

A la Recherche des Sites Pharmacophores des Saponines extraites d'*Argania spinosa* : POM, un Moyen Bioinformatique Efficace, Economique et Rapide pour Prédire et Optimiser l'Activité Biologique des Saponines

Ben Hadda T.¹, Charrouf Z.² & Masand V.³

1 - Enseignant-Chercheur au Laboratoire Chimie des Matériaux, Faculté des Sciences d'Oujda, Université Mohammed Premier, Oujda-60000, Morocco. E-mail: tbenhadda@yahoo.fr

2 - Enseignant-Chercheur au Laboratoire de Chimie des Plantes et de Synthèse Organique et Bioorganique, Faculté des Sciences, B.P. 1014 RP, Rabat, Morocco. E-mail: zcharrouf@yahoo.fr

3 - Enseignant-Chercheur au Department of Chemistry, Vidya Bharati College, Amravati, Maharashtra, India. E-mail: vijaymasand@gmail.com

Résumé

Diverses saponines ont montré une certaine activité pour lutter contre les infections d'origine bactérienne, virale, fongique et cancéreuse qui sont des maladies chroniques et qui exigent un traitement long et coûteux. Certaines saponines ont montré une cytotoxicité accrue plutôt que l'activité antitumorale attendue. Mieux encore, le virus HIV a été inhibé par l'aganine C et non par ses analogues A, B et D. Cette structure de l'arganine C peut constituer un excellent model à optimiser pour confronter: (i) Complexité du traitement des sujets avec HIV, Cancer et/ ou Tuberculose. (ii) Aspect de multi-résistances aux médicaments cliniques d'où l'intérêt, voir même l'obligation, de faire appel à de nouveaux outils capables de prédire, de spécifier et d'améliorer l'activité biologique des médicaments en baissant leur frais de synthèse, par recourt à la semi-synthèse, pour augmenter leur efficacité dans le but de réduire la durée et les charges des soins cliniques : Ce sont les nouveaux moyens bioinformatiques POM (Petra, Osiris, Molinspiration,) couplés à la cristallographie.

Mots clés : Bioinformatique, criblage virtuel, sites pharmacophores, saponines, *Argania spinosa*.



**Looking for Pharmacophores Sites of Saponins Extracted of *Argania spinosa*:
POM as effective, economic and quick Bioinformatic Method to Predict
and to Optimise Bioactivity of Saponins**

Abstract

Various saponins have shown significant activity in fight against infections of bacterial, viral, fungal and cancer that are chronic and require long and expensive treatment. Some saponins have shown an increased cytotoxicity of antitumor activity than expected. Better yet the HIV virus was inhibited by arganine C and not by its analogues A, B and D. The structure of the arganine (C) can be an excellent model to optimize to compare: (i) Complexity of the treatment of subjects with HIV, cancer and/or tuberculosis. (ii) Aspect of multi-drug resistance clinics. Hence the interest, or even the obligation, to use new tools to predict, to specify and improve the biological activity of drugs by lowering their cost of synthesis, by resorting to the semi-synthesis, to increase efficiency in order to reduce the time and expense of clinical care: These are the new ways bioinformatics POM (Molinspiration, Osiris, Petra) coupled with crystallography.

Keywords : *Bioinformatics, virtual screening, pharmacophore sites, saponines, Argania spinosa.*

Introduction

1. Pourquoi chercher de nouveaux médicaments d'origine naturelle?

On assiste aujourd'hui, à un grand et urgent besoin en nouveaux médicaments, suite à la métastase du cancer (plus de 60 types de Cancer) et la Mycobacterium Tuberculosis (MBT) dont 4 millions/an sont victimes. Certains ont été sujets à la MBT supra-multidrug résistante TB-SMDR. Sans oublier les séropositifs (plus de 30 millions de séropositifs en 2010).

Cependant, il y a une situation délicate qui bloque l'industrie pharmaceutique de se développer rapidement et ceci pour deux raisons majeures : (1) la synthèse, la caractérisation de nouveaux produits puis le criblage *in vitro* à haut débit, puis *in vivo* sur des animaux (2) l'homologation du nouveau produit demande des années d'analyses poussées en toxicité et thermo stabilité et les interactions avec les autres médicaments.

