

Base moléculaire du potentiel antimicrobien de quelques composés de la fraction dichlorométhane de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze

Relwendé Justin OUEDRAOGO^{1*}, Yacouba SANOU²,
Pawendé KABRE², Albert Donatien ATSAMO³,
René Dofini MAGNINI¹, Lassina OUATTARA²,
Noufou OUEDRAOGO¹, Georges Anicet OUEDRAOGO²

Résumé

Le criblage virtuel est devenu un outil moderne de diagnostic en amont des tests expérimentaux de laboratoire visant à identifier des molécules hits. Ce criblage évalue l'affinité et le mode de liaison plausibles des principes actifs potentiels aux cibles thérapeutiques. À cet effet, la fraction au dichlorométhane des écorces de tronc de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (*M. inermis*) est potentiellement active sur des micro-organismes, mais la nature des composés et leur implication en tant qu'actifs restent méconnues. Pour ce faire, des analyses chromatographiques sur couche mince, des analyses de résonance magnétique nucléaire ainsi qu'une chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectrométrie de masse ont été effectuées sur cette fraction. Puis, un criblage virtuel avec AutoDock Vina a été effectué sur des cibles variées de mécanismes antimicrobiens telles que, uréase microbienne, dihydrotereoate synthetase, 14- α -demethylase, squalene epoxidase, Sap1 aspartic proteinase, quorum sensing signal receptor LasR, topoisomérase II DNA gyrase, tyrosyl-tRNA synthetase et la bêta-lactamase. À la suite de ces analyses, le profil pharmacocinétique des composés identifiés définit à l'aide de SwissADME a permis de filtrer les potentiels médicaments. De ces analyses, quatorze composés plus ou moins apolaires ont été identifiés. Deux d'entre eux, à savoir l'acide 6-((2-ethylhexyl)oxy)-6-oxohexanoïque et l'acide 2-(((2-ethylhexyl)oxy)carbonyl) benzoïque, se sont révélés être des molécules hits. De ce fait, l'acide 6-((2-ethylhexyl)oxy)-6-oxohexanoïque et l'acide 2-(((2-ethylhexyl)oxy) carbonyl) benzoïque constituent des hits pour la validation *in vitro* en tant que potentiels antimicrobiens.

¹ Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST), Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS), Laboratoire de Recherche-Développement de Phytomédicaments et Médicaments (LR-D/PM), 03 BP 7047 Ouaga 03, Ouagadougou, Burkina Faso.

² Université Nazi BONI, Laboratoire de Recherche et d'Enseignement en Santé et Biotechnologie Animale (LARESBA), 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

³ Université de Yaoundé 1, Département de Biologie et Physiologie Animale, Faculté de sciences, BP 812, Yaoundé, Cameroun.

*Auteur correspondant : Relwendé Justin OUEDRAOGO, (00226)75386260, justin.ouedraogo@cnrst.gov.bf, <https://orcid.org/0000-0002-5036-2144>

Mots clés : *Mitragyna inermis*, fraction dichlorométhane, criblage virtuel, antimicrobiens

Molecular basis of some antimicrobial potential compounds from *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze dichloromethane fraction

Abstract

Virtual screening has become a modern diagnostic tool upstream of experimental laboratory tests for discovering hit molecules. This screening estimates the affinity and plausible binding mode of potential active ingredients to therapeutic targets. To this end, the dichloromethane fraction of *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (*M. inermis*) trunk bark is potentially active on microorganisms, but the nature of the compounds, as well as their involvement as active ingredients, remains unknown. To this end, thin-layer chromatographic analysis, nuclear magnetic resonance analysis, gaseous phase chromatography, and mass spectrometry were carried out on this fraction. Then, a virtual screening with AutoDock Vina was performed on various targets of antimicrobial mechanisms, such as microbial urease, dihydrotereoate synthetase, 14- α -demethylase, squalene epoxidase, Sap1 aspartic proteinase, quorum sensing signal receptor LasR, topoisomerase II DNA gyrase, tyrosyl-tRNA synthetase, and beta-lactamase. Following these analyses, the pharmacokinetic profile of the identified compounds defined with SwissADME, was used to filter out potential drugs. From these analyses, fourteen more or less apolar compounds were identified. Two of these, 6-((2-ethylhexyl)oxy)-6-oxohexanoic acid and 2-((2-ethylhexyl)oxy)carbonyl)benzoic acid, proved to be hit molecules. Therefore, 6-((2-ethylhexyl)oxy)-6-oxohexanoic acid and 2-((2-ethylhexyl)oxy)carbonyl)benzoic acid constitute hits for *in vitro* validation as potential antimicrobials.

Keywords: *Mitragyna inermis*, dichloromethane fraction, virtual screening, antimicrobial

Introduction

Mitragyna inermis (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae) est une plante tropicale de la famille des Rubiaceae (1). Traditionnellement, cette plante est largement utilisée pour traiter les infections microbiennes (1,2). En raison de son efficacité biochimique et de sa richesse en certains types de composés tels que les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques, de nombreuses études continuent de croire en cette plante pour la recherche de médicaments naturels (3-5).

Ainsi, plusieurs études rapportent l'efficacité de *M. inermis* en tant qu'antifongique et antibactérien, via une variante de métabolites secondaires (3,6). Jusqu'à présent, seuls les composés à polarité modérée de l'écorce de la racine contribuent aux activités

antimicrobiennes (6). Plusieurs études montrent que les composés non polaires peuvent avoir des effets bénéfiques pour la santé humaine (7-10). À notre connaissance, il existe très peu d'étude sur les composés non polaires de l'écorce de tronc de *M. inermis* associé, à très peu de bases moléculaires de la bio-activité des composés.

