



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

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Référence / 2022

Présenté et soutenu par :
KERBOUB Narimane et KRID Imene

Le : /06/2022

Etude in silico de l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase par les anthocyanes isolés de la plante Myrtille.

Jury:

M. REBAI Redouane	MCA UMKB	Rapporteur
M. Deghima Amirouche	MCB	Examineur
M. Attir Badreddine	MCA	président

Année universitaire: 2021-2022

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la Volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr Redouane REBAI, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Je remercie également tous les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail :

Dr. DEGJIMA Amirouche

Dr. ATTIR Badreddine

Nous tenons à remercier nos parents ; Kerboub Mourad, Bayarassou Naima, Krid Mohammed Taher et Krid Assia Et à tous nos frères et sœurs et à toutes nos familles pour le soutien moral Nous adressons également nos chaleureux remerciements à tous nos amis qui nous ont aidés de près ou de loin ; Mouada Zanoubya, kassousi Djazia, Guidadou fatima zohra,hammani monia et bouziane Zakaria.

J'espère que toute personne qui lira ce mémoire, y trouvera un peu d'inspiration pour améliorer la préparation des étudiants au départ, à l'accueil et à l'accompagnement sur place.

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

- A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Kerboub Mourad / Krid Mohammed Taher,
- A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère Bayarassou Naima / krid Assia
- A mes chères sœurs Kerboub Roaya Malek /Krid khawla, Krid Souhaila, et mes frères Kerboub Fateh, Kerboub Mounir, Krid Mouadh, Krid Abdelbasset, Krid saleh et mon fiancé Bouziane Zakaria, et mohammed lokmane ibrahim fatima qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.
- A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant. Merci pour leurs amours et leurs encouragements.
- Mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité. A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

A tous ceux que j'aime.

Merci !

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des tableaux	I
Listes des figures.....	II
Listes des abréviations.....	IV
Introduction générale.....	1

Partie Bibliographique

Chapitre I : Revue bibliographique

1. Xanthine oxydase.....	2
1.1. Structure de XO.....	2
1.2. Distribution et localisation de la XO	3
1.3. Mécanisme d'action de la xanthine oxydase	4
1.1.4. Rôle diagnostic de pathologie de la XO	5
1.5. La plante médicinale.....	6
2. Les polyphénols.....	6
2.1. Les flavonoïdes	6
2.2. Les anthocyanes	8
3. Docking Moléculaire	9
3.1. Programme utilisé : AutoDock.....	10

Partie Expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel	11
1.1. Les microordinateurs	11
1.2. Les banques des données et les sites web	11
1.3. Les programmes	13
2. Méthode.....	14
2.1. Docking moléculaire.....	14
2.2. Calcul des grilles	14

2.3. Teste de la fiabilité du Docking	15
2.4. Le choix de cible 6J39	16
2.5. Préparation des molécules au Docking moléculaire.....	16
Chapitre III : Résultats et discussion	
1. Coefficient de corrélation.....	20
2. Teste RMSD	21
<u>3. L'analyse visuelle</u>	<u>22</u>
4. Interactions des Anthocyane avec xanthine oxydase.....	24
4.1. L'analyse des interactions.....	25
5. Propriétés physico-chimiques.....	31
5.1. La règle de cinq de Lipinski et toxicité	31
5.2. La perméabilité BBB	33
5.3. Inhibition de CYP 450	33
Conclusion	36
Références Bibliographiques.....	38
Annexes	43

Liste des tableaux

Tableau 1. Les caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés	11
Tableau 2. Principaux inhibiteurs (Anthocyanes) de xanthine oxydase (6J39)	17
Tableau 3. Résultats de l'Analyse de la régression linéaire	20
Tableau 4. Valeurs du RMSD des différents complexes protéine-ligand.....	22
Tableau 5. Energie et constante d'inhibition des 17 inhibiteurs extrait de plante Berry Blue (Anthocyanes) par Autodock.	24
Tableau 6. Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des inhibiteurs de 6J39.....	32
Tableau 7. Inhibition des iso-enzymes du CYP450 et BBB.....	33
Tableau 8. Principale inhibiteur (Anthocyanes) de xanthine oxydase (6J39) extrait à partir de la plante Berry Blue	43
Tableau 9. Resultatas de l'Analyse de la régression linéaire.....	45
Tableau 10. Valeurs du RMSD des différents complexes protéine-ligand.....	45
Tableau 11. Energie et constante d'inhibition des 17 inhibiteurs extrait de plante Berry Blue (Anthocyanes) par Autodock.	46
Tableau 12. Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des inhibiteurs de 6J39.....	47
Tableau 13. Inhibition des iso-enzymes du CYP450 et BBB	48

Listes des figures

Figure 1. Réaction de l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine	2
Figure 2. Réaction de l'oxydation de xanthine en acide urique	2
Figure 3. Structure de la xanthine oxydase (code PDB 6J39).....	3
Figure 4. Transferts d'électrons du centre Mo vers le centre FAD en passant par les ponts [2Fe-2S]	3
Figure 5. Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydase	4
Figure 6. Mécanisme d'action de la xanthine oxydase.....	4
Figure 7. Classification de Berry Blue.....	6
Figure 8. Squelette de base des flavonoïdes.....	7
Figure 9. Classification des flavonoïdes	8
Figure 10. Structure des anthocyanes	9
Figure 11. Représentation schématique du Docking et formation de complexe moléculaire	9
Figure 12. Comparaison des programmes de docking les plus cité.....	10
Figure 13. L'interface principale de la recherche du PDB	12
Figure 14. L'interface principale de la recherche du Pubchem	12
Figure 15. Boîte tridimensionnelle avec ses coordonnées et ses données	14
Figure 16. Exemple de fichier .gpf pour AutoGrid.....	15
Figure 17. Fichier .dpf pour AutoDock.	15
Figure 18. Structure tridimensionnelle de cible 6J39 (PDB)	16
Figure 19. Corrélation entre l'activité biologique (IPC50) des inhibiteurs et leurs Energie données par Autodock	21
Figure 20. Valeurs de RMSD en pourcentage.....	21
Figure 21. Superposition du ligand expérimentale (rouge) et du ligand docké (vert) 1BIO (RMSD=0,000 Å).....	23
Figure 22. Superposition du ligand expérimentale et du ligand docké 5TG2(RMSD=0,001 Å).	23
Figure 23. Superposition du ligand expérimentale(rouge) et du ligand docké(vert) 4DID (RMSD = 1,970Å).....	23
Figure 24. Superposition du ligand expérimentale (rouge) et du ligand docké (vert) 5T6G (RMSD = 2,366Å).....	24
Figure 25. La présentation des interactions récepteur- Peonidin en schéma 2D.....	26
Figure 26. La présentation des interactions récepteur- Peonidin en schéma 3D.....	26

Figure 27. La présentation des interactions récepteur- Delphinidinchloride en schéma 2D. ..	27
Figure 28. La présentation des interactions récepteur- Delphinidinchloride en schéma 3D. ..	27
Figure 29. La présentation des interactions récepteur- Hydroxychloroquine en schéma 2D. .	28
Figure 30. La présentation des interactions récepteur- Hydroxychloroquine en schéma 3D. .	28
Figure 31. La présentation des interactions récepteur- Cyanidin en schéma 2D.	29
Figure 32. La présentation des interactions récepteur- Cyanidin en schéma 3D.	29
Figure 33. La présentation des interactions récepteur- Pelargonidin en schéma 2D.....	30
Figure 34. La présentation des interactions récepteur- Pelargonidin en schéma 3D.....	30
Figure 35. Répartition des molécules métabolisées par les différentes iso-enzymes du CYP450.....	33

Listes des abréviations

2D	Bidimensionnel
3D	Trois dimensions
Å	Ångström
ADME	Absorption, distribution, métabolisme, et excrétion
ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité
BBB	Barrière hémato-encéphalique
C	Carbon
FAD	Flavine adénine dinucléotide
Fig	Figure
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène.
Ic₅₀	La concentration inhibitrice médiane
IPC50	Indicateur de Pesage Numérique.
KDa	Units kilodaltons
LD₅₀	Létal dose
LogP	Coefficient de partage Eau/Octanol
Mo	Molybdène
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
O	Oxygène
OH	Hydroxide
PDB	Protein Data Bank
PDBQT	Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)
PM	Poids Moléculaire
r	Coefficient de corrélation linéaire
RMSD	Root Mean Square Deviation
XD	Xanthine déshydrogénase
XO	Xanthine oxydase
XOR	Xanthine oxydoréductases.

Introduction

Introduction générale

Les plantes étaient utilisées dans la médecine chinoise comme remède contre les maladies humaines depuis 4000 à 6000 ans avant la découverte de composés bioactifs tels que les flavonoïdes. Ces derniers appartiennent à une classe de produits naturels phénoliques bien identifiés dans la médecine traditionnelle et moderne, ainsi que dans le traitement de diverses maladies humaines en raison de leurs pouvoir antioxydant très important dans la réduction du stress oxydatif en inhibant ou en activant des enzymes. (Safa Et Houyame, 2021 ; Boussouf, Et Mebaoudj,2021).

La plupart des maladies rhumatismales sont chroniques et provoquent des modifications structurelles ou fonctionnelles de l'organisme, et donc sont parmanantes. Les maladies rhumatismales regroupent diverses affections. Parmi elles, on trouve les articulations comme L'arthrite, polyarthrite rhumatoïde, et la goutte. La goutte est l'une des maladies métaboliques les plus anciennes, frappantes surtout Les sujets de sexe masculin, âgés de plus de trente ans et de poids supérieur au poids normal. (Kaly, k., 2020).

La goutte est souvent associée, à une augmentation du taux circulant d'acide urique (hyperuricémie) qui est le produit final du métabolisme des purines. Ces purines sont dégradées par une série de réactions enzymatiques par l'enzyme xanthine oxydase (XO). (Kwok, T. et al., 2021 ; Laribi et Rabahi, 2017).

Elle oxyde les composés hétérocycliques, les aldéhydes, de nombreux composés aromatiques de l'alcool et les purines, qui sont l'adénine et la guanine. Elle catalyse la conversion de l'hypoxanthine en xanthine et la conversion de la xanthine en acide urique. (Saito, H., et al., 2021 ; Heval, V. ,2020).

Dans le passé, développer de nouveaux médicaments prenait du temps et coûtait. Aujourd'hui, avec le développement des outils informatiques, de la bio-informatique, en particulier de l'amarrage moléculaire, la recherche devient plus rapide et moins chère. Le docking moléculaire et la dynamique moléculaire deviennent l'outil par excellence pour prédire la position préférée d'un ligand dans un récepteur et vérifier leur stabilité en tant que complexe. (Tao et al., 2020 ; 2 Taj et al., 2021).

Dans ce travail, nous avons utilisé l'amarrage moléculaire afin d'évaluer le pouvoir inhibiteur des quelques flavonoïdes isolés de *myrtille* vis-à-vis de notre cible, la xanthine oxydase.

Initialement, nous avons testé la fiabilité du programme de docking en utilisant 2 tests, en l'occurrence, le test RMSD, suivi par une analyse visuelle entre 2 ligands (co-cristallisé et simulé) et le test de corrélation.

Ensuite, nous avons choisi quelques flavonoïdes extraits de la plante *Myrtille*, comme inhibiteurs de notre cible la (OX). Ces composés ont été récupérés de la banque de données des molécules chimiques ; PubChem. L'assemblage moléculaire a permis de mettre en évidence le pouvoir inhibiteur avec une meilleure affinité de ces molécules.

Enfin, nous avons évalué *in silico* les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des composés ayant présenté les meilleures affinités envers notre cible.

Partie Bibliographique

Chapitre I :

Revue bibliographique

Chapitre I : Revue bibliographique

1. Xanthine oxydase :

Parmi les enzymes les plus importantes, il y a l'enzyme Xanthine Oxydase, qui joue un rôle important dans le métabolisme des purines et la formation et la production des radicaux libres. Il joue également un rôle important dans l'oxydation de la xanthine et l'hypoxanthine et devient acide urique (figure 1 et 2) (Khazoom, 2020) Ce dernier est le produit final du métabolisme des nucléosides puriques. Le principal moyen d'élimination de l'acide urique est l'excrétion urinaire (Regy, L., 2021). L'enzyme xanthine oxydase réduit l'oxygène pour donner La xanthine, qui est oxydée par la xanthine déshydrogénase, qui est utilisée comme accepteur d'électrons NAD⁺ (M'cili et Melghid, 2020).

A travers l'équation de réaction enzymatique suivante, il a été montré que l'enzyme xanthine oxydase catalyse le processus d'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et la réduction de O₂ en O₂⁻ (Toualbia et Defafliia, 2020) :

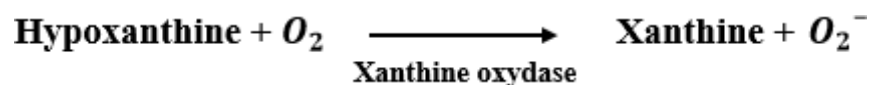


Figure 1. Réaction de l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine.

Après obtention de La xanthine, celle-ci est oxydée par l'enzyme xanthine déshydrogénase)XDR(, ce qui nous donne l'acide urique, comme le montre l'équation de réaction suivante (Cicero, A. et *al.*,2021 ; Toualbia et Defafliia, 2020) :

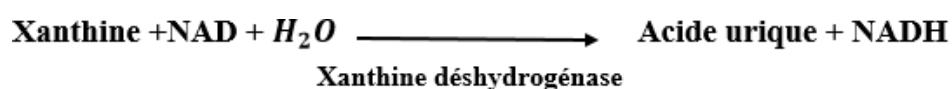


Figure 2. Réaction de l'oxydation de xanthine en acide urique.

1.1. Structure de XO :

La xanthine oxydase (XO) est l'une des enzymes productrices de superoxyde. C'est un homodimère avec une masse moléculaire de 290 kDa. Appartenant à la famille des protéines du molybdène, elle est constituée de deux sous-unités indépendantes, contenant deux sites de

liaison au substrat séparés. Chaque sous-unité contient une flavine adénine dinucléotide (FAD), un molybdène et deux centres fer-soufre (2Fe-2S) de type ferrédoxine. XO catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine puis en acide urique. (Todorov *et al.*, 2021).

