de biologie.

I.1.2. Séchage de la plante :

Après la récolte, les feuilles d'*Inula viscosa* ont été séchées à température ambiante et dans un endroit non humide et à l'abri du soleil.



Figure 14: Les feuilles d'*Inula viscosa* séchées

I.2. Huiles essentielles

I.2.1. Extraction de l'HE par hydrodistillation

L'HE de l'*Inula viscosa* a été obtenu par la méthode de l'hydrodistillation à l'aide d'un appareil du type Clevenger pendant 4 h au niveau du laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives LASNABIO de la faculté des sciences, Université de Tlemcen. Le principe est basé sur l'éclatement et libération des molécules aromatiques, les vapeurs sont condensées puis récupérées afin de séparer les deux phases : phase aqueuse (hydrolat) et phase organique (huile essentielle) [63].

I.2.2. Mode opératoire :

La masse des feuilles séchées utilisées est 222 grammes. La quantité est transvasée dans un ballon de cinq litres. L'eau est portée à ébullition, la vapeur d'eau entraîne les molécules volatiles qui se condensent dans un réfrigérant puis elles sont récupérées dans un tube à essai. Après la séparation des deux phases, l'HE est conservée dans un pilulier sombre, bien fermé et mis dans le réfrigérateur à 4°C.

I.2.3. Le rendement

Le rendement en huile essentielle est un le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids du matériel végétal et il est exprimé en pourcentage. La formule est présentée comme suit [34]:

$$R(\%) = [P_1 / P_0] \times 100$$

{ R(%) : Le rendement de l'huile essentielle en pourcentage.
P₁ : La masse de l'huile (g).
P₀ : La masse du matériel végétal (g).

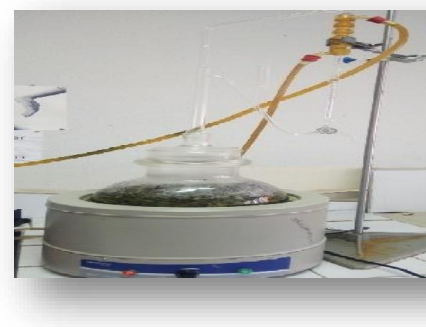


Figure 15: Le montage d'hydrodistillation du type Clevenger (LASNABIO)



Figure 16 : La séparation des deux phases

II.RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. L'extraction de l'huile essentielle

La collecte, le séchage et la conservation de l'HE sont des facteurs qui influent sur le rendement et la qualité organoleptique de l'HE.

II.1.1. Le rendement

Le rendement obtenu de l'HE de l'*Inula viscosa* (0.108%) est pratiquement égal à celui mentionné dans la littérature (0,148%) [34]

II.1.2. Les propriétés organoleptiques

La plante	L'aspect	La couleur	L'odeur
<i>Inula viscosa</i>	Limpide, clair et visqueux	Jaune	Désagréable

Tableau 06: Les propriétés organoleptiques

*CHAPITRE VI:
RESULTATS ET DISCUSSIONS
(ETUDE DES INTERACTIONS
ENZYME-LIGAND)*



INTRODUCTION

Les études sur les interactions entre la protéine et le ligand sont considérées comme la première étape pour la plupart des réactions biologiques afin de comprendre le mode de fonctionnement et définir quels est les résidus mis en jeu en vérifiant les points suivants :

- ❖ L'affinité entre deux molécules.
- ❖ Les distances entre les acides aminés du site actif de l'enzyme et ceux des inhibiteurs.
- ❖ L'énergie d'interaction (le score)

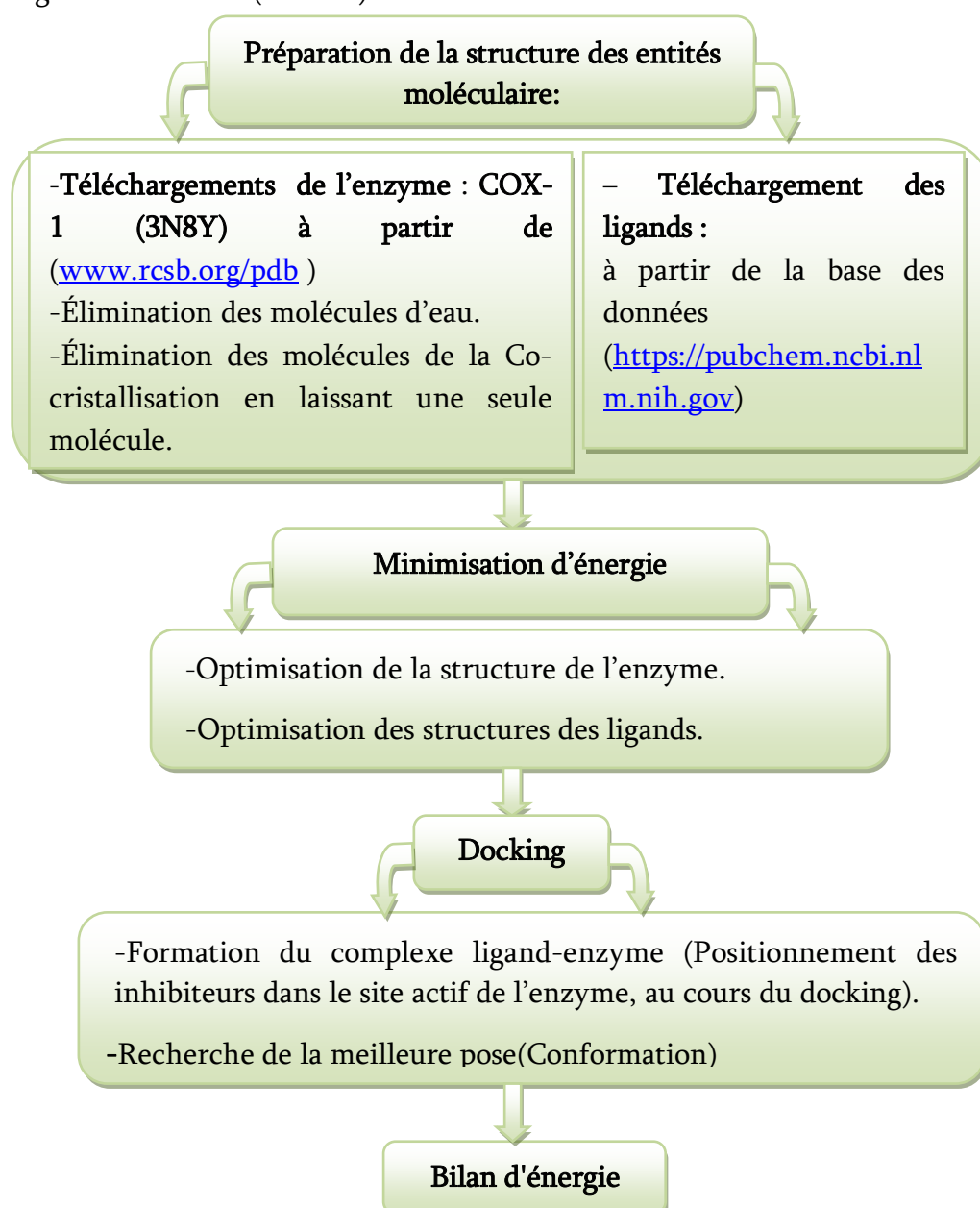


Figure 17: Protocol de calcul pour le Docking moléculaire

A.ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

Inflammation est un processus biologique contre un agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires, mais parfois l'inflammation peut être néfaste à cause de l'agent agresseur, de sa persistance, du site de l'inflammation, par anomalie des régulations du processus inflammatoire ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules impliquées dans l'inflammation [64].

Dans ce cadre, nous nous proposons d'étudier par Docking moléculaire les interactions entre l'enzyme Cyclooxygénase 1 (COX1), participant au processus de l'inflammation, et les molécules extraites à partir de l'HE et les extraits d'IV et ses dérivés ayant des propriétés anti-inflammatoires.

I. MATERIELS ET METHODES

I.1.Matériels

I.1.1. Logiciel utilisé :

MOE (Molecular Operating Environment) (version 2014) [65] est considéré comme un paquet de logiciels modelés à la découverte et à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. MOE permet de mettre en œuvre de nombreuses tâches pendant un temps très réduit. Il permet aussi de dessiner les molécules, les minimiser afin d'avoir les meilleures conformations et de docker plusieurs ligands regroupés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. MOE est un outil très exploité par les biologistes, les chimistes médicaux et les chimistes informaticiens en recherche pharmaceutique, biotechnologique et universitaire [66].

I.1. 2. Présentation de l'enzyme COX1

Cyclooxygénase 1 (COX 1), également connue par prostaglandine G / H synthase 1(PGHS1), est une enzyme constitutive, présente dans la majorité des tissus de l'organisme

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

[67]. Elle est constituée de 576 acides aminés, dont certains jouent un rôle majeur dans le fonctionnement de l'enzyme telle que : Arg 120, Ser 530, et Tyr 385[68].

La transformation de l'acide arachidonique (AA) par voie de la cyclooxygénase donne naissance aux prostaglandines, à la prostacycline et au thromboxane A2. Les prostaglandines ont une fonction protectrice au niveau vasculaire et régulent également les fonctions des reins, du système digestif et de la coagulation sanguine [67].

Cependant, la production de prostaglandines et de thromboxane A2 surévaluée provoque une inflammation (vasodilatation et augmentation de la perméabilité capillaire) et de la douleur, bien que sa production primaire permette l'homéostasie tissulaire [69].

Parmi les ligands sélectifs de COX1 inhibant la synthèse des prostaglandines est l'aspirine (à faible posologie) [70].

1.1.3. Présentation des ligands

Nous avons choisi pour l'inhibition de l'enzyme COX la molécule inuviscolide (C1), une molécule extraite à partir de l'HE de l'IV et ses dérivés C2, C3, C4 et C5.

➤ Les ligands de COX 1 :

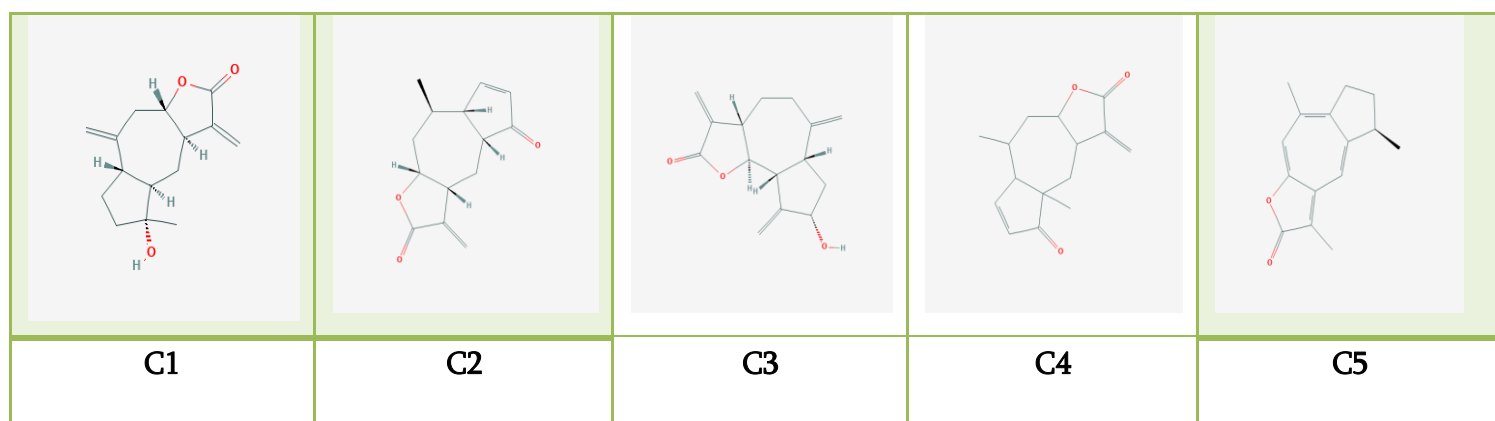


Figure 18: Les structures des ligands de COX1 (inuviscolide et ses dérivés)

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

Ligands	Nom d'IUPAC	CID
C1	(3 <i>aS</i> ,5 <i>aS</i> ,8 <i>R</i> ,8 <i>aR</i> ,9 <i>aR</i>)-8-hydroxy-8-methyl-1,5-dimethylidene-3 <i>a</i> ,4,5 <i>a</i> ,6,7,8 <i>a</i> ,9,9 <i>a</i> -octahydroazuleno[6,5- <i>b</i>]furan-2-one	176489
C2	(3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,5 <i>aR</i> ,8 <i>aR</i> ,9 <i>aR</i>)-5-methyl-1-methylidene-4,5,5 <i>a</i> ,8 <i>a</i> ,9,9 <i>a</i> -hexahydro-3 <i>aH</i> -azuleno[6,7- <i>b</i>]furan-2,8-dione	22226
C3	(3 <i>aS</i> ,6 <i>aR</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bS</i>)-8-hydroxy-3,6,9-trimethylidene-3 <i>a</i> ,4,5,6 <i>a</i> ,7,8,9 <i>a</i> ,9 <i>b</i> -octahydroazuleno[4,5- <i>b</i>]furan-2-one	72646
C4	5,8 <i>a</i> -dimethyl-1-methylidene-3 <i>a</i> ,4,5,5 <i>a</i> ,9,9 <i>a</i> -hexahydroazuleno[6,7- <i>b</i>]furan-2,8-dione	98457
C5	(8 <i>R</i>)-1,5,8-trimethyl-7,8-dihydro-6 <i>H</i> -azuleno[6,5- <i>b</i>]furan-2-one	130117

Tableau 07: Les propriétés chimiques des ligands étudiés

I.1.4. Les propriétés des ligands :

Le logiciel MOE permet de nous donner les propriétés des ligands étudiés comme : toxicité, rétrosynthèse, la masse moléculaire, Log S ...

