

لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1
جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
كلية العلوم الطبيعية و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Application du docking moléculaire par SURFLEX pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase

Présenté et soutenu par : AISSANI Lilia
DABOUZ Sabrina

Soutenu le : 22/09/2021

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. MOKRANI E.H.

M.C.B/ U.F.M Constantine 1

Rapporteur : Mme DEMMAK R.G

M.C.B/ U.S.B Constantine 3

Examineur : Mme TENIOU S.

M.A.A/ U.F.M Constantine 1

Année universitaire : 2020-2021

REMERCIEMENTS

*Tout d'abord merci beaucoup dieu de nous donner la patience
et la force et le courage pour compléter ce travail.*

*Il nous est agréable d'exprimer notre plus profonde gratitude et
remerciement le plus sincère à notre encadreur Mme DEMMAK R.G
pour son aide, ses orientations judicieuses,
patience et sur tout sa confiance.*

*C'est avec un grand plaisir que nous remercions Mr.MOKRANI E.H..
pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury de ce mémoire.*

*Et nous tenons à adresser notre profonde gratitude et notre grand
reconnaissance et remerciement à Mme TENIOU S. d'avoir accepté
d'examiner ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier tous les enseignants qui
nous ont transmis notre savoir actuel tout au long de notre cursus.*

LILIA ET SABRINA

*C'est avec profonde et sincère mots, que je dédie ce modeste travail
De fin d'études*

*A mes chers parents : **ABDALLAH & ZINEB***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour
éternel et ma considération pour les sacrifices que
vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour
que vous me portez depuis mon enfance et
j'espère que votre bénédiction
m'accompagnera pour toujours.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés,
le fruit de vos innombrables sacrifices,
bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.*

*A mon très cher frères : **KACEM** et ma très chère soeur : **RADHIA** .*

*Pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral ,
Leurs amours et leurs sacrifices sans limites.*

A ma très chère grand-mère que dieu la garde

*A ma chère binôme : **LILIA***

SABRINA

JE DEDIE CE TRAVAIL A

*Mes chers parents, qui m'ont encouragé tout le long de mes études, qui
m'ont consacré*

*beaucoup de temps et disponibilité, et qui par leur soutien,
leurs conseils et leur amour,
m'ont permis d'arriver jusqu'à ici*

*Mon cher frère et ma chère sœur pour leur dévouement, leur
compréhension et leur grande
Tendresse ;*

*Merci d'avoir toujours soutenu et merci pour tous les bons moments
passé ensemble, et ce n'est pas fini.*

*A tous mes amies qui m'ont toujours soutenue et encouragée
au cours de la réalisation de ce
mémoire, en leur espérant bonne continuation dans leurs travaux*

A mon binôme qui a partagé avec moi ce modeste travail.

LILIA.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LA GOUTTE ET LA XANTHINE OXYDASE

1. Maladie de la goutte.....	3
1.1. Définition de la goutte.....	3
1.2. Etude épidémiologique.....	3
1.3. Les causes de la goutte.....	3
1.3.1. Hyperuricémie.....	3
1.3.2. Facteur génétique.....	4
1.3.3. Alimentation.....	4
1.3.4. Médicaments.....	5
1.3.5. Autres facteurs.....	5
1.4. Les symptômes.....	5
1.4.1. La goutte aiguë.....	6
1.4.2. La goutte tophacée chronique.....	6
1.5. Le diagnostic	7
1.5.1. Examen biologique.....	7
1.5.2. Examen radiologique.....	7
1.6. Le traitement de la goutte.....	8
1.6.1. Traitement de la crise aiguë.....	8

TABLE DES MATIERES

1.6.1.1. Anti-inflammatoire non stéroïdien.....	9
1.6.1.2. Colchicine	9
1.6.2. Traitements Hypo uricémiants.....	9
1.6.2.1. Allopurinol.....	9
1.6.2.2. Feboxostat (TEI 6270).....	10
2. La xanthine oxydase (XO).....	11
2.1. Généralités.....	11
2.2. Distribution et localisation.....	11
2.3. Gène de la XO.....	12
2.4. Structure de la Xanthine Oxydase.....	12
2.5. Mode d'action de Xanthine Oxydase.....	14

CHAPITRE 2 : DOCKING MOLECULAIRE

1. Généralités.....	16
2. Le docking moléculaire.....	16
3. Principe de docking.....	17
4. Applications.....	17
5. Les outils du docking moléculaire.....	18
5.1. Ligand.....	18
5.2. Le récepteur.....	18
6. Les programmes du docking.....	19
7. Le programme de docking moléculaire Surflex.....	20