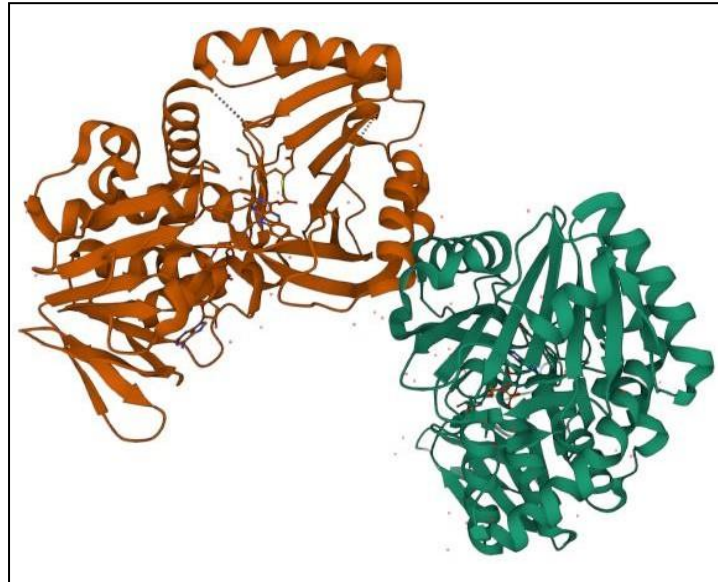


Figure 3. Structure de la xanthine oxydase (code PDB 6J39).

La xanthine oxydase a deux sites actifs différents qui communiquent sur le brin Transport interne d'électrons utilisant des ponts [2Fe2S] (Pratomo, I., *et al.*, 2021).

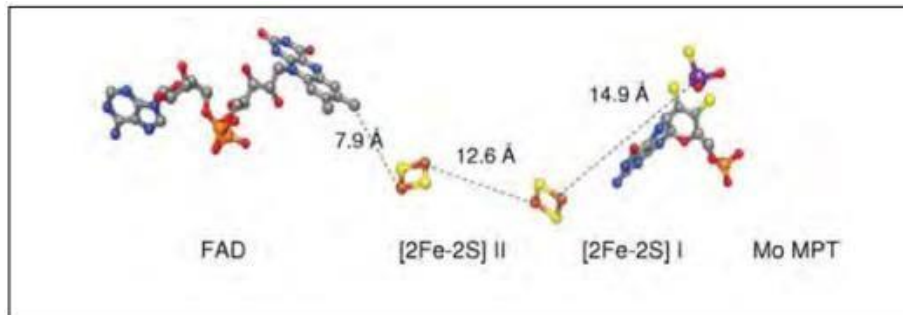


Figure 4. Transferts d'électrons du centre Mo vers le centre FAD en passant par les ponts [2Fe-2S] (Pratomo, I., *et al.*, 2021).

1.2. Distribution et localisation de la XO :

XO est une enzyme commune à la plupart des organismes vivants tels que les bactéries, les plantes et les humains. Des études chez l'homme ont montré que l'enzyme est non libre et localisée dans le foie et le sang. En cas de lésions hépatiques graves, la xanthine oxydase est libérée dans le sang, mais les mesures sanguines XO peuvent détecter des lésions hépatiques. (Bortolotti *et al.*, 2021).

1.3. Mécanisme d'action de la xanthine oxydase :

La xanthine oxydase est une enzyme essentielle au métabolisme des purines. Il catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et l'oxydation de la xanthine en acide urique. (Ozturk *et al.*, 2019).

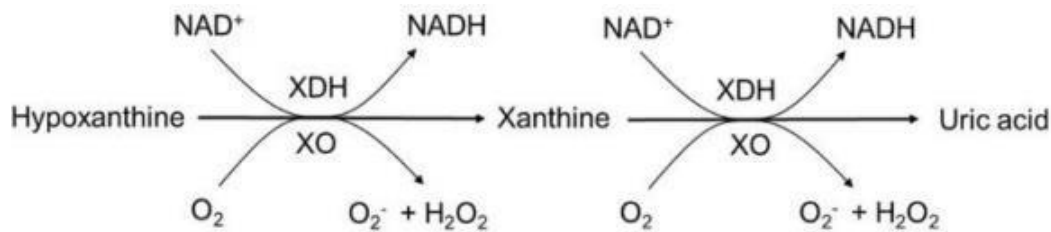


Figure 5. Processus enzymatique catalysé par la xanthine oxydase. (Ozturk *et al.*, 2019).

Le mécanisme d'action est en deux étapes :

- **La première étape** est la demi-réaction de réduction effectuée dans le Centre Mo Réduction de Mo (VI) à Mo (IV) De la xanthine à l'acide urique. Le molybdène est perdu pour continuer sa fonction catalytique Deux électrons transférés au centre FAD via le cluster Fe₂ / S₂. Sachant que le centre Fe₂ / S₂ peut être considéré comme une pompe électronique. (Safa et Houyame, 2021).
- **La deuxième étape** est la demi-réaction d'oxydation qui se produit au centre du FAD. Si la réaction de cette étape est catalysée par XDH, FADH₂ transférera les deux. De l'électron au NAD⁺ Donner NADH. Électrons lorsqu'ils sont catalysés par XO Il se déplace vers l'oxygène moléculaire (O_2) et produit des radicaux superoxydes (O_2^-). Par une méthode monovalente ou par une méthode O_2 . Divalente en libérant du peroxyde (H_2O_2). Cette dernière forme des radicaux hydroxyles (OH). (Safa et Houyame, 2021).

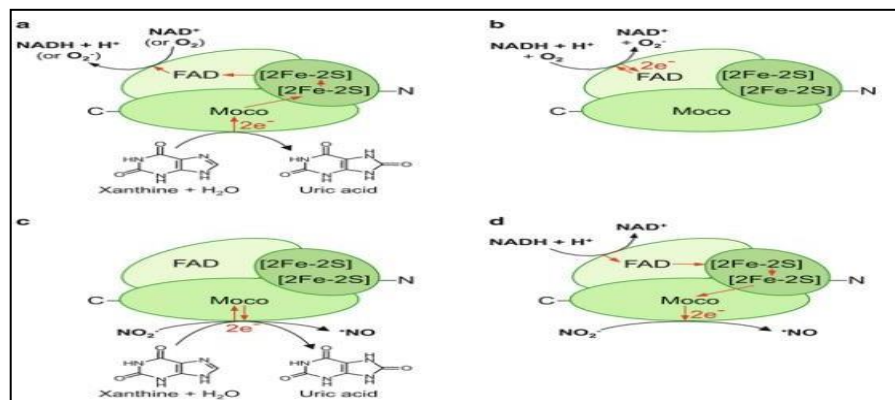


Figure 6. Mécanisme d'action de la xanthine oxydase (Safa et Houyame, 2021).

1.1.4. Rôle diagnostique de pathologie de la XO

XO est utilisé comme marqueur de l'insuffisance hépatique dans les lésions intestinales. Il agit également comme un médiateur qui cause des dommages aux organes. Nombreuses maladies physiques : ischémie hépatique, reperfusion, maladie hémorragique traumatique, athérosclérose, inflammation, anémie falciforme, diabète. L'enzyme XO joue également un rôle important dans la goutte. (Aylin et Oytun, 2021).

1.4.1. Définition de la goutte

La goutte est classée comme une maladie arthropathies microcristalline et est considérée comme une maladie rhumatismale inflammatoire ,Cette maladie est directement causée par un excès d'acide urique dans le sang. Une fois que l'acide urique dépasse sa solubilité dans le plasma et se dépose sous forme des cristaux, ce dernier provoque une réponse inflammatoire du système immunitaire. (Vatea.H., 2020).

1.4.2. Les causes de la goutte

L'une des premières et des plus importantes causes d'apparition de la goutte est l'hyperuricémie, c'est-à-dire un taux élevé d'acide urique dans le sang : 70 mg/L pour l'homme et de 60 mg/L chez la femme. Aussi, les hommes sont plus susceptibles d'avoir la goutte que les femmes, et cela s'explique par l'action uricosurique des œstrogènes, et cela augmente avec l'âge, en plus de ces causes, il existe des raisons génétiques et nutritionnelles, où les personnes qui mangent beaucoup de viande rouge et d'alcool sont plus susceptibles de développer la goutte. Les personnes qui prennent des médicaments, notamment les diurétiques et la cyclosporine, augmentent le risque d'infection. (Maquin, E.,2018).

1.4.3. Traitement médicamenteux de la goutte

La goutte est une maladie répandue dans le monde entier, il faut traiter ses crises aiguës et son versant chronique en inhibant la xanthine oxydase, responsable de la production d'acide urique et de l'inhibition des uricosurique. Les maladies concomitantes telles que l'hyperlipidémie, l'obésité et le diabète doivent également être prises en compte et contrôlées. Les inhibiteurs les plus importants de l'enzyme la xanthine oxydase sont l'Allopurinol et le Fébuxostat. Ils sont considérés comme un facteur de réduction de l'acide urique dans le sang et l'urine, car ils réduisent sa production mais avant traitement, il faut l'examiner car il peut être à haut risque d'hypersensibilité sévère. (Vatea.H, 2020).

Dans notre étude, nous allons expérimenter les polyphénols et exactement les anthocyanes extraits de la plante de *Berry Blue* et voir son effet inhibiteur sur l'enzyme xanthine oxydase.

1.5. La plante médicinale

Berry Blue est un groupe largement répandu de plantes à fleurs vivaces à baies bleues ou violettes. Ils sont classés dans la section *Cyanococcus* du genre *Vaccinium*. (Wikipédia, 2020).

Scientific classification	
Kingdom:	Plantae
Clade:	Tracheophytes
Clade:	Angiosperms
Clade:	Eudicots
Clade:	Asterids
Order:	Ericales
Family:	Ericaceae
Genus:	<i>Vaccinium</i>
Section:	<i>Vaccinium sect. Cyanococcus</i>

Figure 7. Classification de Berry Blue. (Wikipédia, 2020).

2. Les polyphénols

Les polyphénols sont des composés phytochimiques présents dans tous les organismes végétaux vasculaires. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines et bois). Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques importants de la plante tels que la croissance cellulaire, la formation des racines, la formation des graines. La germination et la maturation des fruits. La famille des polyphénols contient plus de 8000 composés dont le plus important est la famille des flavonoïdes qui représente plus de la moitié. (Belloum et Nani, 2020 ; Chettibi, R., *et al* 2021).

2.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont distribués dans tout le règne végétal comme des pigments hydrosolubles, car ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels dans les plantes vasculaires. Ils se présentent sous deux formes liées au sucre et sont appelés glycosides ou libres. (Houria,2020 ; Alzaabi, M. *et al.*,2021).

Elles sont considérées comme responsables pour donner les couleurs jaune-orange-rouge aux différentes parties de la plante, Les flavonoïdes appartiennent à la famille des polyphénols et sont considérés comme l'une de leurs deux principales classes . Certains sont des pigments donne la couleur chez les végétaux dans lesquels ces composés sont présents

aux formes libres aglycones ou glycoside, c'est à- dire liée à des oses et autres substances. (Chalabi.H, 2020). Les flavonoïdes jouent un rôle très important dans la croissance des plantes et agissent pour se défendre contre les micro-organismes et sont également efficaces contre les infections chroniques et les allergies et exercer diverses activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes. (Sok Yen *et al.*, 2021).

2.1.1. Structure chimique des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C), Tous les flavonoïdes possèdent un noyau flavone en C1. Cette structure renferme un (C6- C3-C6) qui est formé de deux noyaux phényles A et B liés par un cycle pyrane ou pyrone C. La différence entre les différents flavonoïdes réside au niveau du degré d'insaturation et aussi au niveau de la méthode et du mode d'hydrolyse du cycle carboné ou d'oscydation, ainsi que des substitutions du noyau B. (Sarbu *et al.*, 2019).

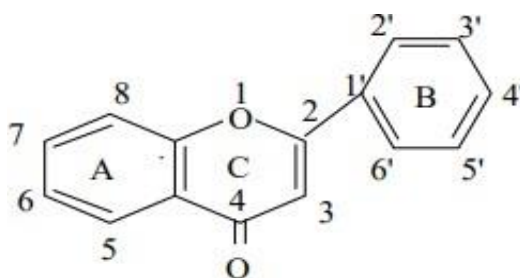


Figure 8. Squelette de base des flavonoïdes (Sarbu *et al.*, 2019).

2.1.2. Classification des flavonoïdes :

La figure suivante donne les classes des flavonoïdes en regroupant les différentes classifications depuis celle établie par Ribereau – Gaycon (1968) jusqu'à celle de Bruneton (1999) qu'est considérée comme étant la plus récente. Les classes sont présentées dans la figure (Pei *et al.*,2020) :

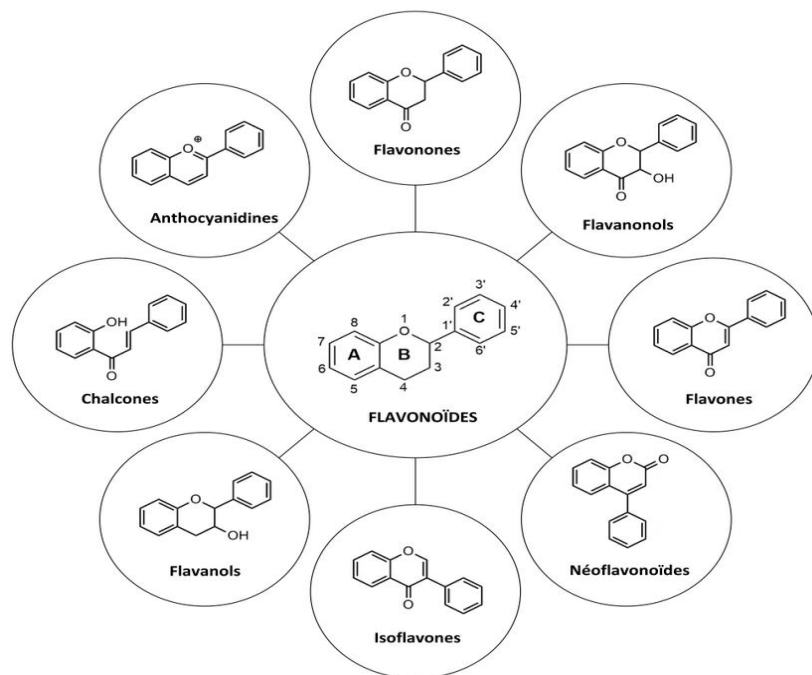


Figure 9. Classification des flavonoïdes (Pei *et al.*,2020).