Pour savoir si la molécule respecte la règle de Lipinski (connue par la règle de 5) [71]:

- Masse moléculaire < 500g/mol
- Log p <5
- Nombre de H donneur <5
- Nombre de H accepteur <10
- TPSA <140 Å²

Ligands	C1	C2	C3	C4	C5
Masse moléculaire (g/mol)	248.32	232.27	246.3	246.3	228.29
N ROT	0	0	0	0	0
Toxicité	No	No	No	No	No
Rétro synthèse %	5.56	5.88	5.56	5.56	0
TPSA (Å ²)	46.53	43.4	46.5	43.3	26.3
H don	1	0	1	0	0
H acc	3	3	3	3	2
Log P	1.8	2	1.3	2.4	2.2
Log S	-1.97	-2.18	-1.94	-2.38	-4.65

Tableau08 : Les propriétés des ligands étudiés

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

- **N ROT** : Nombre de rotations (N ROT<10)
- **TPSA** : Topological polar surface area (TPSA<140A^{o2})
- **Log S** : Coefficient de solubilité
- **Log P** : Coefficient de partage

D'après ces résultats du tableau 08, nous pouvons conclure que les ligands étudiés sont non toxiques et ils respectent la règle de Lipenski étendue.

I.2. Méthodes

I.2.1. Préparation de l'enzyme :

Le téléchargement de l'enzyme a été fait à partir de la base de données : Bookhaven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb)

- Enzyme de COX 1 sous le code d'accès 3N8Y, Co- cristallisée avec l'inhibiteur (DIF) DCOPUUMXTXDBNB-UHFFFAOYSA-N (C₁₄ H₁₁ Cl₂ N O₂).

Enzyme	COX 1
Code	3N8Y
Classification	OXIDOREDUCTASE
Organisme	Ovisaries
Expression système	Spodopterafrugiperda
Résolution	2.6 A°
Méthodes	X-RAY DIFFRACTION
Poids (Kda)	134.456
La chaine	A, B

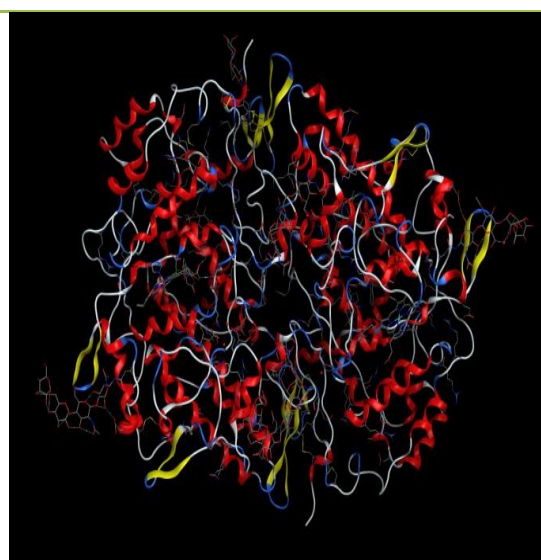


Tableau 09: Les données cristallographiques de l'enzyme COX1

Figure 19: COX1 téléchargée

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

➤ La simplification de l'enzyme COX1 :

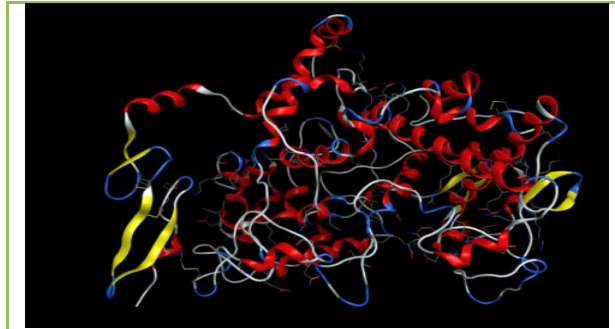


Figure 20: COX 1 simplifiée

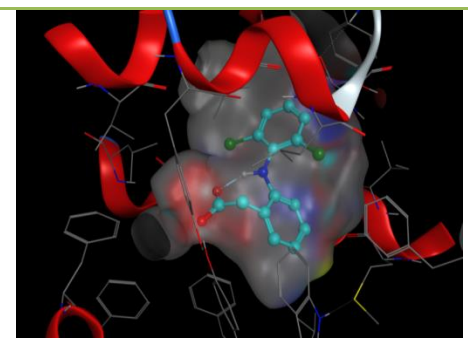
➤ Détermination du site actif de COX1:

Toutes les enzymes contiennent un site actif qui prend en charge le substrat.

Le site actif (le centre actif) est une zone privilégiée de l'enzyme où elle exerce son pouvoir catalytique. Le logiciel MOE nous a permis d'identifier et de présenter les résidus de site actif à l'aide du module « Site Finder » contenant un détecteur de cavité enzymatique.

Le site actif de COX1 est présenté comme suit :

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	1.56	1	1	44	1: (LEU93 VAL116 ARG120 PHE205 VAL344 TYR345)
2	1.56	1	1	44	1: (ARG94 CYS36 TYR39 PRO40 CYS41 GLN42 TYR43)
3	1.56	1	1	44	1: (HIS43 GLN44 ARG61 THR62 GLY63 TYR64 TYR65)
4	1.56	1	1	44	1: (GLN45 LEU47 SER200 TYR275 GLN282 SER283)
5	1.56	1	1	44	1: (ILE46 ASP38 CYS39 THR60 ARG61 THR62)
6	1.56	1	1	44	1: (CALN20 HIS207 VAL291 PHE292 LEU294 LEU295)
7	1.56	1	1	44	1: (HIS207 PHE210 LYS211 THR212 ASN384 HIS385)
8	1.56	1	1	44	1: (HIS208 ILE214 LYS214 LYS222 ALA223 THR224)
9	1.56	1	1	44	1: (ILE124 PRO125 SER126 PRO127 PRO128 THR129)
10	1.56	1	1	44	1: (HIS99 THR94 HIS95 PRO191 GLN192 THR193)
11	1.56	1	1	44	1: (GLY225 HIS226 GLY227 VAL228 ASP229 ASP230)
12	1.56	1	1	44	1: (LYS231 TYR234 VAL231 LEU306 ARG307 THR308)
13	1.56	1	1	44	1: (GLU308 ARG311 GLU339 ILE343 LEU558 LEU559)
14	1.56	1	1	44	1: (ARG413 GLY435 GLY436 THR432 GLU434 HIS435)
15	1.56	1	1	44	1: (VAL266 VAL271 LEU272 MET273 TYR275 ASP276)
16	1.56	1	1	44	1: (ILE188 ARG433 GLY435 GLY436 GLY437 ASP438)
17	1.56	1	1	44	1: (ASP229 GLY231 TYR234 GLY235 ASP236 ASP237)
18	1.56	1	1	44	1: (SER85 PRO86 SER87 ARG467 MET372 LYS468)
19	1.56	1	1	44	1: (LYC360 PHE361 ASP362 GLU364 TRP545 VAL546)
20	1.56	1	1	44	1: (GLU347 GLN351 SER579 PHE580 HIS581) (THR582)
21	1.56	1	1	44	1: (LYS211 THR212 LYS215 LYS222 ASP256 ASP257)
22	1.56	1	1	44	1: (TRP321 GLN327 THR331 LEU334 SER348 THR349)
23	1.56	1	1	44	1: (ILE152 ARG157 PRO218 VAL457 LEU458) (THR459)
24	1.56	1	1	44	1: (THR118 VAL119 ASN132 ALA369 GLN370) (THR371)



Module « Site Finder »

Site actif de COX 1

Figure 21 : Le site actif de l'enzyme COX1

➤ Le choix de ligand de référence de l'enzyme COX1 :

Le choix de ligand de référence se fait en fonction de $Rmsd < 2 \text{ \AA}$

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

	mol	rseq	mseq	S	rmsd	rmsd_refine	E_conf	E_place	E_score1	E_refine	E_score2
1	3NBY	1	1	-9.7104	0.3631	1.2948	-68.3564	-81.3127	-11.0556	-42.4510	-9.7104
2	3NBY	1	1	-8.7244	6.0750	1.2547	-51.0562	-71.8182	-11.0437	-30.0751	-8.7244
3	3NBY	1	1	-8.5119	0.0916	1.0326	-60.5539	-77.9295	-11.4684	-28.9429	-8.5119
4	3NBY	1	1	-8.3983	2.0587	0.9667	-61.0904	-69.1493	-11.2359	-29.7407	-8.3983
5	3NBY	1	1	-8.0129	5.8305	0.8538	-51.3713	-76.5016	-10.9513	-24.0472	-8.0129
6	3NBY	1	1	-7.8766	5.1539	1.0462	-57.9148	-76.0084	-11.4087	-23.9311	-7.8766
7	3NBY	1	1	-7.0177	5.3715	1.3192	-55.9710	-48.9285	-11.2229	-7.5154	-7.0177
8	3NBY	1	1	-6.3663	4.4471	0.8219	-37.6085	-69.2069	-11.0486	-4.1223	-6.3663

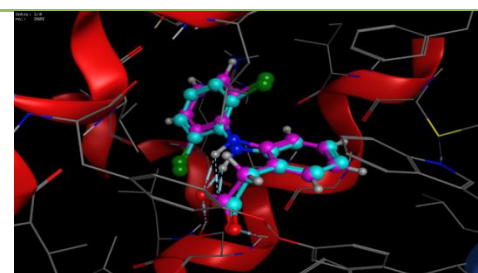


Tableau 10: Résultats de Rmsd de ligand de référence

Figure 22: Diagramme 3D de ligand de référence de COX 1 validée

I.2.2. Préparation des ligands :

- Le téléchargement des ligands à partir de la base des données <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> sous forme pdb.
- L'optimisation des structures à l'aide du logiciel MOE et avec le champ de forces AMBER10 afin d'obtenir la meilleure conformation possible.

I.3. Docking moléculaire

Après la préparation de l'enzyme et des ligands, le Docking moléculaire nous a permis d'étudier les interactions entre le site actif de l'enzyme COX1 et leurs ligands pour former le complexe E-L avec logiciel MOE.

Une fois le complexe est formé, il s'adaptera à la conformation la plus stable, c'est-à-dire qu'il a le niveau d'énergie le plus faible.

II. Résultats et discussion de COX1 :

Le Docking moléculaire a été effectué afin de déterminer les sites d'interaction possible avec l'enzyme en explorant la structure de chaque ligand.

