



Université Mohamed Khider de Biskra

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

Département des Sciences de la Matière

MÉMOIRE DE MASTER

Sciences de la Matière

Filière: Chimie

Spécialité: Chimie pharmaceutique

Réf. : Entrez la référence du document

Présenté et soutenu par :

Abdelatif Halima Saadia

Biskri Rania

Le: samedi 26 juin 2021

Prédiction in silico des propriétés pharmacologiques de certains dérivés flavoniques

Jury :

Dr. Melkemi Nadjib

P.r Université Mohamed Khider de Biskra Encadreur

Dr. Ferhati Samiha

M.A.A Université Mohamed Khider de Biskra Président

Dr. Belaidi Salah

P.r Université Mohamed Khider de Biskra Examineur

Année universitaire : 2020/2021

Dédicace

C'est avec honneur que je dédie ce travail :

À mes très chers parents, pour tout ce qu'ils représentent pour moi, tous les sacrifices qu'ils font sans compter, ils ont toujours été présents pour moi. Merci de m'avoir donné les armes pour affronter la vie ;

À mon mari pour ses encouragements, son amour, Ma chère maman, pour son amour, ses sacrifices, son soutien moral et matériel.

À tous mes frères pour leur soutien moral, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.

À mon promoteur Mr : Melkemi N. Pour ses aides, ses informations et son encouragement.

À mes chers amis, mes partenaires Sana et Wafa pour leur encouragements constants et son soutien moral.

À mes amis fidèles Aicha et Ilham qui sont toujours dans mon cœur et, A toute ma promo de Chimie Pharmaceutique alors que nous partageons nos luttés les uns avec les autres. Merci

Biskri Rania

إهداء

أحمد الله عز وجل على منه وعونه لإتمام هذا البحث

أهدي عملي هذا إلى الذي وهبني كل ما يملك حتى أحقق آمالي، إلى الذي كان يدفعني قدما نحو الأمام لنيل المبتغى، إلى الإنسان الذي امتلك الإنسانية بكل قوة، إلى الذي سهر على تعليمي بتضحيات جسام مترجمة في تقديسه للعلم، إلى مدرستي الأولى في الحياة والسبب الأول في تحقيقي هدي في **أبي الغالي** على قلبي أطال الله في عمره.

إلى التي وهبت فلذة كبدها كل العطاء والحنان، إلى التي صبرت على كل شيء، التي رعيتني حق الرعاية و كانت سندي في الشدائد، وكانت دعواها لي بالتوفيق، تتبني خطوة بخطوة في عملي، إلى من ارتحت كلما تذكرت ابتسامتها في وجهي، **نبح الحنان أمي** أعز ملاك على القلب و العين جزاها الله عني خير الجزاء في الدارين. إليهما أهدي هذا العمل المتواضع لكي أدخل على قلبهما شيئا من السعادة.

كما أهدي ثمرة جهدي لأستاذي الكريم البروفيسور: **ملكبي نجيب** الذي كلما تظلمت الطريق أممي لجأت إليه فأنارها لي وكما دب اليأس في نفسي زرع فيا الأمل لأسير قدما وكما طلبت كمية من وقته الثمين وفره لي بالرغم من مسؤولياته المتعددة؛ إلى كل أساتذة قسم الكيمياء وكلية علوم المادة

أهدي تخرجي هذا إلى من تمنوا لي النجاح والتوفيق **إخواني وأختي** الأعزاء على قلبي لهم أهدي ثمرة نجاحي ولكل من تمنى لي التوفيق والخير من عائلتي الكريمة راجيا من الله أن يبارك فيهم ويحفظهم بعينه التي لا تنام إلى من قضينا وقفنا مع بعض في أحلك الظروف وقضينا أجمل أوقات مع بعض وضحكنا وتعلمنا جميعا معنى الأمل والطموح إليكم **أصدقائي وزملائي** أهدي عملي هذا متمنيا لكم التوفيق في الدنيا والآخرة.

إلى كل من غاب عن العقل ذكره وعن القلب ليس يغيب، إلى كل من يؤمن بأن بذور نجاح التغيير هي في ذواتنا و في أنفسنا قبل أن تكون في أشياء أخرى... إلى كل سكان بلدي الطيبة.

عبد اللطيف حليلة السعدية

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

Introduction générale

Introduction.....	1
Références.....	2

Chapitre I: les flavonoïdes

Introduction.....	3
I. Les composés flavoniques.....	3
I. 1. Définition.....	3
I. 2. Structure.....	3
I. 3. Classification.....	4
I. 3.1. Flavones.....	6
I. 3.2. Flavonols.....	6
I. 3.3. Flavanones.....	6
I. 3.4. Isoflavonoïdes.....	7
I. 3.5. Néolavonoïdes.....	7
I. 3.6. Flavanols, flavan-3-ols ou catéchines.....	7
I. 3.7. Anthocyanes.....	7
I. 3.8. Chalcones.....	8
I. 4. Distribution et localisation.....	8
I. 5. Biosynthèse.....	9
I. 6. Propriété des flavonoïdes.....	11
I. 6.1. Propriétés antioxydantes et piègeurs de radicaux libres.....	11
I. 6.2. Effets protecteurs vasculaires.....	11
I. 6.3. Propriétés antiallergiques.....	12
I. 6.4. Propriété anti-inflammatoire.....	12
I. 6.5. Propriété anti-ulcérogène.....	12
I. 6.6. Flavonoïdes et NO.....	12
I. 6.7. Propriété antibactérienne.....	13
I. 6.8. Autres effets biologiques.....	13
Références.....	14

Chapitre II: Méthodes de calculs utilisées

Introduction.....	19
II.1. Way2Drug (PAAS)	19
II.2. SwissADME.....	20
II.2.1. Pharmacocinétique.....	22
II.2.2. Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination (ADME)	23
II.3. Way2Drug(Cell-line)	26
II.4. Docking moléculaire.....	27
II.4.1. Différents types d'interactions.....	28
II.4.2. Protocole général de docking moléculaire.....	28
Références.....	30

Chapitre III: Les résultats et discussion

Introduction.....	32
-------------------	----

III.1.	Matériaux et méthodes.....	33
III.1.1.	Prédiction <i>in silico</i> des propriétés ADME.....	34
III.1.2.	Prédiction <i>in silico</i> des propriétés biologiques.....	34
III.1.3.	Docking moléculaire.....	35
III.1.3.1.	Préparation du récepteur et ligands.....	35
a.	Préparation de l'enzyme.....	35
b.	Minimisation de l'énergie.....	35
c.	Docking moléculaire.....	35
d.	Etape de docking.....	36
III.2.	Les résultats et discussion.....	36
III.2.1.	Etude <i>in silico</i> des propriétés ADME.....	37
III.2.2.	Prédiction <i>in silico</i> des propriétés biologiques.....	40
III.2.3.	Docking moléculaire.....	49
III.2.3.1.	Energie d'interaction.....	50
	Références.....	59
	<i>Conclusion générale</i>	60

Table des tableaux

Chapitre I

Tableau 1	Les différentes classes des flavonoïdes	5
------------------	---	---

Chapitre III

Tableau 1	Propriétés chimiques des flavonoïdes étudiés	37
Tableau 2	Résultats de calcul de lipophilie des flavonoïdes étudiés	38
Tableau 3	Résultats de calcul de l'hydrosolubilité des flavonoïdes étudiés	38
Tableau 4	Résultats de calcul des pharmacocinétiques	39
Tableau 5	Résultats d'étude de Druglikeness des flavonoïdes étudiés	40
Tableau 6	Résultats d'évaluation de l'activité biologique des flavonoïdes étudiés	41
Tableau 7	Activité Biologique de Apigenin (molécule 1)	42
Tableau 8	Activité Biologique de Luteoline (molécule 2)	42
Tableau 9	Activité Biologique de Quercetin (molécule 3)	43
Tableau 10	Activité Biologique de Kaempferol (molécule 4)	44
Tableau 11	Activité Biologique de Phloretin (molécule 5)	45
Tableau 12	Activité Biologique de Chalconaringenin (molécule 6)	45
Tableau 13	Activité Biologique de Hesperetin (molécule 9)	46
Tableau 14	Activité Biologique de Naringenin (molécule 10)	47
Tableau 15	Activité Biologique de Daidzein (molécule 11)	47
Tableau 16	Activité Biologique de Genistein (molécule 12)	48
Tableau 17	Volume et surface des 3 cavités détectées	49
Tableau 18	les interactions entre les résidus de site de cavité A active et le substrat	50
Tableau 19	les interactions entre les résidus de site de cavité B active et le substrat	53
Tableau 20	les interactions entre les résidus de site de cavité C active et le substrat	56

Table des figures

Chapitre I

Figure 1	Squelette de base des flavonoïdes	3
Figure 2	Structure de base des flavonoïdes et de leurs classes	4
Figure 3	Classes, sous-classes et sources naturelles de flavonoïdes	8
Figure 4	Premières étapes de la formation du précurseur des flavonoïdes	9
Figure 5	Schéma partiel de la biosynthèse des flavonoïdes	10

Chapitre II

Figure 1	L'interface du logiciel PAAS	19
Figure 2	Exemple de représentation des résultats de calcul par logiciel PASS	20
Figure 3	L'interface de programme SwissADME	21
Figure 4	Exemple d'affichage des résultats de calcul par SwissADME	21
Figure 5	L'interface du logiciel Way2Drug(Cell-line).	26
Figure 6	Exemple de représentation des résultats de calcul par logiciel Way2Drug(Cell-line)	26
Figure 7	Procédé de docking moléculaire	27
Figure 8	Etapes typique d'un docking moléculaire	27
Figure 9	Protocole général de docking moléculaire	29

Chapitre III

Figure 1	Structure du squelette de base des flavonoïdes et de leurs classes	33
Figure 2	la forme trimère d'enzyme	35
Figure 3	la forme de surface d'enzyme	35
Figure 4	Protocol de calcul	36
Figure 5	Surface électrostatique et les cavités détectées de la chlordecone réductase	49
Figure 6	Interaction hydrogène et stérique entre les ligands et les acides aminés de cavité A	52
Figure 7	Interaction hydrogène et stérique entre les ligands et les acides aminés de cavité B	55
Figure 10	Interaction hydrogène et stérique entre les ligands et les acides aminés de cavité C	58

Liste des abréviations

3D	Trois dimensions
A	
Å	Angstrom
Ala	Alaline
AMPC	Adénosine monophosphate cyclique
Asp	Acide aspartique
ATPase	Enzyme adénosine Triphosphate
C	
Ca	Calcium
CHI	Chalcone isomérase
CHS	Chalcone synthase
CoA	CoenzymeA
F	
FLS	Flavonol synthase
G	
Gln	Glutamine
H	
HIF1A	Hypoxia-inducible factor 1-alpha
His	Histidine
I	
IFS	Flavone synthase
L	
LDL	Low density lipoprotein
Leu	Leucine
Lys	Lysine
P	
PAL	Phénylalanine Ammonia-Lyase
pH	Potentiel hydrogène
M	
MVD	Molegro Virtual Docker
N	
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
S	
Ser	Serine
T	
Thr	Thréonine
Trp	Tryptophane
Tox	Toxicité

Introduction
générale

Introduction générale

Les flavonoïdes sont une classe importante de produits naturels, en particulier, ils appartiennent à une classe de métabolites secondaires végétaux ayant une structure polyphénolique, largement présents dans les fruits, les légumes et certaines boissons. Les flavonoïdes ont plusieurs sous-groupes, qui comprennent les chalcones, les flavones, les flavonols, les isoflavones, les flavonols, et les anthocyanines. Ils ont divers favorables effets biochimiques et antioxydants associés à divers des maladies comme le cancer, la maladie d'Alzheimer (MA), l'athérosclérose, etc[1-3]. Les flavonoïdes sont associés à un large spectre d'effets favorisant la santé et sont un composant indispensable dans une variété de nutraceutiques, pharmaceutiques, médicaux et les applications cosmétiques. Ces composés sont caractérisés par leurs propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, anti-mutagène et anti-cancérogène. Ils sont également connus comme des inhibiteurs puissants pour plusieurs enzymes, telles que la chlordécone réductas, expression de HIF1A, l'aryl-alcooldéshydrogénase (NADP +), la P-benzoquinone réductase (NADPH).

La recherche dans l'industrie pharmaceutique est un processus qui prend du temps avec un risque élevé d'échec. Pour cela, le processus de développement des médicaments a été amélioré grâce à l'utilisation des techniques dites "haut-débit", qui sont efficaces lorsqu'elles sont combinées à des outils informatiques [4].

L'objectif de notre travail est focalisé sur l'étude de la relation structure/activité dans une série de flavonoïdes. Cette étude basée sur l'utilisation de différentes méthodes de la chimie computationnelle. Le travail réalisé basé sur l'utilisation de deux programmes en ligne : PASS est utilisé pour prédire les propriétés pharmacologiques des molécules étudiées, SwissADME est utilisé pour prédire les propriétés pharmacocinétiques de même série de molécules.

Le docking moléculaire a été utilisé pour étudier les interactions entre une série de flavonoïdes et l'enzyme chlordécone réductase. Cette étude basée sur l'utilisation de logiciel MVD (Molegro Virtual Docker).

Le travail réalisé dans de ce mémoire est constitué de trois chapitres :

- ✓ Introduction générale.
- ✓ Le premier chapitre est une recherche bibliographique sur flavonoïdes.
- ✓ Le second chapitre est réservé pour la recherche bibliographique sur méthodes de calculs utilisées à savoir : PASS, SwissADME et Docking moléculaire.
- ✓ Le troisième chapitre regroupe les principaux résultats obtenus avec la discussion.
- ✓ La conclusion générale : résume et conclut l'ensemble des travaux réalisés.

Introduction générale

Références:

- [1] Burak M &Imen Y (1999) Flavonoids and their antioxidant properties. *TurkiyeKlin Tip BilDerg* 19, 296–304.
- [2] Ovando C, Hernandez D, Hernandez E, et al. (2009) Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chem* 113, 859–871.
- [3] Lee Y, Yuk D, Lee J, et al. (2009) Epigallocatechin-3-gallate prevents lipopolysaccharide-induced elevation of β -amyloid generation and memory deficiency. *Brain Res* 1250, 164–174.
- [4] Pousset, J.-L. (1989). *Plantes médicinales africaines*, Ellipses Paris.

Chapitre I:
les flavonoïdes

Chapitre I : Les flavonoïdes

Introduction:

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires [1]. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux [2]. Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre Citrus où ils représentent jusqu'à 1 % des fruits frais) et les légumes. Des boissons telles que le thé, le café contiennent également des quantités importantes. Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle de par le monde [3] (Ils ont divers effets biochimiques et antioxydants favorables associés à diverses maladies telles que le cancer).

I. Les composés flavoniques:

I. 1. Définition:

Le terme « flavonoïde du grec flavus, (jaune) en latin » est le nom générique qui désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols.

Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides.

I. 2. Structure:

Tous les flavonoïdes (plus de 6000) possèdent le même élément structural de base, avec un squelette à quinze carbones, qui à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles phényles, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C.

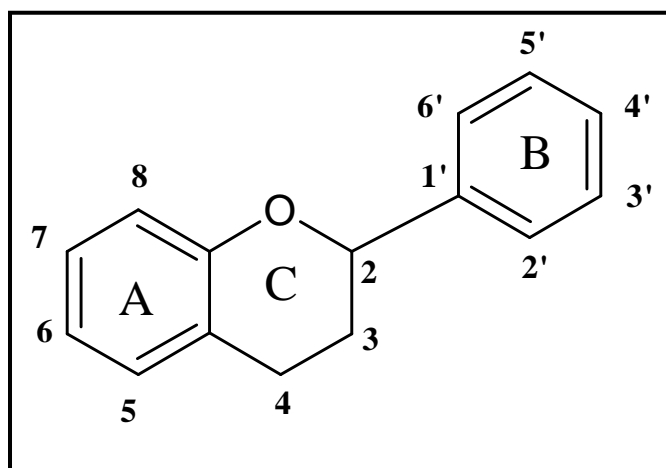


Figure 1: Squelette de base des flavonoïdes. [4]

Chapitre I : Les flavonoïdes

I. 3. Classification:

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en différents sous-groupes en fonction du carbone du cycle C sur lequel le cycle B est attaché et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C (Fig.2). Les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones. Ceux dans lesquels l'anneau B est lié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux dans lesquels l'anneau B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurales de l'anneau C. Ces sous-groupes sont: les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanols ou catéchines, les anthocyanes et les chalcones (fig.2) [4].

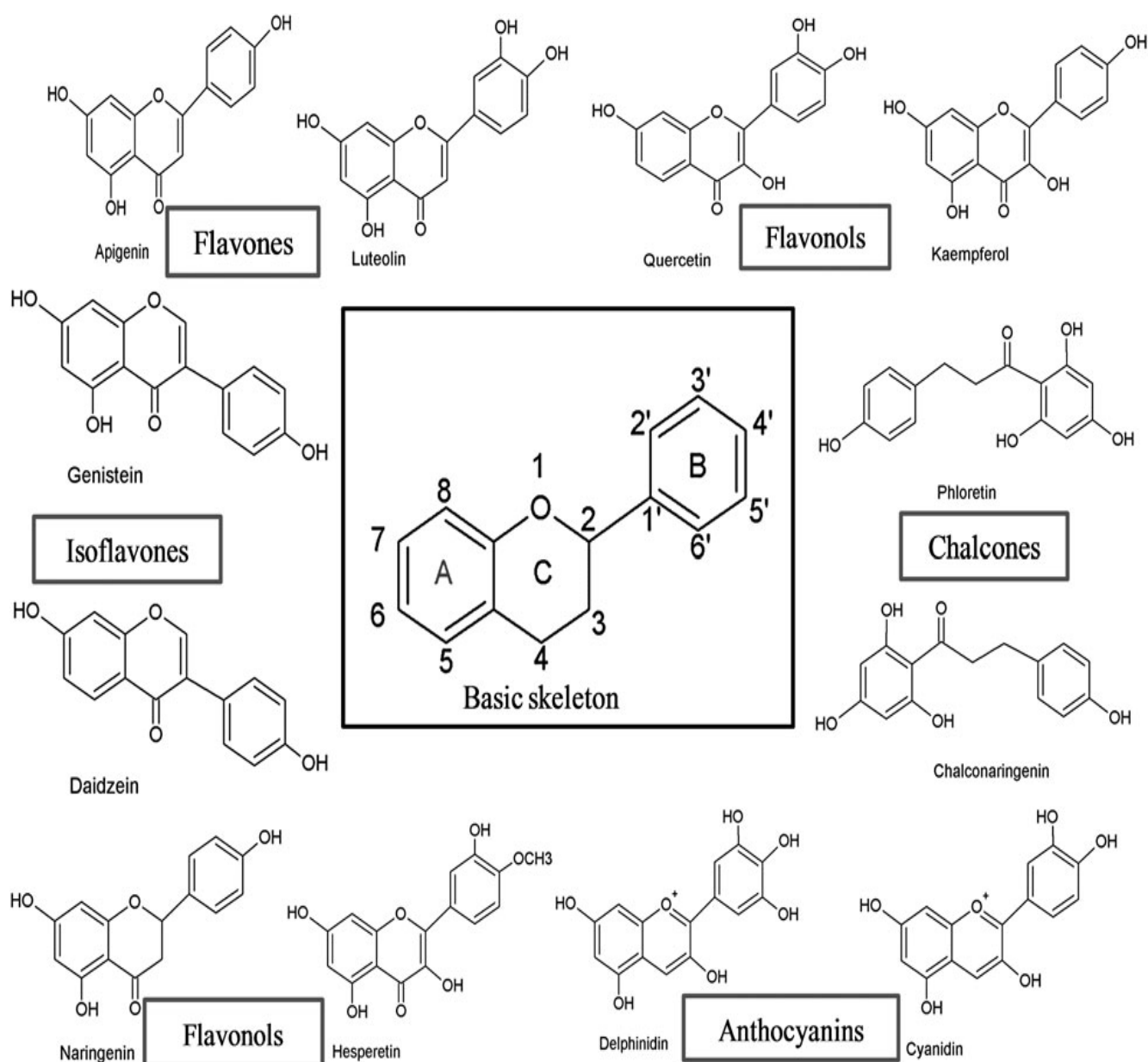
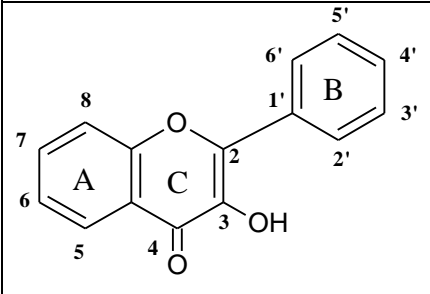
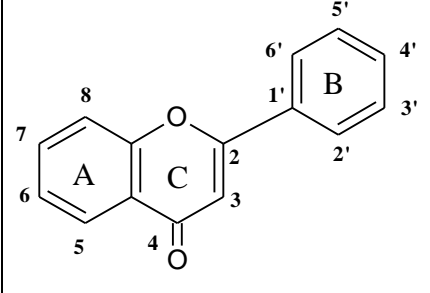
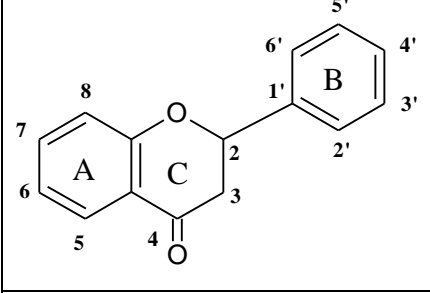
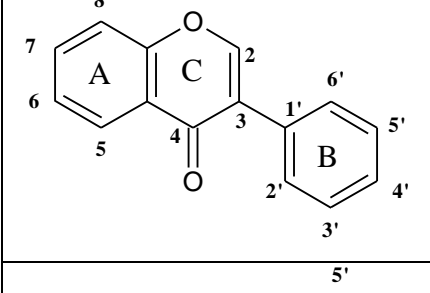
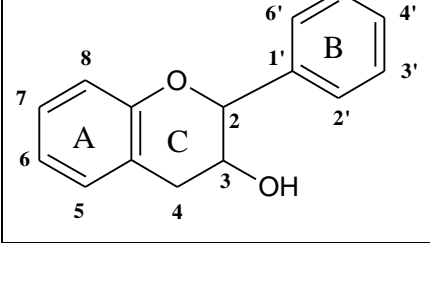