2.2. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) sont un terme général qui regroupe les anthocyanidines et tous leurs dérivés glycosylés, appartenant à la famille des flavonoïdes. Les anthocyanes peuvent absorber la lumière visible par l'œil là où on peut voir des plantes pigmentées bleues, rouges, violettes, roses ou orangées. Ces pigments hydrosolubles résident dans des vacuoles au sein des cellules épidermiques végétales et sont de véritables poches remplies d'eau et les anthocyanes sont responsables des couleurs des fleurs et des fruits, ainsi que des tiges, des feuilles et des graines. (Arab et Demmouche, 2020).

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glycosylé en position C3. Les anthocyanes se distinguent par le degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (Hareb, A.,2020). (Fig.12) :

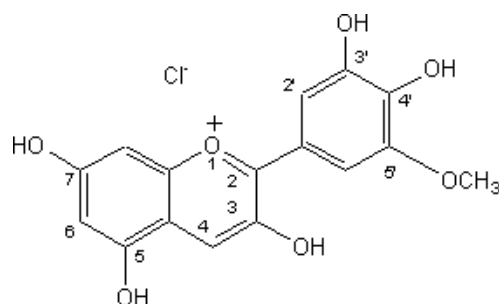


Figure 10. Structure des anthocyanes (Arab et Demmouche, 2020).

3. Docking Moléculaire :

Les méthodes du Docking cherchent à assembler les protéines afin de construire un complexe. Le processus de Docking consiste à faire interagir une petite molécule organique avec le récepteur, généralement de nature protéique. L'objectif de ce processus est de déterminer comment ces molécules peuvent s'emboîter. Il existe deux principaux types d'amarrage en biologie moléculaire : Docking ligand-protéine et docking protéine-protéine. (Nor elhouda *et al.*, 2021).

L'amarrage est un procédé bio-informatique permettant de connaître les liens et les interactions qui se produisent entre le substrat, qu'il soit un activateur ou un inhibiteur, et une protéine, et cela se fait en deux étapes :(Fredj et Lachache, 2021)

La première étape consiste à placer le ligand à l'emplacement approprié dans la protéine.

La seconde consiste à calculer et évaluer l'énergie entre le ligand et la protéine.

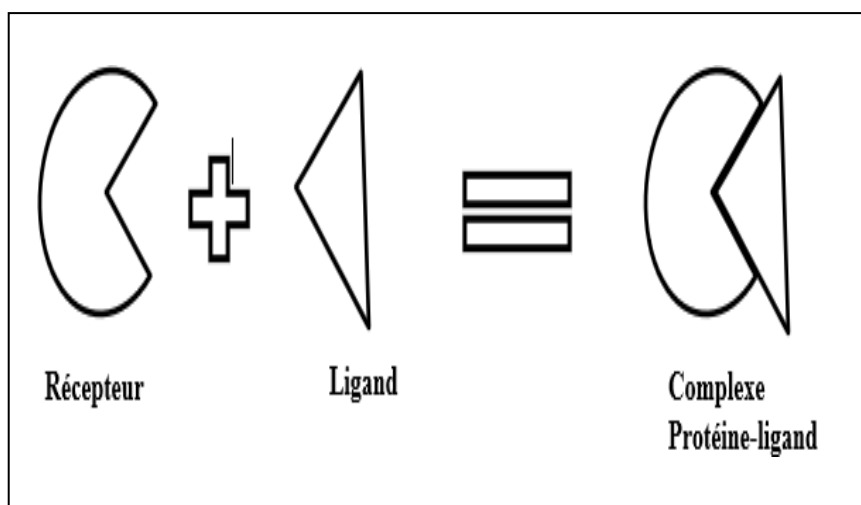


Figure 11. Représentation schématique du Docking et formation de complexe moléculaire.

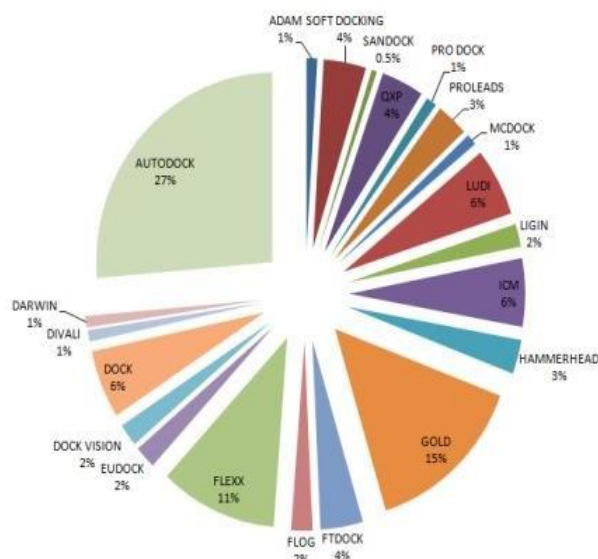


Figure 12. Comparaison des programmes de docking les plus cités. (Boudjizza et Regad, 2019).

La photo ci-dessus montre qu'AutoDock est le plus cité et le plus utilisé Parmi les autres programmes d'accueil. Ce programme a été utilisé dans ce travail pour Développer de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase

3.1. Programme utilisé : AutoDock :

AutoDock a sa haute précision Une diversité qui a élargi leur utilisation. Ce programme peut prédire l'interaction d'Un ligand avec une cible biopolymère. Développé par Morris où la version actuelle est Utilisation de l'algorithme génétique de Lamarck et de la fonction empirique de notation de l'énergie libre (Bendib et Manaa, 2021).

Un format PDB étendu appelé PDBQT est utilisé pour les fichiers de coordonnées. Inclut la charge partielle atomique et le type atomique. Les calculs AutoDock sont effectués en plusieurs étapes par les trois sous-programmes suivants (Bendib et Manaa, 2021) :

- Création d'un fichier de coordonnées à l'aide d'AutoDockTools.
- Pré-calcul des relations atomiques à l'aide d'AutoGrid.
- Amarrage du ligand à l'aide d'AutoDock. (Makhloufi et Lazreg ,2019).

Partie Expérimentale

Chapitre II :

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

L'amarrage moléculaire aide à étudier les interactions ligand-récepteur pour identifier les fractions de liaison actives des protéines cibles. Cela aide à obtenir la meilleure forme du complexe ligand-récepteur afin que l'énergie d'interaction entre le ligand et le récepteur soit minimisée.

L'énergie d'interaction minimale, appelée score, est représentée par différentes fonctions de score. Le ligand ayant le score le plus bas peut être criblé en tant que fil bioactif potentiel avec l'affinité la plus élevée pour le récepteur, fournissant un classement relatif des composés fixes en termes d'affinité.

1. Matériel

1.1. Les microordinateurs

Dans notre étude, nous avons utilisé deux micro-ordinateurs :

Tableau 1. Les caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés.

	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 2
Système D'exploitation	Microsoft Windows 10 Professionnel	Microsoft Windows 10
Type du système	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 64 bits
Processeur	Intel(R) Core (TM) i5-5200U CPU @ 2.20 GHz 2.19 GHz	Intel(R) Celeron(R) CPU 3867U @1.80GHz 1.80GHz
Mémoire (RAM)	4.00 GO	4.0 O

1.2. Les banques des données et les sites web

1.2.1. PDB (Protein Data Bank)

La Protéine Data Bank (PDB) est une base de données pour les données structurales tridimensionnelles de grandes molécules biologiques, telles que les protéines. Les données, généralement obtenues par cristallographie aux rayons X spectroscopie RMN. (Benseguen,2019).

Télécharger gratuitement les structures 3D des protéines biologiques via son site web : (<https://www.rcsb.org/>).

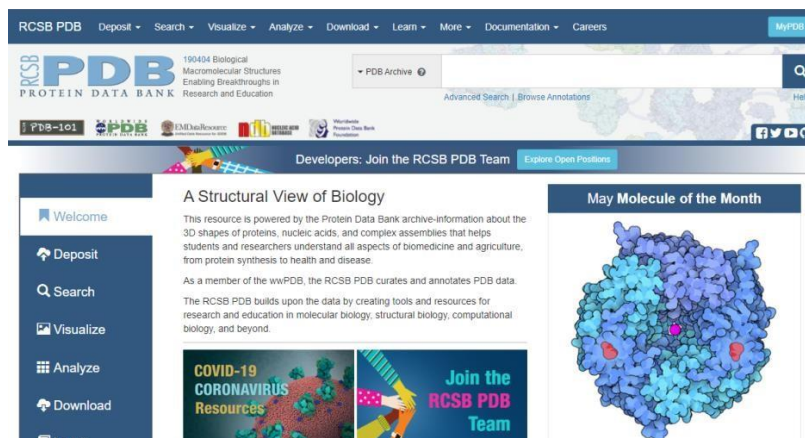


Figure 13. L'interface principale de la recherche du PDB.

1.2.2. PubChem

Pubchem est une base de données de molécules chimiques et de leurs activités par rapport à des tests biologiques. Le système est géré par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Kim *et al.*, 2016).

. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

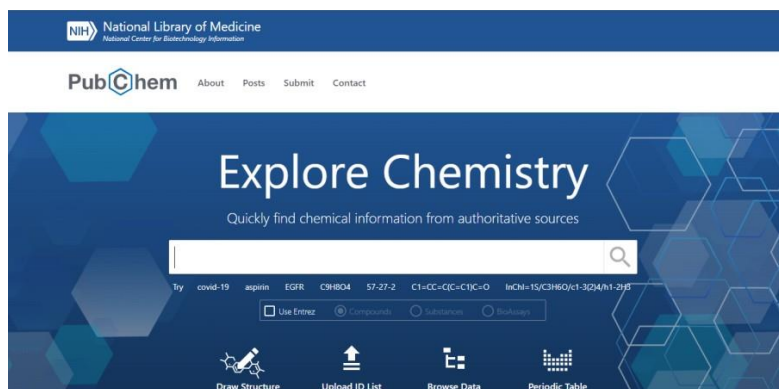


Figure 14. L'interface principale de la recherche du Pubchem.

1.2.3. SwissADME, pkcsm (Pharmacokinetic properties)

Ce site Web peut calculer des descripteurs physico-chimiques pour prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, les propriétés des médicaments et l'adéquation d'une ou plusieurs chimies médicinales à petites molécules pour la découverte de médicaments. On peut consulter ce serveur via le lien : (<http://www.swissadme.ch/>).

1.2.4. Sanjeevslab

C'est un moyen de convertir IC50 en PIC50 pour calculer le teste de corrélation.

[\(https://www.sanjeevslab.org/\)](https://www.sanjeevslab.org/).

1.3. Les programmes :

1.3.1. AutoDock Tools (1.5.6)

AutoDock est un ensemble d'outils d'amarrage automatisés conçus pour prédire comment de petites molécules, telles que des substrats, se lieront à des récepteurs avec des structures 3D connues. Plusieurs moteurs ont été développés, modifiés et améliorés pour ajouter de nouvelles fonctionnalités. (Ahmedou, A., 2021).

Le programme Autodock est un ensemble de sous-programmes destinés à simuler un Docking flexible-rigide. Il comprend 3 parties : AutoTors, AutoGrid et AutoDock. Pour télécharger AutoDock visiter le site <https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/>.

1.3.2. Avogadro

Est un logiciel qui vous permettra d'éditer et de visualiser les structures moléculaires et de minimiser l'Energie. Il bénéficie d'une structure extensible vous permettant d'ajouter des plug-ins pour étendre ses fonctionnalités. Son site web pour télécharger : <https://www.clubic.com/telecharger-fiche321994-avogadro.html>. (Wikipédia, 2021).

1.3.3. Biova Discovery studio visualizer

Nous a permis de préparer et de visualiser aussi bien l'enzyme que les ligands afin d'étudier les interactions effectuées entre la protéine et le ligand. Il est téléchargeable sur le site <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download-thank-you> (Wikipédia, 2020).

1.3.4. Pymol

Permet la visualisations 3D de haute qualité de petites molécules et de macromolécules biologiques telles que des protéines . <https://pymol.org/2/> (Akakba,2021).

1.3.5. Excel Microsoft 2010

Il est utilisé pour tracer une courbe de corrélation et définir le coefficient de corrélation (r) entre la concentration inhibitrice IC50 et leurs Energie et cela pour tester la fiabilité du programme AutoDock.

2. Méthode

2.1. Docking moléculaire

L'amarrage moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir de molécules extraites et à combiner différentes approches pour étudier le mode d'interaction entre deux molécules. Par conséquent, le logiciel d'amarrage est un outil très utile en biologie, en pharmacie et en médecine. En effet, la plupart des médicaments sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec des cibles biologiques d'intérêt thérapeutique. Le terme d'amarrage est couramment utilisé pour décrire un "ligand protéique d'amarrage" car les récepteurs macromoléculaires sont principalement des protéines. (Bendib et Manaa, 2021).

2.2. Calcul des grilles :

Le ligand Le de la cible étudiée doit être plongé dans une boîte tridimensionnelle où il doit largement comprendre le site actif de l'enzyme et cette boîte est déterminée par les coordonnées suivantes $X = -15,926$, $Y = 43,521$ et $Z = 16,181$ et avec les dimensions $126 * 126 * 126$ Où il a été utilisé et correspond à tous les ligands qui ont été étudiés. Ces informations sont enregistrées dans un fichier .gpf(Grid Paramètres File).

L'étape suivante consiste à exécuter les instructions contenues dans le fichier. gpf, grâce à la AutoGrid4 utilisée pour calculer le score entre différents types atomiques de la protéine et le Ligand. Le résultat est généré dans un fichier. glg.