II.1. Docking et Énergie d'interaction :

Le Docking moléculaire permet de calculer les interactions entre COX 1 et les ligands (inhibiteurs), les résultats sont présentés comme suit :

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

Les ligands	Mol	S	RMSD	RMSD-refine
Lig de ref	DIF	-9.4994	0.3248	1.4361
C1	176489	-7.0921		1.1937
C2	22226	-7.6141		1.6013
C3	72646	-7.6105		1.0897
C4	98457	-5.8812		1.3331
C5	130117	-8.4199		1.2137

Tableau 11 : Résultats du Docking moléculaire des différents inhibiteurs avec COX 1

- **S**: Le score final ; c'est le score de la dernière étape.
- **RMSD** : Différence entre la structure réelle et imaginaire de ligand de référence
- **Rmsd_refine** : L'écart quadratique moyen entre la pose avant de raffinement et de la pose après raffinement.

D'après les résultats du tableau 11, nous observons que **C5** possède un meilleur score c'est-à-dire l'énergie la plus basse **-8.4199 Kcal/mol**, et proche de celui de ligand de référence le diclofenac alors le C5 possible d'être le meilleur inhibiteur.

L'énergie d'interaction des différents ligands a été évaluée par docking moléculaire, le tableau 12 inclut les résultats des calculs effectués.

Molécule	Energie (Kcal/mol)
DIF	-6.69117e+003
C1	3.50289e+001
C2	6.02118e+001
C3	3.68682e+001
C4	6.46988e+001
C5	4.18010+001

Tableau 12: Energies des molécules étudiées

D'après les résultats de ce tableau, nous remarquons que C1 et C3 ont des faibles énergies par rapport aux autres ligands donc ils sont probablement plus stables.

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

II. 2. La distance :

- Ligand de référence :

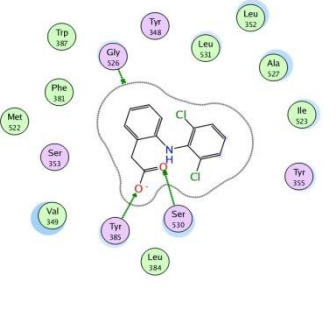
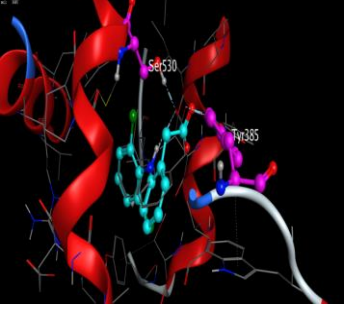
 <p style="text-align: center;">Diagramme d'interaction 2D</p>	 <p style="text-align: center;">Diagramme d'interaction 3D</p>	<p style="text-align: center;">Interactions avec le ligand de référence de COX1</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>DIF</th> <th>Récepteur</th> <th>Interactions</th> <th>Distance (A°)</th> <th>Energie (Kcal/mol)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O1</td> <td>Ser 530</td> <td>H-accepteur</td> <td>2.75</td> <td>-3.3</td> </tr> <tr> <td>O2</td> <td>Tyr 385</td> <td>H-accepteur</td> <td>2.89</td> <td>-3.0</td> </tr> </tbody> </table>	DIF	Récepteur	Interactions	Distance (A°)	Energie (Kcal/mol)	O1	Ser 530	H-accepteur	2.75	-3.3	O2	Tyr 385	H-accepteur	2.89	-3.0
DIF	Récepteur	Interactions	Distance (A°)	Energie (Kcal/mol)													
O1	Ser 530	H-accepteur	2.75	-3.3													
O2	Tyr 385	H-accepteur	2.89	-3.0													

Tableau 13: Interactions avec le ligand de référence de COX1

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que **DIF** forme deux interactions avec COX1 du type hydrogène, la première avec acide aminé **Ser 530** de distance de **2.75 A°** et la deuxième avec acide aminé **Tyr 385** de distance de **2.89A°**.

- C1 :

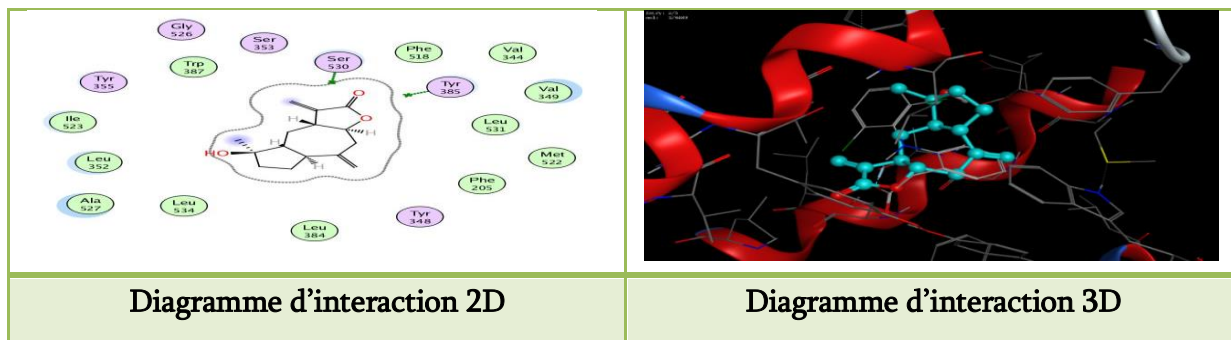


Figure 23: Diagramme d'interaction entre COX 1 et C1

- C2 :

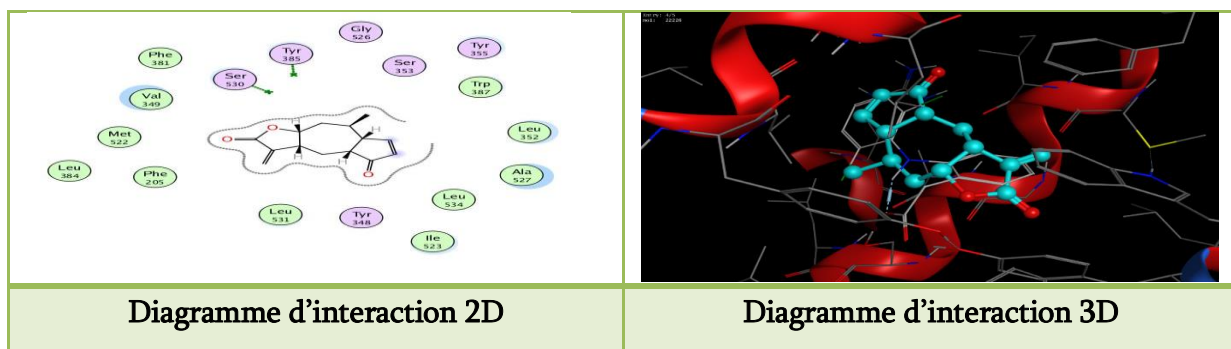


Figure 24: Diagramme d'interaction entre COX 1 et C2

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

▪ C3:

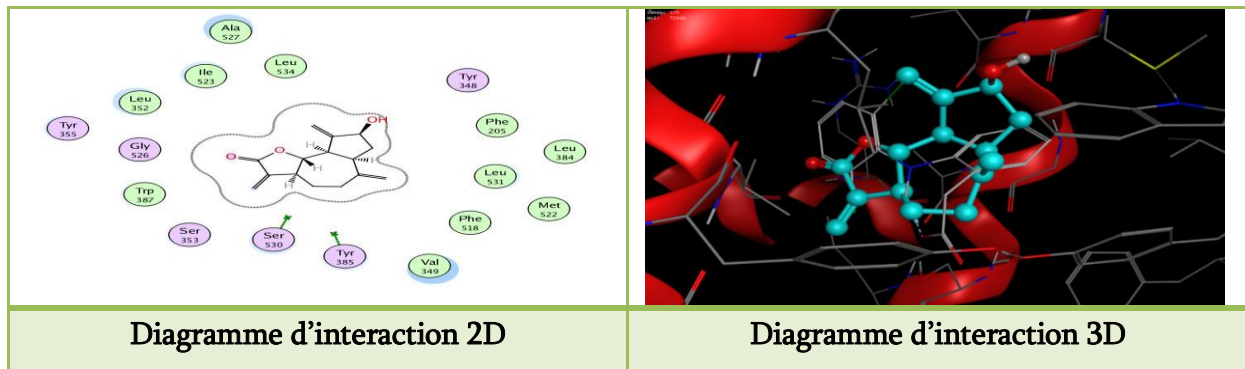


Figure 25: Diagramme d'interaction entre COX 1 et C3

▪ C4:

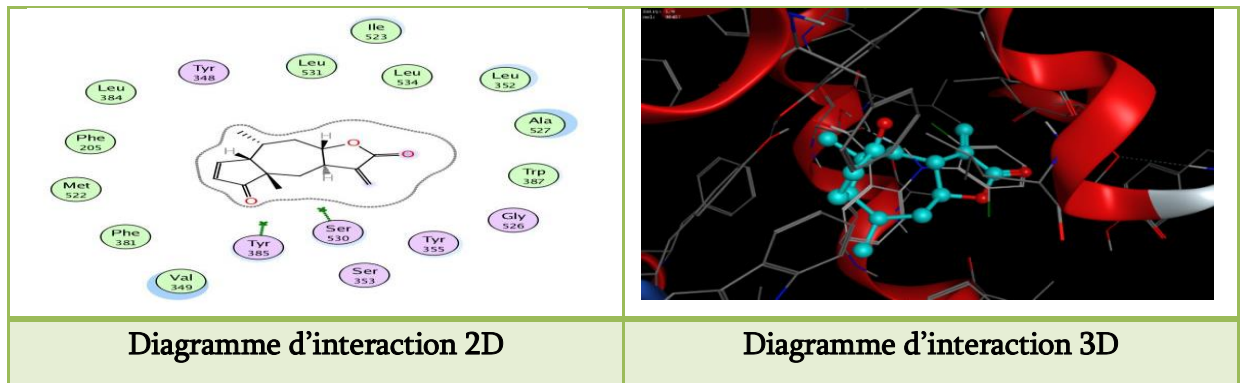


Figure 26: Diagramme d'interaction entre COX 1 et C4

▪ C5:

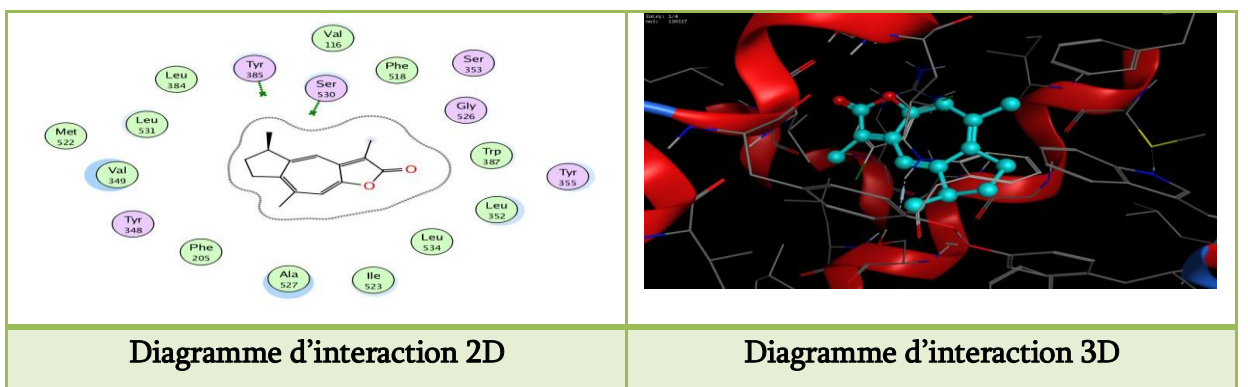


Figure 27: Diagramme d'interaction entre COX 1 et C5

Dans ce cas, les ligands C1, C2, C3, C4, C5 et COX 1 ne forment aucune interaction, il y a des interactions de *Van Der Waals* (VDW) qui sont non perceptibles.

II.3. Discussion

Dans cette partie de travail, nous avons étudié les interactions entre COX1 et inuviscolide et ses dérivés. Nous pouvons conclure à partir des résultats obtenus que l'enzyme COX1 n'interagisse pas avec leurs ligands par des liaisons H-donneur, H-accepteur et ioniques car il existe des interactions de VDW qui sont non perceptibles. Cependant, le ligand **C5** est le meilleur inhibiteur parmi les autres ligands étudiés puisqu'il possède l'énergie la plus faible - **8.4199 Kcal/mol**, ce qui permet de former le complexe le plus stable (COX 1-C5). Ainsi, nous avons remarqué que le C5 est un dérivé de l'inuviscolide (C1) isolé à partir de l'HE de l'IV, ayant une énergie plus basse par rapport au composé de l'IV c'est-à-dire qu'il forme un complexe plus stable par rapport au complexe de (C1).