Cette étude a été conçu pour apporter une déconvolution de cible thérapeutique de composés moyennement polaires de *M. inermis* d'une part et de définir des molécules hits naturels pouvant servir d'échafaudage pour le développement de molécule d'intérêt thérapeutiques. Ainsi, dans cette étude, quatorze composés non polaires de la fraction au dichlorométhane (DCM) de l'écorce de tronc ont été examinés, puis un criblage virtuel de ces composés contre l'uréase microbienne, la dihydrotéroate synthétase, la 14- α -déméthylase, la squalène époxydase, la peroxiredoxine humaine 5, la protéinase aspartique sap1, le récepteur du signal de quorum sensing LasR, la topoisomérase de type IIA, la tyrosyl-ARNt synthétase a été effectué. Par ailleurs, les profils pharmacocinétiques de ces composés ont été prédits afin de définir leur susceptibilité à être de molécules hits.

I. Méthodologie

1.1.Préparation de la fraction

Un extrait éthanolique d'écorce de tronc de *M. inermis* préparé lors de notre étude antérieure a été utilisé. Cet extrait éthanolique a été traité à l'ammoniaque puis à l'acide sulfurique 10% et soumis à un fractionnement liquide-liquide avec du DCM pour donner une fraction au DCM censée renfermer en plus des alcaloïdes, des composés moyennement polaires (12).

1.2.Méthode générale de l'analyse chimique

Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées sur des plaques pré-coulées Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck), le système DCM-Acétone a été utilisé comme phase mobile et les plaques ont été visualisées sous UV 254 et 365 nm. Le composé isolé a fait l'objet d'analyses par RMN ¹H, RMN 2D HMBC, HSQC, COSY et NOESY, RMN ¹³C et ESI-MS (+ve). Les spectres RMN 1D et 2D ont été réalisés à l'aide de spectromètres RMN Bruker Avance Neo fonctionnant à 500 et 800 MHz pour le ¹H. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au signal de CDCl₃ résiduel, et les constantes de couplage (*J*) en Hz. La GC/MS a été réalisée avec les systèmes Agilent 7890A et 7000 triple quadrupôle, respectivement.

1.2.1. Isolement et élucidation structurale

Une chromatographie préparative sur couche mince (TLC) de la fraction au DCM sur une plaque de silice F₂₅₄ pré-coulée avec le système dichlorométhane : acétone (9 : 1) a permis d'obtenir un composé actif uniquement sous UV 365 (Figure 1). Composé [1'] : poudre blanche amorphe. L'ESI-MS a donné $[M+Na]^+$ $m/z = 559,391$ et $[M-H]^+$ $m/z = 537,525$. Le poids moléculaire semble être de 536. Les données HMBC ont montré une corrélation $\delta H = 4,04$ (t, $J = 6,6$ Hz), $\delta H = 2,29$ (t, $J = 7,4$ Hz) et $\delta H = 1,63$ (q, $J = 7,5$ Hz) avec le carbone carbonyle à $\delta C = 173,5$. Ce composé est un ester (9). Les protons au déplacement chimique 0,86 (t, $J = 7,2$ Hz) et 0,84 (t, $J = 6,6$ Hz) étaient tous deux des méthyles terminaux (tableau 1). ESI-MS a révélé les fragments probables $[M-15]^+$ $m/z = 521,381$; $[M-29]^+$ $m/z = 507,387$; $[M-45]^+$ $m/z = 491,502$; $[M-87]^+$ $m/z = 449,335$; $[M+H-101]^+$ $m/z = 436,002$; $[M-115]^+$ $m/z = 421,275$; $[M-129]^+$ $m/z = 407,175$; $[M-143]^+$ $m/z = 393,245$; $[M-171]^+$ $m/z = 365,124$; $[M-185]^+$ $m/z = 351,169$; $[M-213]^+$ $m/z = 323,126$; $[M-227]^+$ $m/z = 309,832$; $[M-241]^+$ $m/z = 295,251$; $[M-269]^+$ $m/z = 267,126$; $[M-297]^+$ $m/z = 239,001$. Par conséquent, la formule calculée est apparue $[M(C_{36}H_{72}O_2) + Na]^+ = 559,391$ (voire données supplémentaires).



Figure 1 : Chromatographie sur couche mince de la fraction DCM montrant la bande du composé majoritaire isolé [1'].

1.2.2. Analyse GC-MS

En outre, la fraction au DCM a de plus été soumise à des analyses GC-MS. Cette analyse GC-MS a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse 7890A (Agilent technologies, Santa Clara, CA, USA), équipé d'un passeur d'échantillons GC 120 (PAL LHX-AG12) et couplé à un système Agilent 7000 Triple Quad (Agilent technologies, USA).

Une colonne capillaire en silice fondue HP-5MS de 30 m-250 mm (d.i.) (Agilent J & W Scientific, Folsom, CA, USA), chimiquement liée à une phase stationnaire réticulée à 5% de diphenyle et 95% de diméthylpolysiloxane (épaisseur de film de 0,25 mm), a été utilisée. L'hélium (99,99 %) a été utilisé comme gaz vecteur, à un débit constant de 1,129 mL/min et à un volume d'injection de 2 µL. L'interface MS et la source d'ions ont été réglées à 280 °C. La séparation a été réalisée à l'aide d'un programme de température de 80 °C pendant 2 min, puis d'une rampe de 5 °C·min⁻¹ jusqu'à 300 °C et d'un maintien pendant 1 min, à un débit constant de 1 mL·min⁻¹ (Figure 2). L'identification automatique a été réalisée par comparaison des temps de rétention et des fragments EI-MS avec la base de données des bibliothèques Mainlib et replib (voire données supplémentaires).