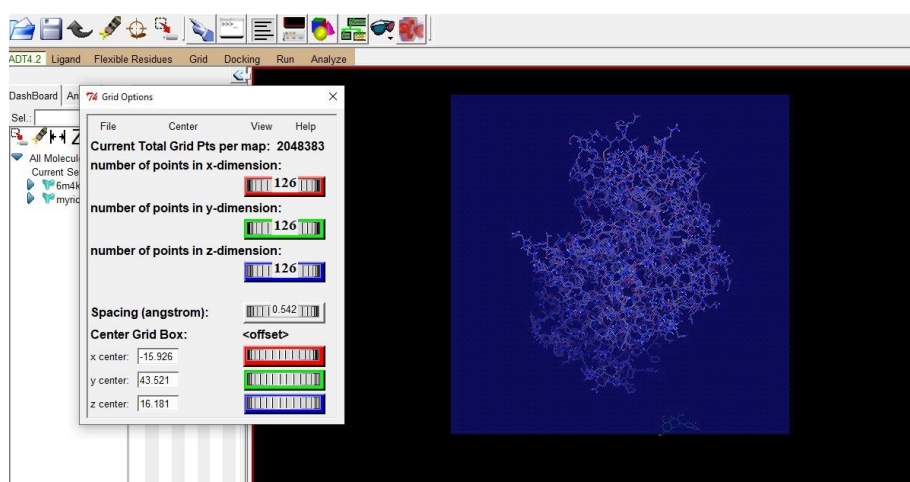


Figure 15. Boîte tridimensionnelle avec ses coordonnées et ses données.

```

hpts 126 126 126 # num.grid points in xyz
gridfld 5e0jenz.maps.fld # grid_data_file
spacing 0.316666666667 # spacing(A)
receptor_types A C HD N OA SA # receptor atom types
ligand_types A NA C OA N # ligand atom types
receptor 5e0jenz.pdbqt # macromolecule
gridcenter 68.368 -41.943 14.569 # xyz-coordinates or auto
smooth 0.5 # store minimum energy w/in rad(A)
map 5e0jenz.A.map # atom-specific affinity map
map 5e0jenz.NA.map # atom-specific affinity map
map 5e0jenz.C.map # atom-specific affinity map
map 5e0jenz.OA.map # atom-specific affinity map
map 5e0jenz.N.map # atom-specific affinity map
elecmap 5e0jenz.e.map # electrostatic potential map
dsolvmap 5e0jenz.d.map # desolvation potential map
dielectric -0.1465 # <0, AD4 distance-dep.diel;>0, constant

```

Figure 16. Exemple de fichier .gpf pour AutoGrid.

```

autodock_parameter_version 4.2 # used by autodock to validate
parameter set
outlev 1 # diagnostic output level
intelec # calculate internal electrostatics
seed pid time # seeds for random generator
ligand_types A NA C OA N # atoms types in ligand
fld 5e0jenz.maps.fld # grid_data_file
map 5e0jenz.A.map # atom-specific affinity map
map 5e0jenz.NA.map # atom-specific affinity map
map 5e0jenz.C.map # atom-specific affinity map
map 5e0jenz.OA.map # atom-specific affinity map
map 5e0jenz.N.map # atom-specific affinity map
elecmap 5e0jenz.e.map # electrostatics map
desolvmap 5e0jenz.d.map # desolvation map
move 5e0jlig.pdbqt # small molecule
about 60.2994 -52.5596 20.2138 # small molecule center
tran0 random # initial coordinates/A or random
quaternion0 random # initial orientation
dihe0 random # initial dihedrals (relative) or
random
torsdof 7 # torsional degrees of freedom
rmstol 2.0 # cluster tolerance/A
extnrg 1000.0 # external grid energy
e0max 0.0 10000 # max initial energy; max number of
retries
ga_pop_size 150 # number of individuals in
population
ga_num_evals 2500000 # maximum number of energy
evaluations
ga_num_generations 27000 # maximum number of generations
ga_elitism 1 # number of top individuals to
survive to next generation
ga_mutation_rate 0.02 # rate of gene mutation
ga_crossover_rate 0.8 # rate of crossover
ga_window_size 10 #
ga_cauchy_alpha 0.0 # Alpha parameter of Cauchy
distribution

```

Figure 17. Fichier .dpf pour AutoDock.

2.3. Teste de la fiabilité du Docking

Afin d'améliorer les résultats des travaux et évaluer la performance du programme utilisé pour le docking nous avons effectué quelques tests ; le premier est lié au calcul du coefficient de corrélation (r) et le deuxième consiste à déterminer la valeur de RMSD (L'écart quadratique moyen), suivi par une analyse visuelle.

2.3.1. Coefficient de corrélation linéaire (r)

Le coefficient de corrélation est une mesure spécifique qui quantifie la force d'une relation linéaire entre deux variables dans une analyse de corrélation. Les coefficients sont corrélés et représentés par r .

Le coefficient de corrélation r est une valeur sans unité comprise entre -1 et 1. (Ghadhab et Soufi, 2020).

2.3.2. Le RMSD

Le test RMSD a été réalisé directement à partir des complexes récupérés de banque de données de protéine (Protein Data Bank). L'écart RMSD entre la conformation et l'orientation du ligand déterminées par le programme d'amarrage et sa pose dans le complexe expérimental doit être aussi faible que possible. (Ghadhab et Soufi, 2020).

2.4. Le choix de cible 6J39

La xanthine oxydase est la cible thérapeutique que nous avons étudiée dans notre travail, sa structure 3D est disponible sous format pdb via la banque de données Protein Data Bank. La cible ayant pour code : 6J39Le complexe a été téléchargé sous format PDB.

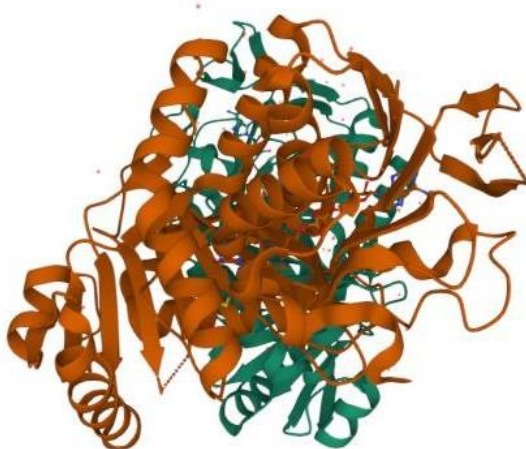


Figure 18. Structure tridimensionnelle de cible 6J39 (PDB).

2.5. Préparation des molécules au Docking moléculaire

2.5.1. Préparation de la protéine

Notre cible thérapeutique traitée est la Oxydoréductase/inhibitor Avant son utilisation par Autodock, le complexe 6J39 doit subir quelques modifications nécessaires :

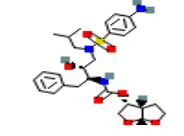

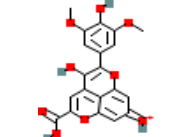
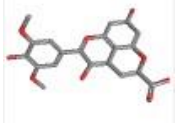
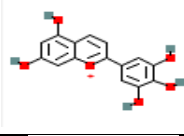
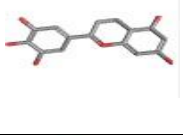
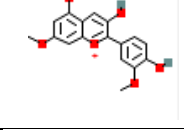
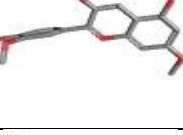
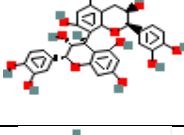
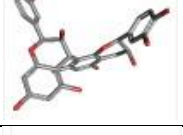
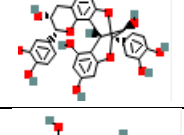
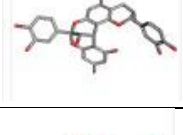
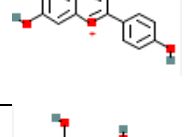

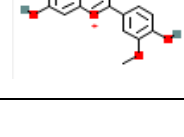
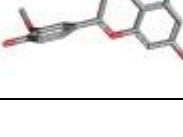
L'enzyme étant formée d'une seule chaîne, nous avons éliminé les molécules d'eau par Biova Discovery studio visualiser pour permettre une utilisation plus aisée de l'enzyme

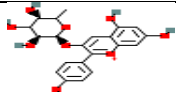
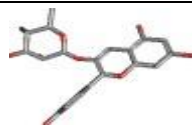
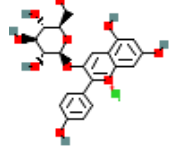

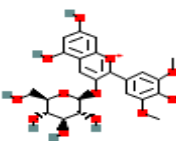
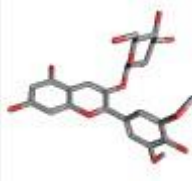
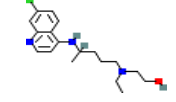

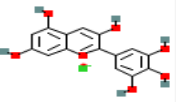

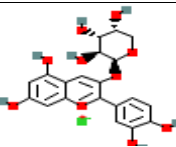
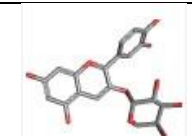
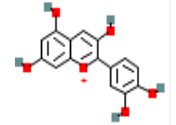

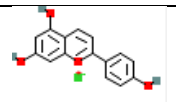
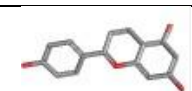
avec un site actif libre lors du Docking moléculaire. Le programme Autodock fonctionne mieux avec le format PDB.

2.5.2. Préparation des ligands

Téléchargement des ligands à partir de base des données Pubchem directement du fichier PDB puis minimisé l'Energie par Avogadro et enregistrer format PDB (Annexe 1).

Tableau 2. Principaux inhibiteurs (Anthocyanes) de xanthine oxydase (6J39).

CID	Nom de ligand	Structure 2D	Structure 3D
213039	Darunavir		
131753170	Vitisidin A		
11199650	Tricetanidin		
441777	Rosinidin		
122738	Procyanidin B2		
124025	Procyanidin A2		
440832	Pelargonidin		
441773	Peonidin		

44256696	Pelargonidin-3-rhamnoside		
3080714	Pelargonidin-3-glucoside		
443652	Malvidin-3-glucoside		
3652	Hydroxychloroquine		
68245	Delphinidinchloride		
24721044	Cyanidin-3-arabinoside		
128861	Cyanidin		
159360	Apigeninidin		

Chapitre III :

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Coefficient de corrélation :

L'analyse par régression linéaire a été réalisée sur différents composés de synthèse dont l'activité biologique a déjà été testée sur 16 complexes. La corrélation entre l'activité biologique et l'énergie d'interaction obtenue par Docking moléculaire fut pour nous un des moyens pour tester la fiabilité de programme Autodock utilisés dans cette étude.

Nous avons fait un test qui consiste principalement à évaluer le degré de corrélation qui existe entre les affinités de 16 inhibiteurs. Chaque inhibiteur avec sa propre enzyme calculée par Autodock et les valeurs de leurs IC₅₀ déterminées expérimentalement dans la littérature (Annexe2).

Tableau 3. Résultats de l'Analyse de la régression linéaire.

Numbers	Nom de complexe	Énergie	Pic50	Ic50 nm
1	1FKO	-9,41	6,09	800
2	1KE7	-9,43	NaN	8,9
3	3PJ8	-9,16	7,39	40
4	2B53	-8,30	6,22	600
5	1R78	-8,35	8,52	3
6	2G9X	-6,29	7,34	45
7	3PJ1	-5,09	7,31	48
8	3ULI	-4,18	7,15	70
9	6O52	-8,54	7,52	30
10	3PJ3	-9,86	5,25	5600
11	1KE5	-5,52	6,25	560
12	2UZB	-8,66	6,92	120
13	4EY6	-0,88	7	100
14	2WI8	-6,5	6,98	103
15	3RAL	-3,76	7	100
16	1CKP	2,68	8,04	9

Afin de prouver à nouveau la fiabilité du programme AutoDock, nous traçons une droite de régression linéaire entre IPC₅₀ et la puissance.

Dans cette étude, 15 agrégateurs sont extraits de pdb et testés par Autodock. Des inhibiteurs ainsi que leur IC₅₀ sont représentés dans l'annexe 2. L'analyse par régression linéaire a permis d'obtenir la courbe de corrélation suivante :

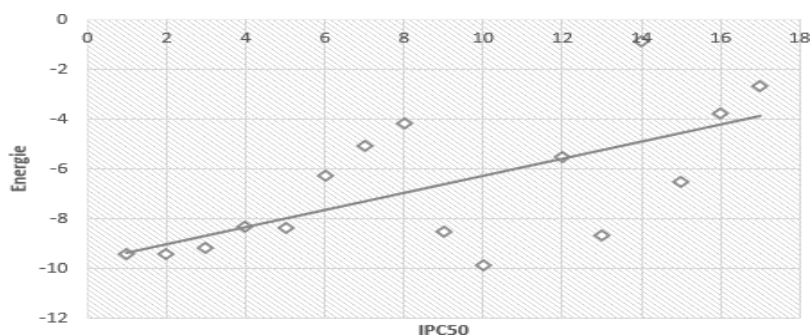


Figure 19. Corrélation entre l'activité biologique (IPC50) des inhibiteurs et leurs Energie données par Autodock.

La valeur de r , qui est de 0,64, montre qu'il existe une corrélation entre l'énergie et l'IPC50. Nous en concluons que le programme AutoDock établit une relation linéaire positive, et à partir de là, il existe une relation entre les deux paramètres analysés. Les résultats des travaux collaborer par d'autres auteurs (Fredj et Lachache, 2021) ils ont trouvé la valeur $r = 0,70$. Nous en concluons que le programme Autodock est fiable.

2. Teste RMSD

Ce test n'est éligible que si la valeur RMSD est de 2 Å ou moins. Une évaluation de la fiabilité du programme par RMSD a été réalisée sur 20 complexes (ligands-protéines) téléchargés depuis la PDB et regroupés dans un tableau.

Sur les 20 complexes utilisés, seuls 15 ont un RMSD de 2 Å ou moins et sont considérés comme des résultats positifs. Cela donne un pourcentage de 75% et seulement 25% des résultats sont supérieurs à 2Å (Annexe3).