Selon le classement décroissant des scores, C5 (-8.4199 Kcal/mol) est le meilleur inhibiteur formant le complexe le plus stable, suivi par C2 (-7.6141 Kcal/mol), puis C3 (-7.6105 Kcal/mol), ensuite C1 (-7.0921 Kcal/mol) et enfin C4 (-5.8812 Kcal/mol).

Nous pouvons d'après ces résultats de comparer entre l'énergie de meilleur inhibiteur (C5) et l'inhibiteur commercial de l'enzyme COX1 (DIF). Nous remarquons que C5 a une énergie comparable à celui de DIF, donc il est le meilleur inhibiteur de COX1.

B. ACTIVITE ANTICANCEREUSE

INTRODUCTION

Dans le monde, le cancer du sein est considéré comme la cause principale de morbidité et de mortalité chez les femmes [73], en particulier les femmes âgées de 35 à 55 ans [72].

Cancer du sein est une prolifération maligne des cellules (néoplasiques) anormales, qui se multiplie de façon incontrôlée. Les cellules cancéreuses soit restent dans le sein ou se propagent dans le corps par des vaisseaux sanguins ou lymphatiques [74].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le cancer du sein est l'un des cancers les plus agressifs chez les femmes. Il est le premier cancer en Algérie en termes de blessure [74].

Parmi les facteurs entraînant le cancer du sein les facteurs génétiques, les facteurs familiaux, les facteurs nutritionnels, les facteurs environnementaux et les facteurs hormonaux [74].

Le traitement du cancer du sein dépend de la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie et l'hormonothérapie [73].

L'hormonothérapie du cancer du sein est indiquée par des récepteurs hormonaux positifs (RH+). La positivité comprend la présence des récepteurs aux estrogènes (RE) ou récepteurs à la progestérone (RP) au moins 1% dans des cellules [75].

Cependant l'hormonothérapie présente des effets indésirables tels que : l'augmentation du risque d'accidents thromboemboliques, cancer de l'endomètre (Tamoxifène), ostéoporose et douleur articulaire et les symptômes de ménopause (bloquer le fonctionnement des hormones) [76].

Dans ce cadre, nous nous proposons d'étudier par Docking moléculaire les interactions entre l'enzyme mTOR, participant au processus de développement du cancer

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

du sein hormono-dépendant, et les ligands isolés à partir de l'HE et les extraits d'*Inula viscosa* et ses dérivés ayant des propriétés anticancéreuses.

I.MATERIEL ET METHODE

I.1.Matériels

Dans la partie B, nous allons suivre le même protocole que la partie A.

I.1.1. Présentation de l'enzyme mTOR

mTOR Mechanistic Target Of Rapamycin, précédemment elle était connue par Mammalian Target Of Rapamycin qui veut dire cible de la rapamycine chez les mammifères, c'est une enzyme intracellulaire découverte en 1994, elle est appelée également FRAP, RAF1, RAPT1. mTOR est impliquée dans la voie PI3K AKT / Mtor [77].

mTOR est une protéine serine/thréonine kinase appartenant à la famille des PIKK (Phosphoinositide 3-kinase-related protein kinases). Elle fonctionne à travers deux complexes distincts : mTORC1 et mTORC2, tandis que mTORC1 associée à RAPTOR (Regulatory associated protein of TOR) qui contrôle la croissance cellulaire et mTORC2 liée avec RICTOR (Rapamycin insensitive companion of TOR) contrôle la survie cellulaire et la résistance aux médicaments [78].

L'intégration de mTOR avec différents signaux stimule la croissance cellulaire, la prolifération, l'angiogenèse et la régulation génomique des œstrogènes [79].

Le dysfonctionnement de mTOR provoque des cancers ciblant plusieurs organes dont le sein [80].

La rapamycine (rapa) ou sirolimus est un antibiotique développé grâce à ses propriétés immunosuppressives. Elle est utilisée dans le traitement antirejet après greffe d'organe, possède aussi des propriétés antiprolifératives des cellules tumorales (inhibant la protéine mTOR) [81].

Parmi les effets indésirables liés à l'utilisation des inhibiteurs de mTOR (la Rapa) : l'influence sur la cicatrisation des tissus cutanés et lymphatiques. Ainsi qu'elle est

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

responsable aux effets secondaires dermatologiques (acné, lymphocèle) et muqueux (aphtes, les gingivites ...) [82].

1.1.2. Présentation des ligands :

Nous avons choisi pour l'inhibition de l'enzyme mTOR:

- Les molécules extraites à partir de l'HE de l'IV : inuviscolide (I1), tomentosine (T1) et l'acide isocostique (A1),
- Les dérivés de T1 : T2, T3, T4 et T5

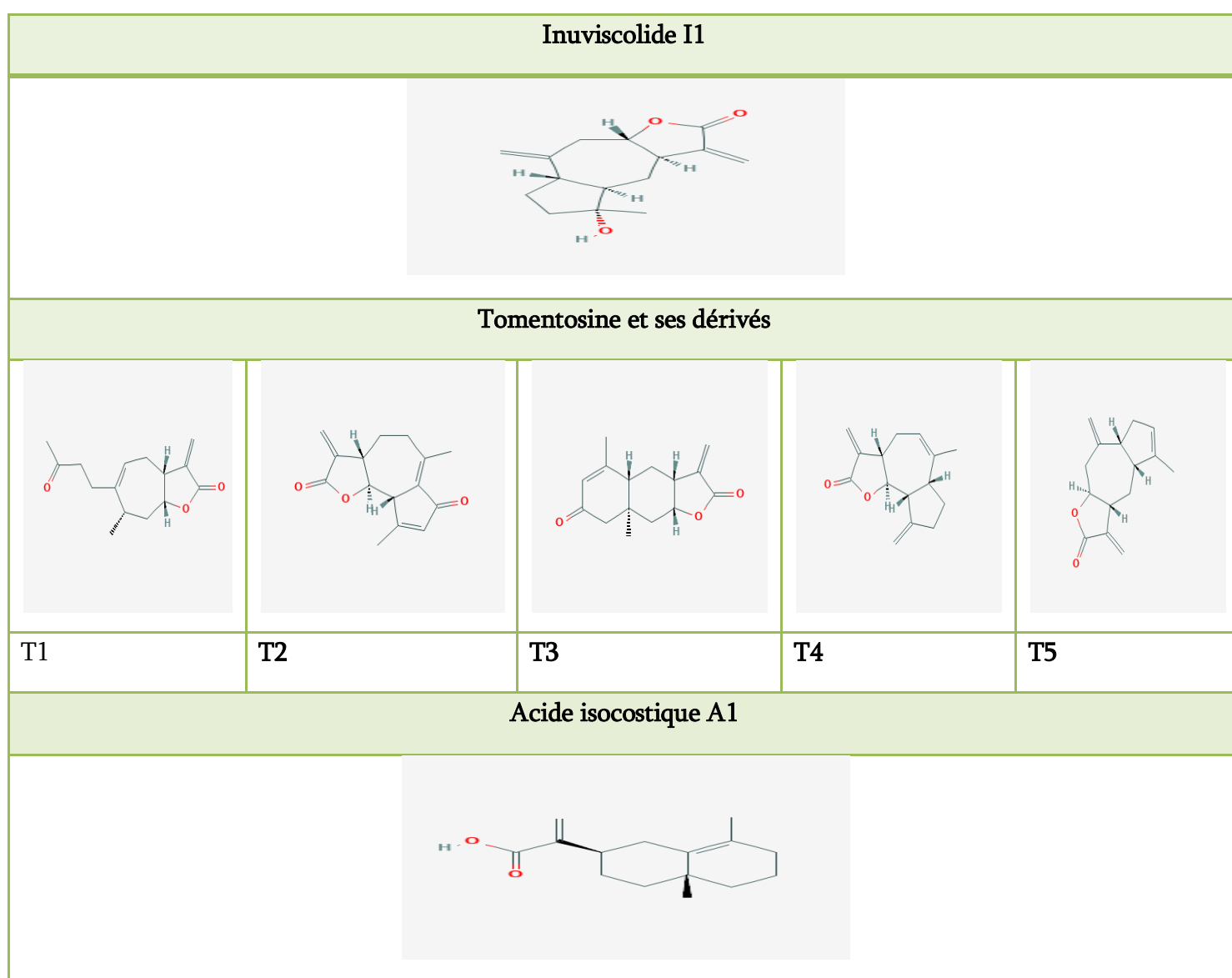


Figure 28: Les structures des ligands de mTOR

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

Ligands	Nom d'IUPAC	CID
Inuviscolide I1		
I1	(3 <i>aS</i> ,5 <i>aS</i> ,8 <i>R</i> ,8 <i>aR</i> ,9 <i>aR</i>)-8-hydroxy-8-methyl-1,5-dimethylidene-3 <i>a</i> ,4,5 <i>a</i> ,6,7,8 <i>a</i> ,9,9 <i>a</i> -octahydroazuleno[6,5- <i>b</i>]furan-2-one	176489
Tomentosine et ses dérivés		
T1	(3 <i>aR</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-7-methyl-3-methylidene-6-(3-oxobutyl)-4,7,8,8 <i>a</i> -tetrahydro-3 <i>aH</i> -cyclohepta[<i>b</i>]furan-2-one	155173
T2	(3 <i>aS</i> ,9 <i>aS</i> ,9 <i>bS</i>)-6,9-dimethyl-3-methylidene-4,5,9 <i>a</i> ,9 <i>b</i> -tetrahydro-3 <i>aH</i> -azuleno[4,5- <i>b</i>]furan-2,7-dione	73440
T3	(3 <i>aS</i> ,6 <i>aR</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bS</i>)-6-methyl-3,9-dimethylidene-4,6 <i>a</i> ,7,8,9 <i>a</i> ,9 <i>b</i> -hexahydro-3 <i>aH</i> -azuleno[4,5- <i>b</i>]furan-2-one	100572
T4	4-(2,5-dimethylphenyl)butanoic acid	15071
T5	(3 <i>aR</i> ,4 <i>aR</i> ,8 <i>aS</i> ,9 <i>aR</i>)-5,8 <i>a</i> -dimethyl-3-methylidene-3 <i>a</i> ,4,4 <i>a</i> ,8,9,9 <i>a</i> -hexahydrobenzo[<i>f</i>][1]benzofuran-2,7-dione	73465
Acide isocostique A1		
A1	2-[(2 <i>R</i> ,4 <i>aR</i>)-4 <i>a</i> ,8-dimethyl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1 <i>H</i> -naphthalen-2-yl]prop-2-enoic acid	10922464

Tableau 14: Les propriétés chimiques des ligands étudiés

1.1.3. Les propriétés des ligands :

Le logiciel MOE permet de nous donner les propriétés des ligands étudiés comme : toxicité, rétrosynthèse, la masse moléculaire, Log S ...

Pour savoir si la molécule respecte la règle de Lipinski (connue par la règle de 5) [71].