Figure 2: Structure de base des flavonoïdes et de leurs classes. [4]

Chapitre I : Les flavonoïdes

Tableau 1 : Les différentes classes des flavonoïdes. [5]

Différentes classes de flavonoïdes		substances Principales	
Structure	Nom de famille	Nom	Hydroxylation
	Flavonol	Kaempférol	OH:5,7, 4'
		Quercétine	OH:5 , 7,3', 4'
		Myricétine	OH:5 , 7,3', 4', 5'
	Flavone	Apigénine	OH:5 ,7, 4'
		Lutéoline	OH:5 ,7
	Flavanone	Naringénine	OH: 5,7, 4'
		Butine	OH: 7, 3', 4'
	Isoflavone	Daidzein	OH: 7, 4'
		Orobol	OH:5 , 7,3', 4'
	Flavan-3-ol	Catéchine	OH:5 , 7,3', 4'

I. 3.1.Flavones:

Les flavones sont un des sous-groupes importants de flavonoïdes. Les flavones sont largement présentes dans les feuilles, les fleurs et les fruits sous forme de glucosides. Le céleri, le persil, les poivrons rouges, la camomille, la menthe et le ginkgo biloba sont parmi les principales sources de flavones. La lutéoline, l'apigénine et la tangeritine appartiennent à cette sous-classe des flavonoïdes (Fig.3). Les écorces d'agrumes sont riches en flavones polyméthoxylées, tageretin, nobiletin et sinensetin [6]. Ils ont une double liaison entre les positions 2 et 3 et une cétone en position 4 du cycle C. La plupart des flavones de légumes et de fruits ont un groupe hydroxyle en position 5 du cycle A, tandis que l'hydroxylation en d'autres positions, majoritairement en position 7 du cycle A ou 3 'et 4' du cycle B, peut varier selon la classification taxinomique du légume ou du fruit particulier.

I. 3.2.Flavonols:

Les flavonols sont des flavonoïdes avec un groupe cétone. Ils construisent des blocs de proanthocyanines. Les flavonols sont présents en abondance dans une variété de fruits et légumes. Les flavonols les plus étudiés sont le kaempférol, la quercétine, la myricétine et la fisétine (Fig.3). Les oignons, le chou frisé, la laitue, les tomates, les pommes, les raisins et les baies sont de riches sources de flavonols. Outre les fruits et légumes, le thé et le vin rouge sont également des sources de flavonols. On constate que l'apport de flavonols est associé à un large éventail de bienfaits pour la santé, notamment un potentiel antioxydant et un risque réduit de maladie vasculaire.

Par rapport aux flavones, les flavonols ont un groupe hydroxyle en position 3 du cycle C, qui peut également être glycosylé. Comme les flavones, les flavonols présentent également des schémas de méthylation et d'hydroxylation très divers et, compte tenu des différents schémas de glycosylation, ils constituent peut-être le sous-groupe le plus courant et le plus important de flavonoïdes dans les fruits et légumes. Par exemple, la quercétine est présente dans de nombreux aliments végétaux [7].

I. 3.3.Flavanones:

Les flavanones sont une autre classe importante qui est généralement présente dans tous les agrumes tels que les oranges, les citrons et les raisins. L'hespéritine, la naringénine et l'ériodictyol sont des exemples de cette classe de flavonoïdes (Fig.3). Les flavanones sont associées à un certain nombre d'avantages pour la santé en raison de leurs propriétés anti-radicalaires. Ces composés sont responsables du goût amer du jus et de l'écorce des agrumes. Les flavonoïdes d'agrumes exercent des effets pharmacologiques intéressants en tant qu'agents

Chapitre I : Les flavonoïdes

antioxydants, anti-inflammatoires, hypolipidémisants et hypocholestérolémisants. Les flavonones, également appelées dihydroflavones, ont le cycle C saturé; par conséquent, contrairement aux flavones, la double liaison entre les positions 2 et 3 est saturée et c'est la seule différence structurelle entre les deux sous-groupes de flavonoïdes. Au cours des 15 dernières années, le nombre de flavanones a considérablement augmenté [7].

I. 3.4. Isoflavonoïdes:

Les isoflavonoïdes constituent un sous-groupe important et très distinctif de flavonoïdes. Les isoflavonoïdes ne jouissent que d'une distribution limitée dans le règne végétal et se trouvent principalement dans le soja et d'autres plantes légumineuses. Certains isoflavonoïdes ont également été signalés comme étant présents dans les microbes [8]. On constate également qu'ils jouent un rôle important en tant que précurseurs du développement des phytoalexines lors d'interactions avec les microbes végétaux [9,10]. Les iso-flavonoïdes présentent un potentiel énorme pour combattre un certain nombre de maladies. Les isoflavones comme la génistéine et la daidzéine sont communément considérées comme des phyto-oestrogènes en raison de leur activité oestrogénique dans certains modèles animaux (Fig.3). Szkudelska & Nogowski ont passé en revue l'effet de la génistéine induisant des changements hormonaux et métaboliques, en vertu desquels ils peuvent influencer diverses voies de la maladie [11].

I. 3.5. Néolavonoïdes:

Les néolavonoïdes sont une classe de composés polyphénoliques. Pendant que les flavonoïdes ont une colonne vertébrale 2-phénylchromène-4-one, les néolavonoïdes ont une colonne vertébrale 4-phénylchromène sans hydroxyle substitution de groupe à la position 2.

I. 3.6. Flavanols, flavan-3-ols ou catéchines:

Les flavanols, aussi appelés dihydroflavanols ou catéchines, sont les dérivés 3-hydroxy de flavanones. Ils sont très diversifiés et sous-groupe multisubstitué. Les flavanols sont également appelés flavan-3-ols car le groupe hydroxyle est toujours lié à la position 3 de l'anneau C. Contrairement à de nombreux flavonoïdes, il n'y a pas de double liaison entre les positions 2 et 3. Les flavanols se trouvent abondamment dans les bananes, les pommes, les bleuets, les pêches et les poires (fig.3).

I. 3.7. Anthocyanes:

Les anthocyanes sont des pigments responsables des couleurs des plantes, des fleurs et des fruits. La cyanidine, la delphinidine, la malvidine, le pélagonidin et la peonidine sont les anthocyanes les plus étudiées (Fig.3). Ils se produisent principalement dans les couches cellulaires externes de divers fruits tels que les canneberges, les cassis, les raisins rouges, les raisins merlot, les framboises, les fraises, les myrtilles, les myrtilles et les mûres. La stabilité associée aux

Chapitre I : Les flavonoïdes

avantages pour la santé de ces composés facilite leur utilisation dans l'industrie alimentaire dans une variété d'applications [12]. La couleur de l'anthocyanine dépend du pH et également par méthylation ou acylation au niveau des groupes hydroxyle sur les cycles A et B [7].

I. 3.8.Chalcones:

Les chalcones sont une sous-classe de flavonoïdes. Ils sont caractérisés par l'absence de «cycle C» de la structure de squelette flavonoïde basique représentée sur la figure2. Par conséquent, ils peuvent également être appelés flavonoïdes à chaîne ouverte. Les principaux exemples de chalcones comprennent la phloridzine, l'arbutine, la phlorétine et la chalconaringénine. Les chalcones sont présentes en quantités importantes dans les tomates, les poires, les fraises, les baies d'ours et certains produits du blé. Les chalcones et leurs dérivés ont suscité une attention considérable en raison de nombreux avantages nutritionnels et biologiques [13,14].

Le L'ingestion de flavonoïdes par les sources alimentaires pourrait être le moyen le plus simple et le plus sûr de combattre les maladies et de moduler les activités.

I. 4. Distribution et localisation:

Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes, feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits. Récemment, de nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonols, flavones et flavanones. [15,16,17]. La figure 3 regroupe la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.

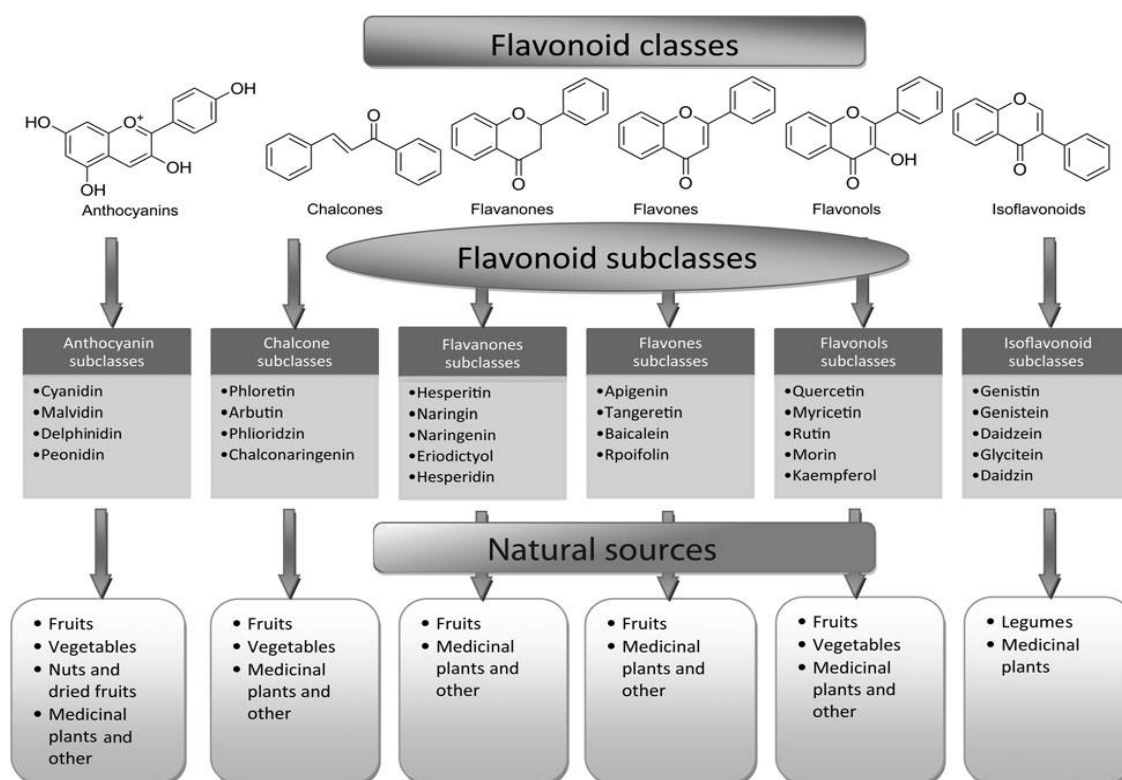


Figure 3: Classes, sous-classes et sources naturelles de flavonoïdes. [4]

I. 5. Biosynthèse:

Selon la figure 4, les précurseurs de cette biosynthèse des flavonoïdes sont la p-coumaroyl-CoA, obtenu par la voie shikimate et le malonyl-CoA. Le processus de transformation menant de la phénylalanine, précurseur de la voie shikimate au p-coumaroyl-CoA présenté dans (fig4) [18].

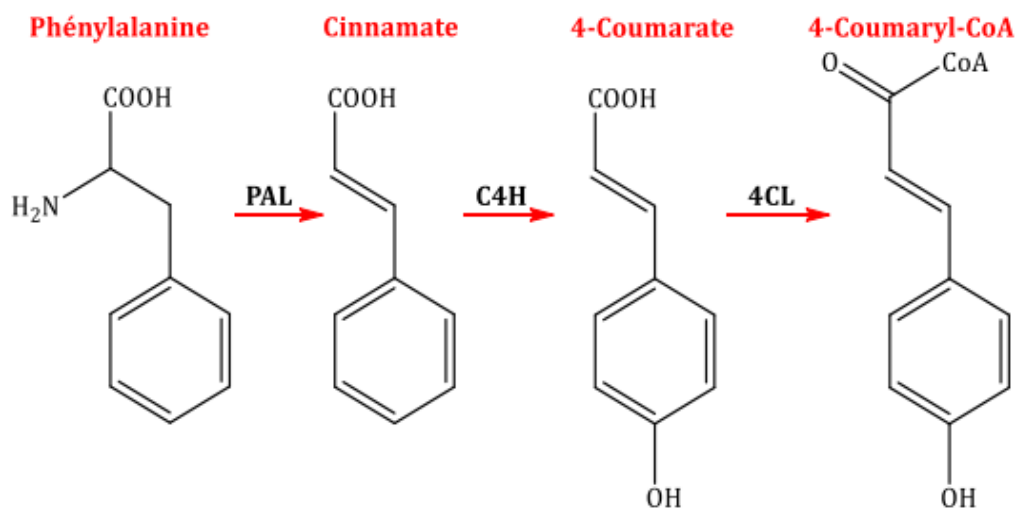


Figure 4: Premières étapes de la formation du précurseur des flavonoïdes.

La phénylalanine subit une déamination par la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) pour former le cinnamate. Ce dernier subit par la cinnamate 4-hydroxylase (C4H) une hydroxylation en position 4 du cycle aromatique pour donner le 4-coumarate. Enfin, le 4-coumaroyl-CoA est obtenu par action de la 4-coumarate CoA ligase (4CL) [18].

Tous les flavonoïdes tirent leurs squelettes à 15 atomes de carbone de deux métabolites de base, le malonyl-CoA et le p-coumaroyl-CoA. Fondamentalement, le biosynthétique crucial de réaction est la condensation de trois molécules de malonylCoA avec une molécule p-coumaroyl-CoA, permettant la synthèse des chalcones [19,20]. Etant l'entité qui catalyse la première transformation de la biosynthèse des flavonoïdes. La réaction catalysée par la CHS (chalcone synthase), permet la formation des cycles A et B du squelette flavonique. L'enzyme suivant (CHI) catalyse la fermeture du cycle C et la finalisation du squelette carboné des flavonoïdes. L'isomérisation permet de créer à partir des chalcones, les flavanones, le chemin biosynthétique se sépare en deux embranchements.

D'une part, les flavanones peuvent réagir avec l'enzyme 2-hydroxyisoflavone synthase (IFS) pour être transformées en isoflavone. Les dihydroflavonols sont les précurseurs d'une famille apparentée aux flavonoïdes qui sont les flavonols. La réaction, catalysée par l'enzyme flavonol synthase (FLS) consiste en la création d'une double liaison entre les atomes de carbone C-2 et C-3.

Chapitre I : Les flavonoïdes

D'autre part, dans la voie de biosynthèse des flavonoïdes, les flavanones sont les précurseurs des dihydroflavonols par l'action de l'enzyme F3H (flavonoid-3- hydroxylase). La F3'H (flavonoïde-3'-hydroxylase) induit le changement de degré d'oxydation du cycle B de la molécule considérée en oxydant la position 3'. Les dihydroflavonols sont ses principaux substrats (transformation du dihydrokaempferol en dihydroquercétine [21-23]). Les diverses étapes de la biosynthèse des flavonoïdes sont élucidées dans la figure5.

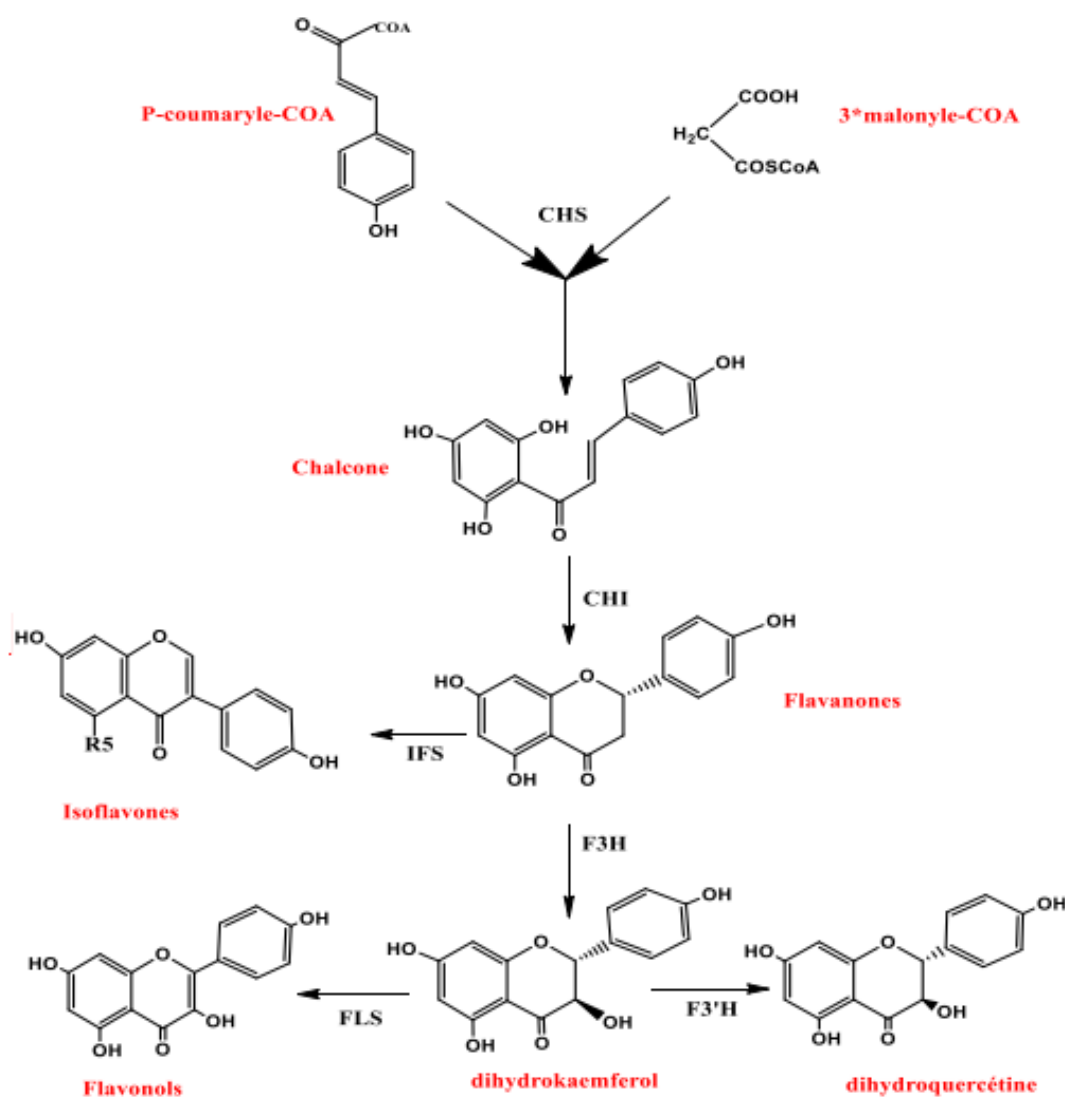
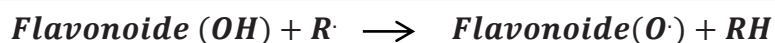


Figure 5: Schéma partiel de la biosynthèse des flavonoïdes.