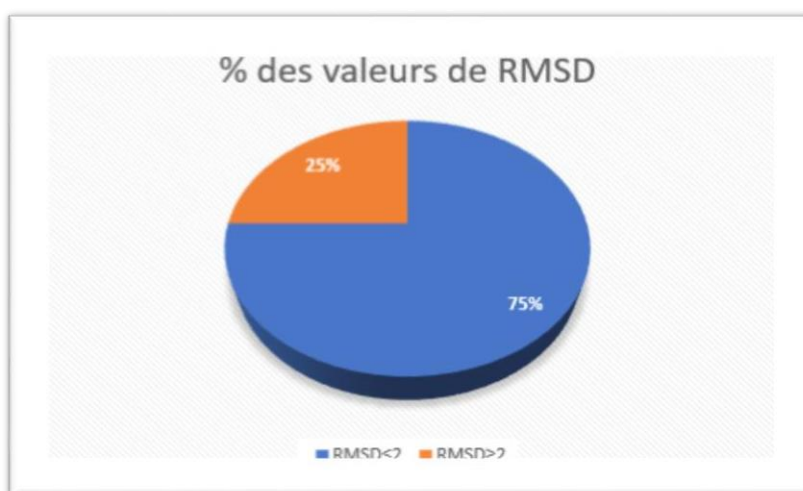


Figure 20. Valeurs de RMSD en pourcentage

Tableau 4. Valeurs du RMSD des différents complexes protéine-ligand.

Les complexes	RMSD (Å)
1BIO	0,000
1BJV	1,642
1BRU	0,739
1BTU	2,094
1BVE	2,584
1BVG	1,380
1CEB	0,000
1CTE	0,055
1E38	1,468
1HPK	1,165
5TG1	0,001
5TG2	0,001
6DH3	2,675
5E0J	0,073
5E0H	0,000
4DID	1,970
1AJV	1,498
1A9M	5,046
1AJX	1,874
5T6G	2,366

3. L'analyse visuelle

L'analyse visuelle après test RMSD est une étape essentielle et complémentaire dans l'évaluation des performances des programmes Autodock. Vous pouvez vérifier la superposition du ligand expérimental par rapport au ligand docké.

La visualisation des résultats du Docking moléculaire est réalisée avec 4 inhibiteurs dont le Premier a un RMSD = 0,00 Å, le deuxième a une valeur inférieure à 2 Å, le troisième est proche de 2 Å, quatrième supérieur à 2 Å.

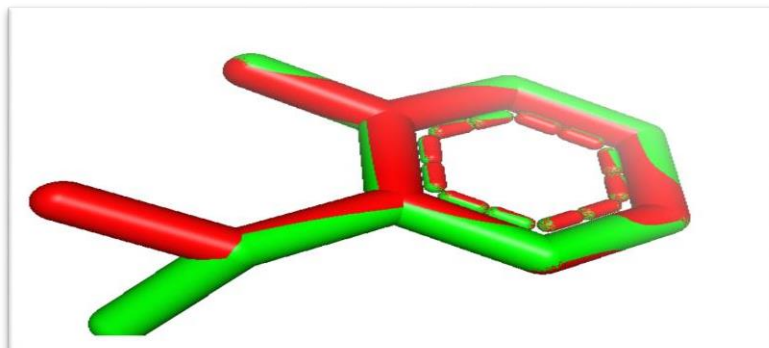


Figure 21. Superposition du ligand expérimentale (rouge) et du ligand docké (vert) 1BIO (RMSD=0,000 Å).

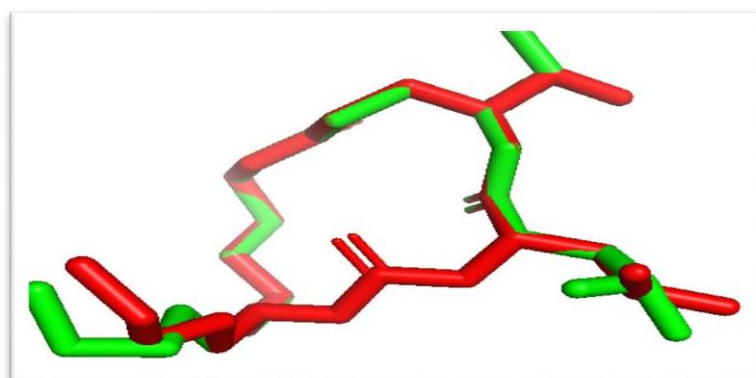


Figure 22. Superposition du ligand expérimentale et du ligand docké 5TG2(RMSD=0,001 Å).

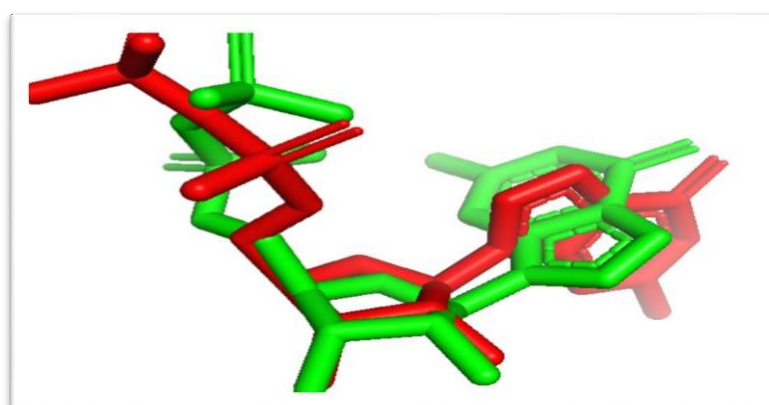


Figure 23. Superposition du ligand expérimentale(rouge) et du ligand docké(vert) 4DID (RMSD = 1,970Å).

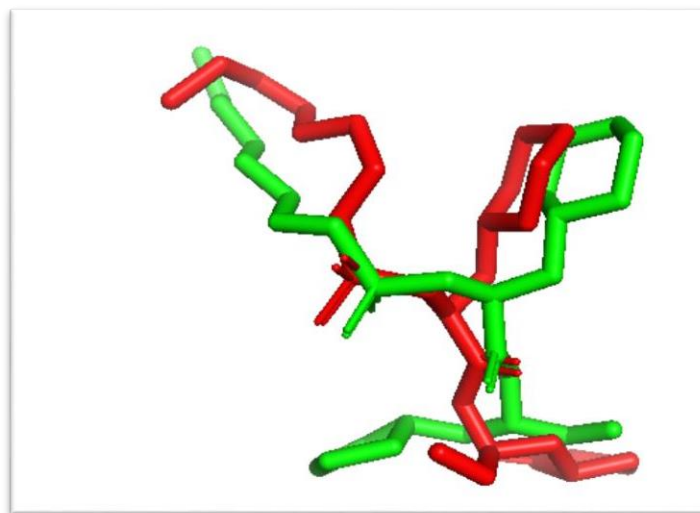


Figure 24. Superposition du ligand expérimentale (rouge) et du ligand docké (vert) 5T6G (RMSD = 2,366Å).

Dans le premier cas 1BIO, la superposition est complète car la superposition conformationnelle optimale du ligand obtenu par arrimage avec la même forme de ligand donnée est maximale.

Dans le deuxième cas la superposition 5TG2 est presque parfaite. Pour le quatrième 5T6G pas bien superposé.

4. Interactions des Anthocyane avec xanthine oxydase :

les résultats dans le tableau suivant (Messaoudi, O, *et al.*2021) (Annexe4) :

Tableau 5. Energie et constante d'inhibition des 17 inhibiteurs extrait de plante *Myrtille* (Anthocyanes) par Autodock. (Messaoudi, O, *et al.*2021)

Ligand	CID	Meilleur position	Energy of Binding	Constant d'Inhibition KI

Peonidin	441773	1	-8,84 kcal/mol	333,67 nM
Delphinidinchloride	68245	2	-8,68 kcal/mol	431,77 nM
Hydroxychloroquine	3652	1	-8,59 kcal/mol	504,89 nM
Pelargonidin	440832	3	-8,41 kcal/mol	686,58 nM
Cyanidin	128861	1	-8,43 kcal/mol	665,52 nM
Rosinidin	441777	1	-8,36 kcal/mol	743,02 nM
Vitisidin A	131753170	2	-8,07 kcal/mol	1,21 μ M
Tricetanidin	11199650	3	-8,07 kcal/mol	1,22 μ M
Pelargonidin-3-glucoside	3080714	1	-8,03 kcal/mol	1,30 μ M
Pelargonidin-3-rhamnoside	44256696	1	-8,01 kcal/mol	1,34 μ M
Apigeninidin	159360	1	-7,87 kcal/mol	1,71 μ M
Cyanidin-3-arabinoside	24721044	1	7,50 kcal/mol	3,20 μ M
Procyanidin A2	124025	1	-6,85 kcal/mol	9,53 μ M
Allopurinol (ligand de référence)	135401907	1	-5,02 kcal/mol	209,29 μ M
Malvidin-3-glucoside	443652	1	-4,40 kcal/mol	591,70 μ M
Darunavir	213039	1	-4,22 kcal/mol	812,89 μ M
Procyanidin B2	122738	1	-4,02 kcal/mol	1,12mM

4.1. L'analyse des interactions

Cette étude commence toujours par les cinq molécules ayant les meilleures propriétés des composés précédemment étudiés. L'amarrage de ces composés au site actif de la protéine fournit des informations intéressantes sur les interactions formées entre eux. Nous avons

utilisé l'interface graphique "Show 2D" du programme Biova Discovery Studio pour visualiser et analyser le nombre et les types de liaisons qui forment le complexe. Les interactions attendues par l'amarrage sont généralement électrostatiques. Parmi les liaisons électrostatiques, les liaisons hydrogène sont répandues et importantes en raison de la force qui bascule entre la force des liaisons covalentes et la force des forces de Van Der Waals.

4.1.1. Complexe 1 :

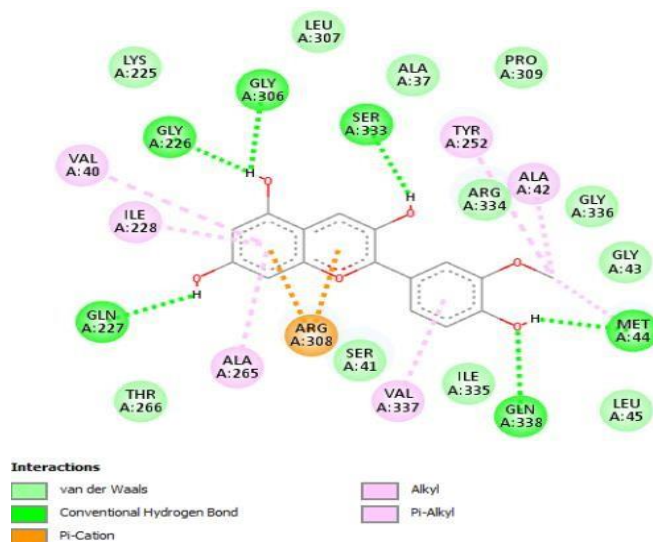


Figure 25. La présentation des interactions récepteur- Peonidin en schéma 2D.

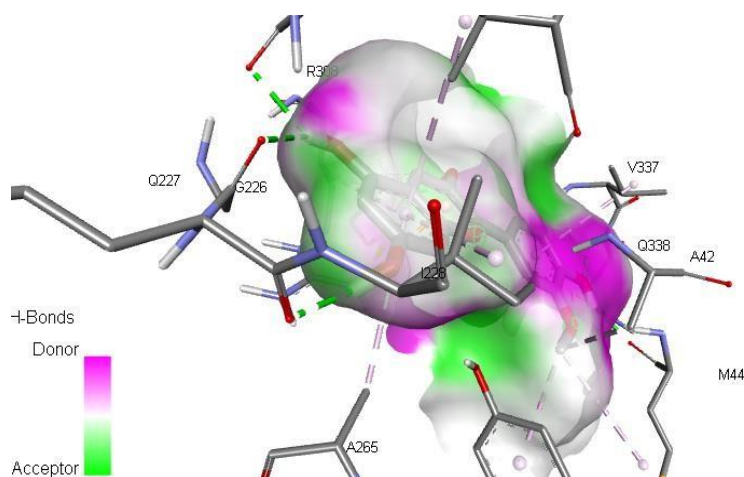


Figure 26. La présentation des interactions récepteur- Peonidin en schéma 3D.

Discussion :

Complexe 1 forme 6 liaisons hydrogènes (Conventional Hydrogen Bond) qui lient trois atomes électronégatifs.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- 1 proline numérotée 309 ; 1 Alanine 37 ; 2 leucines 45,307.
- 2 Glycines numérotés 43,336 ; l'isoleucine 335 et la thréonine 266.
- 1 Sérine numérotée 41.

Une deux autres interactions impliquant le cycle du Peonidin est une interaction Pi-Cation réalisée avec la charge positive du NH₃⁺ d'Arginine 308.

4.1.2. Complexe 2 :

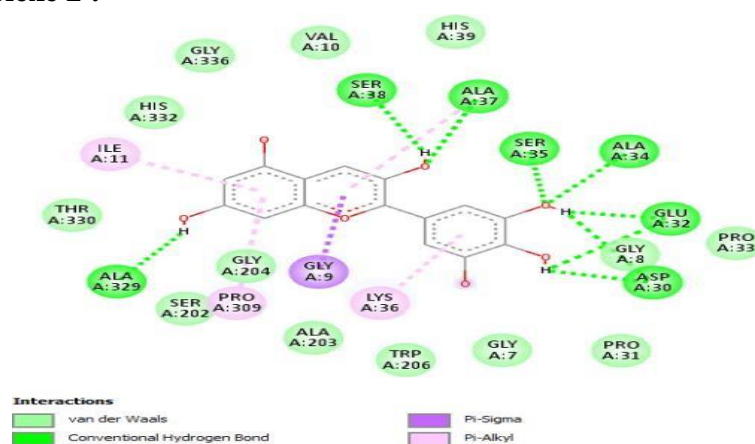


Figure 27. La présentation des interactions récepteur- Delphinidinchlorure en schéma 2D.