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE 3 : Matériel et méthodes

TABLE DES MATIERES

1. Matérie.....	20
1.1. Micro-ordinateur.....	20
1.2. Programmes.....	20
1.3. Sites d'internet.....	21
2. Méthodes	21
2.1. Docking moléculaire.....	21
2.2. Tests d'évaluation de la fiabilité du programme Surfex.....	22
2.2.1. Root-Mean-Square Deviation (RMSD).....	22
2.2.2. Coefficient de corrélation linéaire (r).....	22
2.3. Préparation des molécules pour le docking moléculaire.....	22
2.3.1. Préparation de l'enzyme (récepteur).....	23
2.3.2. Préparation du ligand.....	23
2.4. Docking par Surfex.....	23
2.5. Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques.....	25
2.6. Filtrage ADME/Tox et règle de Lipinski.....	26
2.7. Analyse visuelle des interactions établies entre le ligand et les acides aminés du site actif.....	26

CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Tests de fiabilité du programme Surfex	27
1.1. RMSD (root mean square deviation)	27
1.2. Analyse visuelle.....	29
1.3. Le coefficient de corrélation (r).....	30

TABLE DES MATIERES

2. Etude d'interaction.....	31
2.1. Le choix du complexe.....	32
2.2. La règle de cinq de Lipinski.....	34
2.3. L'analyse visuelle et discussion des interactions.....	35

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME

LISTE DES ABREVIATIONS

2D	Structures deux dimensions
3D	Structures tridimensionnelles
Å	Angstrom
ADME/Tox	Absorption Distribution Metabolisme Excretion/Toxicité
ADN	Acide désoxyribonucléique
AH	Accepteur d'Hydrogène
AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdienne
ARN	Acide ribonucléique
BD	Base de données
DH	Donneur d'Hydrogène
EULAR	European League Against Rheumatism
FAD	Flavine adenine dinucléotide
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
IC₅₀	Inhibitory Concentration 50 %
Kda	Kilodalton
Log P	Le coefficient de partition Eau/Octanol.
Mo	Molybdène
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NCBI	National Center for Biotechnology Information
OH	Hydroxyle
O₂	Oxygène moléculaire
PDB	Protein Data Bank
PM	Poids Moléculaire
R	Coefficient de corrélation linéaire
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMSD	Root Mean Square Dérivation
XDH	Xanthine déshydrogénase
XO	Xanthine Oxydase

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Crise de goutte typique du gros orteil, gonflé et rouge.

Figure 2 : Goutte chronique.

Figure 3 : Tophus intra-osseux dans une goutte.

Figure 4 : Structure chimique d'allopurinol, hypoxanthine et de la xanthine.

Figure 5 : Structure chimique du feboxostat.

Figure 6 : Processus enzymatique de catabolisme des purines.

Figure 7 : Localisation du gène de la XOR (NCBI, 2019).

Figure 8 : Domaines constituant une sous unité de la XOR.

Figure 9 : Structure cristalline du XOR bovine.

Figure 10 : Métabolisme de l'acide urique.

Figure 11 : Représentation du mécanisme réactionnel de la Xanthine Oxydase.

Figure 12 : Représentation schématique du Docking de deux molécules (protéine+ Ligand Complexe moléculaire).

Figure 13 : Structure 3D du complexe 3NVY.

Figure 14 : Résultat du docking par Surflex.

Figure 15 : Résultats en % obtenus par Surflex à deux intervalles de RMSD(A°).

Figure 16 : Superposition du ligand (coloré en jaune) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en rouge) du complexe 3NVZ (RMSD = 0.71 Å).

Figure 17 : Corrélation entre logIC₅₀ et l'affinité calculée par Surflex des 30 complexes choisis.

Figure 18 : Structure chimique développée de l'inhibiteur QUE.

Figure 19 : La position du ligand (QUE) dans le site actif de la xanthine oxydase.

Figure 20 : La présentation des interactions récepteur-ligand 1 en schéma 2D.

LISTE DES FIGURES

Figure 21 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 1 avec le site actif de la 3NVY.

Figure 22 : La présentation des interactions récepteur-ligand 2 en schéma 2D.

Figure 23 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 2 avec le site actif de la 3NVY.

Figure 24 : La présentation des interactions récepteur-ligand 3 en schéma 2D.

Figure 25 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 3 avec le site actif de la 3NVY.

Figure 26 : La présentation des interactions récepteur-ligand 4 en schéma 2D.