I. 6. Propriété des flavonoïdes:

I. 6.1. Propriétés antioxydantes et piègeurs de radicaux libres: [24-28]

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante :



- Les radicaux libres apparaissent dans plusieurs situations, telles que:
- l'anoxie : qui engendre la production de l'anion superoxyde ($\text{O}_2\cdot$).
- l'inflammation : qui correspond à la production d'anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) par la NADPH-oxydase membranaire des leucocytes activés, et, par dismutation, à celle du très réactif radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$) [29-31].
- et l'auto-oxydation des lipides : c'est au cours du stress oxydant que les espèces radicalaires, libres de tout contrôle, vont attaquer des cibles bioactives telles que les protéines, altérant ainsi les récepteurs cellulaires et les enzymes, les acides nucléiques (favorisant la survenue des mutations délétères à l'origine de divers cancers) et les lipides, notamment les particules de LDL de l'intima vasculaire, une phase qui constitue le *primum movens* dans la cascade athérogène.

Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) [32,33]. En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales [34].

I. 6.2. Effets protecteurs vasculaires:

Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique (P) [35]. Cette activité intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale [36, 37]. Ils sont, de ce fait, utilisés dans certains états pathologiques caractérisés par un défaut affectant la perméabilité vasculaire [38, 39]. Les effets de l'O- β -hydroxyéthyl rutoside (HR) ont été étudiés chez des patients présentant une insuffisance veineuse chronique : un traitement à base de HR a permis de restaurer les paramètres hémorhéologiques altérés. D'autres flavonoïdes sont responsables d'une augmentation de la résistance des capillaires. Cette activité serait en rapport avec les effets de certains flavonoïdes sur les plaquettes, les leucocytes et sur les enzymes intervenant dans la coagulation sanguine [40, 41].

I. 6.3. Propriétés antiallergiques [42]:

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca^{2+} ATPase [43-46]. En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes [47].

I. 6.4. Propriété anti-inflammatoire:

Quelques études in vitro montrent que plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipo-oxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipo-oxygénase qui est inhibée préférentiellement [48,49]. Les flavones et les flavonols glycosylés comme la quercétine, kaempférol, myricétine ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygénase) [50].

I. 6.5. Propriété anti-ulcérogène:

Les flavonoïdes sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. L'hypolaétine-8-glucos, une flavone présente dans diverses espèces du genre *Sideritis*, a une activité anti-ulcérogène significative [5]. La naringine et la quercétine exercent également une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez les rats dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol. Il a été suggéré que la quercétine exerce ses effets cytoprotecteurs grâce à un complexe impliquant la stimulation de la prostaglandine et l'inhibition de la production de leucotriènes via la production de mucus et ses propriétés antioxydantes [5].

I. 6.6. Flavonoïdes et NO:

L'activité des flavonoïdes comme piègeurs de radicaux libres étant bien établie, des études récentes suggèrent qu'ils seraient également de puissants piègeurs du radical NO [51]. Celui-ci étant élaboré par plusieurs types de cellules, notamment les cellules endothéliales et les macrophages ; aussi, la libération de NO due à l'activité NO synthase est importante dans le maintien de la dilatation des vaisseaux sanguins [52]. Certains flavonoïdes ayant la propriété d'inhiber la cyclooxygénase, cela pourrait expliquer l'effet de la quercétine dans le blocage de la vasodilatation due à la relaxation exercée par NO sur les cellules musculaires lisses de l'endothélium vasculaire (NO/ EDRF, facteur relaxant dérivant de l'endothélium) [53-55].

I. 6.7. Propriété antibactérienne:

Les flavonoïdes sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire [56].

I. 6.8. Autres effets biologiques:

Les flavonoïdes préviennent la cataracte diabétique par inhibition de l'aldose réductase du cristallin [57,58]. En effet, la myricétine présente des effets hypoglycémiant et hypotriglycéridémiant chez les animaux diabétiques [59,60]. L'effet des flavonoïdes sur le système immunitaire est complexe et demeure encore mal élucidé [61]. Certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuant de façon générale la réponse inflammatoire [62]. À doses élevées, ils inhibent les fonctions lymphocytaires, mais, à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés. L'activité immuno-modulatrice des flavonoïdes dépend, d'une part, de leur capacité à inhiber la formation des eicosanoïdes et de l'histamine et de leur pouvoir piègeur des radicaux libres d'autre part [63-65]. Des propriétés antibactériennes et antivirales des flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont également été mises en évidence [66-72]. Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus [73,74]. Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus [73].

Références:

- [1] Erlund I (2004) Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. *Nutr Res* 24: 851-74.
- [2] Havsteen BH (2002) The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therap* 96: 67-202.
- [3] Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, et al. (1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 65 (4): 337-53.
- [4] A. N. Panche^{1,2}, A. D. Diwan^{2*} and S. R. Chandra¹,¹Department of Bio-Engineering, Birla Institute of Technology, Mesra, Ranchi, Jharkhand 835215, India ² MGM's Institute of Biosciences and Technology, Mahatma Gandhi Mission, N-6, CIDCO, Aurangabad-431003, India (Received 18 July 2016 – Final revision received 4 October 2016 – Accepted 5 October 2016).
- [5] Ghedira, K. (2005). "Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique." *Phytothérapie* 3(4): 162-169.
- [6] Manach C, Scalbert A, Morand C, et al. (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79, 727–747.
- [7] Iwashina T (2013) Flavonoid properties of five families newly incorporated into the order Caryophyllales (Review). *Bull Natl Mus Nat Sci* 39, 25–51.
- [8] Matthies A, Clavel T, Gütschow M, et al. (2008) Conversion of daidzein and genistein by an anaerobic bacterium newly isolated from the mouse intestine. *Appl Environ Microbiol* 74, 4847–4852.
- [9] Aoki T, Akashi T & Ayabe S (2000) Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. *J Plant Res* 113, 475–488.
- [10] Dixon R & Ferreira D (2002) Molecules of interest: genistein. *Phytochemistry* 60, 205-211.
- [11] Szkudelska K & Nogowski L (2007) Genistein – a dietary compound inducing hormonal and metabolic changes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 105, 37–45.
- [12] Giusti M & Wrolstad R (2003) Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochem Eng J* 14, 217–225.
- [13] Hertog MG, Hollman PC & Van De PB (1993) Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *J Agric Food Chem* 41, 1242–1246.
- [14] López-Lázaro M (2009) Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev Med Chem* 9, 31–59.

Chapitre I : Les flavonoïdes

- [15] Justen.U, Knuthsen.P, Leth.T. Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1998.
- [16] Bronner.W.E, Beecher.G.R. Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates. *Journal of Chromatography A*. 1995, 705:247-256.
- [17] Crozier.A, Jensen.E, Lean.M.E.J, McDonald.M.S. Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography *J.Chromatography A*. 1997, 761: 315-321.
- [18] Winkel-Shirley, B. (2001). "Flavonoid biosynthesis.A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology." *Plant physiology***126**(2): 485-493.
- [19] Martens, S. and A. Mithöfer (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry***66**(20): 2399-2407.
- [20] Weston, L. A. and U. Mathesius (2013). "Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy." *Journal of chemical ecology***39**(2): 283-297.
- [21] Diharce, J. (2014). Étude par modélisation moléculaire de systèmes multienzymatiques impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes.
- [22] Dao, T., H. Linthorst, et al. (2011). "Chalcone synthase and its functions in plant resistance." *Phytochemistry Reviews***10**(3): 397.
- [23] Dixon, R. A. and C. L. Steele (1999). "Flavonoids and isoflavonoids—a gold mine for metabolic engineering." *Trends in plant science***4**(10): 394-400.
- [24] Bors W, Michel C, Stettmaier K (1997) Antioxidant effects of flavonoids. *Biofactors* 6: 399-402.
- [25] Cao G, Sofic, E, Prior RL (1997) Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med* 22: 749-60.
- [26] Korkina LG, Afanas'ev IB (1997) Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol* 38: 151-63.
- [27] Miller AL (1996) Antioxidant Flavonoids: Structure, Function and Clinical Usage. *Alt Med Rev* 1996 1 (2): 103-11
- [28] Montoro P, Braca A, Pizza C, et al. (2005) Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem* 92: 349-55.
- [29] Burda S, Oleszek W (2001) Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J Agric Food Chem* 49: 2774-9
- [30] Catapano AL (1997) Antioxidant effect of flavonoids. *Angiology* 48:

Chapitre I : Les flavonoïdes

39-44.

- [31] Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S (1994) The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med* 16: 845-50.

- [32] Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, et al. (2001) Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nut* 74 (4): 418-25.
- [33] Rice-Evans CA, Miller NJ (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc Trans* 24: 790-5.
- [34] Rice-Evans C (2001) Flavonoid antioxidants. *Curr Med Chem* 8: 797-807
- [35] Beretz A, Cazenave JP (1991) Old and new natural products as the source of modern antithrombotic drugs. *Planta Med* 57 (7): S68-72.
- [36] Shih CM, Lin H, Liang YC, et al. (2004) Concentration-dependent differential effects of quercetin on rat aortic smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 496 (1-3): 41-8.
- [37] Youdim KA, McDonald J, Kalt W, et al. (2002) Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). *J Nutr Biochem* 13 (5): 282-8.
- [38] Folts J D (2002) Potential health benefits from the flavonoids in grape products on vascular disease. *Adv Exp Med Biol* 505: 95-111.
- [39] Vitor RF, Mota-Filipe H, Teixeira G (2004) Flavonoids of an extract of *Pterospartum tridentatum* showing endothelial protection against oxidative injury. *J Ethnopharmacol* 93 (2-3): 363-70.
- [40] Stoclet J C, Chataigneau T, Ndiaye M, et al. (2004) Vascular protection by dietary polyphenols. *Eur J Pharmacol* 500 (1-3): 299-313
- [41] Ursini F, Tubaro F, Rong J, et al. (1999) Optimization of nutrition: polyphenols and vascular protection. *Nutr Rev* 57 (8): 241-9.
- [42] Martin MJ, Marhuenda E, Perez-Guerrero C, et al. (1994) Antiulcer effect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rats. *Pharmacology* 49 (3): 144-50.
- [43] Amella M, Bronner C, Briancon F, et al. (1985) Inhibition of mast cell histamine release by flavonoids and biflavonoids. *Planta Med* 51 (1): 16-20.
- [44] Berg PA, Daniel PT (1988) *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II. Progress in Clinical and Biological Research*, Cody V, Middleton E, Harborne JB (Eds) 280: 157-171. Liss AR Inc., New York.
- [45] Kotani M, Matsumoto M, Fujita A, et al. (2000) Persimmon leaf extract and astragaloside inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice. *J Allerg Clin Immunol* 105: 100-105.
- [46] Kotani M, Matsumoto M, Fujita A, et al. (2000) Persimmon leaf extract and astragaloside inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice. *J Allerg Clin Immunol* 105: 100-105.

Chapitre I : Les flavonoïdes

- Immunol 106 (1): 159-66.
- [47] Yamamura S, Ozawa K, Ohtani K, et al. (1998) Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. *Phytochemistry* 48 (1): 131-6.
- [48] Formica JV, Regelson W (1995) Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol* 33: 1061-80.
- [49] Sharma, B., G. Viswanath, et al. (2008). "Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice." *Food chemistry* **110**(3): 697-705.
- [50] Landolfi, R., R. L. Mower, et al. (1984). "Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids: structure-activity relations." *Biochemical pharmacology* **33**(9): 1525-1530.
- [51] Tapas, A. R., D. Sakarkar, et al. (2008). "Flavonoids as nut.
- [52] Huk I, Brovkovich V, Nanobash VJ, et al. (1998) Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: an experimental study. *Br J Surg* 85: 1080-5.
- [53] Birt DF, Hendrich S, Weiqun W (2001) Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol Therap* 90: 157-77.
- [54] Andriantsitohaina R (1999) Regulation of vascular tone by plant polyphenols: role of nitric oxide. *Gen Physiol Biophys* 18 (Suppl 1): 3-5.
- [55] Duarte J, Jimenez R, O'Valle F, et al. (2002) Protective effects of the flavonoid quercetin in chronic nitric oxide deficient rats. *J Hypertens* 20 (9): 1843-54.
- [56] van Acker SA, Tromp MN, Haenen GR, et al. (1995) Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochem Biophys Res Commun* 214: 755-9.
- [57] Cowan, M. M. (1999). "Plant products as antimicrobial agents." *Clinical microbiology reviews* **12**(4): 564-582.
- [58] Chaudhry PS, Cabrera J, Juliani HR, et al. (1983) Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indomethacin. *Biochem Pharmacol* 32 (13): 1995-8.
- [59] Shimizu M, Ito T, Terashima S, et al. (1984) Inhibition of lens aldose reductase by flavonoids. *Phytochemistry* 23 (9): 1885-8.
- [60] Ong KC, Khoo HE (1997) Biological effects of myricetin. *Gen Pharmacol.* 29 (2): 121-6
- [61] Ong KC, Khoo HE (2000) Links Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sci* 67 (14): 1695-705.
- [62] Middleton EJ (1998) Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell

Chapitre I : Les flavonoïdes

- function. *Adv Exp Med Biol* 439: 175-82.
- [63] Berrens L, de la Cuadra B, Gallego MT (1997) Complement inactivation by allergenic plant pollen extracts. *Life Sci* 60 (17): 1497-503.
- [64] Damre A S, Gokhale A B, Phadke A S, et al. (2003) Studies on the immunomodulatory activity of flavonoidal fraction of *Tephrosia purpurea*. *Fitoterapia* 74 (3): 257-61.
- [65] Kuo YC, Yang LM, Lin LC (2004) Isolation and immunomodulatory effect of flavonoids from *Syzygium samarangense*. *Planta Med* 70 (12): 1237-9.
- [66] Wang HB, Yao H, Bao GH, et al. (2004) Flavone glucosides with immunomodulatory activity from the leaves of *Pleioblastus amarus*. *Phytochemistry* 65 (7): 969-74.
- [67] Jassim SA, Naji MA (2003) Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Appl Microbiol* 95 (3): 412-27.
- [68] Jiang Du, Zhen-Dan He, Ren-Wang Jiang, et al. (2003) Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. *Phytochemistry* 62 (8): 1235-8.
- [69] Sokmen M, Angelova M, Krumova E, et al. (2005) *In vitro* antioxidant activity of polyphenol extracts with antiviral properties from *Geranium sanguineum* L. *Life Sci* 76 (25): 2981-93.
- [70] Taguri T, Tanaka T, Kouno I (2004) Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. *Biol Pharm Bull* 27 (12): 1965-9.
- [71] Takahashi T, Kokubo R, Sakaino M (2004) Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. *Lett Appl Microbiol* 39 (1): 60-4.
- [72] Wei F, Ma SC, Ma LY, et al. (2004) Antiviral flavonoids from the seeds of *Aesculus chinensis*. *J Nat Prod* 67 (4): 650-3.
- [73] Yadava RN, Tiwari L (2005) A potential antiviral flavone glycoside from the seeds of *Butea monosperma* O. Kuntze. *J Asian Nat Prod Res* 7 (2): 185-8.
- [74] Gonçalves JLS, Leitão SG, Delle Monache F (2001) *In vitro* antiviral effect of flavonoid-rich extracts of *Vitex polygama* (*Verbenaceae*) against acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1. *Phytomedicine* 8 (6): 477-80.

***Chapitre II: Méthodes de
calculs utilisées***

Introduction:

Les méthodes destinées à tester des composés chimiques dans la recherche et le développement de médicaments aident les chercheurs et les personnes intéressées par ce domaine à comprendre et à évaluer le potentiel biologique et thérapeutique des molécules étudiées en prédictant les effets biologiques, pharmacologiques et les mécanismes d'action ... à travers les formules structurales des composés.

La question qui se pose, comment pouvons prédire les effets biologiques et thérapeutiques d'une manière qu'on rapproche à la réalité?

A cet effet, les méthodes de chimie computationnelles sont utilisées dans la prédiction des propriétés pharmacologiques de nouvelles substances à intérêt thérapeutique.

II.1. Way2Drug (PAAS):

PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) est un logiciel conçu comme un outil pour prédire le potentiel biologique général des molécules bioactives (Voir la figure 5). PASS fournit des prévisions simultanées de nombreux types d'activité biologique en fonction de la structure des composés organiques. En revanche, PASS peut être utilisé pour estimer les profils d'activité biologique de molécules, avant leur synthèse chimique et leurs tests biologiques.[12]

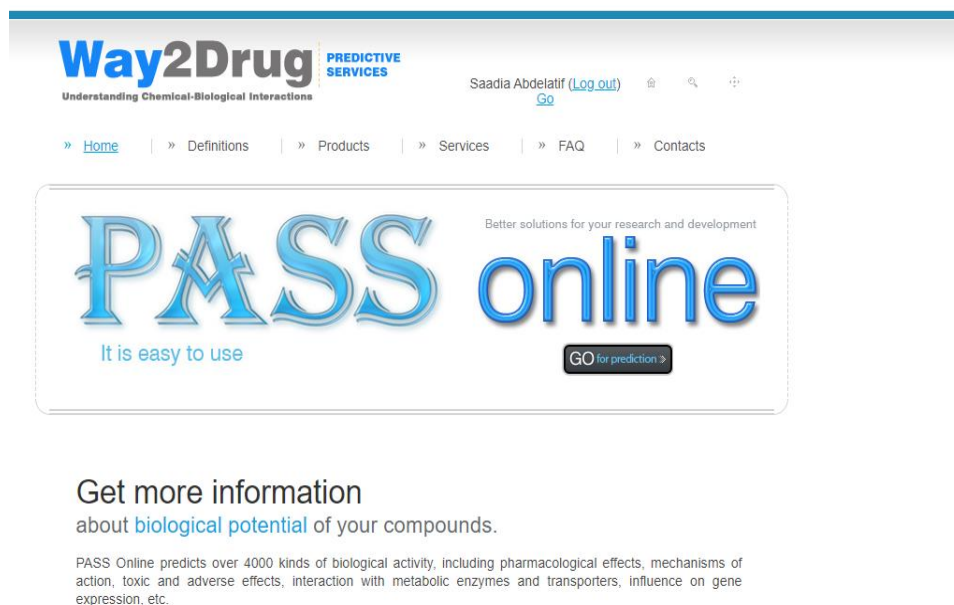


Figure 1: L'interface du logiciel PAAS.

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

PASS basé sur l'exploitation de deux paramètres calculés Pa et Pi (figure 6).

Pa (probabilité "d'être actif") estime la probabilité que le composé étudié appartienne à la sous-classe des composés actifs (ressemble aux structures des molécules, qui sont les plus typiques dans un sous-ensemble des "actifs"[12].

Pi (probabilité "d'être inactif") estime la probabilité que le composé étudié appartienne à la sous-classe des composés inactifs (ressemble aux structures de molécules, qui sont les plus typiques d'un sous-ensemble de "inactifs" [12].

All Pa>Pi Pa>0,3 Pa>0,7

Pa	Pi	Activity
0,967	0,002	Aldehyde oxidase inhibitor
0,960	0,001	Histidine kinase inhibitor
0,917	0,003	CYP2A6 substrate
0,915	0,005	HIF1A expression inhibitor
0,912	0,004	CYP2A substrate
0,910	0,004	CYP1A substrate
0,905	0,001	CF transmembrane conductance regulator agonist
0,905	0,004	CYP1A2 substrate
0,901	0,005	Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor
0,903	0,011	CYP2C12 substrate

Figure 2: Exemple de représentation des résultats de calcul par logiciel PASS.

II.2. SwissADME:

SwissADME est un programme en ligne utilisé pour calculer les descripteurs physico-chimiques, ainsi que pour prédire les paramètres ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion), les propriétés pharmacocinétiques, la nature druglike d'une ou plusieurs petites molécules a intérêt thérapeutique [13].