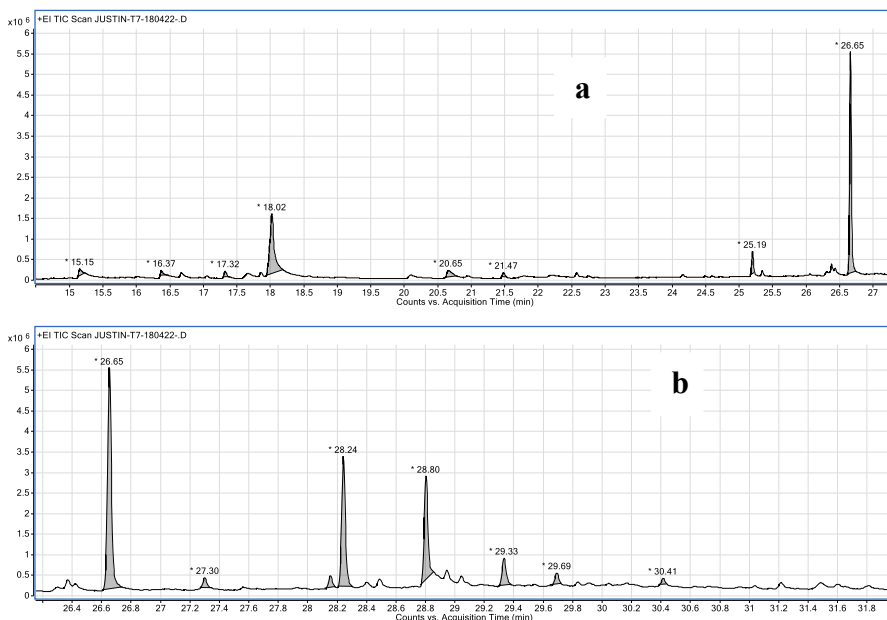


Figure 2: Chromatogramme de la fraction au DCM de l'écorce de tronc de *M. inermis*: séparation et temps de rétention (a et b).

1.3. Criblage virtuel

Le travail a nécessité l'usage des outils AutoDockTools-1.5.7 pour la préparation des composés et des récepteurs, puis la définition des coordonnées d'un box autour du site de liaison de chaque récepteur. Pour la définition du site de liaison, l'étude s'est basée sur le maillage du ligand co-cristallisé et des rapports de la littérature sur le site de

liaison de chaque récepteur. En effet, la préparation des ligands a consisté à choisir les torsions et définir le nombre de torsions à moins de 10 puis de les enregistrer sous forme .pdbqt. Pour ce qui concerne les récepteurs, ils ont d'abord été téléchargés sur la base des protéines (<https://www.rcsb.org/>) en utilisant leurs identités. Ainsi, il y'a l'uréase microbienne (PDB ID : **1E9Z**), la dihydropteroate synthétase (PDB ID : **1TWS**), la 14- α -déméthylase (PDB ID : **6CR2**), la squalène époxidase (PDB ID : **6C6N**), la protéinase aspartique sap1 (PDB ID : **2QZW**), le récepteur quorum sensing signal LasR (PDB ID : **3IX3**), la topoisomérase II DNA gyrase (PDB ID : **2XCT**), la tyrosyl-tRNA synthétase (PDB ID : **1JIJ**) et la bêta-lactamase (PDB ID : **1BLH**). De ces protéines, tous les résidus non standard et les molécules d'eau ont été éliminés. Ensuite, des charges et des atomes d'hydrogène ont été ajoutés à ces protéines pour conférer aux résidus d'acides aminés leur représentation en 3D, puis les protéines prêtes pour le criblage ont été enregistrées sous format .pdbqt. Le criblage a été développé *via* l'interface Windows Sous-système Linux à l'aide de AutoDock Vina (13). D'abord, un fichier de configuration « conf.txt » renfermant les coordonnées spatiales de chaque site de liaison avec le nombre d'exhaustivités limitées à 64 et le nombre de conformation à 10 a été généré. Une liste des ligands préparés a été générée en utilisant la commande « dir /B > Ligand.txt ». Un script « Vina.pl » a été généré pour l'automatisation du criblage de tous les composés avec la commande « perl Vina.pl » suivi de la sélection de la liste des composés « Ligand.txt ». Trois prédictions ont été considérées pour les analyses. Après le criblage, les résultats ont été inspectés et les conformations présentant les meilleures affinités ont été retenues pour chaque ligand-récepteur. La référence utilisée pour uréase microbienne a été un antagoniste de l'urée à savoir l'acide acetohydroxamique (14). La référence utilisée pour la protéinase aspartique sap1, la dihydropteroate synthétase et la 14- α -déméthylase a été un dérivé antifongique VNI [(R)- N-(1-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1 H-imidazol-1-yl)ethyl)-4-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)benzamide] (PDB ID : **LFV**) (15). La référence utilisée pour la tyrosyl-tRNA synthétase a été un antibactérien, acide [2-amino-3-(4-hydroxy-phenyl)-propionylamino]-

(1,3,4,5-tetrahydroxy-4-hydroxymethyl-piperidin-2-yl)- acétique (PDB ID : **629**) (16). La référence utilisée pour la topoisomérase II a été un antibactérien Ciprofloxacine (PDB ID : **CPF**) (17). La référence utilisée pour la squalène époxidase a été N-[(3-{[diméthyl(2-méthylphényl)silyl]méthoxy}phényl)méthyl]-N-éthyl-6-méthoxy-6-méthylhepta-2,4-diyne-1-amine (PDB ID : **EKV**) (18). Par ailleurs, pour inhiber la formation de biofilm, le site de fixation du N-3-oxododecanoyl-L-homoserine lactone (PDB ID : **OHN**) sur le récepteur de signal de quorum sensing LasR a été ciblé. Pour ce qui concerne Dihydroptérate synthétase, le site de liaison ptérine a été ciblé afin de rechercher des antibiotiques qui échappent à la résistance que font face les antibiotiques sulfonamides inhibiteurs de cette enzyme. La référence utilisée pour la bêta-lactamase a été [[N-(benzyloxycarbonyl)amino]méthyl]phosphate (PDB ID : **FOS**) (19).

L'analyse post-criblage a également porté sur l'étude de l'interaction composés-récepteurs. Les différentes conformations ont été séparées à l'aide de la commande « .\vina_split.exe -input filename », et la conformation présentant la plus forte affinité a été choisie, puis mise en complexe avec le récepteur. Puis, la base de prédiction des profils d'interaction protéine-ligand (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de>) a été utilisée pour générer l'interaction 3D (20).