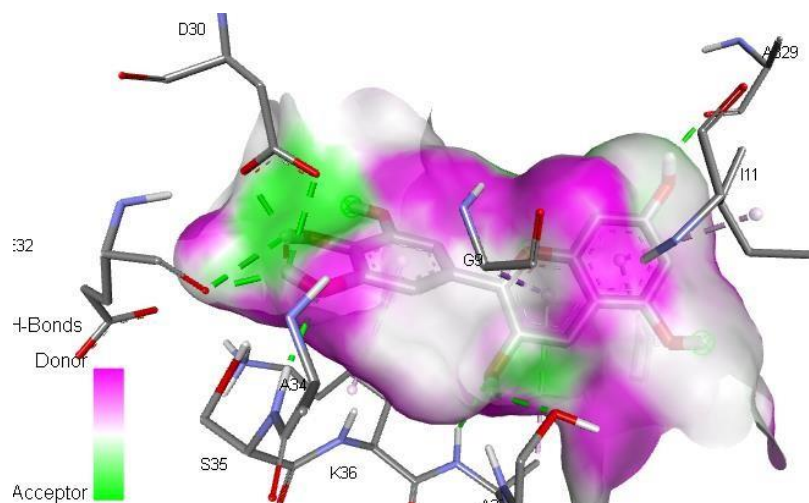


Figure 28. La présentation des interactions récepteur- Delphinidinchlorure en schéma 3D.

Discussion :

Complexe 2 forme sept liaisons hydrogène (Conventional Hydrogen Bond) qui lient quatre atomes électronégatifs.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- Deux prolines numérotées 31 ,33 ; 2 Histidine 39,332.
- 4 Glycines numérotées 7,8,204,336.
- 1 valine numéroté 10 ; thréonine 330, sérine 204.

En rose s'ajoutent des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre :

Les ramifications hydrocarbonées du delphinidinchloride avec les radicaux aliphatiques des aminoacides lysine 36, proline 309 l'isoleucine 11.

4.1.3. Complexe 3 :

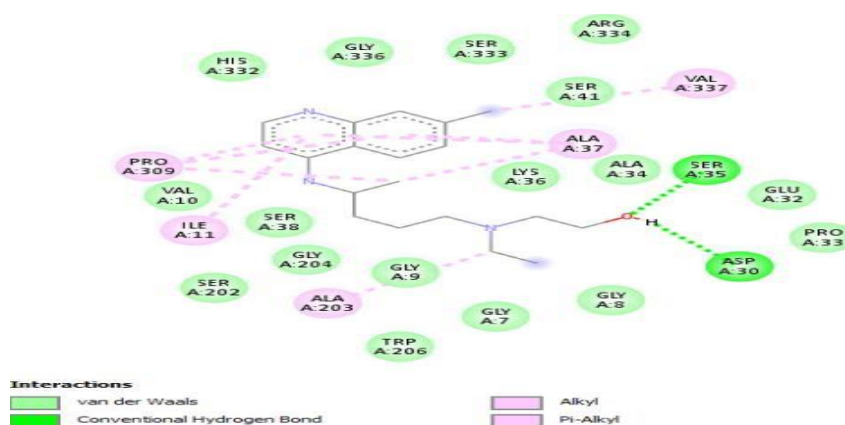


Figure 29. La présentation des interactions récepteur- Hydroxychloroquine en schéma 2D.

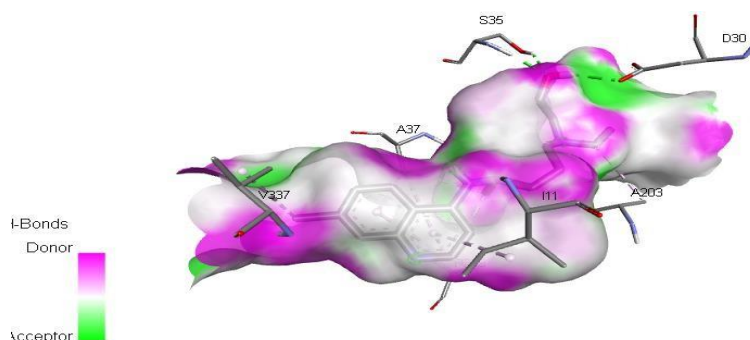


Figure 30. La présentation des interactions récepteur- Hydroxychloroquine en schéma 3D.

Discussion :

Complexe 3 forme deux liaisons hydrogène (Conventional Hydrogen Bond) qui lient un atome électronégatif.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- Alanine numérotée 34, Histidine 332 et Glycines 7,8,9,204,336.
- 3 sérines numérotées 38,202,204 ; valine 10 ; Arginine 334.
- Glutamate numéroté 32, proline 33, tryptophane 206.

En rose s'ajoutent des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre :

Les ramifications hydrocarbonées de la hydroxychloroquine avec les radicaux aliphatiques des aminoacides valine 93 ; 2Alanine 37,203 ; l'isoleucine 11 et proline 309.

4.1.4. Complexe 4 :

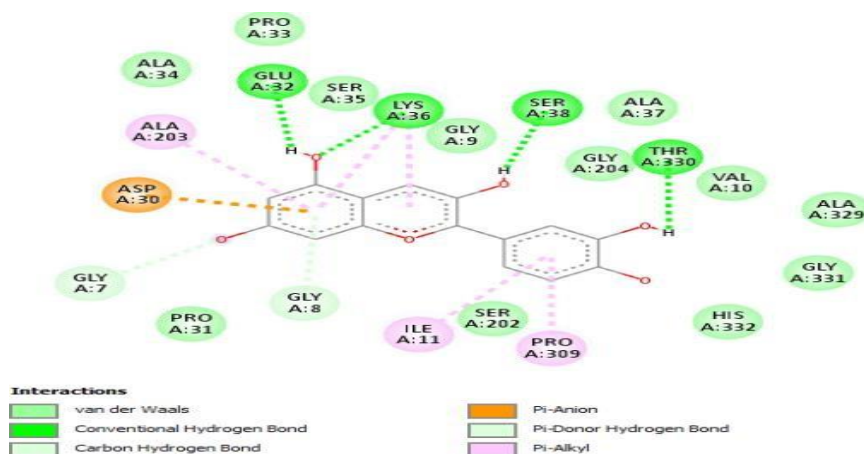


Figure 31. La présentation des interactions récepteur- Cyanidin en schéma 2D.

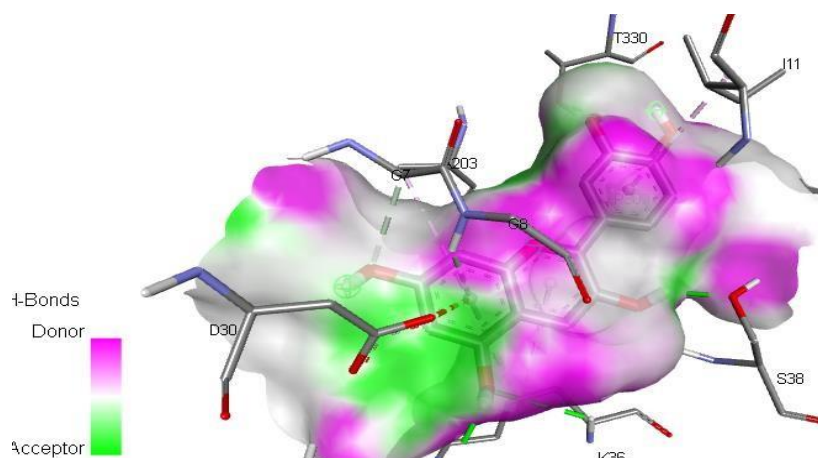


Figure 32. La présentation des interactions récepteur- Cyanidin en schéma 3D.

Discussion :

Complexe 4 forme Quatre liaisons hydrogène (Conventional Hydrogen Bond) qui lient trois atomes électronégatifs.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- Valine numérotée 10 ; 3 Glycines 9,204,331.2 Alanines 34, 37,329.
- Histidine 332, 2 sérines 35,202, 2 prolines 31,33.

En rose s'ajoutent des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre :

Les ramifications hydrocarbonées du cyanidin avec les radicaux aliphatiques des aminoacides Alanine 203, proline 309 et L'isoleucine 11.

3.4.1.5. Complexe molécule 5 :

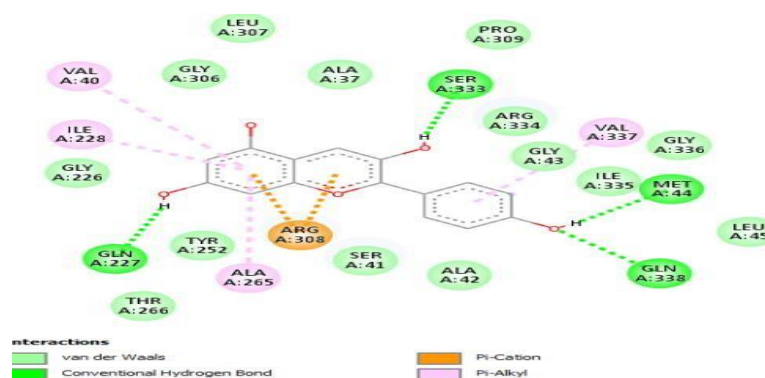


Figure 33. La présentation des interactions récepteur- Pelargonidin en schéma 2D.

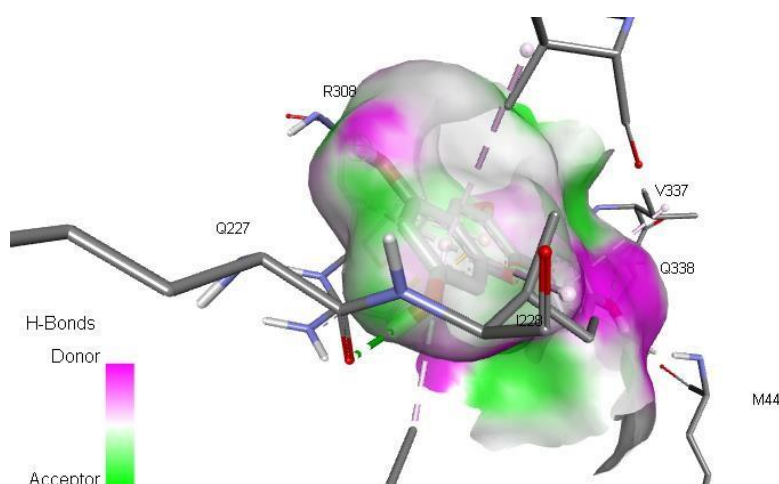


Figure 34. La présentation des interactions récepteur- Pelargonidin en schéma 3D.

Discussion :

Complexe 5 forme Quatre liaisons hydrogène (Conventional Hydrogen Bond) qui lient trois atomes électronégatifs.

Le schéma graphique 2D indique aussi des forces attractives de Van Der Waals colorées en vert clair impliquant les aminoacides suivants :

- 4 Glycines numérotées 43,226,306,336 ; thréonine 266 ; L'isoleucine 335.
- 2 Leucines numéroté 45,307 ; 2 Alanines 37, 42 et Arginine 334.
- Isoleucine numéroté 335, tyrosine 252, thréonine 266.

En rose s'ajoutent des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires que nous retrouvons entre :

Les ramifications hydrocarbonées du pelargonidin avec les radicaux aliphatiques des aminoacides 2 valines 40, 337 ; Alanine 265 ; Isoleucine 228.

5. Propriétés physico-chimiques

5.1. La règle de cinq de Lipinski et toxicité

Lipinski a développé cinq règles pour estimer la probabilité d'un produit chimique. L'invention concerne un composé en tant que médicament sûr pour l'administration orale à l'homme. Il est basé sur la chimie physique et propriétés des composés testés, (Lipinski et al., 1997).

1. Coefficient de partage octanol-eau (LogP) ≤ 5 ;
2. Poids moléculaire ≤ 500 g/mol ;
3. Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (total des atomes N et O) ≤ 10
4. Nombre de donneurs à liaison hydrogène (total des groupes OH et NH) ≤ 5 .

Chaque prodrogue doit répondre à certaines conditions pour être considérée comme "médicamenteuse". En particulier, l'absorption et la distribution futures des médicaments dans le corps humain, et donc la règle de Lipinski, est un excellent test pour accepter ou rejeter des inhibiteurs similaires qui peuvent être des médicaments.

Certains serveurs Web, tels que le site Web SwissADME que nous avons consulté, fournissent des calculs pour ces paramètres. Les résultats sont cités dans le tableau suivant (Annexe 5).

Tableau 6. Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des inhibiteurs de 6J39

Numbers	Nom de ligand	SwissADME/Toxicité					
		Donneur De H	Accepteur De H	LOG P	Molar Mass g/mol	Liaison rotable	LD50 (Mol/kg)
1	Cyanidin	5	6	2,91	287,24	1	2,464
2	Cyanidin-3- arabinoside	7	10	- 1,97	454,81	3	2,569
3	Darunavir	3	8	3,46	547,66	11	2,107
4	Delphinidinchloride	6	7	- 0,38	338,70	1	2,548
5	Hydroxychloroquine	2	3	3,59	335,87	9	2,656
6	Malvidin-3- glucoside	7	12	0,69	493,44	6	2,569
7	Pelargonidin-3- glucoside	7	10	- 2,32	468,84	4	2,566
8	Pelargonidin-3- rhamnoside	6	9	1,70	417,39	3	2,555
9	Peonidin	4	6	3,21	301,27	2	2,408
10	Pelargonidin	4	5	3,20	271,24	1	2,432
11	Procyanidin A2	9	12	2,36	576,50	2	2,483
12	Procyanidin B2	10	12	2,35	578,52	3	2,482
13	Rosinidin	3	6	3,51	15,30	3	2,38
14	Tricetanidin	5	6	2,91	287,24	1	2,604
15	VitisidinA	4	9	2,98	399,33	4	2,63
16	Apigeninidin	3	4	0,50	290,70	1	2,403

Les résultats du tableau montrent que les molécules étudiées sont parfaitement dans les normes imposées par la règle de Lipinski. Selon l'auteur, la plupart des médicaments sont petits et lipophiles (Log p positif). Le coefficient de partage lipide/eau détermine les propriétés physico-chimiques d'un effet biologique. En effet, pour atteindre le site d'action dans l'organisme, la molécule doit se dissoudre dans la phase aqueuse et traverser les membranes lipidiques, les protéines et les phases glucidiques. La solubilité dans l'eau et les

lipides et le coefficient de partage jouent un rôle fondamental dans ce transport. Les molécules à action plus rapide doivent avoir le coefficient de partage le plus favorable pour leur transport.