Les avantages des substances naturelles sont nombreux : On assiste à nos jours à une tendance internationale ou un retour marqué vers l'évaluation des sources naturelles, en particulier dans le domaine pharmaceutique et ceci pour plusieurs raisons : (i) Moins d'effets secondaires, (ii) Meilleure biodisponibilité et (iii) A la portée de la main des pauvres citoyens.

Notre étude ethno-économique, ethno-médicale, and phyto-chimique réalisée depuis 1998 a révélé l'importance des différents constituants (huile, feuille, tronc, tourteau et pulpe) de l'arbre *Argania spinosa* [10]. Ici nous nous intéressons seulement au tourteau.

Le tourteau est le nom donné au résidu obtenu après pressage des amandons. Lors de la préparation traditionnelle de l'huile, le tourteau est de couleur brune et sa haute valeur énergétique fait qu'il est utilisé traditionnellement pour nourrir les bovins. Lorsque l'huile est obtenue par pressage mécanique des amandons, le tourteau est de couleur blanchâtre, friable et très amer. Sa teneur résiduelle en huile est nettement inférieure à celle du tourteau obtenu par préparation traditionnelle de l'huile. Il est riche en glucides et protéines et renferme un important groupe pharmacodynamique constitué de saponines.



Les saponines, en général, sont capables de manifester diverses bioactivités [1-4], en particulier les saponines du tourteau sont capables d'inhiber de façon dose-réponse la prolifération cellulaire des DU145, LNCaP et PC3 [5]. Cependant, les PC3 étaient les plus sensibles. Aucune étude bioinformatique n'a montré l'effet antiprolifératif des saponines sur le cancer de la prostate ou autre cible biologique des microorganismes pathogènes. Des résultats de notre groupe suggèrent que l'extrait de *l'Argania spinosa* peut fournir une nouvelle voie thérapeutique contre les maladies prolifératives (Cancer et diabète) [7].

Diverses propriétés biologiques largement connues par la tradition médicinale ont reçu certains appuis scientifiques. Il est notamment le cas pour les effets bénéfiques des dérivés des saponines, notamment les propriétés antalgique et anti-inflammatoires [8], anti-microbien et lipolytique [9].

Le tourteau de l'arganier, par excellence, renferme sept saponines spécifiques et chimiquement différentes des saponines rencontrées dans le monde du règne végétale. Cette différence de structure voudrait probablement dire que les saponines du tourteau agiraient par un mécanisme différent ou du moins avoir d'autres bioactivités. Ainsi, les saponines du tourteau seraient un modèle attractant en analyses bioinformatiques du fait qu'elles sont capables, grâce à leur effet antiprolifératif puissant de prévenir le cancer de la prostate.

Ici, nous allons montrer, au moyen des analyses bio-informatiques confrontées aux résultats expérimentaux de criblages réels, que certaines saponines de l'arbre *Argania spinosa* peuvent avoir un grand intérêt après de simples modifications chimiques au niveau des C-3 et C-18 (Figure 1).

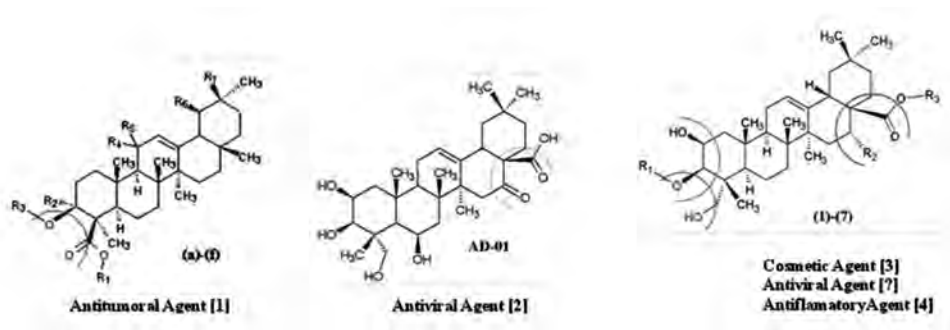


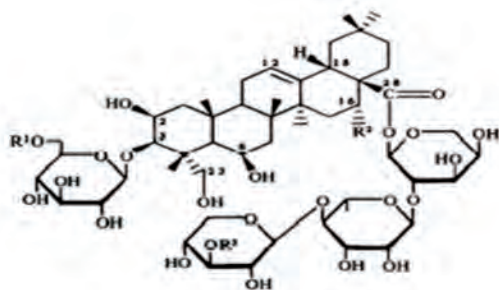
Figure 1. Activité biologique de certaines saponines modifiées.