1.4. Prédiction pharmacocinétique

Le profil d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME) a été prédit à l'aide du serveur web SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) à partir des SMILES des composés (21). Les caractéristiques à satisfaire pour une absorption et une distribution optimales, telles que la surface polaire totale (TPSA), l'octanol-water partition coefficient (LogP), la solubilité, l'absorption gastro-intestinale (GI absorption) et la perméabilité à la barrière hémato-encéphalique (BBB absorption), ont été prédites. Également, la nature d'interaction avec une enzyme commune du métabolisme et de l'excrétion, à savoir la Cytochrome P2D6 a été prédite. Ces informations sont essentielles pour orienter le choix de composés hits.

II. Résultats

2.1. Analyses chimiques

La chromatographie sur couche mince de la fraction DCM a permis d'obtenir du tétratriacontanoate d'éthyle [1']. Par ailleurs, la chromatographie en phase gazeuse sur l'ensemble de la fraction DCM a permis d'identifier treize composés non polaires avec leur teneur relative en [1] acide tétradécanoïque (1,9%) ; [2] phtalate de butyle undécyclique (1,15%) ; [3] palmitate de méthyle (1,26%) ; [4] acide palmitique (20,46%) ; [5] hexadécanol (2,98%) ; [6] 16-méthylheptadécanoate de méthyle (0,96%) ; [7] acide 6-((2-ethylhexyl)oxy)-6-oxohexanoïque (3,07%) ; [8] acide 2-(((2-ethylhexyl)oxy)carbonyl)benzoïque (29,55%) ; [10] 2,6,10-triméthyltétradécane (1,58%) ; [11] 1-isocyanatooctadécane (16,52%) ; [12] 1,3-dihydroxypropan-2-yl icosanoate (12,98%) ; [13] (2*E*,15*Z*)-14-méthyl-octadéca-2,15-dien-1-ol (3,84%) ; [14] heptacosane (1,51%).

2.2. Analyse conformationnelle

Le tableau I présente les résultats du criblage virtuel des différents composés sur les récepteurs. Les composés ont présenté des affinités qui varient selon la nature du récepteur et, pour un même récepteur, selon celle des composés. Tous les composés ont présenté de moindres affinités que les composés de référence. L'ensemble des composés ont présenté des affinités relativement faibles vis-à-vis des récepteurs tels que la bêta-lactamase, la topoisomérase II, la protéinase aspartique sap1 et la dihydrotereoate synthétase. Par ailleurs, le composé [7] a exprimé une bonne affinité vis-à-vis du quorum sensing signal receptor LasR (-7,2 kcal/mol) et de la squalène époxidase (-7,2 kcal/mol). Quant au composé [8], une bonne affinité a été observée avec le quorum sensing signal receptor LasR (-7,9 kcal/mol), la squalène époxidase (-7,9 kcal/mol), la tyrosyl-tRNA synthétase (-7,5 kcal/mol) et la 14- α -déméthylase (-7,4 kcal/mol).

A la suite de la définition des affinités des composés vis-à-vis des récepteurs, il a été utile d'inspecter le mode d'interaction des potentiels composés avec les résidus d'acides aminés. Ainsi, l'inspection de l'interaction référence et composé [8] avec la 14- α -déméthylase de

Aspergillus fumigatus n'a révélé que des interactions hydrophobes. En effet, sept interactions ont été observées de la référence et neuf du composé [8] avec les acides aminés du récepteur.

Tableau I : Affinité (Kcal/mol) des composés vis-à-vis des cibles réceptrices des microorganismes pathogènes

Composé s	PDB ID des récepteurs								
	6CR2	2QZ W	1BL H	1TW S	3IX 3	6C6 N	2XCT	1JIJ	1E9 Z
1'	-6,8	-5,5	-4,0	-4,3	-4,4	-4,4	-5,6	-5,5	15,2
1	-5,9	-5,2	-4,6	-4,5	-7,0	-7,0	-5,7	-5,1	-3,3
2	-7,5	-6,7	-5,0	-5,4	-5,0	-5,0	-6,9	-6,8	0,1
3	-6,3	-5,0	-4,3	-4,6	-5,2	-5,2	-5,5	-5,4	-2,9
4	-6,3	-5,2	-4,6	-4,5	-6,0	-6,0	-5,6	-5,1	-3,3
5	-5,7	-5,1	-4,5	-4,5	-6,2	-6,2	-7,1	-5,3	-3,6
6	-7,0	-5,0	-4,5	-4,7	-6,4	-6,4	-6,6	-5,7	-2,5
7	-6,0	-5,7	-4,7	-4,7	-7,2	-7,2	-6,6	-5,8	-3,0
8	-7,4	-6,6	-5,7	-5,2	-7,9	-7,9	-6,3	-7,5	0,4
10	-6,7	-5,2	-4,4	-4,9	-7,5	-7,5	-6,8	-5,5	-2,6
11	-6,8	-4,9	-4,3	-4,3	-6,3	-6,3	-6,3	-5,4	-2,0
12	-6,8	-5,7	-5,0	-4,8	-5,1	-5,1	-6,2	-6,2	-0,3
13	-6,8	-5,6	-4,6	-4,9	-6,2	-6,2	-6,8	-5,9	-2,4
14	-6,7	-4,9	-3,7	-4,4	-4,1	-4,1	-5,7	-5,1	2,6
Référence s	- 11,5	- -9,7	- -5,7	- -8,7	- -5,3	- -9,7	- 7,2	- 10,2	- -2,6

La figure 3 montre l'interaction avec le récepteur du signal de quorum sensing LasR de *Pseudomonas aeruginosa*. Avec la molécule de référence, six interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène à 1,83 Å avec ASP73B, à 1,89 Å avec TYR56B et à 1,76 Å avec SER129B ont été observées. En présence du composé [7], dix interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène à 2,05 Å avec TYR56B, à 1,90 Å avec THR75B et à 3,17 Å avec SER129B ont été observées. Quant

au composé [8], huit interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène à 2,15 Å avec THR75A, à 3,34 Å avec SER129A ont été observées.