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

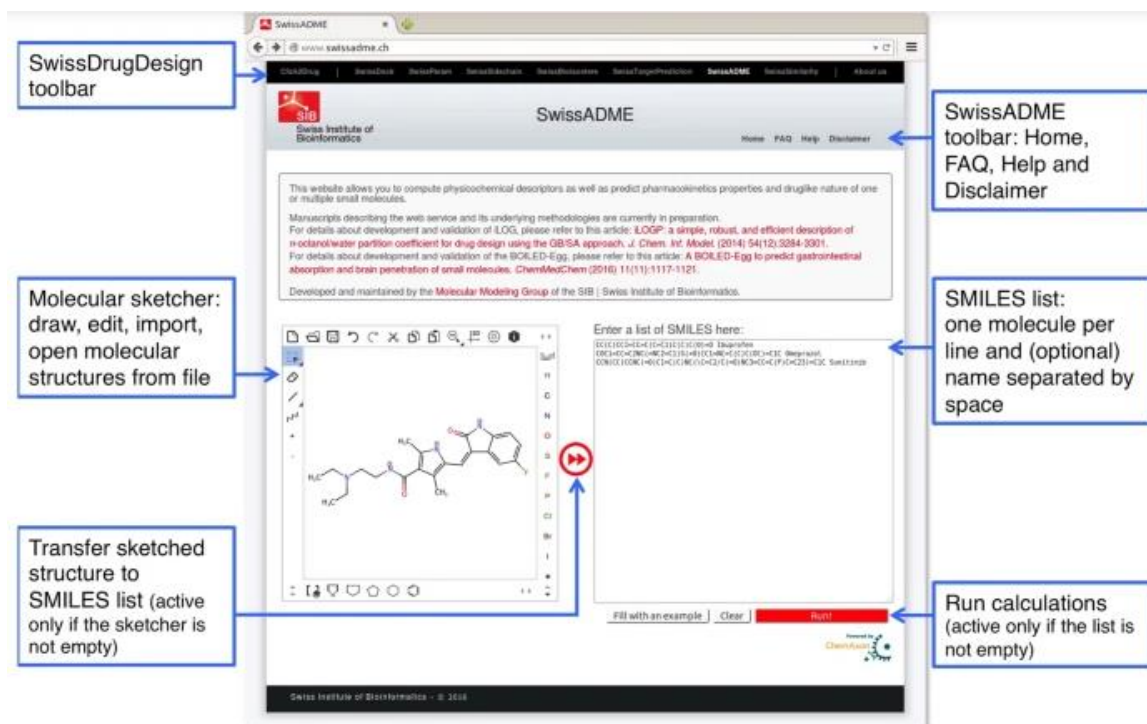


Figure3: L'interface de programme SwissADME.

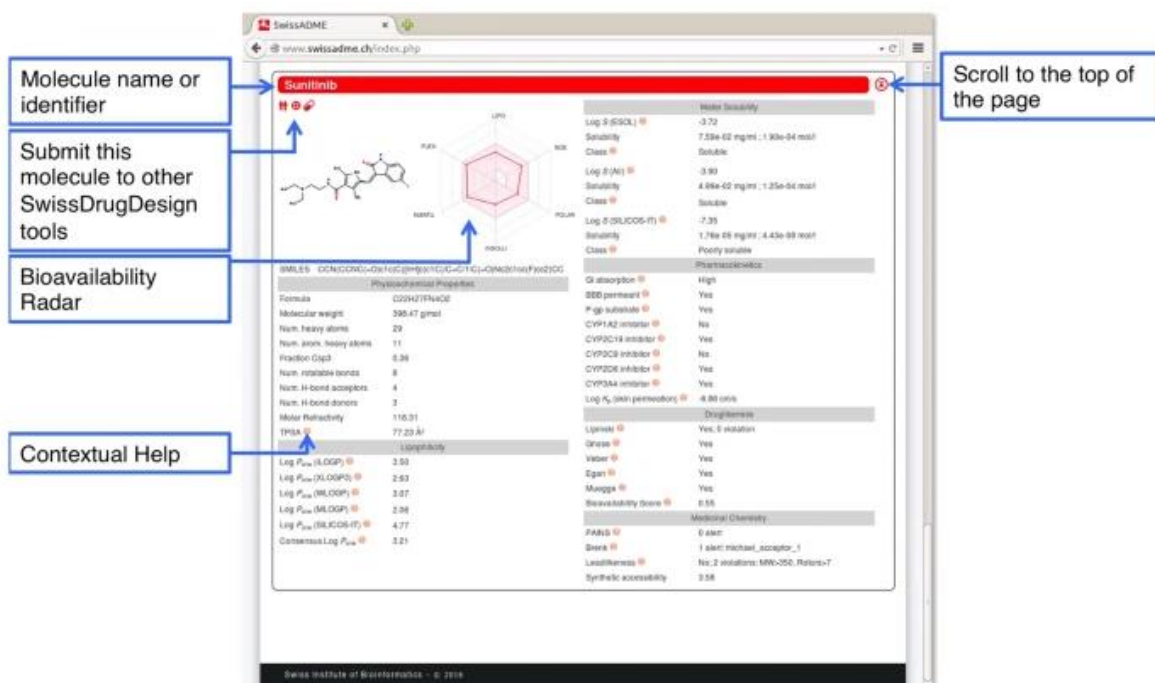


Figure 4: Exemple d'affichage des résultats de calcul par SwissADME. [13]

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

Le terme ADME représente une abréviation de quatre propriétés pharmacologiques des molécules bioactives a été décrite par Nelson en 1961. Il regroupe les paramètres suivants : l'Adsorption, la Distribution, le Métabolisme et l'Élimination. [14].

Pour un médicament efficace, une molécule puissante doit atteindre sa cible dans le corps en quantité suffisante et d'y rester sous sa forme bioactive assez longtemps pour l'action à se produire. Le développement de médicaments implique l'évaluation de l'absorption, de la distribution, métabolisme et excrétion (ADME) de plus en plus tôt dans le processus de découverte, à un stade où les composés considérés sont nombreux mais l'accès aux échantillons physiques est limité. Dans ce contexte, les modèles informatiques sont des alternatives valides aux expériences.

Une grande variété de méthodes *in silico* partagent l'objectif de prédire les paramètres ADME à partir de la structure moléculaire [15]. Il convient de noter que les travaux de Lipinski ont étudiés la biodisponibilité orale d'une grande série de composés pour définir des intervalles physicochimiques qui sont vérifiés la biodisponibilité par administration par voie orale [16].

ADME/Tox sont des éléments essentiels de tout programme de développement de nouveaux médicaments; en respectant les règles qui favorisent la biodisponibilité de ces médicaments [17].

ADME précoce fournit les données nécessaires pour sélectionner les candidats précliniques, dosage approprié forme, formulation et accélère le délai pour les demandes de drogue nouvelle à l'enquête; présentation par la suite d'une demande de nouveaux médicaments recommandés par la FDA (Food and Drug Administration) [18,19].

II.2.1. Pharmacocinétique:

La pharmacocinétique correspond au sort du médicament (appelé aussi principe actif) dans l'organisme. Elle a pour but de définir la dose, le rythme d'administration et la durée de traitement [20].

La pharmacocinétique est composée de 4 étapes qui forment l'acronyme **ADME** pour :

- ❖ l'**A**bsorption, appelée aussi résorption ;
- ❖ la **D**istribution ;
- ❖ la **M**étabolisation, appelée aussi biotransformation ;
- ❖ l'**É**limination.

La pharmacocinétique se porte également sur les variations dans la biodisponibilité, physiologique ou les conditions pathologiques, l'ajustement de la dose liée à la maladie et les interactions médicamenteuses [21].

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

La pharmacocinétique explique le parcours des molécules médicamenteuses du site d'application vers la circulation systémique, à travers diverses barrières, leur conversion en une autre forme chimique et enfin leur sortie du corps [22].

II.2.2. Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination (ADME):

Le savoir de ces processus est extrêmement important pour les chercheurs, car ils forment la base sur lequel le schéma posologique optimal est choisi et explique la variation de la réponse à la pharmacothérapie.

Les principaux processus impliqués dans la pharmacocinétique sont l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion. L'ensemble de ces paramètres sont connus par l'acronyme « ADME ». La distribution, le métabolisme et l'excrétion sont parfois désignés collectivement comme disposition de médicaments.

- l'absorption est le processus par lequel les médicaments pénètrent dans le corps.
- La distribution est le processus par lequel les principes actifs se déplacent dans le corps.
- Le métabolisme est le processus par lequel les médicaments sont modifiés chimiquement pour les rendre suffisamment soluble dans l'eau pour l'excrétion dans l'urine ou dans les fèces (via les voies biliaires).
- L'excrétion est le processus par lequel les médicaments quittent le corps [23].

❖ Absorption:

Le but principal de l'administration du médicament est que le principe actif du médicament atteigne le site et d'initier une série d'événements qui aboutiront à un effet médicamenteux. La somme de tous les processus qui sont entraînés dans le déplacement de la molécule médicamenteuse du site d'administration à l'intérieur du corps est considérée comme une absorption. Dans la plupart des cas pratiques, l'administration est considérée comme complète lorsque tout le médicament est entré dans le système circulatoire et qu'il est donc étant distribué dans le corps [24].

Les voies d'administration peuvent être considérées en deux catégories :

Entérale: Les médicaments administrés par voie orale sont normalement avalés avant d'être absorbés dans l'estomac ou l'intestin grêle, après qu'ils pénètrent dans le système veineux portail et traversent le foie avant avoir accès à la circulation systémique.

Certains médicaments introduits dans l'appareil digestif sont absorbé directement dans la circulation systémique sans passer par le foie (p. ex. par l'intermédiaire du voies buccales, sublinguales ou rectales), évitant ainsi les dangers potentiels de l'acide gastrique, liaison à la nourriture, et le métabolisme par la paroi intestinale ou les enzymes hépatiques (métabolisme de premier passage).

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

Parentéral: Cela inclut toute voie qui évite l'absorption par le tractus gastro-intestinal, telle que l'administration par injection, inhalation ou application sur la peau [25].

❖ **Distribution:**

La distribution du médicament à son site d'action est la description de la distribution différentielle du principe actif dans le corps. La distribution est plus facile à considérer après que la biodisponibilité et la clairance ont une concentration définie à l'état d'équilibre dans la circulation systémique. Il est important de savoir si la concentration dans le gradient entre la circulation systémique et le site d'action est souvent déterminé par le processus de transport. Bien que le transport des médicaments soit important pour la biodisponibilité et la clairance, il se trouve plus confortablement sous la rubrique de la distribution [26].

Certains médicaments quittent la circulation sanguine très lentement parce qu'ils se lient étroitement aux protéines circulantes dans le sang. D'autres médicaments quittent rapidement la circulation sanguine et pénètrent dans d'autres tissus parce qu'ils sont moins liés aux protéines sanguines. Certaines ou presque toutes les molécules d'un médicament dans le sang peuvent être liées aux protéines sanguines. La partie liée aux protéines est généralement inactive. Comme la drogue non liée est distribuée aux tissus et sa concentration dans la circulation sanguine est diminuée, les protéines sanguines libèrent progressivement la drogue liée à eux. Ainsi, le médicament lié dans la circulation sanguine peut agir comme un réservoir pour la drogue [27].

❖ **Métabolisme:**

Le métabolisme est le processus par lequel les médicaments sont chimiquement modifiés à partir d'une forme liposoluble conviennent à l'absorption et à la distribution sous une forme plus soluble dans l'eau qui convient à l'excrétion.

Le processus élimine efficacement le médicament parent.

Le métabolisme des médicaments se déroule en deux phases:

Phase I: dans laquelle les molécules médicamenteuses sont modifiées chimiquement (par oxydation, réduction ou hydrolyse) pour les rendre aptes aux réactions de phase II ou à l'excrétion. L'oxydation est de loin la plus courante forme de réaction de phase I et implique principalement des membres de la famille du cytochrome P450, des enzymes membranaires dans le réticulum endoplasmique lisse des cellules de foie. La plupart des produits du métabolisme de phase I sont pharmacologiquement inactifs, bien que certains conservent l'activité à un plus grand ou à un degré moindre, tandis que d'autres ont une activité que la drogue parente ne possédait pas.

Phase II: dans laquelle les molécules du métabolite de phase I (ou dans certains cas, du médicament inchangé) se combinent avec un substrat endogène pour former un conjugué inactif

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

qui est beaucoup plus soluble dans l'eau que le métabolite de phase I. Les réactions de phase II comprennent la synthèse de produits à l'état de glucuronide ou de sulfate, acétylation ou méthylation, et conjugaison avec le glutathion [28]. Les substances qui résultent de métabolisme (métabolites) peuvent être inactives, ou ils peuvent être similaires ou différents de médicament original de l'activité thérapeutique ou la toxicité. Certains médicaments, appelés pro-médicaments, sont administrés dans une forme inactive, qui est métabolisée en une forme active. Les métabolites peuvent être métabolisés d'avantage au lieu d'être excrété par le corps. Les métabolites suivants sont ensuite excrétés. Excrétion implique l'élimination du médicament du corps, par exemple, dans l'urine ou par la bile [29].

❖ **Élimination:**

Enfinement tous les médicaments sont éliminés du corps. Ils peuvent être éliminés après avoir été chimiquement altérés (métabolisés), ou ils peuvent être éliminés sous sa forme initiale. La plupart des drogues, en particulier les médicaments solubles dans l'eau et leurs métabolites sont éliminés en grande partie par les reins dans l'urine. Par conséquent, le dosage des médicaments dépend en grande partie de la fonction rénale. Certains médicaments sont éliminés par excrétion dans la bile (un liquide jaune verdâtre sécrété par le foie et stocké dans la vésicule biliaire).

Certains médicaments sont excrétés dans la salive, la sueur, le lait maternel et même l'air expiré. La plupart sont excrétés dans de petites quantités. L'excrétion de médicaments dans le lait maternel n'est importante que parce que le médicament peut affecter le nourrisson qui allaite. L'excrétion dans l'air expiré est le principal moyen d'inhalation des anesthésiques sont éliminés [30].

II.3. Way2Drug(Cell-line):

CLC-Pred (Cell Line Cytotoxicity Predictor) est un programme en ligne utilisé pour la prédiction in silico de l'effet cytotoxique des composés chimiques dans les lignées cellulaires non transformées et cancéreuses basées sur une formule structurale. CLC-Pred fournit une prédiction de la cytotoxicité d'un composé chimique pour évaluer la pertinence de l'inclusion de la substance dans le dépistage expérimental [31].

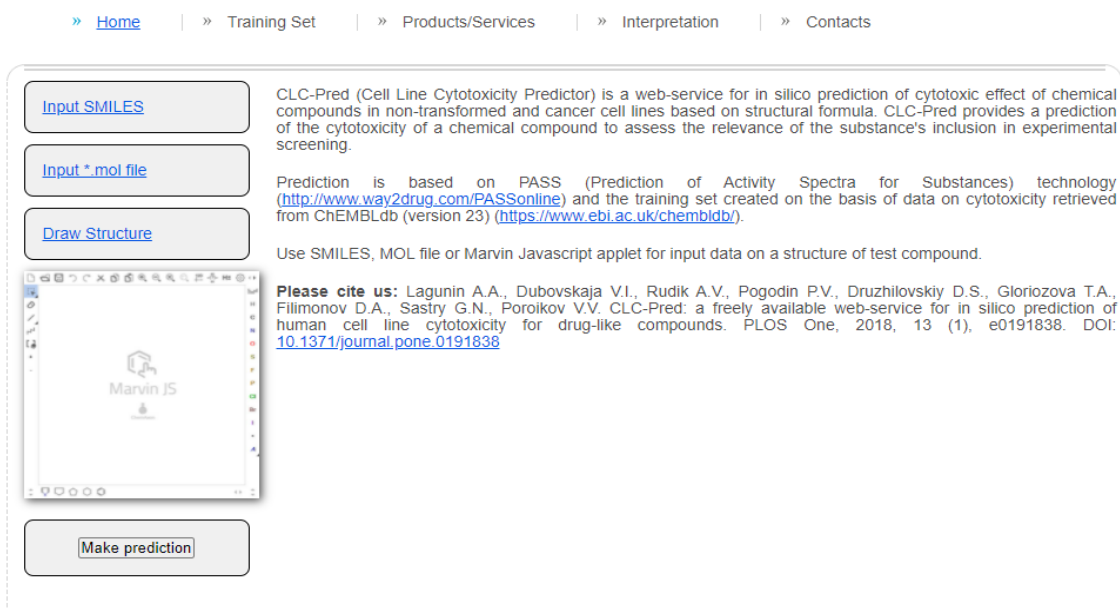


Figure 5: L'interface du logiciel Way2Drug(Cell-line).

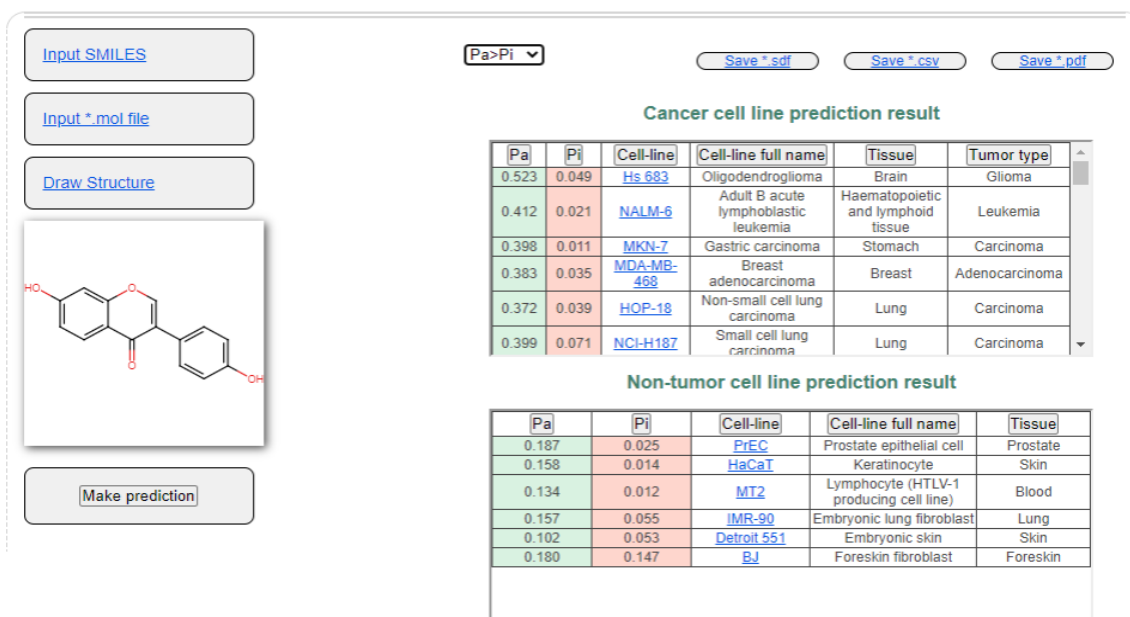


Figure 6: Exemple de représentation des résultats de calcul par logiciel Way2Drug(Cell-line).

II.4. Docking moléculaire:

Est un processus qui consiste à placer des molécules dans des configurations appropriées pour interagir avec un récepteur. Docking moléculaire est un processus naturel qui se produit en quelques secondes dans un lorsqu'elle est liée les unes aux autres pour former un complexe stable.

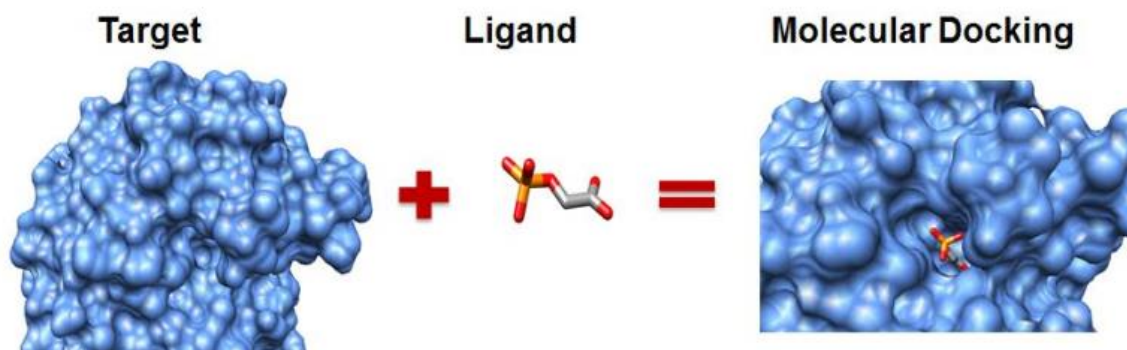


Figure 7: Procédé de docking moléculaire.