1. Résultats et discussion
2. Différentes raisons nous ont poussés à nous investir dans le domaine de la bio-informatique et le « Drug Design ». On peut en citer au moins trois : (i) Facilité de tri informatisé des composés à cribler aux USA : NCI reçoit 45-60.000 composés/an pour les tests. (ii) Économie en investissements : Plus besoin de labo P4. (iii) Économie de temps : criblage 100 mol/jour/poste.
3. Il y a plusieurs approches théoriques pour accéder à l'Optimisation des médicaments mais seulement deux principales théories bio-informatiques sont en Application, tous les jours : (i) Théorie Lipinski : Règle à 5 créée par Christopher A. Lipinski (Invention - 1997). (ii) Théorie Osiris : lancée par Thomas Sander, sous le patronage de la compagnie Actelion Pharmaceuticals Ltd., Switzerland (2001).



Sept saponines au moins ont été isolées du tourteau de l'arganier [6]. Les génines des sept saponines isolées du tourteau de l'arganier sont toutes de type triterpénique Δ^{12} -oléanane. Dans chaque cas, un acide carboxylique est rencontré en position C-28 et toutes les génines sont polyhydroxylées.

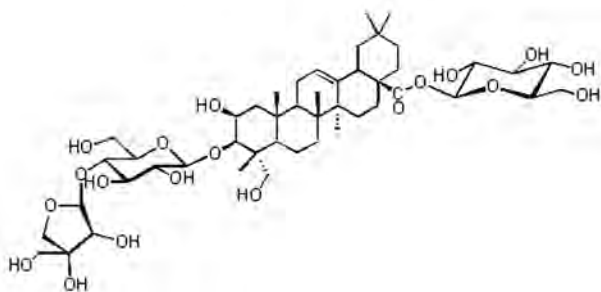
Les sept saponines isolées du tourteau sont toutes des bidemosides, les chaînes de sucres substituant les positions C-3 et C-28. La fraction glycosidique des saponines du tourteau est constituée d'une combinaison de cinq sucres : deux hexoses (le glucose et le rhamnose) et trois pentoses (l'arabinose, la xylose et l'apiose). Les saponines isolées du tourteau ont été nommées Arganine A-F, G, H et J. Par contre une seule saponine (Arganine-K) a été isolée de la pulpe des fruits de l'arganier (Figure 2).



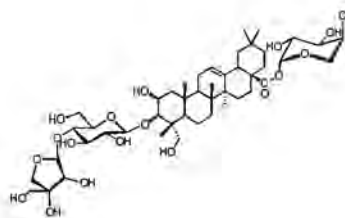
Arganine-A-F (tourteau)

Composé	R1	R2	R3
Arganine-A	Glc	OH	Rhm
Arganine-B	Glc	OH	Api
Arganine-C	H	OH	Rhm
Arganine-D	Glc	H	Rhm
Arganine-E	Glc	H	Api
Arganine-F	H	H	Rhm

Saponines (tourteau)

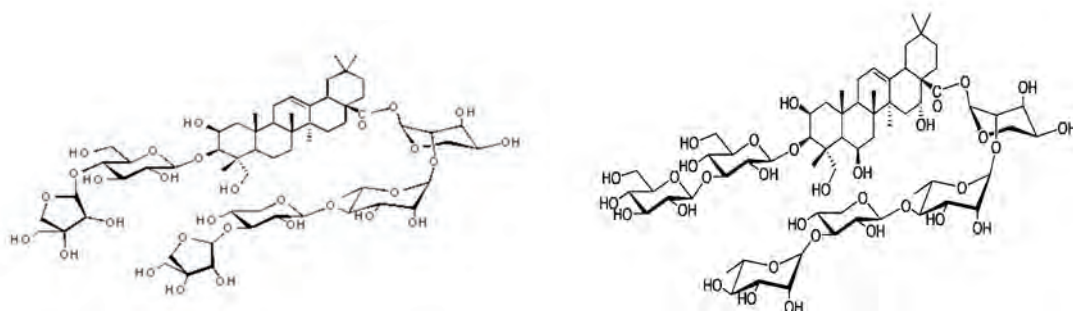


Arganine-G



Arganine-H



**Arganine-J****Arganine-K (pulpe-fruits)****Figure 2 :**

Structures chimiques des Arganines A-K isolées de l'Argania spinosa L.