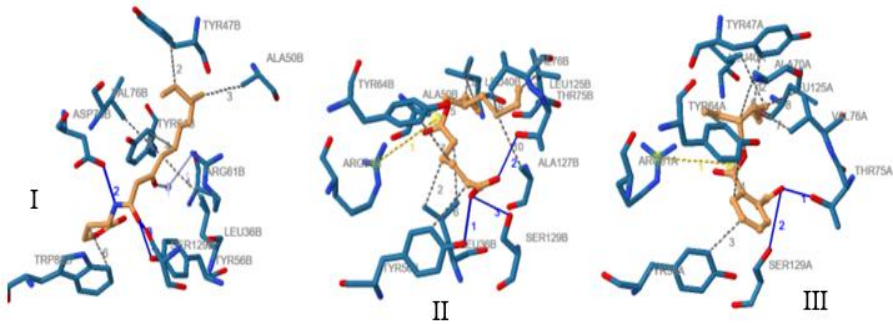


Figure 3 : Interaction 3D entre le quorum sensing signal receptor LasR de *Pseudomonas aeruginosa* et les molécules hits : 3IX3-référence (gauche), 3IX3-composé7 (milieu), 3IX3-composé8 (droite), Liaison hydrogène en trait bleu, interaction hydrophobe en pointillées, composé en orange.

La figure 4 montre l'interaction avec la squalène époxidase humaine, un orthologue fongique. La référence a manifesté dix-huit interactions hydrophobes et une liaison hydrogène à 1,98 Å avec TYR195A. Le composé [7] a montré dix interactions hydrophobes et de liaisons hydrogène à 2,14 Å avec GLU165A, à 2,10 et 2,98 Å avec PHE166A. Quant au composé [8], il a présenté sept interactions hydrophobes et une liaison hydrogène à 2,73 Å avec TYR494A.

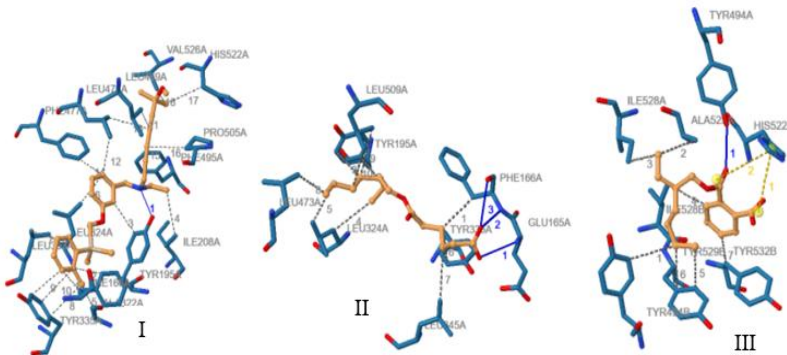


Figure 4 : Interaction 3D entre la squalène époxidase humaine, l'orthologue fongique et les molécules hits : 6C6N-référence (gauche), 6C6N-composé7 (milieu), 6C6N-composé8 (droite), Liaison hydrogène en trait bleu, interaction hydrophobe en pointillées, composé en orange.

La figure 5 illustre l'interaction avec la tyrosyl-tRNA synthétase de *Staphylococcus aureus*. Avec la référence, deux interactions hydrophobes et de liaisons hydrogène à 2,18 Å avec TYR36A, à 2,84 Å avec GLY38A, à 1,82 Å avec ASP40A, à 2,14 Å avec ASP80A, à 2,35 Å avec TYR170A, à 1,74 Å avec GLN174A, à 3,03 Å avec ASP177A, à 2,80 Å avec GLY193A et à 3,01 Å avec GLN196A ont été observées. Le composé [8] a montré deux interactions hydrophobes et deux liaisons hydrogène à 2,64 Å avec ASP80A et à 2,43 Å avec GLN174A.

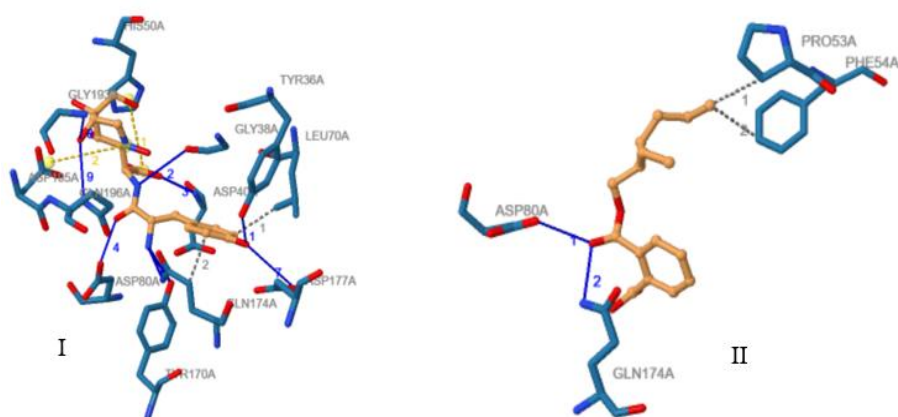


Figure 5 : Interaction 3D entre la tyrosyl-tRNA synthétase de *Staphylococcus aureus* et les molécules hits : 1JJ-référence (gauche), 1JJ-composé8 (droite), liaison hydrogène en trait bleu, interaction hydrophobe en pointillées, composé en orange.

2.3.Profil pharmacocinétique

Le tableau II présente les données relatives à l'absorption et à la distribution telles que la surface polaire totale, le coefficient de partage octanol-eau, la solubilité, l'absorption gastro-intestinale et la perméabilité à la barrière hémato-encéphalique. Également, un paramètre de prédiction du métabolisme et de l'excrétion, à savoir l'aptitude des différents composés à inhiber le cytochrome P2D6, une enzyme ubiquiste du métabolisme des médicaments.