Docking moléculaire est fréquemment utilisé pour prédire l'orientation de liaison des candidats médicaments à petites molécules à leurs cibles protéiques afin de prédire l'affinité et l'activité de la petite molécule. Donc le docking moléculaire joue un rôle important dans la conception rationnelle des médicaments [32].

Les programmes docking moléculaire utilisent des fonctions de notation pour estimer l'énergie de liaison de l'complexes ligand-récepteur prédits. Les fonctions de notation sont classées dans les trois catégories suivantes groupes : fonctions fondées sur le champ de force, empiriques et fondées sur la connaissance [33].

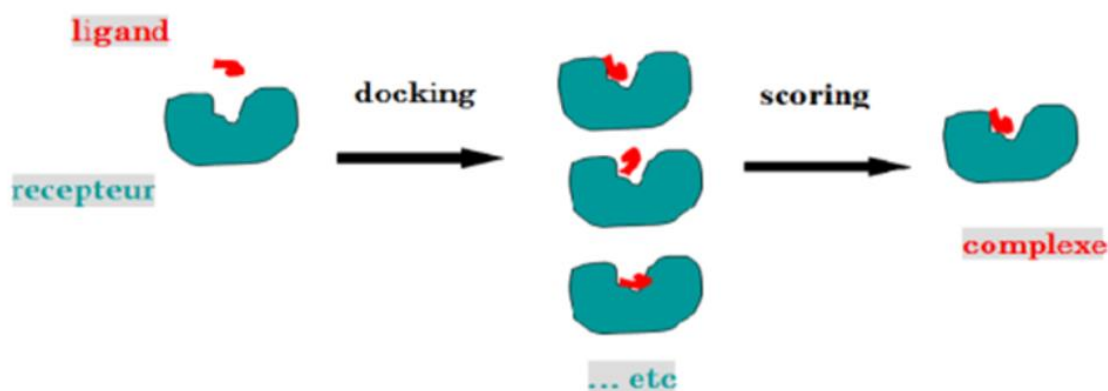


Figure 8 : Etapes typique d'un docking moléculaire.

II.4.1. Différents types d'interactions:

Les interactions entre les particules peuvent être définies comme une conséquence des forces entre les molécules contenues par les particules. Ces forces sont divisées en quatre catégories.

- ❖ Forces électrostatiques: Forces d'origine électrostatique dues aux charges. Les interactions les plus courantes sont charge-charge, charge-dipôle et dipôle-dipôle.
- ❖ Forces électrodynamiques: La plus connue sont les interactions de Van der Waals.
- ❖ Forces stériques: Les forces stériques sont générées lorsque les atomes de différentes molécules entrent en contact étroit les uns avec les autres et commencer à affecter la réactivité des uns et des autres. Les forces qui en résultent peuvent affecter les réactions chimiques et l'énergie libre d'un système.
- ❖ Forces liées aux solvants: Ce sont des forces générées en raison de réactions chimiques entre le solvant et la protéine ou le ligand. Les liaisons hydrogène (interactions hydrophiles) et les interactions hydrophobes.
- ❖ Autres facteurs physiques: Les changements conformationnels dans la protéine et le ligand sont souvent nécessaire à un docking réussi [34].

II.4.2. Protocole général de docking moléculaire:

Les approches actuellement utilisées sont exclusivement basées sur des calculs et sont évaluées par utilisation des outils de visualisation. Ces approches peuvent être scindés en quatre à cinq phases successives : [35].

1. Choix du mode de représentation des protéines (tous les atomes, pseudo-atomes, grille, etc.).
2. Exploration conformationnelle (position du corps rigide / orientation du ligand et / ou flexible position / orientation / forme du ligand).
3. Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de score) de conformations résultant de l'exploration.
4. Regroupement par similitudes et classification par évaluation ou réévaluation plus fine de la note, accompagné d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats lorsque le score ne permette de distinguer la conformation native des différentes conformations générées.
5. Une étape optionnelle d'affinage des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire.

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

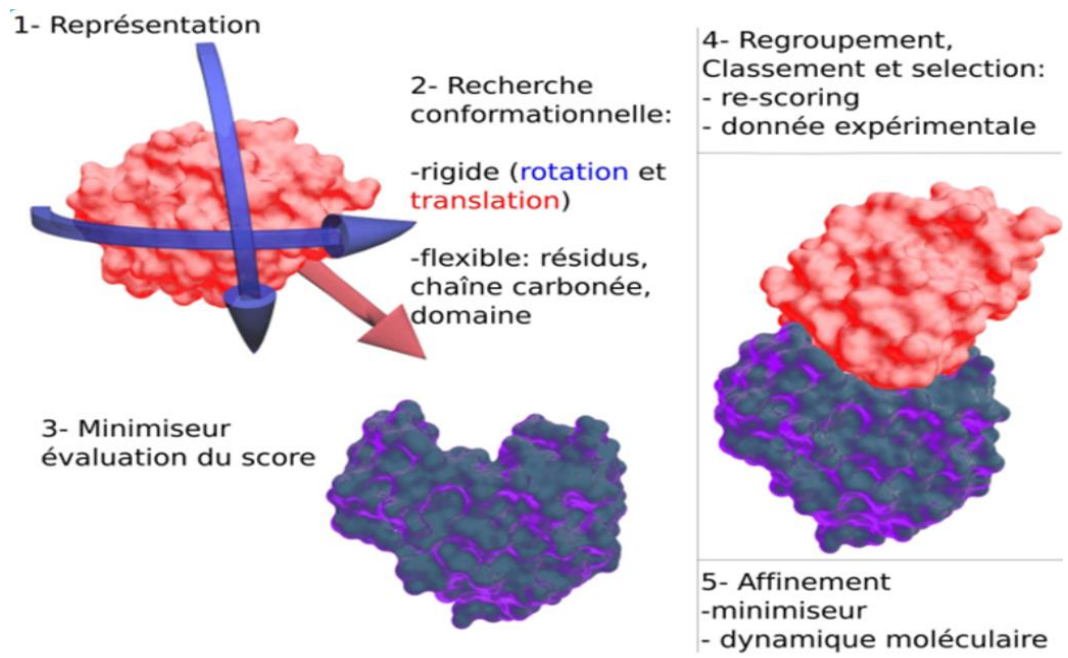


Figure 9 : Protocole général de docking moléculaire.

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

Références:

- [1] Dr. Sharaoui. W. Pharm3an- pharmacognosie19-flavonoides.
- [2] <http://www.way2drug.com/PASSOnline/index.php>
- [3] <http://www.swissadme.ch/>
- [4] Doogue, Matthew P., and Thomas M. Polasek. "The ABCD of clinical pharmacokinetics." (2013): 5-7.
- [5] Tian, Sheng, et al. "The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research." *Advanced drug delivery reviews* 86 (2015): 2-10.
- [6] Lipinski, Christopher A., et al. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews* 23.1-3 (1997): 3-25.
- [7] Reichel, Andreas. "The role of blood-brain barrier studies in the pharmaceutical industry." *Current drug metabolism* 7.2 (2006): 183-203.
- [8] Baumann, Andreas. "Nonclinical development of biopharmaceuticals." *Drug discovery today* 14.23-24 (2009): 1112-1122.
- [9] Gannu, Ramesh, et al. "Optimization of matrix diffusion mediated transdermal therapeutic system for bupropion: effect of variables on in vitro release, ex vivo permeation and pharmacotechnical properties." *ACTA PharmaceuticaScientia* 52.3 (2010).
- [10] Peters, Sheila Annie. *Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulations: principles, methods, and applications in the pharmaceutical industry*. John Wiley & Sons, 2012.
- [11] Currie, Geoffrey M. "Pharmacology, part 2: introduction to pharmacokinetics." *Journal of nuclear medicine technology* 46.3 (2018): 221-230.
- [12] Talevi, Alan, and Pablo AM Quiroga, eds. *ADME Processes in Pharmaceutical Sciences: Dosage, Design, and Pharmacotherapy Success*. Springer, 2018.
- [13] Mangoni, Arduino A., and Stephen HD Jackson. "Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: basic principles and practical applications." *British journal of clinical pharmacology* 57.1 (2004): 6-14.
- [14] Martinez, Marilyn N., and Gordon L. Amidon. "A mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: a review of fundamentals." *The Journal of Clinical Pharmacology* 42.6 (2002): 620-643.
- [15] Shekhawat, Prachi B., and Varsha B. Pokharkar. "Understanding peroral absorption: regulatory aspects and contemporary approaches to tackling solubility and permeability

Chapitre II : Méthodes de calculs utilisées

- hurdles." *Acta pharmaceutica sinica* B 7.3 (2017): 260-280.
- [16] Doogue, Matthew P., and Thomas M. Polasek. "The ABCD of clinical pharmacokinetics." (2013): 5-7.
- [17] Shargel, Leon, B. C. Andrew, and Susanna Wu-Pong. *Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics*. Stamford: Appleton & Lange, 1999.
- [18] Benet, Leslie Z. "The drug transporter- metabolism alliance: uncovering and defining the interplay." *Molecular pharmaceutics* 6.6 (2009): 1631-1643.
- [19] Salvo, Susan G. *Mosby's Pathology for Massage Therapists-E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2017.
- Seng kok-Yong, Lee Lawrence «Drug Distribution and Elimination» Nov 2015.
- [20] <http://way2drug.com/Cell-line/>
Docking Principes et méthodes Karim Mezhoud CNSTN kmezhoud@gmail.com.
- [21] Adcock, Stewart A., and J. Andrew McCammon. "Molecular dynamics: survey of methods for simulating the activity of proteins." *Chemical reviews* 106.5 (2006): 1589-1615.
- [22] Supriya, T., et al. "An overview on molecular docking." *American Journal of Biological and Pharmaceutical Research* 3 (2016): 83-89.
- [23] Ferreira, Leonardo G., et al. "Molecular docking and structure-based drug design strategies." *Molecules* 20.7 (2015): 13384-13421.
- [24] Lam, Heidi, et al. "Empirical studies in information visualization: Seven scenarios." *IEEE transactions on visualization and computer graphics* 18.9 (2011): 1520-1536.

***Chapitre III: Les résultats et
discussion***

Chapitre III : Les résultats et discussion

Introduction:

Dans le cadre de la recherche dans le domaine pharmaceutique, les propriétés relatives à l’Absorption, la Distribution, le Métabolisme, l’Élimination (ADME) sont cruciales pour le succès des phases cliniques lors de la conception de nouveaux médicaments. Durant ce processus, la chémoinformatique est régulièrement utilisée afin de prédire des molécules bioactives et d’améliorer leurs propriétés pharmacocinétiques.

L’interaction entre une protéine et son substrat (fréquemment : Van der Waals, liaison hydrogène, effet hydrophobe...) est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre comment cela fonctionne signifie définir quels résidus sont impliqués:

- L’affinité entre deux molécules.
- Les distances entre les acides aminés du site actif de l’enzyme et ceux des Inhibiteurs.
- L’énergie de l’interaction.

Ces dernières années, les chercheurs ont essayé de combiner les différentes méthodes de modélisation, à savoir: dynamique moléculaire et amarrage moléculaire. L’amarrage moléculaire est utilisé pour prédire la structure du complexe intermoléculaire résultant de l’association entre au moins deux molécules [1], en revanche, la dynamique moléculaire est utilisée comme méthode de validation des résultats de l’amarrage moléculaire. L’utilisation de ces méthodes a conduit à de nombreux succès dans le domaine de découverte de nouvelles molécules bioactives (médicaments) [2,3].

Dans ce chapitre, nous avons inclus tous les résultats de calcul effectués et leur discussion. Dans ce travail nous avons réalisé étude *in silico* sur une série de flavonoïdes (figure 1) dans l’objectif est de prédire les activités biologique et les propriétés pharmacocinétiques des composés étudiés. Une étude par le docking moléculaire a été réalisée sur la même série de molécules et l’enzyme chlordécone réductase.

Chapitre III : Les résultats et discussion

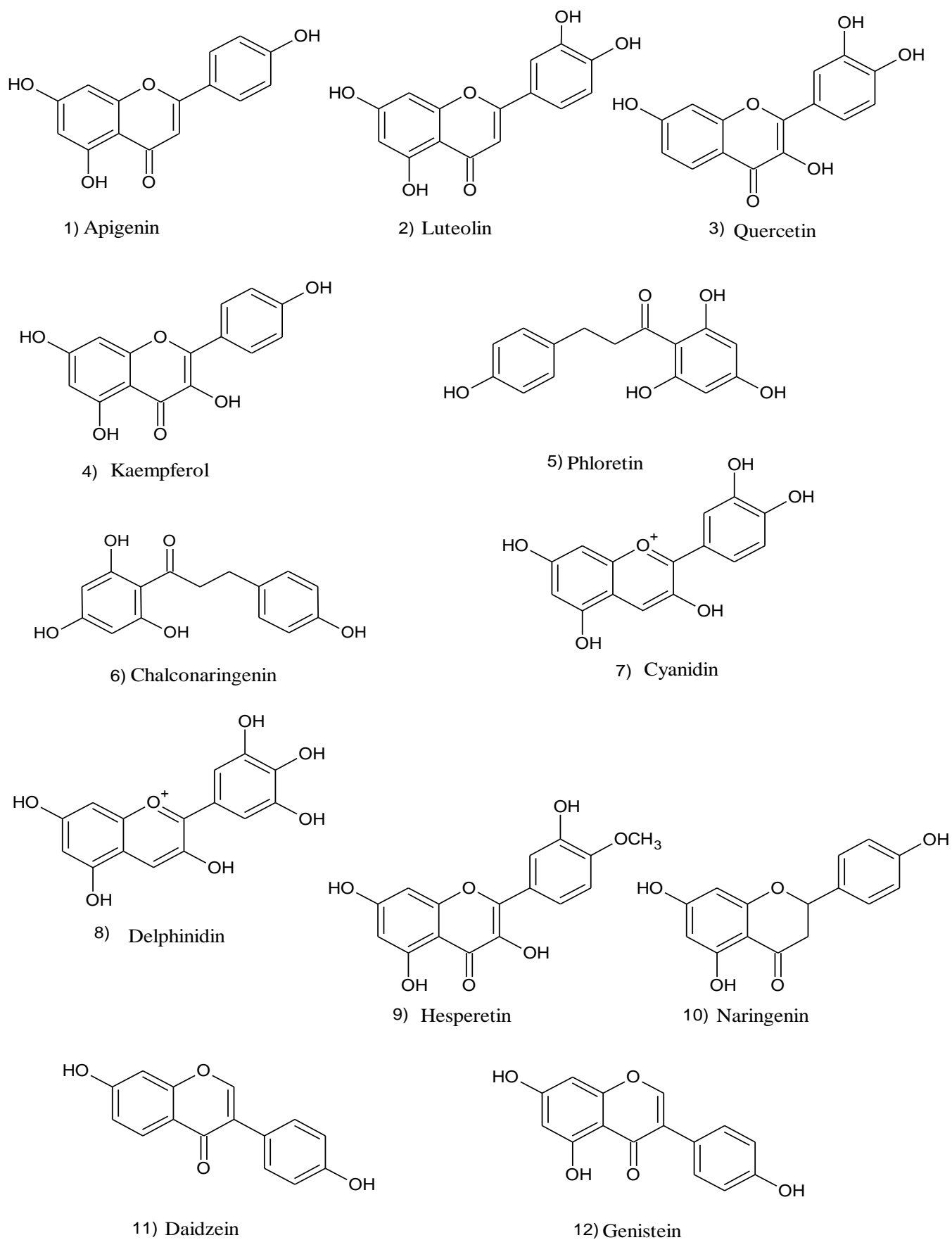


Figure 1: Structure du squelette de base des flavonoïdes et de leurs classes.

III.1. Matériaux et méthodes:

III.1.1. Prédiction *in silico* des propriétés ADME:

L'étude *in silico* des propriétés ADME (Adsorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion) est une étape importante pour l'évaluation des propriétés pharmacologiques des molécules étudiées. Toutes ces propriétés étaient calculé par le serveur web en ligne SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) [4, 5].

Notre étude basée sur l'analyse des propriétés pharmaceutiques qui favorisent la biodisponibilité de molécules étudiées. Les propriétés ciblés dans cette étude sont: la masse molaire, nombre de liaisons hydrogène donneurs et accepteurs, nombre de liaisons rotatables [6], la lipophilie Log P (MLOGP) [6], l'hydrosolubilité, les propriétés pharmacocinétiques(GI absorption, perméabilité de BBB , substrat de P-gp, inhibiteurs de CYP1A2, inhibiteurs de CYP2C19, inhibiteurs de CYP2C9, inhibiteurs de CYP2D6, inhibiteurs deCYP3A4).[7].

Log P une mesure la lipophilie de la molécule est le logarithme du rapport de la concentration de substance médicamenteuse entre deux solvants organique et aqueuse. La règle de Lipinski prescrit une limite supérieure de 5 pour les paramètres cités précédemment. L'augmentation des valeurs du log P augmente la lipophilie de la substance chimique. La solubilité aqueuse d'un composé affecte de manière significative son absorption et les caractéristiques de distribution. De l'autre côté, une faible solubilité dans l'eau donne une mauvaise absorption, par conséquent, l'objectif général est d'éviter la faible hydrosolubilité des composés.[8].

III.1.2. Prédiction *in silico* des propriétés biologiques:

Pour l'évaluation *in silico* PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), est utilisée pour prédire les propriétés biologiques des molécules étudiées. Toutes ces propriétés étaient calculées par le serveur web en ligne PASS (<http://www.way2drug.com/PASSOnline/index.php>).

En particulier, notre étude est basée sur la prédiction du potentiel biologique des molécules bioactives.

III.1.3. Docking moléculaire:

III.1.3.1. Préparation du récepteur et ligands:

a. Préparation de l'enzyme:

L'enzyme utilisée dans cette partie est la chlordécone réductase, son code PDB est 2FVL, qui est la coenzyme commune pour tous les résultats obtenus dans l'étude *in silico* way2dru des flavonoïdes étudié.

La structure 3D de de la chlordécone réductase a été obtenue par Molegro Virtual Docker. On note que l'enzyme étudiée se forme par 3 unités sous la forme de trimère (A, B, C) (Fig 2). Notre étude est focalisée sur ces 3 unités (A, B, C) qui constitue de 969 résidus d'acide aminé.

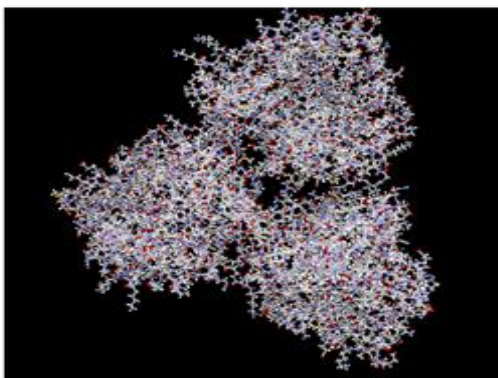


Figure 2: La forme trimère d'enzyme

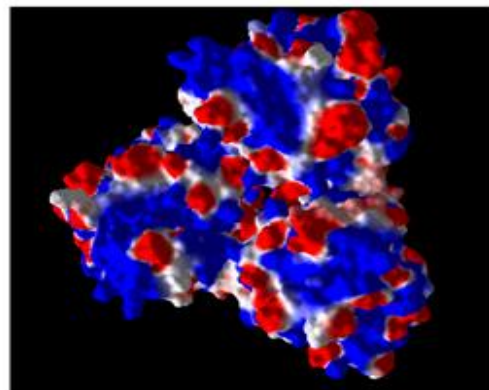


Figure 3: La forme de surface électrostatique de l'enzyme.

b. Minimisation de l'énergie:

❖ Optimisation de la chlordécone réductase :

L'optimisation de notre enzyme a été effectuée par le logiciel MVD [9].

❖ Optimisation des ligands :

L'optimisation de tous les ligands a été effectuée par le programme HyperChem (7.0) [10] en utilisant la mécanique moléculaire avec le champ de force (MM+).

c. Docking moléculaire:

C'est l'étape qui peut étudier les interactions entre les résidus du site actif de l'enzyme étudiée et les inhibiteurs pour former un complexe stable, le logiciel Molegro Virtual Docker (MVD) a été utilisé pour réaliser cette étude.

d. Etape de docking:

❖ Principe de base :

On connaît la structure 3D de la cible et on veut calculer l'interaction d'une série de molécules avec l'enzyme.