Glc : b-D- Glypyranose, Api :b-D-Apiofuranose, Rhm : a-L-Rhamnopyranose,

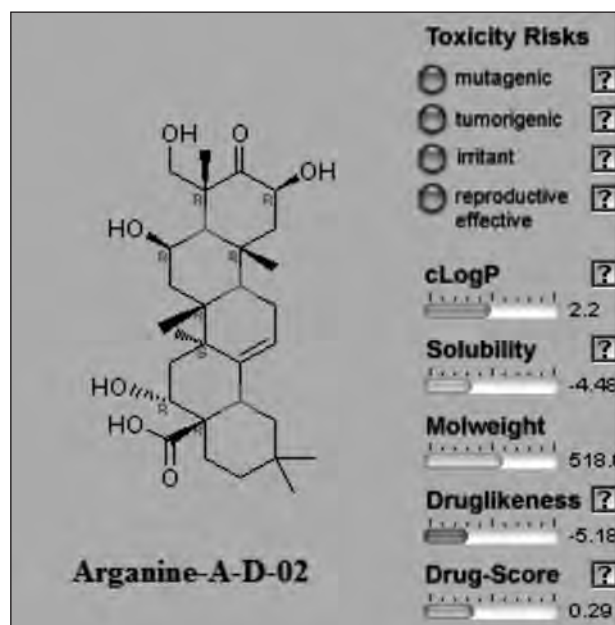
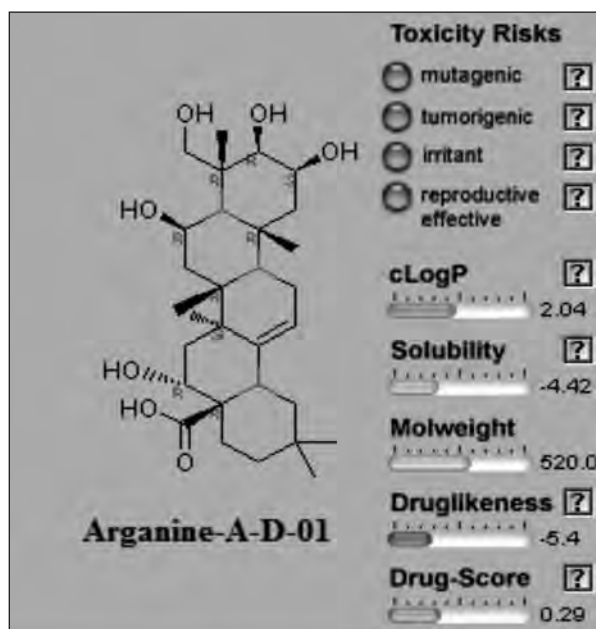
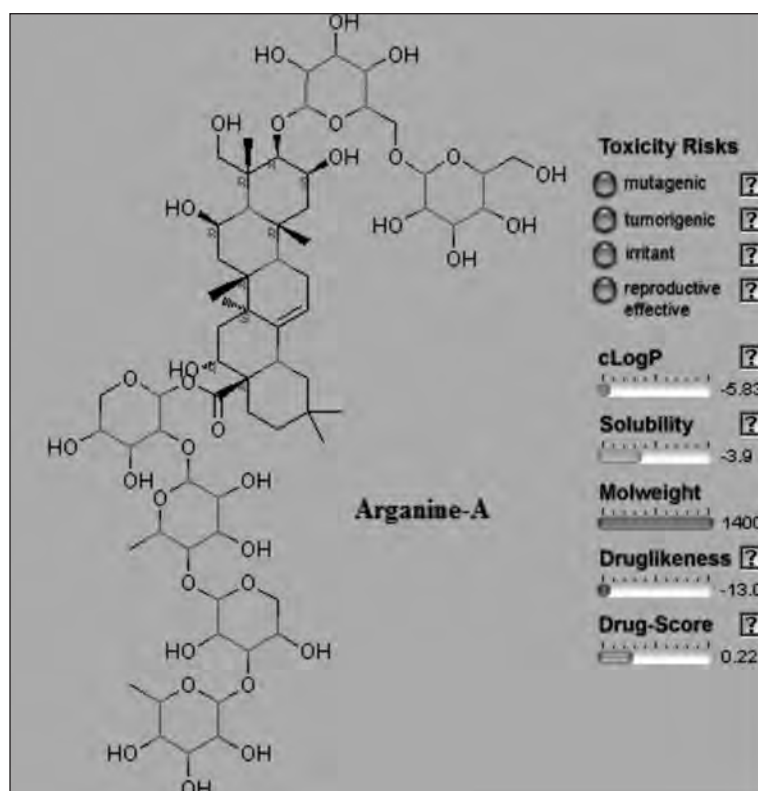
Ara : a-L-Arabinopyranose, Xyl : b-D-Xylopyranose.