Ligands	Inuviscolide		Tomentosine et ses dérivés				Acide isocostique
	I1	T1	T2	T3	T4	T5	A1
Masse moléculaire (g/mol)	248.32	248.32	244.28	246.3	230.3	230.3	234.33
N ROT	0	3	0	0	0	0	2
Toxicité	No	No	No	No	No	No	No
Rétro synthèse %	5.56	5.56	44.44	5.56	5.88	5.88	5.88
TPSA (Å ²)	46.53	43.4	43.4	43.4	26.3	26.3	37.3
H don	1	0	0	0	0	0	1
H acc	3	3	3	3	2	2	2
Log P	1.8	1.9	1.5	1.8	2.6	2.4	3.6
Log S	-1.97	-1.66	-2.87	-2.82	-2.47	-2.78	-4.29

Tableau 15: Les propriétés des ligands de étudiés

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

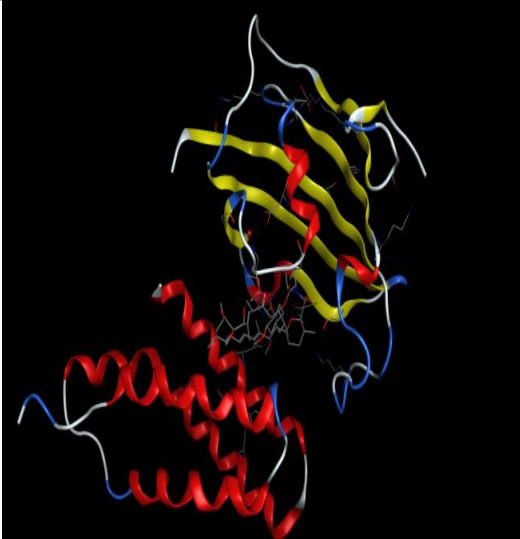
D'après les résultats du tableau 15, nous pouvons conclure que les ligands étudiés de mTOR sont non toxiques et ils respectent la règle de Lipinski étendue.

I.2. Méthodes

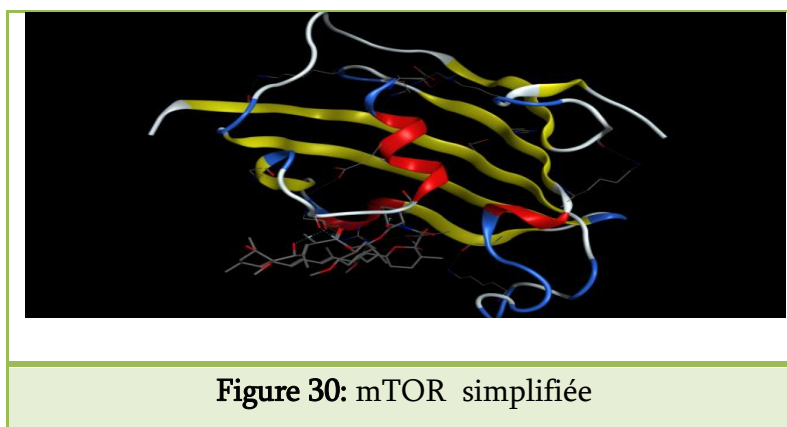
I.2.1. Préparation de l'enzyme

Le téléchargement de l'enzyme a été fait à partir de la base de données : BookhavenProtein Data Bank (www.rcsb.org/pdb)

- Enzyme de mTOR sous le code d'accès 4DRI, Co- cristallisée avec l'inhibiteur (RAP) QFJCIRLUMZQUOT-HPLJQQBZSA-N (C₅₁ H₇₉ N O₁₃).

Enzyme	mTor	
Code	4 DRI	
Classification	Isomerase/trasferase	
Organisme	Homo sapiens	
Expression système	Escherichia coli BL21 (de3)	
Résolution	1.45	
Méthodes	X-RAY DIFFRACTION	
Poids(Kda)	28.35538	
La chaine	A	
<p>Tableau 16: Les données cristallographiques de l'enzyme mTor</p>		

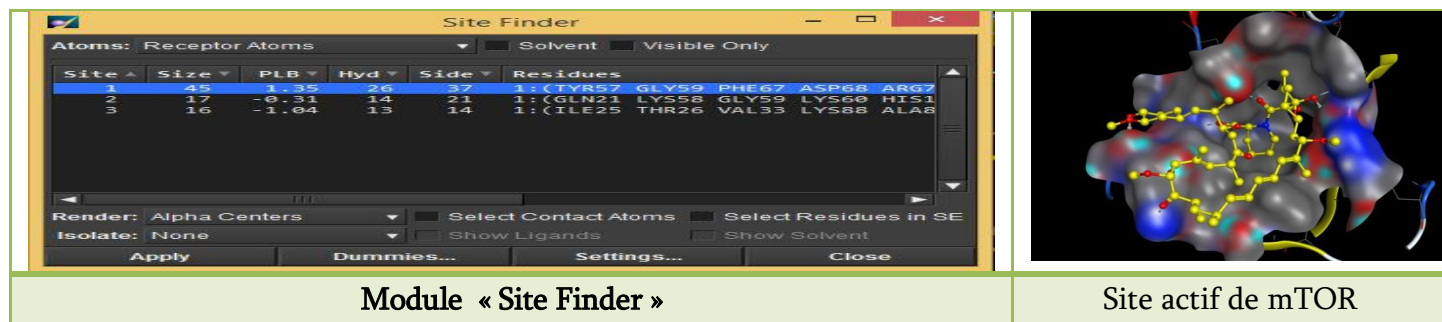
- La simplification de l'enzyme :



CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

➤ Détermination du site actif de l'enzyme :

Les sites actifs de l'enzyme sont présentés comme suit :



Module « Site Finder »

Site actif de mTOR

Figure 31: Le site actif de l'enzyme mTOR

➤ Le choix de ligand de référence de l'enzyme mTOR:

Le choix de ligand de référence se fait en fonction de $Rmsd < 2 \text{ \AA}^\circ$

	mol	rseq	mseq	S	rmsd	rmsd_refine	E_conf	E_place	E_score1	E_refine	E_score2
1	4DRI	1	1	-11.1318	1.0926	1.4150	188.4178	-128.6063	-16.4661	-59.2115	-11.1318
2	4DRI	1	1	-10.7876	2.7823	1.8483	192.0295	-81.0005	-11.6929	-56.0412	-10.7876
3	4DRI	1	1	-10.2068	2.7041	2.0696	193.2111	-87.7115	-12.1331	-53.2826	-10.2068
4	4DRI	1	1	-9.0990	8.9292	2.1411	181.8172	-82.1319	-10.4296	-38.5767	-9.0990
5	4DRI	1	1	-8.8079	7.9203	1.7833	195.9702	-69.8716	-10.4670	-40.5631	-8.8079
6	4DRI	1	1	-8.7371	8.1859	1.3489	179.5986	-78.0696	-10.8065	-39.9008	-8.7371
7	4DRI	1	1	-8.1860	7.9247	1.3054	175.2665	-80.9660	-12.2685	-33.8885	-8.1860
8	4DRI	1	1	-7.6714	8.2734	3.8891	181.1734	-83.3001	-10.9111	-32.3628	-7.6714
9	4DRI	1	1	-6.8387	10.1933	1.7892	188.2266	-47.4996	-10.5929	-26.6076	-6.8387
10	4DRI	1	1	-5.9810	7.5546	2.2898	181.1553	-66.3940	-10.8940	-24.9388	-5.9810

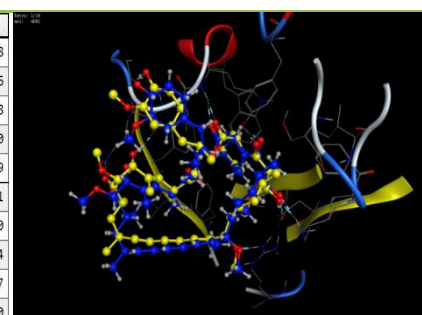


Tableau 17: Résultats de Rmsd de ligand de référence

Figure 32 : Diagramme 3D de ligand de référence de mTOR validée

1.2.2. Préparation des ligands :

- Le téléchargement des ligands à partir de la base des données <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> sous forme pdb.
- L'optimisation des structures à l'aide du logiciel MOE et avec le champ de force AMBER10 afin d'obtenir la meilleure conformation possible.

1.3. Docking moléculaire

L'étude des interactions entre le site actif de mTOR et leurs ligands pour former complexe E-L avec logiciel MOE.

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

Une fois le complexe est formé, il s'adaptera à la conformation la plus stable qui a l'énergie le plus faible.

II. Résultats et discussion de mTOR

II.1. Docking et Énergie d'interaction :

Le Docking moléculaire nous a permis de calculer les interactions entre mTOR et ses ligands (inhibiteurs), les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Les ligands	Mol	S	RMSD	RMSD-refine
Lig de ref	RAP	-11.0026	1.0926	1.4150
Inuviscolide				
I1	176489	-6.2485		1.2820
Tomentosine et ses dérivés				
T1	155173	-6.5187		2.0155
T2	73440	-5.6856		0.9834
T3	100572	-6.0553		1.0195
T4	15071	-5.7163		1.2773
T5	73465	-5.7640		1.6144
Acide isocostique				

Tableau 18: Résultats du Docking moléculaire des différents ligands avec mTOR

D'après les résultats du tableau 16, nous remarquons que T1 possède un meilleur score c'est-à-dire l'énergie la plus basse **-6.5187Kcal/mol**, alors le T1 possible d'être le meilleur inhibiteur.

L'énergie d'interaction entre différents ligands a été évaluée par docking moléculaire, le tableau suivant contient les résultats des calculs effectués lors la recherche des meilleures conformations possibles des ligands.

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

ligands	Energie (Kcal/mol)
RAP	-1.11733e+003
I1	3.50289e+001
T1	4.18010+001
T2	2.19700e+001
T3	5.98597e+001
T4	3.57356e+001
T5	4.18715e+001
A1	4.72547e+001

Tableau 19: Energies des molécules étudiées

D'après les résultats du tableau 17, nous remarquons que l'inhibiteur T2 a une faible énergie moléculaire par rapport aux autres inhibiteurs donc il est probablement le plus stable.

II. 2. La distance :

▪ Ligand de référence :

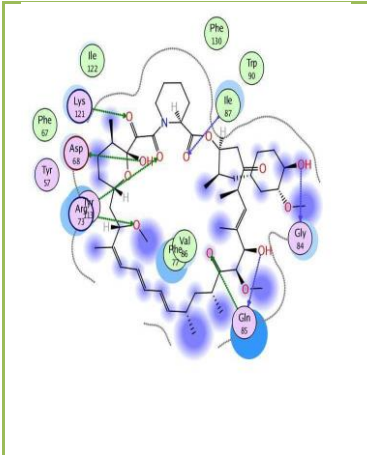
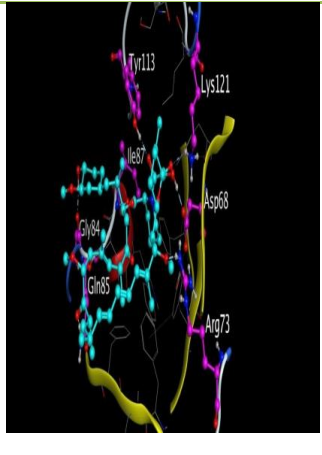
		RAP	Récepteur	Interactions	Distance (Å°)	Energie (Kcal/mol)
		O6	Asp 68	H-donneur	2.67	-4.6
		O10	Gln 85	H-donneur	2.97	-1.3
		O13	Gly 84	H-donneur	2.58	-1.4
		O2	Ile 87	H-accepteur	3.09	-2.7
		O3	Tyr 113	H-accepteur	2.63	-3.2
		O4	Lys 121	H-accepteur	3.37	-2.0
		O7	Arg 73	H-accepteur	2.76	-5.0
		O8	Gln 85	H-accepteur	2.71	-1.6
Diagramme d'interaction 2D	Diagramme d'interaction 3D	Interactions avec le ligand de référence de mTOR (RAP)				

Tableau 20: Interactions avec le ligand de référence de mTOR (RAP)

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que **RAP** forme des interactions avec mTOR du type H-accepteur et H-donneur :

- ✚ H-donneur : Asp 68 avec une distance de 2.67 Å°
- ✚ H-donneur : Gln 85 avec une distance de 2.97 Å°.

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

- ✚ H-donneur : Gly 84 avec une distance de 2.58 Å°.
- ✚ H-accepteur : Ile 87 avec une distance de 3.09 Å°.
- ✚ H-accepteur : Tyr 113 avec une distance de 2.63 Å°.
- ✚ H-accepteur : Lys 121 avec une distance de 3.37 Å°.
- ✚ H-accepteur : Arg 73 avec une distance de 2.76 Å°.
- ✚ H-accepteur : Gln 85 avec une distance de 2.71 Å°.