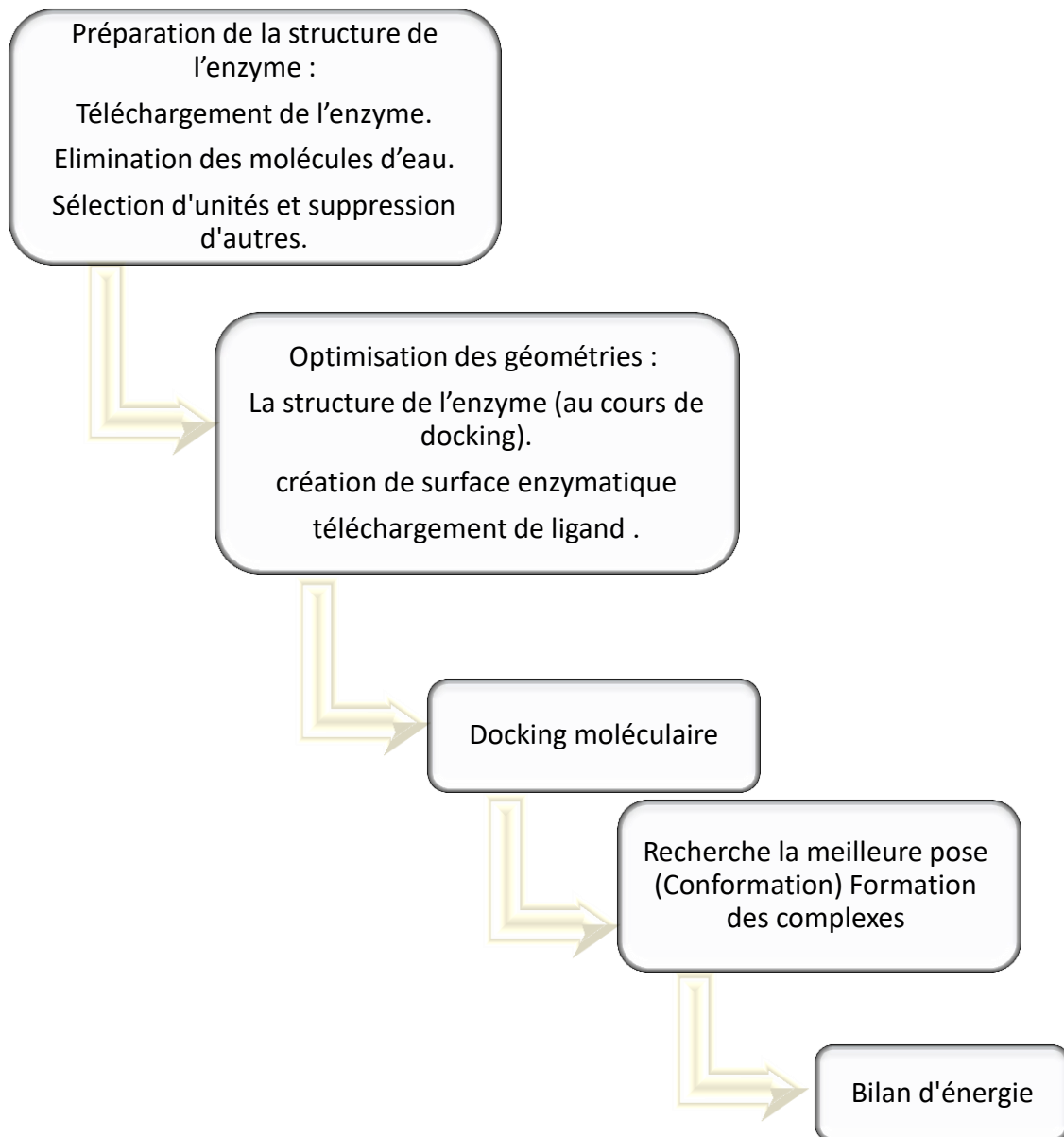


Figure 4 : Protocol de calcul.

Chapitre III : Les résultats et discussion

III.2. Résultats et discussion:

III.2.1. Etude *in silico* des propriétés ADME:

La prédiction des propriétés ADME et l'activité biologique joue un rôle important dans le processus de conception des médicaments parce que ces propriétés expliquent l'échec d'environ 50-60% de tous les médicaments dans les Phases. De plus, on estime que près de 50 % des candidats-médicaments échouent en raison de l'efficacité inacceptable [11] et que jusqu'à 40% des candidats-médicaments ont échoué dans le passé en raison de toxicité [12].

Une étude computationnelle de 6 familles de flavonoïdes (12 molécules) a été réalisée pour l'évaluation des propriétés ADME et l'activité biologique. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau1: Propriétés chimiques des flavonoïdes étudiés.

Molécules	Masse molaire g/mol	Nbr. liaisons H accepteurs	Nbr. liaisons H donneurs	Nbr. Liaisons rotatables
1	270.24	5	3	1
2	286.24	6	4	1
3	286.24	6	4	1
4	286.24	6	4	1
5	274.27	5	4	4
6	274.27	5	4	4
7	287.24	6	5	1
8	303.24	7	6	1
9	316.26	7	4	2
10	272.25	5	3	1
11	254.24	4	2	1
12	270.24	5	3	1

Nbr: Nombre, **H:** hydrogène

Les résultats présentés dans le tableau 1 ont montré que les douze molécules étudiées: la masse molaire variait de 254.24 à 316.246(<500), Nbr. liaisons H accepteurs variait de 4 à 7(<10), Nbr. de liaisons H donneurs variait de 3 à 6(<5) (À l'exception du composé chimique 8 est plus grand que 5), Nbr. Liaisons rotatables variait de 1 à 4 (<10).

Chapitre III : Les résultats et discussion

Tableau 2: Résultats de calcul de lipophilie des flavonoïdes étudiés.

Molécules	Log P(MLOGP)
1	0.52
2	-0.03
3	-0.03
4	-0.03
5	1.10
6	1.10
7	0.32
8	-0.22
9	-0.31
10	0.71
11	1.08
12	0.52

MLog P : logarithme du coefficient de partage du composé entre le n-octanol et l'eau.

Nous avons constaté que les valeurs Log P sont variées de -0.31 à 1.10 (tableau 2) (Plus la valeur du log P est petite, elle est moins soluble parce que le composé devient lipophile). Nous concluons que la molécule 9 est la plus hydrophile et la molécule 5 est plus lipophile.

Tableau3: Résultats de calcul de l'hydrosolubilité des flavonoïdes étudiés.

Molécules	Solubility(mg/ml)	Solubility
1	0.41	3.07e-02 mg/ml ; 1.14e-04 mol/l
2	0.76	5.63e-02 mg/ml ; 1.97e-04 mol/l
3	0.46	1.27e-01 mg/ml ; 4.43e-04 mol/l
4	0.51	1.40e-01 mg/ml ; 4.90e-04 mol/l
5	0.42	1.15e-01 mg/ml ; 4.19e-04 mol/l
6	0.42	1.15e-01 mg/ml ; 4.19e-04 mol/l
7	0.48	1.31e-01 mg/ml ; 4.56e-04 mol/l
8	0.72	1.97e-01 mg/ml ; 6.49e-04 mol/l
9	0.38	2.87e-02 mg/ml ; 9.08e-05 mol/l
10	1.18	8.74e-02 mg/ml ; 3.21e-04 mol/l
11	1.01	7.51e-02 mg/ml ; 2.95e-04 mol/l
12	0.69	5.11e-02 mg/ml ; 1.89e-04 mol/l

Chapitre III : Les résultats et discussion

Le tableau 3 indique que la solubilité varie 0.38 à 1.18 (mg/ml). Dans la mesure que, plus la solubilité augmente, plus les propriétés d'absorption et de distribution sont augmentent. Nous concluons que la molécule 10 est la plus hydrosoluble.

Tableau 4: Résultats de calcul des pharmacocinétiques.

Mol.	GI absorption	Perméabilité de BBB	Substrat de P-gp	Inhibiteur de CYP1A2	Inhibiteur de CYP2C19	Inhibiteur de CYP2C9	Inhibiteur de CYP2D6	Inhibiteur de CYP3A4
1	Haute	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui
2	Haute	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui
3	Haute	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui
4	Haute	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui
5	Haute	Non	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
6	Haute	Non	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
7	Haute	Non	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non
8	Haute	Non	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non
9	Haute	Non	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Oui
10	Haute	Non	Oui	Oui	Non	Non	Non	Oui
11	Haute	Oui	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui
12	Haute	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui

Les résultats présentés dans le tableau 4 montrent que tous les composés présentent une absorption gastro-intestinale (GI) élevée. Tous les composés n'ont pas de perméabilité de BBB, Cela peut s'expliquer par la grande taille des molécules et la polarité élevée, sauf le composé 11. Tous les composés n'ont pas une liaison avec le P-glycoprotéine (P-gp) sauf les molécules 7, 8 et 10. Tous les composés sont des inhibiteurs du cytochrome P450 CYP1A2. Tous les composés ne sont pas des inhibiteurs du CYP2C19. Tous les composés ne sont pas inhibiteurs du CYP2C9 à l'exception des molécules 5, 6 et 9. La plupart des composés sont des inhibiteurs du CYP2D6 à l'exception des molécules 5, 6, 7, 8 et 10. Tous les composés sont des inhibiteurs du CYP3A4 sauf les molécules 7, 8.

Chapitre III : Les résultats et discussion

Tableau 5: Résultats d'étude de Druglikeness des flavonoïdes étudiés.

Les molécules	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Lipinski	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0	Oui; 0
	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion	viola- tion

On peut observer que tous les composés sont respectés la règle de Lipinski de 5, nous concluons que tous les composés sont biodisponibles pour l'administration par voie orale.

III.2.2. Prédiction *in silico* des propriétés biologiques:

Douze molécules de la famille des flavonoïdes ont été analysées par PASS pour prédire leur activité biologique. Pa (probabilité d'être actif) et Pi (probabilité d'être inactif) sont deux paramètres qui estiment que le composé peut être actif ou inactif respectivement pour chaque type d'activité du spectre d'activité biologique. Leurs valeurs varient de 0 000 à 1 000.

Les résultats obtenus ont montré que tous les molécules étudiées avaient une activité biologique inhibitrice de la chlordécone réductase. Les résultats ont également montré que les molécules sont impliquées dans l'activité biologique agoniste de l'intégrité de la membrane, Inhibiteur de perméabilité membranaire, Substrat de CYP2C12, inhibiteur de HIF1A, inhibiteur de kinase. Les molécules 1,2,3,4,5,9 ont la même activité biologique inhibiteur de l'aryl-alcool déshydrogénase (NADP+), inhibiteur de la P-benzoquinone réductase (NADPH), inhibiteur de la peroxydase, inhibiteur de la 2-déhydropantoate 2-réductase. Les molécules 1, 2, 4, 10 et 11 ont la même activité biologique antimutagène. Les molécules 1, 2, 3, 4, 9 ont la même activité biologique inducteur du CYP1A et les molécules 10, 11 et 12 ont la même activité biologique substrat du CYP1A.

Les résultats de PASS montrent que l'activité pharmacologique et toxicologique de ces composés est différente mais cette différence peut être due à la diversité entre les sites cibles et à l'activité réciproque des molécules spécifiques vers de telles cibles diversifiées et à leur activité physiologique différentielle.

Chapitre III : Les résultats et discussion

Pour calculer l'activité biologique des molécules étudiées par les valeurs obtenues dans les tableaux ci-dessous, nous utilisons la relation suivante:

$$P = \frac{1}{n} \sum \frac{P_a}{P_a + P_i}$$

P: Activité biologique de molécule.

P_a: probabilité d'être actif.

P_i: probabilité d'être inactif.

n: Le nombre d'activités biologiques à l'étude.

Tous les composés sont disposés dans l'ordre décroissant des valeurs de P et les composés ayant les valeurs les plus élevées de P qui ont le « potentiel » biologique le plus élevé ne sont sélectionnés que pour le criblage.

Remarque: Les résultats obtenus sont rapportés pour **Pa>0.9**.

Tableau 6: Résultats d'évaluation de l'activité biologique des flavonoïdes étudiés.

Les molécules	<i>P</i> ↗
3	1.039280375
5	0.9986531
4	0.9979718667
9	0.9979139063
6	0.9974576667
1	0.9974498947
10	0.9957832727
11	0.9956395
12	0.9950655455
2	0.9593129615
7	/
8	/

Les résultats du tableau 6 ont montrés que la molécule ayant la plus grande activité biologique est la molécule 3. (3 > 5 > 4 > 9 > 6 > 1 > 10 > 11 > 12 > 2).

Chapitre III : Les résultats et discussion

Tableau 7: Activité biologique de Apigenin (molécule 1).

Pa	Pi	Activité
0,973	0,001	Inhibiteur de la chlordécone réductase
0,967	0,002	Agoniste de l'intégrité de la membrane
0,946	0,002	Inhibiteur de perméabilité membranaire
0,946	0,004	Substrat CYP2C12
0,942	0,002	Inhibiteur de la 2-déhydropantoate 2-réductase
0,941	0,002	Inhibiteur de kinase
0,936	0,001	Inhibiteur de l'aryl-alcool déshydrogénase (NADP +)
0,937	0,003	Inhibiteur de l'aldéhyde oxydase
0,931	0,001	Inhibiteur de la P-benzoquinone réductase (NADPH)
0,931	0,003	Antagoniste des récepteurs de l'anaphylatoxine
0,924	0,002	Inhibiteur de la peroxydase
0,921	0,002	Antimutagène
0,918	0,002	Inhibiteur de l'histidine kinase
0,914	0,002	Inhibiteur de la NADPH-ferrihémostéine réductase
0,912	0,001	Inhibiteur de la quercétine 2,3-dioxygénase
0,911	0,005	Inhibiteur d'expression de HIF1A
0,907	0,002	Inducteur du CYP1A
0,906	0,003	Substrat UGT1A6
0,902	0,005	Inhibiteur de l'ubiquinol-cytochrome-c réductase

Tableau 8: Activité biologique de Luteoline (molécule 2).

Pa	Pi	Activité
0,978	0,001	Inhibiteur de la chlordécone réductas
0,965	0,003	Agoniste de l'intégrité de la membrane
0,964	0,003	Inhibiteur d'expression de HIF1A
0,953	0,002	Inhibiteur de perméabilité membranaire
0,952	0,002	Inhibiteur de la 2-déhydropantoate 2-réductase
0,947	0,001	Inhibiteur de l'aryl-alcool déshydrogénase (NADP +)
0,947	0,003	Inhibiteur de l'aldéhyde oxydase
0,942	0,001	Inhibiteur de la P-benzoquinone réductase (NADPH)

Chapitre III : Les résultats et discussion

0,940	0,001	Antimutagène
0,940	0,002	Inhibiteur de kinase
0,942	0,005	Substrat CYP2C12
0,936	0,002	Inhibiteur de la peroxydase
0,935	0,002	Amplificateur d'expression HMOX1
0,932	0,002	Inducteur du CYP1A
0,927	0,001	Inhibiteur de la NADPH-ferrihémoprotéine réductase
0,923	0,002	Substrat UGT1A6
0,918	0,003	Antagoniste des récepteurs de l'anaphylatoxine
0,914	0,001	Substrat SULT1A3
0,916	0,004	Amplificateur d'expression TP53
0,913	0,001	Inducteur du CYP1A1
0,912	0,002	Substrat UGT1A9
0,909	0,002	Inhibiteur de l'histidine kinase
0,906	0,001	Inhibiteur du glycérol déshydrogénase (NADP +)
0,902	0,001	Inhibiteur de la 2-déhydropantolactone réductase (spécifique A)
0,904	0,004	Substrat CYP1A
0,901	0,003	Vasoprotecteur

Tableau 9: Activité biologique de Quercetin (molécule 3).

Pa	Pi	Activité
0,978	0,001	Inhibiteur de la chlordécone réductase
0,966	0,002	Membrane integrity agonist
0,964	0,003	Inhibiteur d'expression de HIF1A
0,959	0,001	Inhibiteur de l'aryl-alcool déshydrogénase (NADP +)
0,956	0,001	Inhibiteur de la P-benzoquinone réductase (NADPH)
0,954	0,002	Inhibiteur de perméabilité membranaire
0,953	0,001	Inhibiteur de la peroxydase
0,953	0,002	Inhibiteur de la 2-déhydropantoate 2-réductase
0,950	0,002	Inhibiteur de kinase
0,943	0,001	Antimutagène
0,930	0,002	Inducteur du CYP1A
0,929	0,001	Inhibiteur de la NADPH-ferrihémoprotéine réductase

Chapitre III : Les résultats et discussion

0,926	0,007	Substrat CYP2C12
0,916	0,001	Inhibiteur de la quercétine 2,3-dioxygénase
0,914	0,004	Substrat CYP1A
0,911	0,002	Inducteur du CYP1A1
0,910	0,002	Substrat UGT1A9
0,912	0,005	Amplificateur d'expression TP53
0,907	0,001	Inhibiteur du glycérol déshydrogénase (NADP +)
0,909	0,004	substrat CYP1A1
0,906	0,001	Inhibiteur de la 2-déhydropantolactone réductase (spécifique A)
0,903	0,001	Inhibiteur de la cystathionine bêta-synthase
0,902	0,002	Inhibiteur de l'alcool déshydrogénase (NADP +)
0,901	0,003	Substrat UGT1A6

Tableau 10: Activité biologique de Kaempferol (molécule 4).

Pa	Pi	Activité
0,983	0,001	Inhibiteur de la chlordécone réductase
0,974	0,002	Agoniste de l'intégrité de la membrane
0,969	0,002	Inhibiteur d'expression de HIF1A
0,965	0,001	Inhibiteur de la 2-déhydropantoate 2-réductase
0,961	0,001	Inhibiteur de l'aryl-alcool déshydrogénase (NADP +)
0,959	0,001	Inhibiteur de kinase
0,959	0,001	Inhibiteur de la P-benzoquinone réductase (NADPH)
0,957	0,002	Inhibiteur de perméabilité membranaire
0,956	0,001	Inhibiteur de la peroxydase
0,951	0,001	Inhibiteur de la quercétine 2,3-dioxygénase
0,948	0,001	Antimutagène
0,947	0,001	Inhibiteur de la NADPH-ferrihémostéine réductase
0,945	0,002	Amplificateur d'expression HMOX1
0,944	0,002	Inducteur du CYP1A
0,931	0,001	Inhibiteur de la 2-déhydropantolactone réductase (spécifique A)
0,931	0,001	Inhibiteur du glycérol déshydrogénase (NADP +)
0,933	0,003	Substrat CYP1A1
0,931	0,004	Amplificateur d'expression TP53

Chapitre III : Les résultats et discussion

0,926	0,001	Inhibiteur de la cystathionine bêta-synthase
0,928	0,004	Substrat CYP1A
0,925	0,001	Inhibiteur de la 2-énoate réductase
0,924	0,001	inducteur CYP1A1
0,929	0,006	Substrat CYP2C12
0,923	0,002	Inhibiteur de l'alcool déshydrogénase (NADP +)
0,923	0,004	Inhibiteur de l'ubiquinol-cytochrome-c réductase
0,919	0,001	Inhibiteur du bêta-carotène 15,15'-monooxygénase
0,917	0,001	Stimulant MAP kinase
0,906	0,002	Substrat UGT1A9
0,907	0,004	Substrat CYP1A2
0,904	0,002	Inhibiteur de l'histidine kinase

Tableau 11: Activité biologique de Phloretin (molécule 5).

Pa	Pi	Activité
0,983	0,001	Inhibiteur de la chlordécone réductase
0,974	0,002	Agoniste de l'intégrité de la membrane
0,969	0,002	Inhibiteur d'expression de HIF1A
0,965	0,001	Inhibiteur de la 2-déhydropantoate 2-réductase
0,961	0,001	Inhibiteur de l'aryl-alcool déshydrogénase (NADP +)
0,959	0,001	Inhibiteur de kinase
0,959	0,001	Inhibiteur de la P-benzoquinone réductase (NADPH)
0,957	0,002	Inhibiteur de perméabilité membranaire
0,956	0,001	Inhibiteur de la peroxydase
0,951	0,001	Inhibiteur de la quercétine 2,3-dioxygénase

Tableau 12: Activité Biologique de Chalconaringenin (molécule 6).