Optimisation du profil pharmaceutique des saponines par calculs POM :

OSIRIS, un des logiciels POM, est un programme de calcul développé et exploité par la firme pharmaceutique «Actelion». Il est conçu pour calculer les diverses propriétés restreintes d'un médicament au fur et à mesure qu'on dessine sa structure dans l'interface graphique, ce qui permet alors de suivre la variation de ces paramètres en fonction des groupements fonctionnels ajoutés au squelette de base.

Parmi les caractéristiques moléculaires prédites par le programme OSIRIS on trouve les risques de Toxicité, la lipophilie exprimée par clogP, la solubilité (logS) et la Masse Moléculaire (MW). Le programme permet également d'estimer un degré de ressemblance de la molécule dessinée comparée aux différents médicaments déjà existants dans le marché (Drug-Likeness). Les résultats de la prédiction sont évalués et codés par des couleurs ; les propriétés présentant un grand risque de développer des effets indésirables (tels que la mutagénicité ou une faible absorption intestinale) sont montrées en rouge, tandis que le vert indique que le paramètre est conforme aux normes. Le programme trace ses normes en se basant sur une étude statistique réalisée sur un grand nombre de médicaments commercialisés et donne un coefficient de fiabilité appelé (Drug Score) comme illustré par la [Figure 3](#).





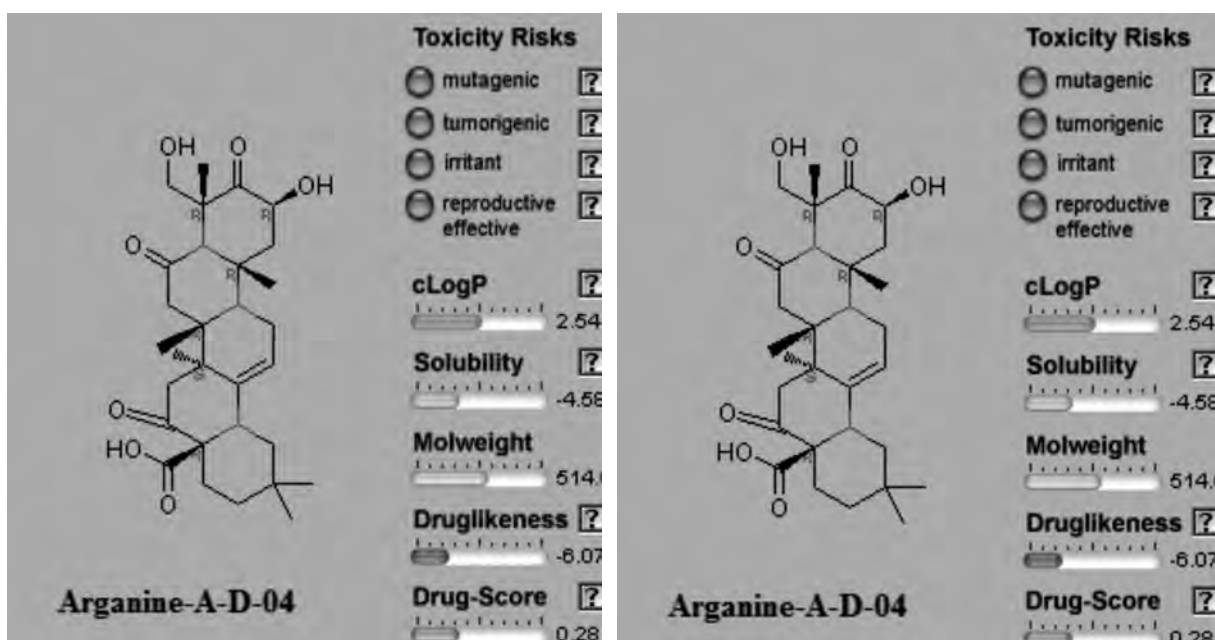


Figure 3. Calculs OSIRIS confirmant la nécessité de l'hydrolyse et / ou l'oxydation de l'Arganine A pour augmenter le cLogP et réduire la masse moléculaire.