5.2. La perméabilité BBB :

Ce descripteur indique la pénétration des composés à travers la barrière hémato-encéphalique. (BBB) Contrôle le passage de la plupart des composés du sang vers le système nerveux central (CNS)

5.3. Inhibition de CYP 450 :

Le cytochrome P450 est une enzyme importante impliquée dans le métabolisme de diverses substances. Molécule endogène ou extrinsèque. Ils ont plusieurs isoformes (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4), mais les deux derniers sont les plus importants (voir Figure). Ou Il était également essentiel de prédire l'interaction des meilleurs inhibiteurs avec ces isoformes. L'inhibition de ces isoenzymes est certainement l'une des principales causes d'interactions médicamenteuses, avec des effets toxiques ou indésirables (Annexe6). (Guengerich, F. P. 2022).

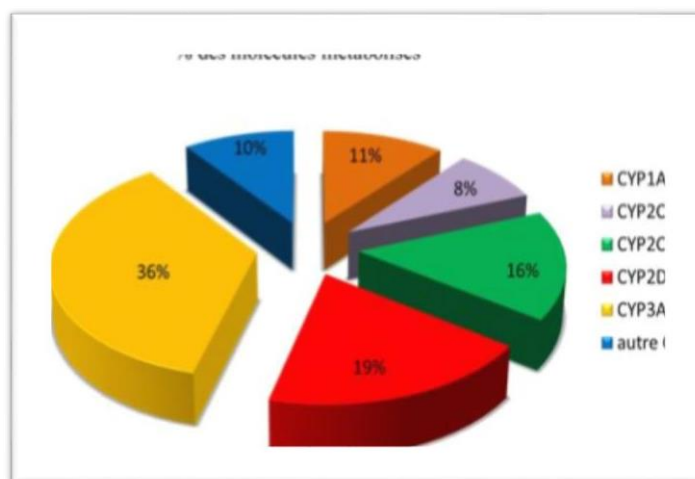


Figure 35. Répartition des molécules métabolisées par les différentes iso-enzymes du CYP450 (Guengerich, F. P. 2022).

Tableau 7. Inhibition des iso-enzymes du CYP450 et BBB.

Nom de ligand	Propriétés					
	BBB perméabilité	CYP1A2 inhibito	CYP2C1 9	CYP2C9 inhibito	CYP2D6 inhibito	CYP3A4 inhibito

	é	n	inhibition	n	n	n
Cyanidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Cyanidin-3-arabinoside	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Darunavir	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
Delphinidinchloride	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Hydroxychloroquine	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Non
Malvidin-3-glucoside	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Pelargonidin-3-glucoside	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Pelargonidin-3-rhamnoside	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Peonidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Pelargonidin	Non	Oui	Non	Non	Oui	Non
Procyanidin A2	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui
Procyanidin B2	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
Rosinidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Oui
Tricetanidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Vitisidin A	Non	Oui	Non	Oui	Non	Non
Apigeninidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Non

BBB : Barrière hémato-encéphalique .

D'après le tableau ci-dessus, il ressort que tous les inhibiteurs ont une faible capacité à franchir la barrière hémato-encéphalique. Ce critère est plus important pour des composés dont la cible est dans le système nerveux central, ce qui n'est pas le cas ici. De plus, cela peut protéger le cerveau est un effet nocif potentiel de ces composés. Sauf **Hydroxychloroquine**.

Le tableau montre également que la plupart des inhibiteurs n'ont aucun effet sur les différentes isoformes de Cytochrome P450. Comme l'inhibition de ces enzymes est une

source importante de réactions indésirables du médicament depuis les modifications de l'activité enzymatique du CYP Peut affecter le métabolisme des médicaments. Mais il y en a dans le tableau qui ont la capacité d'inhiber ces enzymes.

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de la présente étude est d'évaluer *in silico* le pouvoir inhibiteur des flavonoïdes extraits de *Myrtille*. Le docking moléculaire a démontré que ces composés naturels présentent une forte affinité envers la xanthine oxydase et pourraient être suggérés comme des inhibiteurs puissants de cette enzyme. Les résultats de la régression linéaire donnent un coefficient de corrélation $r = 0,64$

Dans le but de rechercher des nouveaux inhibiteurs de xanthine oxydase, nous avons réalisé un criblage virtuel, nous avons testé le pouvoir inhibiteur de 17 molécules appartenant à la famille des anthocyanes, afin de déterminer leur affinité vis-à-vis de l'enzyme XO. Les résultats d'amarrage sont basés sur l'énergie de liaison entre les inhibiteurs et la XO. La péonidine, la delphinidinchloride, l'hydroxychloroquine, la cyanidine, la pélargonidine, sont les cinq meilleurs inhibiteurs qu'ils ont une énergie de liaisons variée entre -8.84 kcal/mol et -8.41 kcal/mol.

D'après ces résultats prometteur, encourageant, nous avons conclu que ces composés naturels pourraient être suggérés comme des inhibiteurs puissants de cette enzyme,

En perspectives, il serait intéressant de compléter cette étude par l'utilisation des autres techniques *in vitro* pour déterminer l'IC 50 de ces molécules ou utiliser d'autres méthodes *in silico* telle que la dynamique moléculaire pour suivre et vérifier la stabilité de nos complexes.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

1. Ahmedou, A. (2021). Conception De Nouveaux Inhibiteurs De 3clpro-Sars-Cov-2 Par Approche In Silico.
2. Al, O., Ex, F., Rimental, P., Basic, M. E. I., et Ien, S. (2021). Effects Of Green Tea Polyphénols And Oxidative Stress On Alzheimer's And Parkinson's Diseases. *Journal Of Experimental And Basic Medical Sciences*, 2(1), 1-6.
3. Aliat, Z. (2020). Screening Phytochimique Et É valuation De L'activité Antioxydante Et Antilithiasique De *Juncus Acutus*.
4. Alzaabi, M. M., Hamdy, R., Ashmawy, N. S., Hamoda, A. M., Alkhayat, F., Khademi, N. N., & Soliman, S. S. (2021). Flavonoids are promising safe therapy against COVID-19. *Phytochemistry Reviews*, 1-22.
5. Amine, A. M., & Naamane, A. K. A. K. B. A. Etude in silico de l'inhibition de la tubuline en tant que cible thérapeutique anti-cancéreuse.
6. Arab, K. et Demmouche, L. (2020). Séchage Et Infusion De Quelques Matrices Végétales : Etude De Cas De L'orange Sanguine *Citrus Sinensis* L. Osbeck.
7. Bendib, S. et, Manaa, H. (2021). Docking Moléculaire : Quercétine – Sars-Cov2, Université Mentouri F Constantine1.
8. Benseguen, A., (2019). Simulation par docking moléculaire des interactions enzymeinhibiteur : cas de la Lanosterole 14 alpha-déméthylase. Université Frères Mentouri Constantine 1.
9. Bortolotti, M., Polito, L., Battelli, M. G., et Bolognesi, A. (2021). Xanthine Oxidoreductase: One Enzyme For Multiple Physiological Tasks. *Redox Biology*, 41, 101882.
10. Boudjizza, M. et, Regad, A. (2019). Eude Comparative De L'efficacité De Deux Programmes De Docking Et Application A L'inhibition De La Maob, (Université Freres Mentouri Constantine).
11. Chalabi, H. (2020). Synthèse Bibliographique Des Méthodes D'extraction Des Flavonoïdes Et Leurs Rendements Chez Les Brassicaceae.
12. Chettibi, R., Djerion, S., Laib, N. E. H., & Mezahem, T. E. (2021). Etude ethnobotanique sur l'utilisation traditionnelle du *Daphne gnidium* et ses applications pharmacologiques (Doctoral dissertation, Université de jjel).

13. Cicero, A. F., Fogacci, F., Cincione, R. I., Tocci, G., & Borghi, C. (2021). Clinical effects of xanthine oxidase inhibitors in hyperuricemic patients. *Medical Principles and Practice*, 30(2), 122-130.
14. Fatima, B. C., et Chaima, M. O. H. A. M. A. D. I. (2021). Dosage des polyphénols et activité antioxydante du Fenouil cultivé (Doctoral dissertation).
15. Fredj, B. (2021). Etude 3DQSAR, Docking moléculaire et criblage ADMET pour des inhibiteurs potentiels de la Cathepsine B (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
16. Ghadhab, T., et Soufi, M. (2020). Application du Docking moléculaire par SURFLEX Pour la mise en évidence des nouveaux inhibiteurs de la Kinase dépendante de la cycline 2 (CDK2). Université des Frères Mentouri Constantine1
17. Guengerich, F. P. (2022). Inhibition of Cytochrome P450 Enzymes by Drugs—Molecular Basis and Practical Applications. *Biomolecules & Therapeutics*, 30(1), 1.
18. Hareb, A. (2020). Approche bibliographique concernant le dosage et l'extraction de composés phénoliques du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
19. Khazoom, F. (2020). Rôle de l'acide urique dans la défaillance d'organes suite au choc hémorragique : une avenue thérapeutique ?
20. Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., ... & Bryant, S. H. (2016). PubChem substance and compound databases. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1202-D1213.
21. Kwok, T. S., Xu, V. Y., & Lake, S. L. (2021). La goutte. *CMAJ*, 193(15), E536-E537.
22. Laribi, A., Rabahi, K., (2017). Etude in-silico de l'inhibition de la Xanthine oxydase. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira.
23. M'cili M et Melghid I. (2020). Le rôle des plantes médicinales dans la prévention contre les dommages oxydatifs.
24. Maquin, E. (2018). La Goutte, Une Maladie En Recrudescence : Enquête A L'officine.
25. Messaoudi, O., Gouzi, H., El-Hoshoudy, A. N., Benaceur, F., Patel, C., Goswami, D., ... & Bendahou, M. (2021). Berries Anthocyanins As Potential SARS-Cov-2 Inhibitors Targeting The Viral Attachment And Replication ; Molecular Docking Simulation. *Egyptian Journal Of Petroleum*, 30(1), 33-43.

26. Nani, N. (2020). Contribution A L'étude Phytochimique De Racine De Pergularia Tomentosa L. Dans La R Région D'eloued.
27. Nor Elhouda Loubibet, D. A. A. (2021). 3DQSAR, Docking Mo Léculeire Et Criblage ADMET Pour Des Inhibiteurs Potentiels De La Polymérisation De Tubuline (Doctoral Dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
28. Ozturk, G., German, J. B., et De Moura Bell, J. M. (2019). Effects Of Industrial Heat Treatments On The Kinetics Of Inactivation Of Antimicrobial Bovine Milk Xanthine Oxidase. *NPJ Science Of Food*, 3(1), 1-7.
29. Pei, R., Liu, X., et Bolling, B. (2020). Flavonoids And Gut Health. *Current Opinion In Biotechnology*, 61, 153-159.
30. Pratomo, I. P., Noor, D. R., Kusmardi, K., Rukmana, A., Paramita, R. I., Erlina, L., ... & Tedjo, A. (2021). Xanthine oxidase-induced inflammatory responses in respiratory epithelial cells: à review in immunopathology of COVID-19. *International Journal of Inflammation*, 2021.
31. Regy, L. (2021). La Maladie Goutteuse : Pathologie, Traitements Et Rôle Du Pharmacien D'officine Dans La Prise En Charge De La Goutte. Enquêtes Réalisées En Officine Auprès De Patients Goutteux Et De Pharmaciens
32. Safa, L. Z., et Houyame, C. H. A. D. I. (2021). Prédiction In Silico De La Structure 3D Et Etude D'amarrage Moléculaire De La Xanthine Oxydoréductase (Doctoral Dissertation, University Center Of Abdalhafid Boussouf-MILA).
33. Saito, H., Tanaka, K., Iwasaki, T., Oda, A., Watanabe, S., Kanno, M., ... & Kazama, J. J. (2021). Xanthine oxidase inhibitors are associated with reduced risk of cardiovascular disease. *Scientific reports*, 11(1), 1-8.
34. Sarbu, L. G., Bahrin, L. G., Babii, C., Stefan, M., et Birsa, M. L. (2019). Synthetic Flavonoids With Antimicrobial Activity : A Review. *Journal Of Applied Microbiology*, 127(5), 1282-1290.
35. Sok Yen, F., Shu Qin, C., Tan Shi Xuan, S., Jia Ying, P., Yi Le, H., Darmarajan, T., ... & Salvamani, S. (2021). Hypoglycemic Effects Of Plant Flavonoids : A Review. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2021.
36. Taj, M., Mathur, Y., & Hassan, M. I. 2021. InstaDock: A single-click graphical user interface for molecular docking-based virtual high-throughput screening. *Briefings in Bioinformatics*, 22(4), bbaa279.