▪ I1 :

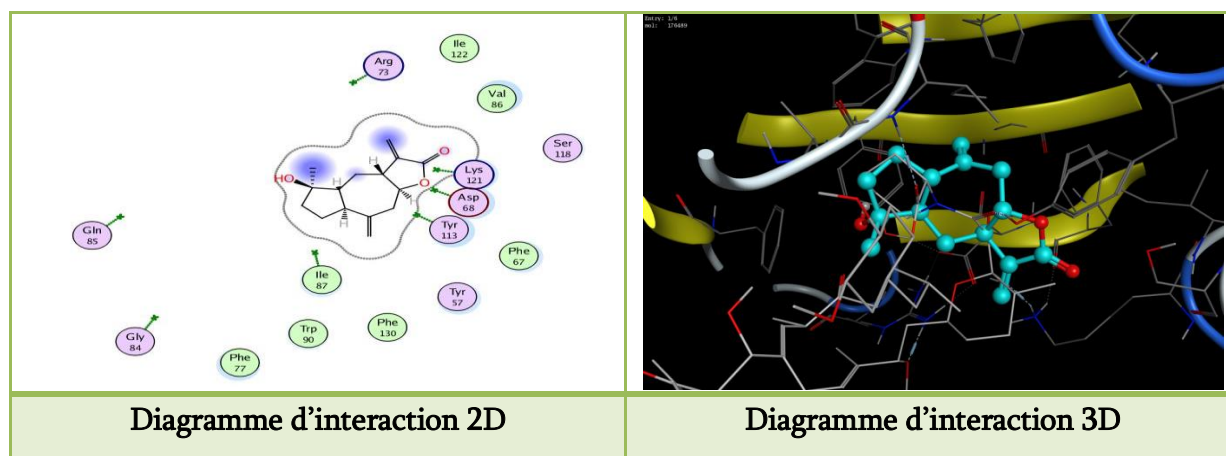


Figure 33: Diagramme d'interaction entre mTOR et I1

Dans ce cas, le logiciel ne montre aucune interaction entre I1 et mTOR parce qu'il y a des interactions qui sont non perceptibles comme les interactions de *Van Der Waals (VDW)*.

▪ T1 :

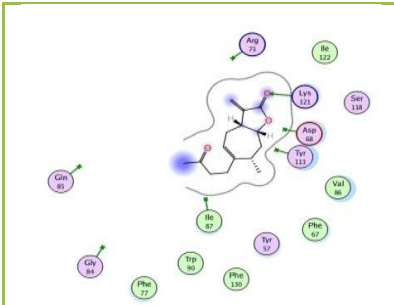
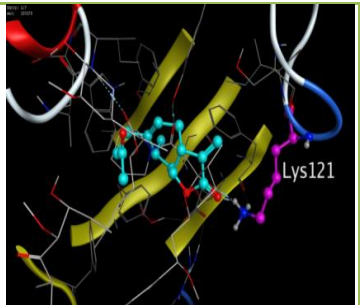
						
Diagramme d'interaction 2D	Diagramme d'interaction 3D	Interactions avec le ligand T1				
		T1	Récepteur	Interactions	Distance (Å°)	Energie (Kcal/mol)
		O2	Lys 121	H-accepteur	3.03	-3.0

Tableau 19: Interactions avec le ligand T1

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'inhibiteur T1 forme une interaction avec l'enzyme mTOR du type Hydrogène avec acide aminé Lys 121 de distance de 3.03 Å°.

▪ T2 :

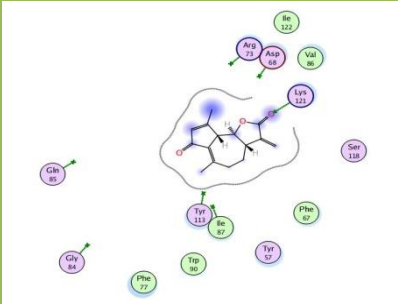
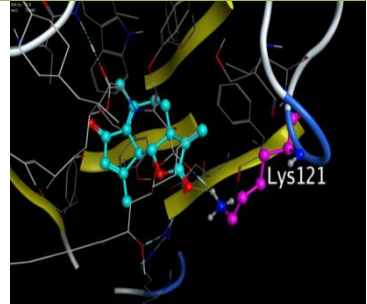
														
Diagramme d'interaction 2D	Diagramme d'interaction 3D	Interactions avec le ligand T1												
		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">T2</th> <th style="width: 20%;">Récepteur</th> <th style="width: 20%;">Interactions</th> <th style="width: 15%;">Distance (Å°)</th> <th style="width: 35%;">Energie (Kcal/mol)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O3</td> <td>Lys 121</td> <td>H-accepteur</td> <td style="text-align: center;">3.25</td> <td style="text-align: center;">-0.6</td> </tr> </tbody> </table>	T2	Récepteur	Interactions	Distance (Å°)	Energie (Kcal/mol)	O3	Lys 121	H-accepteur	3.25	-0.6		
T2	Récepteur	Interactions	Distance (Å°)	Energie (Kcal/mol)										
O3	Lys 121	H-accepteur	3.25	-0.6										

Tableau 21: Interactions avec le ligand T2

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'inhibiteur T2 forme une interaction avec l'enzyme mTOR du type hydrogène avec acide aminé Lys 121 de distance de 3.25 Å°.

▪ T3 :

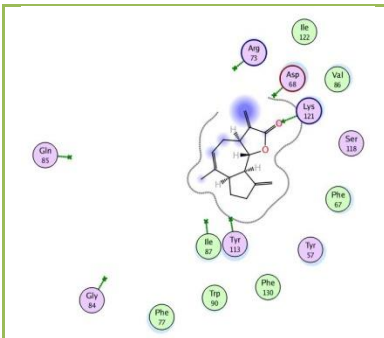
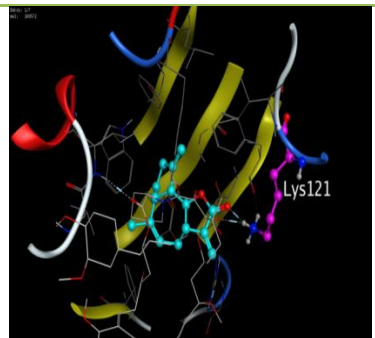
														
Diagramme d'interaction 2D	Diagramme d'interaction 3D	Interactions avec le ligand T3												
		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">T3</th> <th style="width: 20%;">Récepteur</th> <th style="width: 20%;">Interactions</th> <th style="width: 15%;">Distance (Å°)</th> <th style="width: 35%;">Energie (Kcal/mol)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O2</td> <td>Lys 121</td> <td>H-accepteur</td> <td style="text-align: center;">3.13</td> <td style="text-align: center;">-4.5</td> </tr> </tbody> </table>	T3	Récepteur	Interactions	Distance (Å°)	Energie (Kcal/mol)	O2	Lys 121	H-accepteur	3.13	-4.5		
T3	Récepteur	Interactions	Distance (Å°)	Energie (Kcal/mol)										
O2	Lys 121	H-accepteur	3.13	-4.5										

Tableau 22: Interactions avec le ligand T3

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'inhibiteur T3 forme une interaction avec l'enzyme mTOR du type hydrogène avec acide aminé Lys 121 de distance de 3.13 Å.

▪ **T4 :**

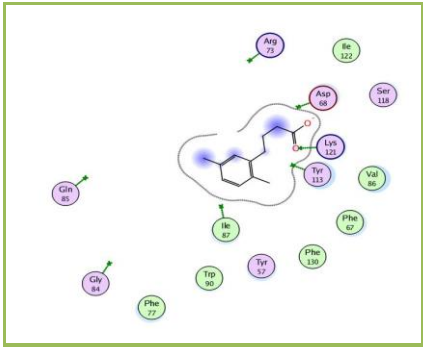
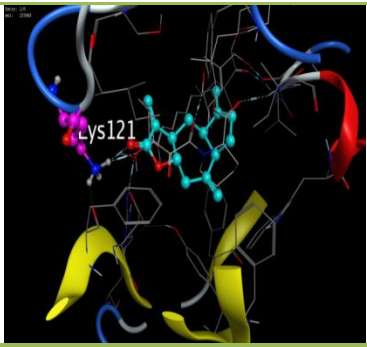
						
Diagramme d'interaction 2D	Diagramme d'interaction 3D	Interactions avec le ligand T4				
		T4	Récepteur	Interactions	Distance (Å)	Energie (Kcal/mol)
		O2	Lys 121	H- accepteur	3.08	-3.4

Tableau 23: Interactions avec le ligand T4

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'inhibiteur T4 forme une interaction avec l'enzyme mTOR du type hydrogène avec acide aminé Lys 121 de distance de 3.08 Å.

▪ **T5 :**

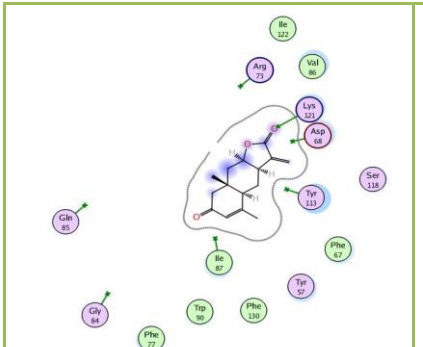
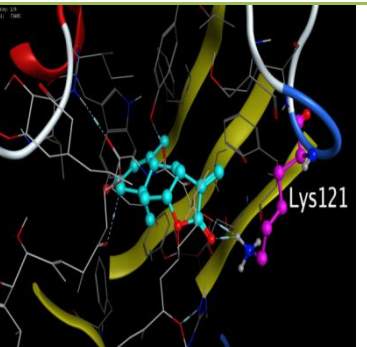
						
Diagramme d'interaction 2D	Diagramme d'interaction 3D	Interactions avec le ligand T5				
		T5	Récepteur	Interactions	Distance (Å)	Energie (Kcal/mol)
		O3	Lys 121	H- accepteur	2.96	-4.2

Tableau 24: Interactions avec le ligand T5

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'inhibiteur T5 forme une interaction avec l'enzyme mTOR du type hydrogène avec acide aminé Lys 121 de distance de 2.96 Å°.

- A1 :

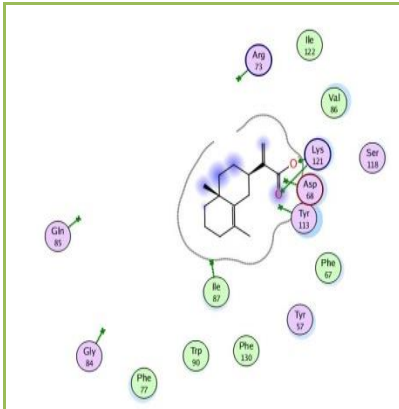
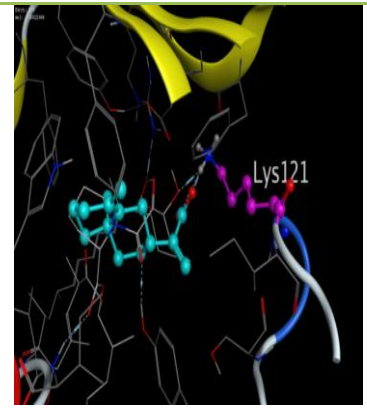
		A1	Récepteur	Interactions	Distance (Å°)	Energie (Kcal/mol)
		O1	Lys 121	H-accepteur	3.28	-2.7
		O2	Lys 121	H-accepteur	2.88	-16.8
		O1	Lys 121	Ionique	3.28	-2.8
		O2	Lys 121	Ionique	2.88	-5.3
Diagramme d'interaction 2D	Diagramme d'interaction 3D	Interactions avec le ligand A1				

Tableau 25: Interactions avec le ligand A1

D'après les résultats obtenus, nous remarquons qu'A1 forme quatre interactions avec mTOR, la première du type hydrogène avec acide aminé Lys 121 de distance de 3.28 Å°, la deuxième du type hydrogène avec acide aminé Lys 121 de distance de 2.88Å°, la troisième du type ionique avec acide aminé Lys 121 de distance de 3.28Å°et la quatrième du type ionique avec acide aminé Lys 121 de distance de 2.88Å°.

II.3. Discussion

Dans cette partie de travail, nous avons étudié les interactions entre mTOR et les molécules de l'IV. D'après les résultats, nous pouvons dire que l'enzyme mTOR interagisse avec leurs ligands par des liaisons H-accepteur, ionique et pi-cation. Ces interactions se font entre les ligands (inhibiteurs) et les acides aminés de site actif de l'enzyme.

CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION (ETUDE DES INTERACTIONS ENZYME-LIGAND)

D'après les interactions calculées, nous avons montré que parmi les molécules extraites de l'HE de l'IV étudiées, tomentosine (**T1**) est le meilleur inhibiteur de mTOR car il permet de former le complexe le plus stable (**-6.5187 Kcal/mol**).

D'autre part, les dérivés de tomentosine ont même des scores importants comme le **T3 (-6.0553 Kcal/mol)**. Ces résultats permettent de l'utiliser comme un inhibiteur de mTOR.

Selon le classement décroissant des scores, T1 (-6.5187 Kcal/mol) est le meilleur inhibiteur car il possède l'énergie la plus basse, suivi par I1 (-6.2485 Kcal/mol), A1 (-6.0670 Kcal/mol), ensuite T3 (-6.0553 Kcal/mol) puis T5 (-5.7640 Kcal/mol), T4 (-5.7163 Kcal/mol) et enfin T2 (-5.6856 Kcal/mol).

Nous pouvons d'après ces résultats de comparer entre l'énergie de meilleur inhibiteur (T1) et l'inhibiteur commercial de l'enzyme mTOR (RAP). Nous remarquons que T1a une énergie comparable à celui deRAP, donc il est le meilleur inhibiteur de COX1.

*CONCLUSION
GENERALE*



CONCLUSION GENERALE

La situation géographique de l'Algérie offre une richesse en Flore, en particulier Tlemcen qui est caractérisée par des plantes aromatiques et médicinales comme l'espèce d'*Inula viscosa*.

L'étude bibliographique préalable réalisée sur *Inula viscosa* a montré que cette espèce est considérée comme étant une reine des plantes médicinales grâce à ses propriétés thérapeutiques.

L'objectif principal de notre travail est basé sur la valorisation de l'espèce d'*Inula viscosa* récoltée au niveau de Nédroma la région de Tlemcen. L'aspect de valorisation s'articule autour des résultats de vérification théorique de l'activité anti-inflammatoire et anticancéreuse.

Les résultats d'extraction de l'HE de l'*Inula viscosa* par l'hydrodistillation du type Clevenger, nous ont donné un rendement faible et proche en comparant à celui de littérature.

L'inuviscolide, tomentosine et l'acide isocostiques sont des molécules extraites à partir de l'HE de l'*Inula viscosa* ayant des activités anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces molécules sont issues de littérature.

L'étude des interactions entre les ligands de l'*Inula viscosa* et les enzymes, impliquées dans l'inflammation (COX1) et dans le cancer du sein hormono-dépendant (mTOR), à l'aide d'un outil informatique (programme MOE) dans le but de bien comprendre le mécanisme d'action de ces dérivés à l'échelle microscopique ce qui permettra la proposition de nouveaux médicaments potentiels pour les traiter ces maladies.

D'après les résultats obtenus, nous avons trouvé que Gweicurculactone (C5), dérivé de l'inuviscolide (molécule de l'*Inula viscosa*) représente un meilleur score avec COX1 par rapport aux autres complexes.

CONCLUSION GENERALE

Pour l'activité anticancéreuse, nous avons trouvé que Tomentosine (molécule de l'*Inula viscosa*) est le meilleur inhibiteur par rapport aux autres ligands puisqu'il forme un complexe plus stable avec le mTOR.

En conclusion, notre travail inclut des résultats qui montrent que les ligands de l'*Inula viscosa* ayant un pouvoir anti-inflammatoire et anticancéreux ce qui encourage à les isoler et les utiliser comme des principes actifs pour minimiser les effets secondaires des médicaments synthétiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Okacha, Yebdri, Saidi-BesbesSalima, BellahouelSalima, et Kambouche Nadia. « EXTRACTION DES FLAVONOÏDES DE LA PLANTE INULA VISCOSA DE LA RÉGION D'ORAN ET MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTIVITÉ MICROBIENNE », s. d., 86.
- [2] Laama Hadjer «Etude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de PetroselinumSativum de la région d'Ain Defla »Université Djilali BounaamaKhemis Miliana,2015.
- [3] Schwartz, K. « Inflammation et maladies: clés de compréhension ». *Inserm* 2012 (2011): 74.
- [4] Imen, NAILI. « Etude des marqueurs inflammatoire chez les patients atteints de schizophrénie »,s. d., 61.
- [5] Tayeb Cherif, Aldjia, et S. Encadreur Sebaihi. « Evaluation in vivo de l'activité antiinflammatoire de l'extrait éthanolique d'écorce de Fraxinusangustifolia (Oleaceae) », 2012. [6] Souaga, K, A Adou, D Amantchi, et Y Angoh. « PLAIDOYER POUR UNE UTILISATION RAISONNEE DES ANTI-INFLAMMATOIRES EN ODONTO-STOMATOLOGIE », s. d., 6.
- [7] Pernet, Erwan. « Etude du rôle de la phospholipase A2 sécrétée de type IIA dans la mucoviscidose: modulation de son expression par Pseudomonas aeruginosa », s. d., 189.
- [8] Smith, William L., R. Michael Garavito, et David L. DeWitt. « Prostaglandin Endoperoxide H Synthases (Cyclooxygenases)-1 and -2 ». *Journal of Biological Chemistry* 271, n° 52 (27 décembre 1996): 33157-6.
- [9] Bannwarth, B., et F. Berenbaum. « Nouveaux anti-inflammatoires non stéroïdiens: donneurs de NO et inhibiteurs sélectifs de COX-2 ». *La Revue de Médecine Interne* 20 (août 1999): 341s-45.
- [10] Ouédraogo, N., M. Lompo, R. W. Sawadogo, A. Tibiri, A. -E. Hay, J. Koudou, M. -G. Dijoux, et I. P. Guissou. « Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de Pterocarpus erinaceus Poir. (Fabaceae) ». *Phytothérapie* 10, n° 5 (octobre 2012): 286-92.
- [11] Hernández, Victoriano, María del Carmen Recio, Salvador Máñez, José María Prieto, Rosa María Giner, et José Luis Ríos. « A mechanistic approach to the in vivo anti-inflammatory activity of sesquiterpenoid compounds isolated from Inula viscosa ». *Planta Medica* 67, no 08 (2001): 726–731
- [12] Aguilar, José L, Percy Rojas, Adolfo Marcelo, Alberto Plaza, Rudolf Bauer, Eveline Reininger, Christoph A Klaas, et Irmgard Merfort. « Anti-Inflammatory Activity of Two Different Extracts of Uncaria Tomentosa (Rubiaceae) ». *Journal of Ethnopharmacology* 81, n° 2 (juillet 2002): 271-76.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [13] Deliorman Orhan, Didem, Ali Hartevioğlu, Esra Küpeli, et Erdem Yesilada. « In Vivo Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activity of the Crude Extract and Fractions from *Rosa Canina* L. Fruits ». *Journal of Ethnopharmacology* 112, n° 2 (juin 2007): 394-400.
- [14] Mahnane, A., et M. Hamdi Cherif. « Epidémiologie du cancer du sein en Algérie ». *Actualités dans la prise en charge multidisciplinaires des cancers du sein en*, 2012.
- [15] Bakkali, H, C Marchal, A Lesur-Schwander, et J.-L Verhaeghe. « Le cancer du sein chez la femme de 30 ans et moins ». *Cancer/Radiothérapie* 7, n° 3 (juin 2003): 153-59.
- [16] « DZA_D1_manuel cancer_sein.pdf - Google Scholar Espie, Marc, A. S. Hamy, S.
- [17] Eskenazy, Caroline Cuvier, et Sylvie Giacchetti. « Épidémiologie du cancer du sein », 2012.
- [18] Puddu, Marina, et Jean Tafforeau. « Opportunité de dépistage du cancer du sein chez les femmes de 40 à 49 ans », 2005, 282.
- [19] Caron-Beaudoin, Élyse. « Développement de modèles cellulaires pour la détection de la perturbation promoteur-spécifique de l'aromatase (CYP19) chez l'humain par des pesticides néonicotinoïdes ». PhD Thesis, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, 2017.
- [20] Coumoul, Xavier, et Robert Barouki. « Génotoxicité des métabolites des œstrogènes et cancers ». *médecine/sciences* 18, n° 1 (janvier 2002): 86-90.
- [21] Simoncini, T. « Genomic and Non-Genomic Effects of Estrogens on Endothelial Cells*1 ». *Steroids* 69, n° 8-9 (août 2004): 537-42.
- [22] Vilquin, Paul, Pascale Cohen, Thierry Maudelonde, Olivier Tredan, Isabelle Treilleux, Thomas Bachelot, et Pierre-Etienne Heudel. « Nouvelles stratégies thérapeutiques dans le cancer du sein hormono-dépendant métastatique ». *Bulletin du Cancer* 102, n° 4 (avril 2015): 367-80.
- [23] Chantal Dreyer, Eric Raymond, et Sandrine Faivre. « La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR ». *Cancéro digest* 1, n° 3 (2009): 187.
- [24] Robert, Jacques. « mTOR, une protéine multifonctionnelle impliquée (entre autres) dans l'angiogenèse », 2013, 8.
- [25] Kist, Roger, et Rafael Andrade Caceres. « New Potential Inhibitors of MTOR: A Computational Investigation Integrating Molecular Docking, Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulation ». *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 35, n° 16 (10 décembre 2017): 3555-68.
- [26] Balsat, Marie, et Jérôme Cornillon. « m-TOR inhibitors: biology and use in the treatment of haematological diseases ». *Bulletin du Cancer* 98, n° 8 (août 2011): 935-43.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [27] QUÉZEL, P., et S. SANTA. « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales: Centre National de La Recherche Scientifique (CNRS) Paris ». *Tome II*, 1963.
- [28] Liu, Shouxin, He Liu, Weiyang Yan, Li Zhang, Naisheng Bai, et Chi-Tang Ho. « Design, synthesis, and anti-tumor activity of (2-O-alkyloxime-3-phenyl)-propionyl-1-O-acetylbritannilactone esters ». *Bioorganic&medicinalchemistry* 13, n° 8 (2005): 2783–2789.
- [29] Konishi, Tenji, Yasuo Shimada, Tsuneatsu Nagao, Hikaru Okabe, et Takao Konoshima. « Antiproliferative sesquiterpene lactones from the roots of *Inula helenium* ». *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 25, n° 10 (2002): 1370–1372.
- [30] Edwards, O. E., G. Feniak, et M. Los. « Diterpenoid quinones of *Inula royleana* DC ». *Canadian Journal of Chemistry* 40, n° 8 (1962): 1540–1546.
- [31] Máñez, Salvador, Victoriano Hernández, Rosa-María Giner, José-Luis Ríos, et María del Carmen Recio. « Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inulviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa* ». *Fitoterapia* 78, n° 4 (2007): 329–331.
- [32] BOUHADJERA, Wafa. « Etude histométrique de l'espèce *Inula viscosa*, dans la région de Tlemcen », 2017.
- [33] Aroui, Hamza, Tayeb Hallil, et F. Encadreur Bedjou. « Inhibition de la dénaturation de la sérumalbumine bovine par les huiles essentielles d'*Inula viscosa*, d'*Origanum vulgare* et de *Veronica officinalis* », 2017.
- [34] Haoui, Imad Eddine, Ratiba Derriche, Leila Madani, et Zahia Oukali. « Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton ». *Arabian Journal of Chemistry* 8, n° 4 (2015): 587–590.
- [35] Sala, Araceli, M. Carmen Recio, Guillermo R. Schinella, Salvador Máñez, Rosa M. Giner, Miguel Cerdá-Nicolás, et José-Luis Ríos. « Assessment of the anti-inflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside ». *European Journal of Pharmacology* 461, no 1 (2003): 53–61.
- [36] Ali-Shtayeh, M. S., Reem M.-R. Yaghmour, Y. R. Faidi, Khalid Salem, et M. A. Al-Nuri. « Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area ». *Journal of Ethnopharmacology* 60, n° 3 (1998): 265–271.
- [37] Cafarchia, C., N. De Laurentis, M. A. Miliello, V. Losacco, et V. Puccini. « Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region ». *Parassitologia* 44, no 3 (2002): 153–156.
- [38] Aşkin Çelik, Tülay, et Özlem Sultan Aslantürk. « Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Inula viscosa* leaf extracts with *Allium test* ». *Journal of BioMed Research* 2010 (2010).
- [39] Danino, Ortal, Hugo E. Gottlieb, Shlomo Grossman, et Margalit Bergman. « Antioxidant activity of 1, 3-dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa* ». *Food Research International* 42, n° 9 (2009): 1273–1280.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [40] Schinella, G. R., H. A. Tournier, J. M. Prieto, P. Mordujovich De Buschiazzo, et J. L. Rios. « Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts ». *Life sciences* 70, n° 9 (2002): 1023–1033.
- [41] Ben Sassi, A., F. Harzallah-Skhiri, N. Bourgougnon, et M. Aouni. « Antiviral activity of some Tunisian medicinal plants against Herpes simplex virus type 1 ». *Natural Product Research* 22, n° 1 (2008): 53–65.
- [42] Zeggwagh, N.-A., M.-L. Ouahidi, A. Lemhadri, et M. Eddouks. « Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L. aqueous extract in normal and diabetic rats ». *Journal of ethnopharmacology* 108, n° 2 (2006): 223–227.
- [43] Rozenblat, Sharon, Shlomo Grossman, Margalit Bergman, Hugo Gottlieb, Yigal Cohen, et Sara Dovrat. « Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines ». *Biochemical pharmacology*.
- [44] Bousbia, Nabil. « Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ». PhD Thesis, Université d'Avignon, 2011.
- [45] KESBI Amrane « Étude des propriétés physico-chimique et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus dans la région de OUARGLA » université KASDI MARBAH OUARGLA, 2011.
- [46] Guemidi, Chafika, et Nora Djerourou. « Effets antimicrobiens de l'extrait au éthanol de *Thymus vulgaris* (Thym) récolté dans la région de Naama sur la croissance des germes spécifiques du yaourt: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. », 2017.
- [47] BELDJILALI F, MADOUNI N. « Evaluation de quelques activités biologiques d'huile essentielle d'inule visqueuse (*Inula viscosa*) ». Université Blida 1, 2016.
- [48] CHENNI, Mohammed. « Étude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "*Ocimum basilicum*" L'extrait par hydrodistillation et par micro-ondes ». *Mémoire de doctorat, université d'Oran* 1 (2016).
- [49] Mnayer, Dima. « Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens ». PhD Thesis, Université d'Avignon, 2014.
- [50] Grosdidier, Aurélien. « Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. », s. d., 91.
- [51] Hoffer, Laurent. « Développement et validation du logiciel S4MPLE: application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design », s. d., 301.
- [52] Brut, Marie. « Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques: les Modes Statiques », 2009.
- [53] Rai, Beena. *Molecular Modeling for the Design of Novel Performance Chemicals and Materials*. CRC Press, 2012.
- [54] DAOUD, ISMAIL. « Modélisation de l'interaction des ions de métaux lourds avec des colorants. », 2015.
- [55] BOUCHAOUR, Mr T., Mme M. BENYAROU, Mr S. GHALEM, Mr J. GOLEBIEWSKI, et Mr H. ALLALI. « Compréhension du mécanisme par modélisation moléculaire type 2 », s. d.
- [56] Diharce, Julien. « Etude par modélisation moléculaire de systèmes multienzymatiques impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes », s. d., 214.
- [57] CORCHO SÁNCHEZ, Francisco José. *Computational Studies on the Structure and Dynamics of Bioactive Peptides*. Universitat Politècnica de Catalunya, 2004.
- [58] Michel Laguerre. « Modélisation moléculaire et conception de nouvelles molécules ». *Bulletin du Cancer* 94, n° 6 (1 septembre 2007): 115-27.
- [59] Pearlman, David A., David A. Case, James W. Caldwell, Wilson S. Ross, Thomas E. Cheatham, Steve DeBolt, David Ferguson, George Seibel, et Peter Kollman. « AMBER, a Package of Computer Programs for Applying Molecular Mechanics, Normal Mode Analysis, Molecular Dynamics and Free Energy Calculations to Simulate the Structural and Energetic Properties of Molecules ». *Computer Physics Communications* 91, n° 1-3 (septembre 1995): 1-41. [https://doi.org/10.1016/0010-4655\(95\)00041-D](https://doi.org/10.1016/0010-4655(95)00041-D).
- [60] Hacene, L. Bemeni-Boukli, et U. Abou Bekr Belkaid. « Etude par modélisation moléculaire des mécanismes de complexation. », s. d., 110.
- [61] SOUFI-LALOUT, WASSILA. « Etude de l'interaction enzyme-substrat par modélisation moléculaire », 2010.
- [62] Warren, Gregory L., C. Webster Andrews, Anna-Maria Capelli, Brian Clarke, Judith LaLonde, Millard H. Lambert, Mika Lindvall, et al. « A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions ». *Journal of Medicinal Chemistry* 49, n° 20 (octobre 2006): 5912-31.
- [63] BELDJILALI F, MADOUNI N. « Evaluation de quelques activités biologiques d'huile essentielle d'inule visqueuse (inula viscosa) ». Université Blida 1, 2016.
- [64] Mathieu, Marion, et Annick Guimezanes. *Séminaire Ketty Schartz 2012: Inflammation et maladies*. Inserm, 2011.
- [65] Chemical Computing Group Inc., and Chemical Molecular Operating Environment (, version 2014 (1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2014)
- [66] Yamaguchi, Hideaki, Yumi Kidachi, Katsuyoshi Kamiie, Toshiro Noshita, et Hironori Umetsu. « Structural insight into the ligand-receptor interaction between glycyrrhetic acid (GA) and the high-mobility group protein B1 (HMGB1)-DNA complex ».