Pa	Pi	Activité
0,955	0,001	Inhibiteur de 3-phytase
0,931	0,001	Inhibiteur de lactase
0,903	0,005	Inhibiteur de chlordecone réductase

Chapitre III : Les résultats et discussion

Tableau 13: Activité biologique de Hesperetin (molécule 9).

Pa	Pi	Activité
0,986	0,001	Inhibiteur de chlordecone réductase
0,967	0,001	Inhibiteur du CYP1A1
0,965	0,003	Agoniste de intégrité de le membrane
0,963	0,001	Inducteur du CYP1A
0,963	0,003	Inhibiteur d' expression HIF1A
0,962	0,002	Inhibiteur de perméabilité membranaire
0,961	0,001	Antimutagène
0,955	0,001	Inducteur du CYP1A1
0,955	0,001	Inhibiteur du CYP1B1
0,955	0,002	Substrate UGT1A9
0,955	0,001	Inhibiteur de la peroxidase
0,953	0,003	Inhibiteur du CYP1A
0,951	0,002	Amplificateur d'expression HMOX1
0,949	0,002	Substrate UGT1A10
0,948	0,002	Substrate UGT1A6
0,946	0,001	Inhibiteur de la NADPH oxydase
0,945	0,002	Inhibiteur de Kinase
0,944	0,002	Inhibiteur de 2-dehydropantoate 2-réductase
0,944	0,004	Amplificateur d'expression TP53
0,940	0,001	Stimulant MAP kinase
0,938	0,001	Inhibiteur de l'aryle-alcool déhydrogénase (NADP+)
0,936	0,001	Inhibiteur du beta-carotene 15,15'-monooxygénase
0,936	0,001	Inhibiteur de la chalcone isomérase
0,937	0,004	Substrate CYP1A
0,935	0,003	Substrate CYP1A1
0,933	0,001	Inhibiteur de la p-benzoquinone réductase (NADPH)
0,929	0,001	Inhibiteur de la NADPH-ferrihemoprotéine réductase
0,927	0,003	Inhibiteur du CYP1A2
0,923	0,002	Substrate UGT1A3
0,919	0,004	Substrate CYP1A2
0,912	0,004	Inhibiteur de aldéhyde oxydase

Chapitre III : Les résultats et discussion

0,901	0,002	Inhibiteur de l' expressionAR
-------	-------	-------------------------------

Tableau 14: Activité biologique de Naringenin (molécule10).

Pa	Pi	Activité
0,964	0,003	Agoniste de intégrité de le membrane
0,956	0,002	Amplificateur d'expression HMOX1
0,949	0,003	Substrate CYP1A1
0,944	0,004	Substrate CYP1A
0,934	0,002	Substrate CYP1B
0,928	0,002	Substrate UGT1A10
0,918	0,004	Substrate CYP1A2
0,918	0,004	Inhibiteurde la chlordecone réductase
0,911	0,005	Inhibiteur d' expression HIF1A
0,892	0,002	Inhibiteurde l' histidine kinase
0,900	0,012	Substrate CYP2C12

Tableau 15: Activité biologique de Daidzein (molécule 11).

Pa	Pi	Activité
0,967	0,002	Inhibiteurde Aldéhydeoxydase
0,960	0,001	Inhibiteurde l'histidine kinase
0,917	0,003	Substrate CYP2A6
0,915	0,005	Inhibiteur d'expression HIF1A
0,912	0,004	Substrate CYP2A
0,910	0,004	Substrate CYP1A
0,905	0,001	Agoniste du régulateurde conductancetransmembranaire CF
0,905	0,004	Substrate CYP1A2
0,901	0,005	Inhibiteurde l' ubiquinol-cytochrome-c réductase
0,903	0,011	Substrate CYP2C12

Chapitre III : Les résultats et discussion

Tableau 16: Activité biologique de Genistein (molécule 12).

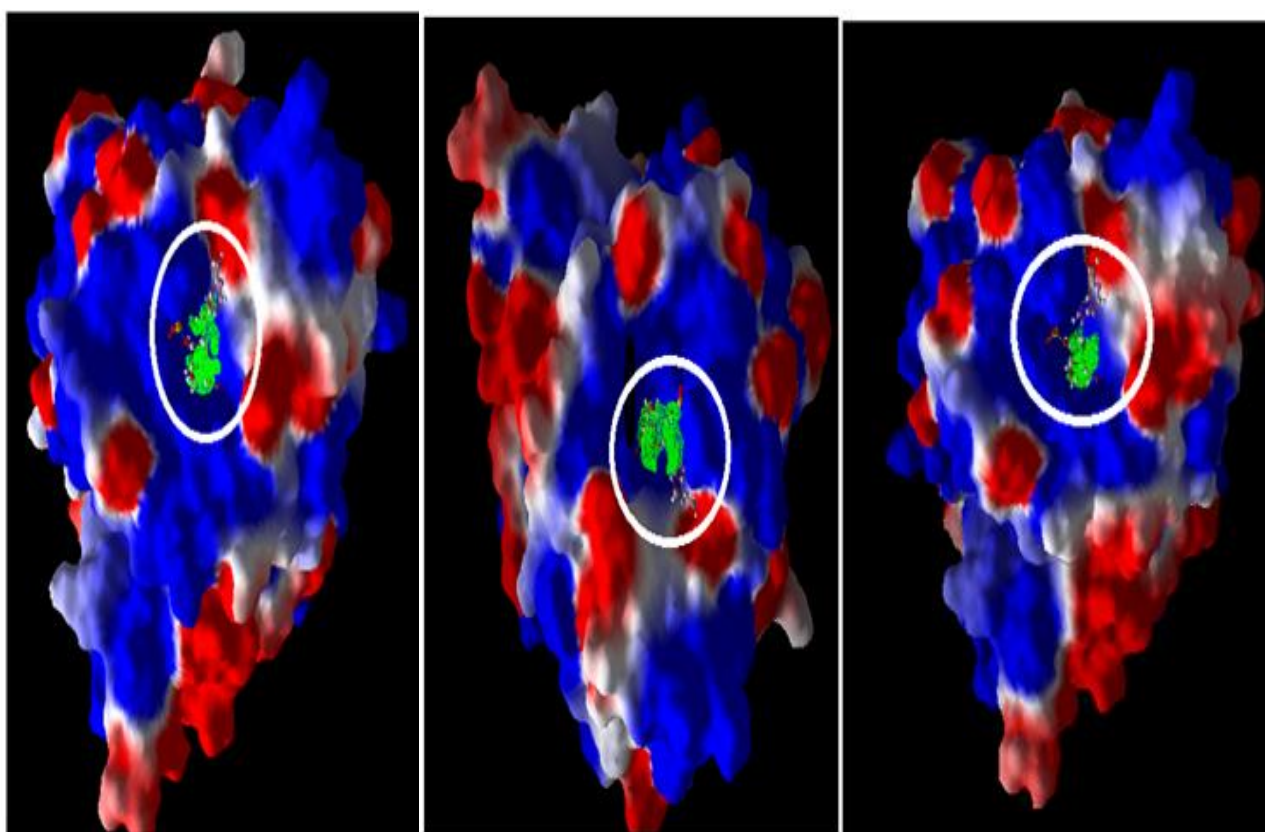
Pa	Pi	Activité
0,939	0,004	Inhibiteur d'expression HIF1A
0,936	0,003	Inhibiteur de l'ubiquinol-cytochrome-c réductase
0,928	0,003	Inhibiteur de chlordecone réductase
0,928	0,004	Substrate CYP1A
0,920	0,002	Inhibiteur de monophenol monooxygénase
0,913	0,002	Substrate CYP1B
0,914	0,004	Substrate CYP2A6
0,911	0,004	Substrate CYP1A2
0,913	0,008	Agoniste de intégrité de le membrane
0,906	0,004	Substrate CYP2A
0,900	0,012	Substrate CYP2C12

III.2.3. Docking moléculaire:

À l'aide du logiciel MVD, nous avons détecté les cavités dans l'enzyme en question. Le tableau 17 représente le volume et la surface de 3 cavités détectées. On note qu'il y a un ligand de référence dans chaque cavité, cela nous a permis d'étudier les 3 cavités, dans chaque cavité a un volume plus important que les autres cavités détectées.

Tableau 17 : Volume et surface des 3 cavités détectées.

Cavité	Volume (A ³)	Surface (A ²)
Cavité A	211.456	492.8
Cavité B	233.472	541.44
Cavité C	212.992	455.68



Cavité A

Cavité B

Cavité C

Figure 5: Surface électrostatique et les cavités détectées de la chlordecone réductase.

Chapitre III : Les résultats et discussion

III.2.3.1. Energie d'interaction:

Les différentes énergies d'interactions entre l'enzyme l'inhibiteur de la chlordécone réductase et les dérivés de flavonoïde sont calculées au cours de docking moléculaire, elles sont représentées dans les tableaux suivant :

Tableau 18: Les interactions entre les résidus de site actif de cavité A et le substrat.

Cavité A								
Ligand	Mol dock Score (kcal/mol)	Liaison H			Interaction stérique			Types Interaction
		Résidus	Distance (Å)	Energie (kcal/mol)	Résidus	Distance (Å)	Energie (kcal/mol)	
Phloretin A	-129.721	Asp50	2.99	-2.50	Gly22	3.03	1.62	Liaison H Interaction Stérique Interaction vdw
		Thr221	3.17	-1.26	Tyr55	2.80	3.05	
		Leu219	2.94	-2.14	Ser217	2.87	2.59	
		Gln222	2.71	-2.50				
Chalconarin genin A	-129.222	Leu219	3.17	-1.70	Gln222	3.12	1.10	//
		Leu268	3.10	-2.49	Thr221	3.03	1.63	
		His224	3.15	-2.25				
Quercetin A	-121.79	Leu219	2.84	-1.88	Leu219	3.07	1.39	//
		Ala218	2.74	-0.64	Leu268	3.13	1.05	
		Ala218	3.27	-1.26	Lys270	3.14	0.96	
		Leu268	3.00	-2.50	Gln222	2.98	1.94	
		Tyr55	2.81	-2.50				
		Lys84	3.23	-0.97				
Luteolin A	-119.345	Leu268	2.60	-2.50	Leu219	2.99	1.88	//
		Gln222	2.93	-0.85	Gln222	3.09	1.27	
		Tyr55	3.03	-1.67				
		Gln190	2.66	-2.50				
		Lys84	3.18	-1.12				
		Ser217	2.80	-2.50				
Herperetin A	-114.337	Lys84	3.07	-1.23	His216	3.07	1.41	//
		Gln190	2.60	-2.49	Tyr55	3.04	1.60	
		Ser217	2.97	-2.50	Try55	3.16	0.88	
		Leu268	2.60	-2.50	Ser217	3.17	0.76	
		Gln222	2.85	-0.80	Leu219	3.03	1.64	
					Gln222	3.12	1.07	
Genistien A	-111.341	Lys270	3.39	-0.69	Leu219	2.81	2.95	//
		Leu219	3.10	-2.48				
		Ala218	2.90	-0.77				
		Thr221	3.09	-2.29				
		Lys84	3.10	-1.25				
		Tyr55	3.00	-2.50				

Chapitre III : Les résultats et discussion

Apigenine A	-110.08	Leu268	2.60	-2.49	Ser217	3.08	1.35	//
		Ala215	3.43	-0.86	Leu268	3.10	1.24	
		Ala218	3.22	-1.92	Ala218	3.07	1.37	
		Leu219	2.76	-1.95	Lys270	3.17	0.78	
Naringenin A	-109.326	His224	2.80	-2.50	Trp227	2.67	3.83	//
		His224	3.11	-1.73	Gln222	3.09	1.26	
		Gln222	3.13	-2.12	Gln222	3.16	0.86	
		Leu268	3.11	-2.47				
Daidzein A	-108.214	Tyr55	2.77	-2.50	Leu219	3.15	0.89	//
		Lys84	3.10	-1.25	Ser217	3.19	0.66	
Kaempferol A	-107.587	Lys270	2.90	-2.50	Thr221	2.72	3.51	//
		Ser217	2.67	-1.78	Val228	2.92	2.33	
		Ser217	2.65	-1.84	Trp227	3.11	1.18	
		Ser217	3.25	-1.77	Trp227	2.59	4.32	
		His224	2.66	-2.50	His224	2.84	2.79	
		Gln222	2.74	-1.33	Gln222	2.91	2.35	

Les résultats obtenus à partir de Molegro Virtual docker montrent que les valeurs d'énergie libre des liaisons des complexes formés entre les composés et le site actif d'enzyme ont été incluses dans l'intervalle - 107 et - 129 Kcal/mol, et on note également, que les composés : le Phloretin A et le Chalconaringenin A forment des complexes qui ont le score d'énergie de liaison le plus basse par rapport aux autres complexes.

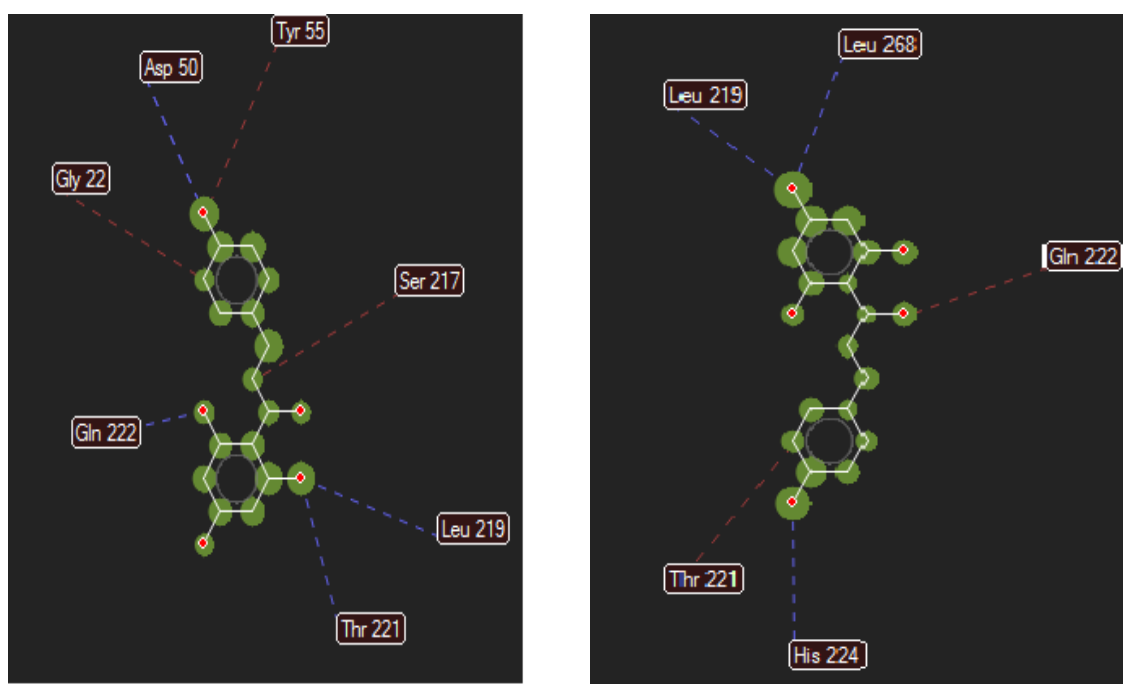
Ces complexes donnent les meilleurs scores d'amarrage, basés sur l'énergie de liaison libre, citant ici : -129.721 et -129.222 kcal/mol respectivement. Ceci justifie que ces complexes soient plus stables que d'autres.

Les distances entre les résidus du site actif et les ligands varient entre 2.60 Å et 3.43 Å, dans ce cas on peut remarquer que d'après Anne Imbert et col, les interactions ayant des distances comprises entre 2.5Å et 3.1Å sont considérés comme fortes, celles ayant des distances comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes et quand leurs distances sont supérieures à 3.55Å, elles sont considérées faibles [13].

D'après les résultat du tableau 19 On observe que la distance des liaisons hydrogène entre les résidus de l'enzyme et la Phlorétine varie entre 2,71 à 3,17. Leur énergies varie entre -1.26 et -2.60 (kcal/mol) plus basse par rapport aux autres complexes donc les liaisons hydrogène considérées comme fortes et stables. La même chose pour les interactions stériques. Les distances entre les résidus d'enzyme et la Phlorétine varient entre 2,80 et 3,03. Leur énergies varie entre 1.62 et 3.05 (kcal/mol), d'où les fortes interactions stériques.

Chapitre III : Les résultats et discussion

Pour le Chalconaringenin on observe que la distance des liaisons hydrogène entre les résidus de l'enzyme et le Chalconaringenin varie entre 3.10 à 3,17. Leur énergies varie entre -1.70 et -2.49 (kcal/mol) plus basse par rapport aux autres complexes donc les liaisons hydrogène considérées comme fortes et stables. Même remarque pour les interactions stériques. Les distances entre les résidus d'enzyme et le Chalconaringenin varient entre 3,03 et 3.10. Leur énergies varie entre 1.10 et 1.63 (kcal/mol), d'où les fortes interactions stériques.



Phloretin A

Chalconaringenin A

Figure 6 : Interaction hydrogène et stérique entre les ligands et les acides aminés de cavité A.

Dans la figure 6, les interactions stérique, de l'hydrogène (bleu) et de Van Der Waals (vert) conduisent à la formation de complexes stables. Ces interactions entre les résidus du site actif et les ligands permettent d'obtenir l'énergie la plus faible et donc la formation du complexe le plus stable.

Chapitre III : Les résultats et discussion

Tableau 19 : Les interactions entre les résidus de site de cavité B active et le substrat.

Cavité B								
Ligand	Mol dock score	Liaison H			Interaction stérique			Types Interaction
		Résidus	Distance (Å)	Energie (kcal/mol)	Résidus	Distance (Å)	Energie (kcal/mol)	
Phloretin B	-136.127	Asp50	2.62	-2.50	Tyr24	3.19	0.66	Liaison H Interaction Stérique Interaction vdw
		Thr23	2.61	-2.17	Tyr55	3.07	1.39	
		Thr221	2.95	-0.88	Thr23	3.19	0.66	
		Ala218	3.10	-1.55	Asp50	2.58	4.35	
		Leu268	2.85	-2.18	Ser217	2.86	2.67	
				Leu219	3.04	1.59		
Chalconaringenin B	-129.574	Leu268	2.60	-2.49	Gln222	3.15	0.91	//
		Gln222	3.19	-2.06	His224	3.06	1.48	
		Trp227	3.32	-0.73	Val228	3.02	1.69	
		His224	2.60	-1.44	Val228	2.96	2.09	
					Trp227	2.90	2.45	
Quercetin B	-125.011	Ala218	2.90	-0.63	Gln222	3.02	1.71	//
		Leu219	2.89	-1.74	Leu219	3.12	1.07	
		Ala218	3.26	-1.35	Gly22	3.10	1.18	
		Leu268	3.11	-2.44				
		Gln190	3.10	-2.50				
		Tyr55	2.94	-2.50				
		Lys84	3.15	-2.24				
		Asp50	2.60	-2.50				
Asp50	2.82	-2.50						
Herperetin B	-112.543	Gln190	2.61	-1.52	His216	3.02	1.67	//
		Tyr55	3.05	-2.11	Tyr55	3.01	1.74	
		Lys84	2.90	-1.29	Tyr55	3.15	0.89	
		Ser217	2.96	-2.50	Ser217	3.15	0.90	
		Leu268	2.60	-2.50	Leu219	3.07	1.38	
		Gln222	2.92	-0.80	Gln222	2.98	1.95	
Apigenine B	-111.357	Ala218	2.96	-0.94	Thr221	3.17	0.77	//
		Leu219	3.06	-2.49	Val228	3.16	0.83	
		Gln222	3.13	-1.21	Val228	3.17	0.78	
					Trp227	2.91	2.35	
					Trp227	3.19	0.69	
					Gln222	3.06	1.48	
Daidzein B	-110.761	Asp50	3.03	-2.50	Gly22	3.11	1.14	//
		Thr23	3.09	-1.84	Val228	2.81	2.97	
		Gln222	2.71	-2.50	Tyr24	3.10	1.20	
		His224	2.57	-1.85				
		His224	3.15	-2.14				
		Tyr55	3.41	-0.95				
Naringenin B	-110.404	Ala218	2.78	-0.83	Thr221	3.03	1.65	//
		Leu219	2.87	-2.37	Val228	3.13	1.03	
		His224	2.83	-1.74	His224	2.97	2.01	
		His224	3.10	-2.49				
		Gln222	3.35	-0.69				

Chapitre III : Les résultats et discussion

Genistien B	-109.948	Ala218	2.95	-1.01	Leu219	2.88	2.56	//
		Leu219	3.10	-2.45	Gln222	3.19	0.66	
		Thr221	3.08	-2.21				
		Gln222	3.42	-0.73				
		Gln190	2.69	-1.42				
		Asp50	2.60	-2.50				
		Lys84	2.98	-1.25				
Kaempferol B	-108.991	Lys270	3.09	-2.50	Thr221	2.82	2.88	//
		Ser217	2.81	-1.91	Val228	2.96	2.07	
		Ser217	2.79	-1.99	Trp227	3.15	0.89	
		Ser217	3.10	-2.48	Trp227	2.77	3.21	
		His224	3.09	-2.49	His224	2.72	3.53	
		Gln222	2.82	-1.21				
Luteolin B	-106.147	Leu219	2.94	-2.43	Gln222	3.07	1.39	//
		His224	3.05	-2.50	Val228	3.14	0.95	
		Gln222	3.35	-0.77	Trp227	3.03	1.63	

Les résultats obtenus ont montré que les valeurs d'énergie libre des liaisons des complexes formés entre les composés et le site actif d'enzyme ont été incluses dans l'intervalle -106.147 à -136.127 Kcal/mol, et on note également, que les composés : le Phloretin B et le Chalconaringenin B forment des complexes qui ont le score d'énergie de liaison le plus élevé par rapport aux autres complexes. Ces complexes donnent les meilleurs scores d'amarrage, basés sur l'énergie de liaison libre, citant ici : -136.127 et -129.574 kcal/mol respectivement. Ceci justifie que ces complexes soient plus stables que d'autres.