Tableau II : Les paramètres pharmacocinétiques (profile ADME)

Composés	TPSA (Å ²)	Log P	Solubilité	GI Absorption	BBB Perméabilité	CYP2D6 Inhibition
1'	26,30	12,41	Insoluble	Faible	Non	Non
1	37,30	4,45	Solubilité modérée	Forte	Oui	Non
2	52,60	5,96	Solubilité modérée	Forte	Non	Non
3	26,30	5,54	Solubilité modérée	Forte	Oui	Non
4	37,30	5,20	Solubilité modérée	Forte	Oui	Non
5	20,23	5,42	Solubilité modérée	Forte	Oui	Non
6	26,30	6,20	Solubilité modérée	Forte	Oui	Non
7	63,60	3,05	Soluble	Forte	Oui	Non
8	63,60	3,55	Soluble	Forte	Non	Non
10	0,00	6,51	Solubilité modérée	Faible	Non	Non
11	29,43	6,77	Faible solubilité	Faible	Non	Non
12	66,76	6,18	Faible solubilité	Forte	Non	Non
13	20,23	5,88	Solubilité modérée	Forte	Non	Non
14	0,00	10,46	Faible solubilité	Faible	Non	Non

Légende : TPSA: Total Polar Surface Area; Log P: octanol-water partition coefficient; GI: Gastrointestinal; BBB: Blood Brain Barrier; CYP2D6: Cytochrome P2D6.

III. Discussion

M. inermis, comme d'autres espèces de la famille des Rubiacées, présente une richesse biochimique et pharmacologique. L'objectif de cette étude était de fournir des données phytochimiques axées sur les composés non polaires et volatils de l'écorce de tronc. Par conséquent, le tetratriacontanoate d'éthyle [1'] est déjà décrit dans certaines synthèses (22), mais il a été isolé pour la première fois à partir d'une source naturelle comme *M. inermis*. De l'analyse chromatographique en phase gazeuse, certains composés ont été rapportés en faible quantité relative. La plupart des composés identifiés sont signalés dans des sources naturelles comme étant volatils et sont potentiellement des antioxydants et des antimicrobiens (7,23-27). La variabilité de l'abondance serait due à des différences de biosynthèse par la plante, mais aussi à des différences d'importance pour la plante (27-31). Ces

constituants pourraient contribuer à la chimiotaxonomie de *M. inermis*. En outre, les huiles essentielles sont souvent signalées comme présentant des activités antifongiques et antibactériennes (8,10). Ici, les composés non polaires pourraient contribuer à comprendre l'activité biologique partagée par l'écorce de tronc de *M. inermis*.

Pour soutenir ces spéculations, un criblage virtuel basé sur la conformation a été effectué. Les prédictions ont montré que les composés présentent des affinités variées pour les récepteurs. Ces affinités sont proportionnelles aux potentialités des composés à exhiber une activité antifongique ou antibactérienne (13). Par ailleurs, ces affinités sont fonction du niveau d'interaction des composés avec les acides aminés du site de régulation des récepteurs. Cette différence d'affinité et d'interaction est associée à la variabilité des torsions, des accepteurs et des donneurs d'hydrogènes spécifiques à chaque composé (32). L'inspection des interactions en 3D des composés [7] et [8], comparés aux composés co-cristallisés avec les récepteurs, révèle des similitudes. Ainsi, les interactions proches du composé [8] avec l'azole inhibiteur de la 14- α -déméthylase de *Aspergillus fumigatus*, montrent que le composé [8] pourrait œuvrer dans l'inhibition de la synthèse de stérols essentiels à la vie des champignons (15). Aussi, les interactions des composés [7] et [8] proches de l'auto-inducteur naturel de la formation de biofilm sur le récepteur quorum sensing signal LasR révèlent que ces composés pourraient œuvrer à la réduction de la formation de biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* et, par conséquent, à l'atténuation de leur virulence et à la réduction de la résistance antimicrobienne (33). Des interactions différentes avec les acides aminés du site actif de la squalène époxydase montrent que les composés [7] et [8] ont une base moléculaire d'action différente du composé de référence. Néanmoins, leur affinité tangible révèle qu'ils pourraient perturber la voie de biosynthèse du cholestérol chez les champignons (18). Par ailleurs, le composé [8] a manifesté deux liaisons hydrogène similaires à celles du composé de référence sur la tyrosyl-tRNA synthétase. Ainsi, le composé [8] pourrait agir en inhibant la synthèse protéique chez *Staphylococcus aureus* qui est responsable de plusieurs cas d'infection hospitalière (16). Les affinités de ces composés pour plusieurs cibles antimicrobiennes offrent l'avantage de développer des antimicrobiens à large spectre pouvant échapper aux mécanismes antimicrobiens de résistance. En outre, le mécanisme antimicrobien de la fraction au dichlorométhane de l'écorce

de tronc de *M. inermis* serait associé aux mécanismes individuels des composés susmentionnés.

Par ailleurs, l'absorption gastro-intestinale et l'accès au cerveau sont deux comportements pharmacocinétiques qu'il est crucial d'estimer à différents stades des processus de découverte de médicaments (21). En outre, la pharmacocinétique constitue un aspect essentiel dans le processus de recherche-développement des médicaments (32). Les valeurs TPSA optimales doivent être comprises entre 40 et 140 Å² pour un transfert efficace des composés à travers les barrières gastro-intestinale et hémato-encéphalique. Seulement les composés [2], [7], [8] et [12] satisfont cette hypothèse. LogP renseigne sur la liposolubilité et l'hydrosolubilité des composés. En effet, les valeurs optimums pouvant garantir un passage à travers des compartiments lipophiles et hydrophiles sont proches de -1,0 et 2,0. À cet effet, les composés [7] et [8] satisfont le plus ce paramètre. La conséquence de ces valeurs se justifie par la bonne solubilité prédite des composés [7] et [8]. La faible solubilité ou la solubilité modérée des autres composés limite leurs choix comme potentiels candidats pour la validation *in vitro*. Ces deux composés sont fortement absorbés à travers le tractus gastro-intestinal et sont métabolisés. Contrairement au composé [7], le composé [8] ne peut pas traverser la barrière hémato-encéphalique. Par ailleurs, tous les composés peuvent être métabolisés et excrétés au regard de la non-inhibition du cytochrome P2D6. Ainsi, une analyse croisée entre les affinités aux récepteurs et leurs aptitudes à être absorbé, distribué et métabolisé a permis de sélectionner l'acide 6-((2-ethylhexyl)oxy)-6-oxohexanoïque et l'acide 2-(((2-ethylhexyl)oxy)carbonyl)benzoïque. Ces composés sont prédits à atteindre les cibles dans les différents compartiments de l'organisme et, de même, à être moins dangereux pour l'organisme après action pharmacologique (21). Par ailleurs, les ingrédients de la fraction dichlorométhane de l'écorce de tronc de *M. inermis* pourraient être métabolisés et éliminés.