37. Todorov, L., Saso, L., Benarous, K., Traykova, M., Linani, A., et K Ostova, I. (2021). Synthesis, Structure And Impact Of 5-Aminoorotic Acid And Its Complexes With Lanthanum (III) And Gallium (III) On The Activity Of Xanthine Oxidase. *Molecules*, 26(15), 4503.
38. Vatea, H. (2020). *La Goutte : Nouveautés En 2020 Et Particularités En Polynésie Française*.
39. Yousra, B., & Sabrina, M. (2021). Implication du stress oxydatif dans la toxicité des pesticides (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).
40. Yousra, T., et Sirine, D. (2020). *Etude De La Variation De Certains Paramètres Sériques Liés Aux Stress Oxydatifs Chez Des Patients Atteints Des Maladies Cardiovasculaires Avant Et Après Thérapie* (Doctoral Dissertation, Université Laarbi Tebessi Tebessa).
41. « Avogadro », Wikipédia. Déc. 31, 2021, Consulté le : juin. 10, 2022. [En ligne]. Disponible sur : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Avogadro_\(logiciel\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Avogadro_(logiciel)) .
42. « Berry Blue », Wikipédia. Mars, 2020, Consulté le : juin. 10, 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://en.wikipedia.org/wiki/Blueberry>
43. « Discovery Studio », Wikipédia. sept. 11, 2019, Consulté le : juin. 10, 2022. [En ligne]. Disponible sur : sur :

Sites internet :

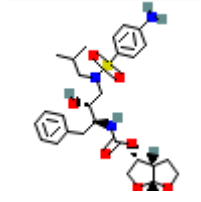

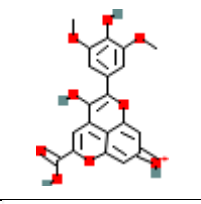
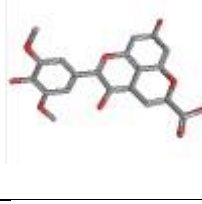
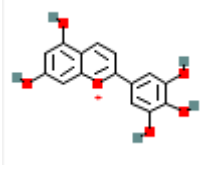
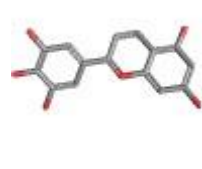
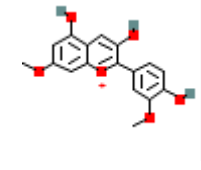
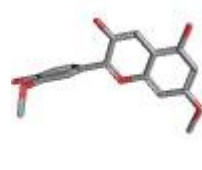
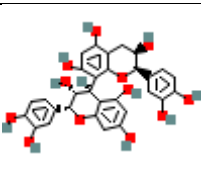
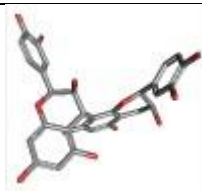
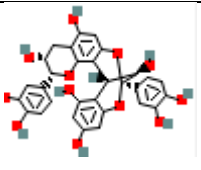
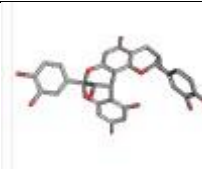
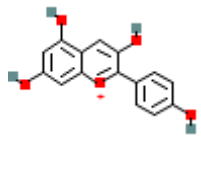

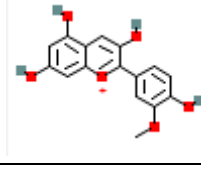
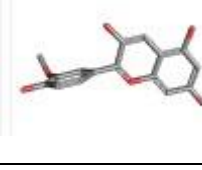
1. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Discovery_Studio&oldid=915151245
2. <https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/>.
3. <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download-thank-you>.
4. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
5. <https://pymol.org/2/> .
6. <https://www.clubic.com/telecharger-fiche321994-avogadro.html>.
7. <http://www.swissadme.ch/>
8. <https://www.rcsb.org/>

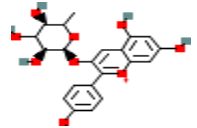

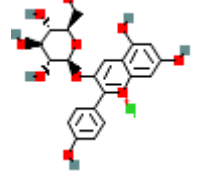

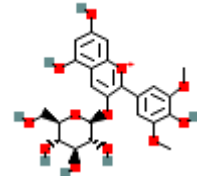
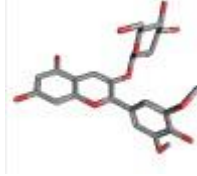
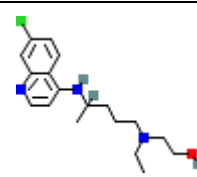
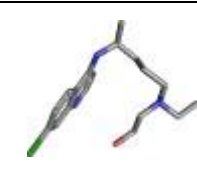
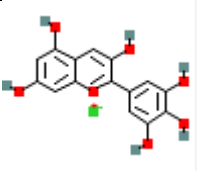
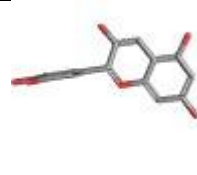
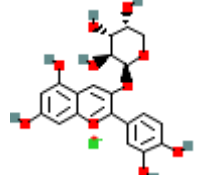

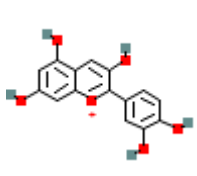

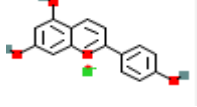
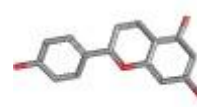
Annexes

Annexes

Annexe 1 :

Tableau 8. Principale inhibiteur (Anthocyane) de xanthine oxydase (6J39) extrait à partir de la plante Berry Blue. (Messaoudi, O, et al.2021).

CID	Nom de ligand	Structure 2D	Structure 3D
213039	Darunavir		
131753170	Vitisidin A		
11199650	Tricetanidin		
441777	Rosinidin		
122738	Procyanidin B2		
124025	Procyanidin A2		
440832	Pelargonidin		
441773	Peonidin		

44256696	Pelargonidin-3-rhamnoside		
3080714	Pelargonidin-3-glucoside		
443652	Malvidin-3-glucoside		
3652	Hydroxychloroquine		
68245	Delphinidinchloride		
24721044	Cyanidin-3-arabinside		
128861	Cyanidin		
159360	Apigeninidin		

Annexe 2:

Tableau 9. Résultats de l'Analyse de la régression linéaire.

Numbers	Nom de complexe	Énergie	Pic50	Ic50 nm
1	1FKO	-9,41	6,09	800
2	1KE7	-9,43	NaN	8,9
3	3PJ8	-9,16	7,39	40
4	2B53	-8,30	6,22	600
5	1R78	-8,35	8,52	3
6	2G9X	-6,29	7,34	45
7	3PJ1	-5,09	7,31	48
8	3ULI	-4,18	7,15	70
9	6O52	-8,54	7,52	30
10	3PJ3	-9,86	5,25	5600
11	1KE5	-5,52	6,25	560
12	2UZB	-8,66	6,92	120
13	4EY6	-0,88	7	100
14	2WI8	-6,5	6,98	103
15	3RAL	-3,76	7	100
16	1CKP	2,68	8,04	9

Annexe 3:**Tableau 10.** Valeurs du RMSD des différents complexes protéine-ligand.

Les complexes	RMSD (Å)
1BIO	0,000
1BJV	1,642
1BRU	0,739
1BTU	2,094
1BVE	2,584
1BVG	1,380
1CEB	0,000
1CTE	0,055
1E38	1,468
1HPK	1,165

5TG1	0,001
5TG2	0,001
6DH3	2,675
5E0J	0,073
5E0H	0,000
4DID	1,970
1AJV	1,498
1A9M	5,046
1AJX	1,874
5T6G	2,366

Annexe 4:

Tableau 11. Energie et constante d'inhibition des 17 inhibiteurs extrait de plante Berry Blue (Anthocyanes) par Autodock. (Messaoudi, O, et al.2021) :

Ligand	CID	Meilleur position	Energy of Binding	Constant d'Inhibition KI
Peonidin	441773	1	-8,84 kcal/mol	333,67 nM
Delphinidinchloride	68245	2	-8,68 kcal/mol	431,77 nM
Hydroxychloroquine	3652	1	-8,59 kcal/mol	504,89 nM
Pelargonidin	440832	3	-8,41 kcal/mol	686,58 nM
Cyanidin	128861	1	-8,43 kcal/mol	665,52 nM
Rosinidin	441777	1	-8,36 kcal/mol	743,02 nM
Vitisidin A	131753170	2	-8,07 kcal/mol	1,21 μ M
Tricetanidin	11199650	3	-8,07 kcal/mol	1,22 μ M
Pelargonidin-3-glucoside	3080714	1	-8,03 kcal/mol	1,30 μ M

Pelargonidin-3-rhamnoside	44256696	1	-8,01 kcal/mol	1,34 μ M
Apigeninidin	159360	1	-7,87 kcal/mol	1,71 μ M
Cyanidin-3-arabinoside	24721044	1	7,50 kcal/mol	3,20 μ M
Procyanidin A2	124025	1	-6,85 kcal/mol	9,53 μ M
Allopurinol	135401907	1	-5,02 kcal/mol	209,29 μ M
Malvidin-3-glucoside	443652	1	-4,40 kcal/mol	591,70 μ M
Darunavir	213039	1	-4,22 kcal/mol	812,89 μ M
Procyanidin B2	122738	1	-4,02 kcal/mol	1,12mM

Annexe 5:**Tableau 12.** Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des inhibiteurs de 6J39.

Numbers	Nom de ligand	SwissADME/Toxicité					
		Donneur De H	Accepteur De H	LOG P	Molar Mass g/mol	Liaison rotatable	LD50 (Mol/kg)
1	Cyanidin	5	6	2,91	287,24	1	2,464
2	Cyanidin-3-arabinoside	7	10	-1,97	454,81	3	2,569
3	Darunavir	3	8	3,46	547,66	11	2,107
4	Delphinidinchloride	6	7	-0,38	338,70	1	2,548
5	Hydroxychloroquine	2	3	3,59	335,87	9	2,656
6	Malvidin-3-glucoside	7	12	0,69	493,44	6	2,569
7	Pelargonidin-3-glucoside	7	10	-2,32	468,84	4	2,566
8	Pelargonidin-3-rhamnoside	6	9	1,70	417,39	3	2,555
9	Peonidin	4	6	3,21	301,27	2	2,408

10	Pelargonidin	4	5	3,20	271,24	1	2,432
11	Procyanidin A2	9	12	2,36	576,50	2	2,483
12	Procyanidin B2	10	12	2,35	578,52	3	2,482
13	Rosinidin	3	6	3,51	15,30	3	2,38
14	Tricetanidin	5	6	2,91	287,24	1	2,604
15	VitisidinA	4	9	2,98	399,33	4	2,63
16	Apigeninidin	3	4	0,50	290,70	1	2,403

Annexe 6:**Tableau 13.** inhibition des iso-enzymes du CYP450 et BBB.

Nom de ligand	Propriétés					
	BBB perméabilité	CYP1A2 inhibition	CYP2C19 inhibition	CYP2C9 inhibition	CYP2D6 inhibition	CYP3A4 inhibition
Cyanidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Cyanidin-3-arabinoside	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Darunavir	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
Delphinidinchloride	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Hydroxychloroquine	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Non
Malvidin-3-glucoside	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Pelargonidin-3-glucoside	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Pelargonidin-3-rhamnoside	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Peonidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Pelargonidin	Non	Oui	Non	Non	Oui	Non
Procyanidin A2	Non	Non	Non	Oui	Non	Oui
Procyanidin B2	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
Rosinidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Oui

Tricetanidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Vitisidin A	Non	Oui	Non	Oui	Non	Non
Apigeninidin	Non	Oui	Non	Non	Non	Non

« Avogadro », Wikipédia. Déc. 31, 2021, Consulté le : juin. 10, 2022. [En ligne]. Disponible sur : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Avogadro_\(logiciel\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Avogadro_(logiciel)) .

« Berry Blue », Wikipédia. Mars,2020, Consulté le : juin. 10, 2022. [En ligne]. Disponible sur : <https://en.wikipedia.org/wiki/Blueberry>

« Discovery Studio », Wikipédia. sept. 11, 2019, Consulté le : juin. 10, 2022. [En ligne].

Disponible sur : sur :

https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Discovery_Studio&oldid=915151245

« Pymol », Wikipédia. oct. 07, 2020, Consulté le : juin. 10, 2022. [En ligne]. Disponible sur :

<https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=PyMOL&oldid=982282892>

(<https://www.rcsb.org/>).

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

(<http://www.swissadme.ch/>).

<https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/>.

<https://pymol.org/2/> .

<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download-thank-you>.

<https://www.clubic.com/telecharger-fiche321994-avogadro.html>.

ملخص

أفسيداز الزانثين هو إنزيم رئيسي في استقلاب البورين. من أجل تطوير مركبات جديدة ذات تأثيرات مثبطة أفضل على أهداف أفسيداز الزانثين، تم تطوير برنامج الالتحام الجزيئي أوتودوك لدعم تطوير الجزيئات النشطة بيولوجيًا. نوضح نسبة 75% RMSD من 2 Å أو أقل ومعامل الارتباط 0.15 أداء برنامج Autodock. تبع هذا الاختيار تحليل بصري لتراكيب الرباط الذي تم الحصول عليه عن طريق الالتحام الجزيئي مع الرباط المرجعي. سمحت لنا نتائج التحص باستخدام برنامج Autodock باختبار أفضل خمسة مركبات يمكن اقتراحها كأفضل مثبطات للهدف الخرجي xanthine oxidase والتي لديها تحليل منسجم للاندفاعات المحتملة. أخيرًا، من خلال تطبيق قاعدة ليبينسكي، يمكننا أن نتعلم بوضوح الخصائص الفيزيائية الكيميائية لهذه الجزيئات الجديدة ونوفرها الحيوي عن طريق النم كدواء غير إشكالي.

الكلمات الرئيسية: الالتحام الجزيئي، أوكسيداز الزانثين، RMSD، Autodock، Lipinski

Résumé

La xanthine oxydase est une enzyme clés de métabolisme des purines. Dans le but de développer de nouveaux composés avec de meilleurs effets inhibiteurs sur les cibles xanthine oxydase, le programme d'amarrage moléculaire d'Autodock a été développé pour soutenir le développement de molécules biologiquement active. Un rapport de valeur RMSD de 75 % de 2 Å ou moins et un coefficient de corrélation de 0,15 démontrent les performances du programme Autodock. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition de ligand obtenue par docking moléculaire avec le ligand de référence. Les résultats du criblage avec le logiciel Autodock nous ont permis de sélectionner les cinq meilleurs composés qui pouvaient être proposés comme les meilleurs inhibiteurs de la cible thérapeutique xanthine oxydase et qui avaient une analyse détaillée des différentes interactions. Enfin, en appliquant la règle de Lipinski, nous pouvons apprendre activement les propriétés physicochimiques de ces nouvelles molécules et leur biodisponibilité orale en tant que médicament non problématique.

Mots clés : Docking moléculaire, xanthine oxydase, RMSD, Autodock, Lipinski.

Abstract

Xanthine oxidase is a key enzyme in purine metabolism. In order to develop new compounds with better inhibitory effects on xanthine oxidase targets, Autodock's molecular docking program has been developed to support the development of biologically active molecules. A 75% RMSD ratio of 2 Å or less and a correlation coefficient of 0.15 demonstrate the performance of the Autodock program. This test was followed by a visual analysis of the ligand overlay obtained by molecular docking with the reference ligand. The results of the screening with the Autodock software allowed us to select the five best compounds that could be proposed as the best inhibitors of the therapeutic target xanthine oxidase and that had a detailed analysis of the different interactions. Finally, by applying the Lipinski Rule, we can actively learn the physicochemical properties of these new molecules and their oral bioavailability as a non-problematic drug.

Keywords: Molecular docking, xanthine oxidase, RMSD, Autodock, Lipinski.