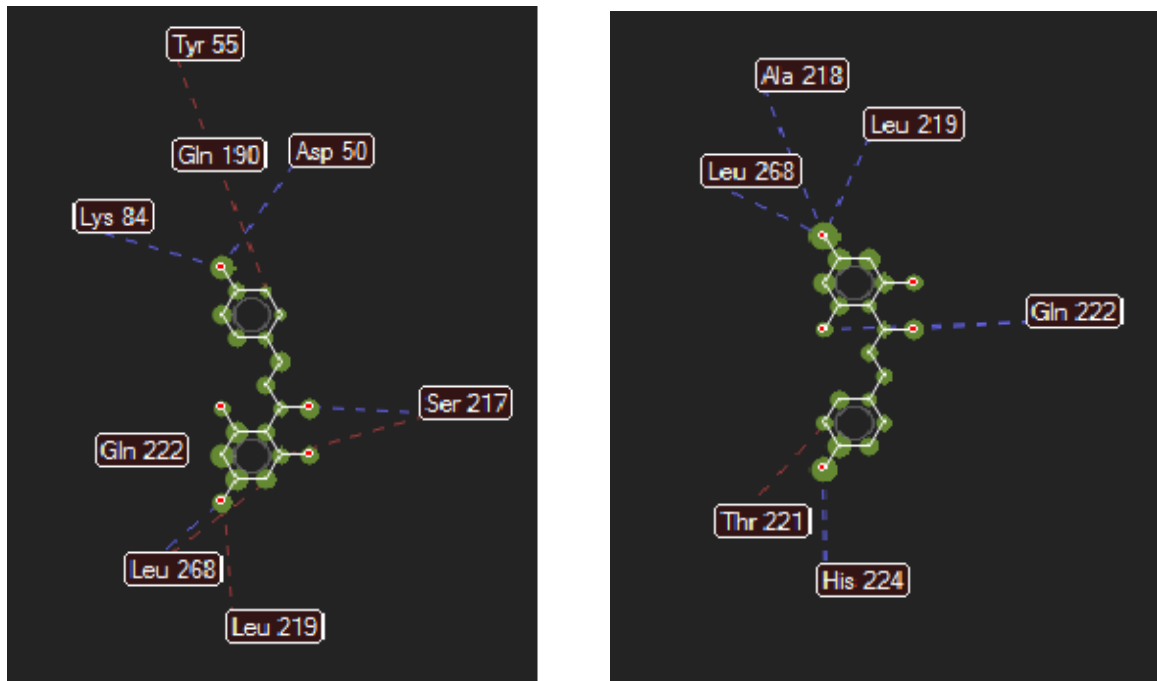
Les distances entre les résidus du site actif et les ligands varient entre 2.57 Å et 3.42 Å, dans ce cas on peut remarquer que d'après Anne Imbert et col, les interactions ayant des distances comprises entre 2.5Å et 3.1Å sont considérées comme fortes, celles ayant des distances comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes et quand leurs distances sont supérieures à 3.55Å, elles sont considérées faibles [13].

Après le résultat dans ce tableau On observe que la distance des liaisons hydrogène entre les résidus de l'enzyme et la Phlorétine varie entre 2,61 à 3,10. Leur énergies varie entre -0.88 et -2.50 (kcal/mol) plus basse par rapport aux autres complexes donc les liaisons hydrogène considérées comme fortes et stables. La même pour les interactions stériques. Les distances entre les résidus d'enzyme et la Phlorétine varient entre 2,58 et 3,19. Leur énergies varie entre 0.66 et 4.35 (kcal/mol), d'où les fortes interactions stériques.

Pour le Chalconaringenin on observe que la distance des liaisons hydrogène entre les résidus de l'enzyme et le Chalconaringenin varie entre 2.60 à 3,32. Leur énergies varie entre -0.73 et -2.49 (kcal/mol) plus basse par rapport aux autres complexes donc les liaisons hydrogène considérées comme fortes et stables, sauf que la liaison de Trp227 avec l'enzyme est moyenne.

Chapitre III : Les résultats et discussion

Et de même pour les interactions stériques. Les distances entre les résidus d'enzyme et le Chalconaringenin varient entre 2.90 et 3.15. Leur énergies varie entre 0.91 et 2.45 (kcal/mol), d'où les fortes interactions stériques.



Phloretin B

Chalconaringenin B

Figure 7: Liaisons hydrogènes et interactions stérique entre les ligands et les acides aminés de cavité B.

Dans la figure 7, les interactions stérique, de l'hydrogène (bleu) et de Van Der Waals (vert) conduisent à la formation de complexes stables. Ces interactions entre les résidus du site actif et les ligands permettent d'obtenir l'énergie la plus faible et donc la formation du complexe le plus stable.

Chapitre III : Les résultats et discussion

Tableau 20 : les interactions entre les résidus de site de cavité C active et le substrat.

Cavité C								
Ligand	Mol dock score	Liaison H			Interaction stérique			Types Interaction
		Résidus	Distance (Å)	Energie (kcal/mol)	Résidus	Distance (Å)	Energie (kcal/mol)	
Phloretin C	-134.428	Asp50	2.60	-2.50	Tyr55	2.19	2.35	Liaison H Interaction Stérique Interaction vdw
		Thr23	2.70	-2.50	Asp50	2.59	4.33	
		Ala218	3.11	-1.20	Leu268	3.13	1.01	
		Leu268	2.80	-2.50	Ser217	2.76	3.29	
					Leu219	2.94	2.16	
Chalconaringenin C	-130.522	Leu268	3.10	-2.50	Thr221	3.01	1.79	//
		Ala218	2.81	-1.23				
		Leu219	3.18	-1.87				
		Gln222	3.10	-0.66				
		Gln222	2.60	-0.93				
		His224	2.84	-2.50				
Quercetin C	-122.895	Leu219	2.77	-2.09	Gln222	2.92	2.33	//
		Ala218	2.72	-0.76	Leu268	3.01	1.73	
		Ala218	3.20	-2.02				
		Leu268	2.83	-2.50				
		Asp50	2.60	-2.50				
		Lys84	3.24	-1.14				
Luteolin C	-118.577	Leu268	2.76	-2.37	Leu268	3.13	1.03	//
		Lys270	3.33	-1.35	Leu219	2.93	2.26	
		Gln222	2.99	-0.66				
		Tyr55	3.13	-1.53				
		Gln190	2.63	-2.50				
		Lys84	3.12	-1.46				
		Ser217	2.93	-2.50				
Herperetin C	-114.731	Gln190	2.63	-2.50	Leu219	2.79	3.07	//
		Lys84	3.09	-1.50	Leu268	3.01	1.73	
		Ser217	3.02	-2.50				
		Leu268	2.88	-2.50				
Genistien C	-112.639	Leu219	3.16	-2.21	Leu219	2.94	2.18	//
		Ala218	2.97	-1.01				
		Thr221	3.13	-2.19				
		Lys84	3.06	-1.46				
		Tyr55	2.91	-2.50				
		Lys270	3.34	-0.86				
Daidzein C	-109.767	Thr23	3.06	-2.21	Tyr24	3.16	0.85	//
		Asp50	2.94	-2.50	Tyr55	3.12	1.12	
		Gln222	2.76	-1.36	Asp50	3.18	0.73	
		His224	2.55	-1.43	Val228	2.88	2.52	
		His224	3.07	-2.40				

Chapitre III : Les résultats et discussion

Apigenine C	-108.847	Leu268 Ala218 Leu219	2.60 3.18 2.67	-2.50 -2.11 -2.46	Ser217	3.19	0.69	//
Kaempferol C	-107.621	Lys270 Ser217 Ser217 Ser217 His224 Gln222	3.03 2.76 2.90 3.25 2.63 2.81	-2.50 -2.33 -1.69 -1.59 -1.50 -1.52	Gln222 Trp227 Trp227 Val228 Thr221	2.85 2.84 3.12 2.63 2.72	2.73 2.80 1.08 4.07 3.54	//
Naringenin C	-106.634	His224 Leu268 Gln222	2.77 3.10 3.09	-2.35 -2.50 -2.24	Gln222 Trp227	3.03 2.70	1.63 3.62	//

Les résultats du tableau 20 montrent que les valeurs d'énergie libre des liaisons des complexes formés entre les composés et le site active d'enzyme ont été incluses dans l'intervalle -106.634 à -134.428 Kcal/mol, et on note également, que les composés : le Phloretin C et le Chalconaringenin C forment des complexes qui ont le score d'énergie de liaison le plus élevé par rapport aux autres complexes. Ces complexes donnent les meilleurs scores d'amarrage, basés sur l'énergie de liaison libre, citant ici : -134.428 et -130.522 kcal/mol respectivement. Ceci justifie que ces complexes soient plus stables que d'autres.

Les distances entre les résidus du site actif et les ligands varient entre 2.55 Å et 3.33 Å, dans ce cas on peut remarquer que d'après Anne Imbert et col, les interactions ayant des distances comprises entre 2.5Å et 3.1Å sont considérés comme fortes, celles ayant des distances comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes et quand leurs distances sont supérieures à 3.55Å, elles sont considérées faibles [13].

Les résultats représentés dans le tableau 20 montre que la distance des liaisons hydrogènes entre les résidus de l'enzyme et la Phlorétine varie entre 2,60 à 3,11. Leur énergies varie entre -1.20 et -2.50 (kcal/mol) plus basse par rapport aux autres complexes donc les liaisons hydrogène considérées comme fortes et stables. Même remarque pour les interactions stériques. Les distances entre les résidus d'enzyme et la Phlorétine varient entre 2,19 et 3,13. Leur énergies varie entre 1.01 et 4.33 (kcal/mol), d'où les fortes interactions stériques.

Pour le Chalconaringenin on observe que la distance des liaisons hydrogène entre les résidus de l'enzyme et le Chalconaringenin varie entre 2.60 à 3,18. Leur énergies varie entre -1.23 et -2.50 (kcal/mol) plus basse par rapport aux autres complexes donc les liaisons hydrogène considérées comme fortes et stables. Même remarque pour les interactions stériques. La distance entre le

Chapitre III : Les résultats et discussion

résidu enzymatique (Thr221) et le Chalconaringenin est 3.01. Son énergie est de 1.79 (kcal/mol) d'où la forte interaction stérique.

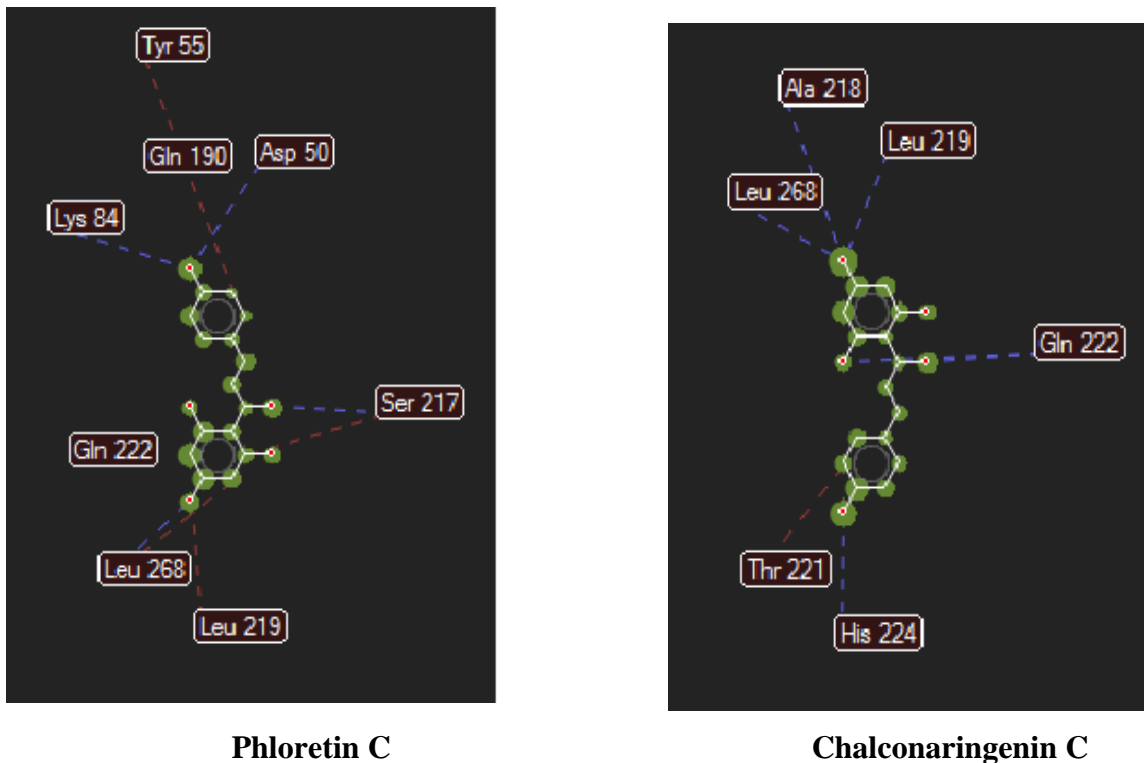


Figure 8: Interaction hydrogène et stérique entre les ligands et les acides aminés de cavité C.

Dans la figure 8, les interactions stérique, de l'hydrogène (bleu) et de Van Der Waals (vert) conduisent à la formation de complexes stables. Ces interactions entre les résidus du site actif et les ligands permettent d'obtenir l'énergie la plus faible et donc la formation du complexe le plus stable.

Dans la cavité 2, les complexes formés par les ligands le Phloretin B et le Chalconaringenin B possèdent les plus faibles énergies par rapport aux autres ligands même par rapport aux autres cavité, ceci confirmé qu'il y a une affinité élevée entre ces ligands et les résidus de site actif et par conséquent, il est probablement les meilleurs ligands pour inhiber le fonctionnement de l'enzyme L'inhibiteur de la chlordécone réductas.

Chapitre III : Les résultats et discussion

Références:

- [1] Méndez, Raúl, et al. "Assessment of CAPRI predictions in rounds 3–5 shows progress in docking procedures." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 60.2 (2005): 150-169.
- [2] Alvarez, Juan C. "High-throughput docking as a source of novel drug leads." *Current opinion in chemical biology* 8.4 (2004): 365-370.
- [3] Ghosh, Sutapa, et al. "Structure-based virtual screening of chemical libraries for drug discovery." *Current opinion in chemical biology* 10.3 (2006): 194-202.
- [4] SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 7:42717.2017.
- [5] Daina, Antoine, and Vincent Zoete. "A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules." *ChemMedChem* 11.11 (2016): 1117.
- [6] **Ranjith D and Ravikumar C.** *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2019; 8(5): 2063-2073.
- [7] Akbar Ali¹, Mohamed El Badawy², Raza Shah¹, Wajid Rehman¹, Yeldey El kilany³ El Sayed H El Ashry^{1,3*} and Nawaz Tahir⁴ ¹International Centre for Chemical and Biological Sciences, H.E.J Research Institute of Chemistry, University of Karachi, Pakistan ²Department of Pesticide Chemistry and Technology, Faculty of Agriculture, 21545-El-Shatby, Alexandria University, Egypt ³Chemistry Department, Faculty of Science, Alexandria University, Alexandria, Egypt ⁴Department of Physics, University of Sargodha, Sargodha, Pakistan.
- [8] Daunay B., *Couplage haptique pour des applications de docking moléculaire*. Edition Robotique : Paris 6, pp.150, (2007).
- [9] *Molecular Graphics and Modelling Society, American Chemical Society. Journal of molecular graphics and modelling*, V15. Edition Elsevier Science, Inc. pp.9, (1997).
- [10] Lohidakshan K, Rajan M, Ganesh A, Paul M, Jerin J. Pass and Swiss ADME collaborated *in silico* docking approach to the synthesis of certain pyrazoline spacer compounds for dihydrofolate reductase inhibition and antimalarial activity. *Bangladesh J Pharmacol.* 2018; 13: 23-29.
- [11] Kennedy, Tony. "Managing the drug discovery/development interface." *Drug discovery today* 2.10 (1997): 436-444.
- [12] DiMasi, Joseph A. "Success rates for new drugs entering clinical testing in the United States." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 58.1 (1995): 1-14.
- [13] Imberty A., Hardman K. D., Carver J.P., Pérez S., Molecular of protein-carbohydrate interactions, Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A, *Glycobiology*, 1, pp. 631–642, (1991)

***Conclusion
générale***

Conclusion générale

Le but de présent travail de recherche est l'étude de la relation structure/activité dans une série de flavonoïdes, et la détermination les types d'interactions entre ces molécules et l'enzyme chlordécone réductase en utilisant le moyen de simulations bioinformatiques.

Pour réaliser ce travail nous avons utilisé les différents programmes et méthodes à savoir: SwissADME, PASS et le docking moléculaire. Dans la première partie, nous avons réalisé une étude des propriétés ADME d'une de flavonoïdes. Les résultats obtenus montre que les molécules étudiées respectent les règles de Lipinski, et possèdent une absorption intestinale élevée, mais ils ne sont pas capables de traversées les Barrière hémato-encéphalique (BBB), possèdent une faible liaison aux protéines p-gp.

Dans la deuxième partie nous avons utilisé le programme en ligne PASS pour prédire les activités biologiques de même série de flavonoïdes étudiés. Les résultats montrer que les molécules étudiées pourraient posséder plusieurs activités pharmacologiques telles que Antimutagène, antioxydante, vasoprotecteur, antagoniste des récepteurs de l'anaphylatoxine.

Dans la troisième partie nous avons utilisé le docking moléculaire pour déterminer le type des interactions entre les ligands (série de flavonoïdes) et le récepteur (l'enzyme chlordécone réductase). On peut résumés les résultats comme suit :

- Il y a trois cavités dans l'enzyme en question dans chaque cavité a un volume plus important que les autres cavités détectées.
- Les valeurs des énergies (Mol Dock Score) des complexes formés entre les composés et le site active d'enzyme le Phloretin et le Chalconaringenin forment des complexes sont plus basse par rapport aux autres complexes.
- La distance des liaisons hydrogène entre les résidus de l'enzyme et le Phloretin et le Chalconaringenin est plus basse par rapport aux autres complexes donc les liaisons hydrogène considérées comme fortes et donne des complexes stables.
- Les distances entre les résidus d'enzyme et le Phloretin et le Chalconaringenin les fortes interactions stériques.
- Ces interactions misent en jeu entre les résidus du site actif et les ligands (le Phloretin et le Chalconaringenin) permettent d'obtenir l'énergie la plus basse.

Dans la cavité 2, les complexes formés par les ligands le Phloretin B et le Chalconaringenin B possèdent les plus faibles énergies par rapport aux autres ligands même par rapport aux autres cavité, ceci confirmé qu'il y a une affinité élevée entre ces ligands et les résidus de site actif et par conséquent, il est probablement les meilleurs ligands pour inhiber le fonctionnement de l'enzyme la chlordécone réductas.