Conclusion

Nous avons étudié le profil des composés à polarité modérée de *Mitragyna inermis* dans le but d'établir leurs relations avec plusieurs activités ethno-pharmacologiques dont les propriétés antimicrobiennes. Il est ressorti que l'écorce de tronc contient des acides gras et des huiles essentielles avec diverses fonctions chimiques qui pourraient conduire à une interaction bénéfique pour la découverte de médicaments. En outre, les analyses prédictives du potentiel antimicrobien en appui des

données pharmacocinétiques ont révélé que préférentiellement l'acide 6-((2-ethylhexyl)oxy)-6-oxohexanoïque et l'acide 2-(((2-ethylhexyl)oxy)carbonyl)benzoïque pourraient servir pour la validation *in vitro*. Ainsi, des études ultérieures *in vitro* sont nécessaires pour valider ces activités antimicrobiennes prédictives.

Remerciements

Les recherches qui ont abouti à ces résultats d'analyse RMN, MS et GC ont bénéficié d'installations d'analyse dans le cadre du programme The World Academy of Sciences (TWAS) et International Center for Chemical and Biological Sciences (ICCBS)/Karachi University, Pakistan.

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent l'absence de conflits d'intérêt.

Contribution des auteurs

ORJ a fait l'isolement, les analyses GC-MS, les analyses virtuelles et l'écriture du projet d'article. SY et KP ont récoltés les échantillons et préparé les extraits. LO a interprété les spectres d'analyses chimiques. AAD et MRD ont révisé les analyses antimicrobiennes. ON et OGA ont révisé le projet d'article global.

Références bibliographiques

1. ARBONNIER M. Arbres, Arbustes et Lianes Des Zones Sèches d'Afrique de l'Ouest. Edited by Pont- sur-Yvonne Artec. Cirad. 2002 ; 87p.
2. ZERBO P, MILLOGO-RASOLODIMEY J, NACOUUMA-OUEDRAOGO OG, VAN DAMME P. Contribution à la connaissance des plantes médicinales utilisées dans les soins infantiles en pays San, au Burkina Faso. Int J Biol Chem Sci. 2007 ; 1(3):262-274. doi:10.4314/ijbcs.v1i3.39704
3. ASASE A, KOKUBUN T, GRAYER RJ, KITE G, SIMMONDS MS, OTENG-YEBOAH AA et al. Chemical constituents and antimicrobial activity of medicinal plants from Ghana: *Cassia sieberiana*, *Haematostaphis barteri*, *Mitragyna inermis* and *Pseudocedrela kotschy*. Phytother Res. 2008; 22(8):1013-1016. <https://doi.org/10.1002/ptr.2392>

4. ADOUM OA, NENGE HP, CHEDI B. The steroidal component and hypoglycaemic effect of stem bark extract of *Mitragyna inermis* (wild) O. Kundze (Rubiaceae) in alloxan induced diabetic wistar rats. *Int J Appl Biol Pharm.* 2012; 3:169–74.
5. DONFACK EV, LENTA BN, KONGUE MDT, FONGANG YF, NGOUELA S, TSAMO E et al. Naucleactonin D, an indole alkaloid and other chemical constituents from roots and fruits of *Mitragyna inermis*. *Z. Naturforsch., B: Chem. Sci.* 2012; 67(11):1159-1165. <https://doi.org/10.5560/znb.2012-0115>
6. MUKHTAR M, ADAMU HM, FALALU MY. GC-MS analysis and identification of constituents present in the root extract of *Mitragyna inermis*. *J Pharmacogn Phytochem.* 2016; 5 (6):17-20.
7. POLITEO O, JUKIC M, MILOS M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Food Chem.* 2007; 101(1):379-385. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.045>
8. HSIEH TJ, TSAI YH, LIAO MC, DU YC, LIEN PJ, SUN CC et al. Anti-diabetic properties of non-polar *Toona sinensis* Roem extract prepared by supercritical-CO₂ fluid. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50(3-4):779-789. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.12.023>
9. FOMANI M, NOUGA AB, TOZE FAA, NDOM JC, WAFFO AFK, WANSI JD. Bioactive Phenylethanoids from the Seeds of *Manilkara zapota*. *J Pharm Res Int.* 2015; 8(5):1-5. doi: 10.9734/BJPR/2015/20796
10. SHARMA N, GUPTA N, ORFALI R, KUMAR V, PATEL CN, PENG J et al. Evaluation of the Antifungal, Antioxidant, and Anti-Diabetic Potential of the Essential Oil of *Curcuma longa* Leaves from the North-Western Himalayas by *In Vitro* and *In Silico* Analysis. *Molecules.* 2022; 27(22):7664. <https://doi.org/10.3390/molecules27227664>
11. OUÉDRAOGO RJ, OUATTARA L, KABRE P, SANOU Y, SOMDA MB, OUOBA P et al. Season and Ecotype Effects on Soluble Phenolic Compounds Content and Antioxidant Potential of *Tamarindus indica* and *Mitragyna inermis*. *J Pharm Pharmacol.* 2022; 10(5):145-158. doi: 10.17265/2328-2150/2022.05.001