Dans les statistiques réalisées par Lipinski, plus de 80% des médicaments commercialisés ont une valeur de $\log S > -4$ et un clogP compris entre 1 et 4, ce qui est loin d'être le cas des saponines à l'état vierge. En d'autres mots les saponines-métabolisées valent beaucoup mieux que les arganines A-K. Une alternative peut être imaginée dans ce cas : les enzymes contenues dans l'huile d'argane vierge donc contenant encore des enzymes (non détruites par la chaleur) seraient à l'origine de ce processus d'hydrolyse in-situ.

Conclusion

Cette première étude bioinformatique révèle plusieurs points essentiels pour l'orientation de la chimie des saponines d'*Argania spinosa* L. à visée thérapeutique : (i) les saponines telles quelles, à l'état di-substituées par les deux chaînes poly-sucrées peuvent être utilisées comme précurseurs potentiels pour de nouveaux dérivés plus actifs. (ii) Les sites pharmacophores à moduler sont en C-3 et C-28. (iii) Une oxydation douce de groupement(s) hydroxyle(s) peut nous conduire à de nouveaux dérivés ayant des activités biologiques différentes voir même plus sélectives.

Remerciements

Prof. T. Ben Hadda reste reconnaissant pour le financement des frais de voyage et l'accueil généreux et chaleureux des organisateurs du Premier Congrès International sur l'Arganier, Agadir du 15 au 17 décembre 2011 au Maroc.



Références bibliographiques

- [1] **Ghulam Nabi Qazi et al.** (2009) Use of semi-Synthetic Analogues of Boswellic Acids for Anticancer Activity. United States Patent Application Publication N°.: US 200910298938-A1.
- [2] **T. Kanamoto et al.** Anti-Human Immunodeficiency Virus Activity of YK-FH312 (a betulinic acid derivative), a Novel Compound Blocking Viral Maturation, *Antimicrob Agents Chemother.* 2001, 45(4):1225-1230.
- [3] **F. Henry, L. Danoux, G. Pauly, Z. Charrouf** (2006) Use of an extract from the plant *Argania spinosa*. USA Patent N° 2006/0083794-A1.
- [4] **K. Alaoui, J.F. Lagorce, Y. Cherrah, M. Hassar, H. Amarouch, and J. Roquebert** (1998) Analgesic and anti-inflammatory activity of saponins of *Argania spinosa*. *Annales pharmaceutiques françaises* 56:220-228.
- [5] **Drissi A, Bennani H, Giton F, Charrouf Z, Fiet J, Adlouni A.** Tocopherols and saponins derived from *Argania spinosa* exert an antiproliferative effect on human prostate cancer. *Cancer Invest.* (2006) 24(6):588-92.
- [6] **Alaoui, A.; Charrouf, Z.; Soufiaoui, M.; Carbone, V.; Malorni, A.;** et al. Triterpenoid saponins from the shells of *Argania spinosa* seeds. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50 (16), 4600–4603.
- [7] **S. Samane, J. Noel, Z. Charrouf, H. Amarouch and P. S. Haddad,** Insulin-sensitizing and Anti-proliferative Effects of *Argania spinosa* Seed Extracts, *eCAM* (2006) 1-11. doi:10.1093/ecam/nel015.
- [8] **Alaoui K, Lagorce JF, Cherrah Y, Hassar M, Amarouch H, Roquebert J.** Analgesic and anti-inflammatory activity of saponins of *Argania spinosa*. *Ann Pharm Fr* (1998) 56:220–8.
- [9] **Charrouf Z, Guillaume D. Ethnoeconomical,** ethnomedical, and phytochemical study of *Argania spinosa* (L.) Skeels. *J Ethnopharmacol* (1999) 67:7–14.
- [10] **Z. Charrouf, D. Guillaume,** Ethnoeconomical, Ethnomedical, and Phytochemical Study of *Argania spinosa* (L.) Skeels: A Review. *Journal of Ethnopharmacology* (1998) 1-8.