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bioinformation 8, n° 23 (23 novembre 2012): 1147-53.

[67] Smith, William L., R. Michael Garavito, et David L. DeWitt. « Prostaglandin Endoperoxide H Synthases (Cyclooxygenases)-1 and -2 ». *Journal of Biological Chemistry* 271, n° 52 (27 décembre 1996): 33157-60.

[68] Nuhrich, Alain. « ANTI-INFLAMMATOIRES NON STÉROÏDIENS (AINS) », s. d., 59.

[69] Tayeb Cherif, Aldjia, et S. Encadreur Sebaihi. « Evaluation in vivo de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique d'écorce de *Fraxinus angustifolia* (Oleaceae) », 2012.

[70] Bannwarth, B., et F. Berenbaum. « Nouveaux anti-inflammatoires non stéroïdiens: donneurs de NO et inhibiteurs sélectifs de COX-2 ». *La Revue de Médecine Interne* 20 (août 1999): 341s-45. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(99\)80506-2](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(99)80506-2).

[71] Lipinski, Christopher A., Franco Lombardo, Beryl W. Dominy, et Paul J. Feeney. « Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 23, n° 1-3 (janvier 1997): 3-25.

[72] PUDDU, M. et TAFFOREAU, J. Opportunité du dépistage du cancer du sein chez les femmes de 40 à 49 ans. Etat des connaissances et données disponibles pour le développement d'une politique de santé en Belgique. IPH/EPI Reports Nr. 2005-001.

[73] Essiben, F., P. Foumane, E. T. Mboudou, J. S. Dohbit, V. Mve Koh, et P. Ndom. « Diagnostic et traitement du cancer de sein au Cameroun: a propos de 65 cas. » *Mali Médical* 28, n° 1 (2013).

[74] Razali, Sofiane. "Cancer du sein Suivi d'une population sous chimiothérapie." (2018).

[75] « Tamoxifen for Early Breast Cancer: An Overview of the Randomised Trials ». *The Lancet* 351, n° 9114 (mai 1998): 1451-67.

[76] Saghatchian, Mahasti, et Anne Lesur. « Gestion des effets secondaires de l'hormonothérapie du cancer du sein chez la femme jeune ». *Bulletin du Cancer, Le cancer du sein chez la femme jeune*, 106, n° 12, Supplement 1 (1 décembre 2019): S37-42.

[77] Balsat, Marie, et Jérôme Cornillon. « m-TOR inhibitors: biology and use in the treatment of haematological diseases ». *Bulletin du Cancer* 98, n° 8 (août 2011): 935-43.

[78] Xie, Jianling, Xuemin Wang, et Christopher G. Proud. « mTOR inhibitors in cancer therapy ». *F1000Research* 5 (25 août 2016).

[79] Kist, Roger, et Rafael Andrade Caceres. « New Potential Inhibitors of MTOR: A Computational Investigation Integrating Molecular Docking, Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulation ». *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 35, n° 16 (10 décembre 2017): 3555-68.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [80] Chantal Dreyer, Eric Raymond, et Sandrine Faivre. « La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR ». *Cancéro digest* 1, n° 3 (2009): 187.
- [81] Benveniste, O., J.Y. Hogrel, M. Annoussamy, A. Rigolet, B. Hervier, P. Carlier, et Y. Allenbach. « Premiers résultats prometteurs de l'essai rapamycine versus placebo pour le traitement de la myosite à inclusions (RAPAMI) ». *La Revue de Médecine Interne* 38 (décembre 2017): A73.
- [82] Pallet, Nicolas, Philippe Beaune, Eric Thervet, Christophe Legendre, et Dany Anglicheau. « Inhibiteurs de mTOR: Des antiprolifératifs pléiotropiques ». *médecine/sciences* 22, n° 11 (novembre 2006): 947-52.

Résumé

Actuellement, la modélisation moléculaire plus précisément le docking moléculaire est l'un des outils informatiques le plus utiliser afin de prédire et de reproduire des complexes protéine-ligand.

Inula viscosa est une plante aromatique et médicinale populaire appartient à la famille des astéracées. Elle est très ancienne et très utilisable grâce à ses vertus médicales. Dans ce cadre l'objectif principal de notre travail consiste à étudier les interactions entre les molécules extraites de l'*inula viscosa* et les enzymes impliquées dans le processus de l'inflammation (COX1) et du cancer du sein hormono-dépendant (mTOR) en utilisant le programme MOE.

Les résultats obtenus, montrent que le dérivé de l'inuviscolide, molécule extraite à partir de l'HE de de l'*Inula viscosa*, forme avec COX1 un complexe plus stable. Ainsi que tomentosine, molécule de l'HE de l'*inula viscosa* ayant un meilleur score donc formation d'un complexe plus stable.

Mots clés : *inula viscosa*, MOE, inflammation, cancer du sein hormono-dépendant, COX1, mTOR , inuviscolide, tomentosine.

Abstract

Currently, molecular modeling, more precisely molecular docking, is one of the most used computer tools to predict and reproduce protein-ligand complexes.

Inula viscosa is a popular aromatic and medicinal plant belonging to the Asteraceae family. It is very old and very used thanks to its medicinal virtues. In this context, the main objective of our work consists in studying the interactions between the molecules extracted from *inula viscosa* and the enzymes involved in the process of inflammation (COX1) and hormone-dependent breast cancer (mTOR) in using the MOE program.

The results obtained show that the derivative of inuviscolide, a molecule extracted from the essential oil of *Inula viscosa*, forms with COX1 a more stable complex. As well as tomentosine, the molecule of essential oil *inula viscosa* having a better score therefore formation of a more stable complex.

Key words: *inula viscosa*, MOE, inflammation, hormone-dependent breast cancer, COX1, mTOR, inuviscolide, tomentosine.

ملخص:

في الوقت الحالي ، تعد النمذجة الجزيئية بشكل أكثر دقة الالتحام الجزيئي واحدة من أكثر أدوات الكمبيوتر استخدامًا للاعتراف وإعادة استنساخ المركبات البروتين-مثبطات الطيون الدبق هو نبات عطري وطبي مشهور بفضل مزاياه الطبية. في هذا السياق، يتمثل الهدف الرئيسي لعملائنا في دراسة التفاعلات بين الجزيئات المستخلصة من هذا النبات والإنزيمات المشاركة في عملية الالتهاب و سرطان الثدي المعتمد على الهرمون

أظهرت النتائج أن الجزيئات المستخلصة من هذا النبات يمكنها تشكيل مركبات أكثر استقرار مع COX1 mTOR. الكلمات المفتاحية : الطيون الدبق ، MOE ، الالتهاب ، سرطان الثدي المعتمد على الهرمونات ، COX1 ، mTOR ، inuviscolide ، tomentosine .