12. OUÉDRAOGO RJ, JAMAL M, OUATTARA L, NADEEM-UL-HAQUE M, KHAN F, SIMJEE SU et al. Antiseizure Activity of *Mitragyna inermis* in the Pentylenetetrazol-Induced Seizure Model in Mice: Involvement of Flavonoids and Alkaloids. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences. 2024; 21(2), 104-112. doi: [10.4274/tjps.galenos.2023.14704](https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2023.14704)
13. TROTT O, OLSON AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, Journal of Computational Chemistry. 2010; 31(2): 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
14. HA NC, OH ST, SUNG JY, CHA KA, LEE MH, OH BH. Supramolecular assembly and acid resistance of *Helicobacter pylori* urease. Nat Struct Biol. 2001; 8(6):505-509. <https://doi.org/10.1038/88563>
15. FRIGGERI L, HARGROVE TY, WAWRZAK Z, BLOBAUM AL, RACHAKONDA G, LINDSLEY CW et al. Sterol 14- α -Demethylase Structure-Based Design of VNI ((R)- N-(1-(2,4-Dichlorophenyl)-2-(1 H-imidazol-1-yl)ethyl)-4-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)benzamide)) Derivatives To Target Fungal Infections: Synthesis, Biological Evaluation, and Crystallographic Analysis. J Med Chem. 2018; 61(13):5679-5691. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00641>
16. QIU X, JANSON CA, SMITH WW, GREEN SM, MCDEVITT P, JOHANSON K et al. Crystal structure of *Staphylococcus aureus* tyrosyl-tRNA synthetase in complex with a class of potent and specific inhibitors. Protein Sci. 2001; 10(10):2008-2016. <https://doi.org/10.1110/ps.18001>
17. BAX BD, CHAN PF, EGGLESTON DS, FOSBERRY A, GENTRY DR, GORREC F et al. Type IIA topoisomerase inhibition by a new class of antibacterial agents. Nature. 2010; 466(7309):935-940. <https://doi.org/10.1038/nature09197>
18. PADYANA AK, GROSS S, JIN L, CIANCHETTA G, NARAYANASWAMY R, WANG F et al. Structure and inhibition mechanism of the catalytic domain of human squalene epoxidase. Nat Commun. 2019; 10(97):1-10. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07928-x>

19. CHEN CC, RAHIL J, PRATT RF, HERZBERG O. Structure of a phosphonate-inhibited beta-lactamase. An analog of the tetrahedral transition state/intermediate of beta-lactam hydrolysis. *J Mol Biol.* 1993; 234(1):165-178. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1993.1571>
20. PHILIPP S, SARAH NB, KATJA L, MICHAEL S. PLIP 2025: introducing protein-protein interactions to the protein-ligand interaction profiler, *Nucleic Acids Research.* 2025; 53 (W1):W463-W465. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf361>
21. DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep.* 2016; 7(1):1-13. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
22. FRANCIS F, KING AM, WILLIS JA. Long-chain carbon compounds. n-Tetratriacontanoic and n-hexatetracontanoic acids and their derivatives. *J Chem Soc (Resumed).* 1937; 210:999-1004. <https://doi.org/10.1039/JR9370000999>
23. GOLOVNYA RV, URALETS VP, KUZMENKO TE. Characterization of fatty acid methyl esters by gas chromatography on siloxane liquid phases. *J Chromatogr A.* 1976; 121:118-121. doi: [10.1016/S0021-9673\(00\)82312-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)82312-2)
24. PENG CT. Prediction of retention indices: V. Influence of electronic effects and column polarity on retention index. *J Chromatogr A.* 2000; 903(1-2):117-143. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00901-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00901-8)
25. PINO JA, MARBOT R. Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. *J Agric Food Chem.* 2001; 49(12):5880-5882. <https://doi.org/10.1021/jf010270g>
26. BLAGOJEVIĆ P, RADULOVIC N, PALIĆ R, STOJANOVIĆ G. Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *J Agric Food Chem.* 2006; 54(13):4780-4789. <https://doi.org/10.1021/jf060123o>
27. RADULOVIC N, MANANJARASOA E, HARINANTENAINA L, YOSHINORI A. Essential oil composition of four Croton species from Madagascar and their chemotaxonomy. *Biochem Syst Ecol.* 2006; 8:648-653. doi: [10.1016/j.bse.2006.02.005](https://doi.org/10.1016/j.bse.2006.02.005)

28. REZAZADEH S, PIRALI HM, HADJIAKHOONDI A, YAZDANI D, JAMSHIDI AH, TAGHIZADEH M. Chemical composition of the essential oils of *Stachys athorecalyx* C. Koch. collected from Arasbaran prospected region. J Med Plants. 2006; 5(18):56-62.
29. ZHAO CX, LI XN, LIANG YZ, FANG HZ, HUANG LF, GUO FQ. Comparative analysis of chemical components of essential oils from different samples of Rhododendron with the help of chemometrics methods. Chemometr Intell Lab Syst. 2006; 82(1-2):218-228.
<https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2005.08.008>
30. PAOLINI J, MUSELLI A, BERNARDINI AF, BIGHELLI A, CASANOVA J, COSTA J. Thymol derivatives from essential oil of *Doronicum corsicum* L. Flavour Fragr J. 2007; 22(6):479-487. <https://doi.org/10.1002/ffj.1824>
31. ZENG YX, ZHAO CX, LIANG YZ, YANG H, FANG HZ, YI LZ et al. Comparative analysis of volatile components from Clematis species growing in China. Analytica chimica acta. 2007; 595(1-2):328-339.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.12.022>
32. OUEDRAOGO RJ, AHMAD N, OUATTARA L, UL-HAQ Z, OUEDRAOGO, GA. *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Kuntze ethnopharmacology and metabolic disorders: An update review and in silico study. ACTA Pharmaceutica Scientia. 2025; 63(1):17-43. doi : 10.23893/1307-2080.APS6302
33. BOTTOMLEY MJ, MURAGLIA E, BAZZO R, CARFÌ A. Molecular insights into quorum sensing in the human pathogen *Pseudomonas aeruginosa* from the structure of the virulence regulator LasR bound to its autoinducer. J Biol Chem. 2007; 282(18):13592-600. <https://doi.org/10.1074/jbc.M700556200>