Figure 27 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 4 avec le site actif de la 3NVY.

Figure 28 : La présentation des interactions récepteur-ligand 5 en schéma 2D.

Figure 29 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 5 avec le site actif de la 3NVY.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Médicaments responsables d'hyperuricémie et de goutte.

Tableau 2 : Les Principaux programmes de docking moléculaire.

Tableau 3 : Valeurs RMSD (Å°) des cinq complexes protéine-ligand.

Tableau 4 : Caractéristique de l'enzyme.

Tableau 5 : Les affinités des 5 meilleurs ligands de la xanthine oxydase.

Tableau 6 : Les paramètres de la règle de cinq de Lipinski des 5 meilleurs similaires.

Tableau 7 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 1 avec le site actif.

Tableau 8 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 2 avec le site actif.

Tableau 9 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 3 avec le site actif.

Tableau 10 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 4 avec le site actif.

Tableau 11 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 5 avec le site actif.

Tableau 12 : Les résultats des calculs des 100 complexes utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex.

Tableau 13 : Résultat de l'analyse entre les affinités obtenus par Surflex et les $\log IC_{50}$ des ligands déterminés expérimentalement de la pdb.

Tableau 14 : Les résultats du criblage par Surflex des similaires du ligand 3NVY.



Introduction

Introduction

Le mot médical « rhumatismal » est un terme générique qui, communément, désigne l'ensemble des maladies inflammatoires douloureuses affectant l'appareil locomoteur.

La plupart des maladies rhumatismales sont chroniques, c'est-à-dire qu'elles persistent ou tendent à récidiver, ainsi qu'à provoquer des modifications structurales ou fonctionnelles de l'organisme, qui se traduisent en fin de compte par une altération permanente. Les maladies rhumatismales regroupent diverses affections. Parmi elles, on trouve l'arthrose (usure des articulations), ou certaines maladies inflammatoires touchant les articulations comme l'arthrite, polyarthrite rhumatoïde, et la goutte [1].

La goutte est l'une des maladies métaboliques les plus anciennes [2], Identifiée pour la première fois par les égyptiens en 2600 avant Jésus Christ[3], connu sous le nom de "maladie des rois" de l'homme riche, frappant surtout les sujets de sexe masculin, âgés de plus de trente ans et de poids supérieur au poids normal [4].

Elle est caractérisée par un dépôt de cristaux d'urate monosodique aigue et récidivante susceptible de passer à long terme, à la chronicité dans les tissus, qui est responsables d'arthropathie, de tophus et de néphropathie et/ou lithiase [4]. L'hyperuricémie est identifiée comme le facteur de risque le plus important dans la survenue d'une goutte dont l'acide urique est le produit final du métabolisme des purines [5]. Ces purines sont dégradées par une série de réactions enzymatiques par l'enzyme xanthine oxydase (XO) [6].

L'axe principal de ce travail se situe dans le domaine de bio-informatique, plus précisément dans la recherche et la découverte de nouveaux médicaments pour les maladies dangereuses comme la goutte. A ce jour, cette maladie constitue une préoccupation de santé publique. Cependant, les outils existants sont limités pour fournir des procédures concises pour les utilisateurs réguliers (biologistes, chimistes, etc.) afin d'arranger les ressources pour mener un amarrage moléculaires massif. Par conséquent, ces derniers rencontrent plusieurs difficultés et problèmes lors de l'utilisation de ces applications, ce qui entraîne une grande perte de temps et d'argent afin d'accélérer la recherche de nouveaux traitements pour les maladies rares. L'approche *in silico* s'avère donc une méthode fiable pouvant contribuer de manière efficace au développement de nouveaux inhibiteurs d'une enzyme donnée.

Les objectifs principaux de ce travail consistent à vérifier la fiabilité du logiciel Surflex en utilisant deux méthodes complémentaires ; notamment le RMSD et le test de coefficient de corrélation ; ensuite nous avons étudié les interactions intervenant lors de l'inhibition de la xanthine oxydase par son inhibiteur de référence (QUE) issu de la PDB. Afin de concevoir, dans une dernière partie, de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affins envers la xanthine oxydase.



LA GOUTTE

1. Maladie de la goutte

1.1. Définition de la goutte

La goutte est un type d'arthrite inflammatoire ,causée par un trouble du métabolisme des purines et une élévation chronique qui en résulte d'acide urique sanguin [7],caractérisée par une réponse inflammatoire en escalade rapide résultant de la formation de cristaux d'urate monosodique dans le liquide synovial et d'autres tissus [8]. Elle touche une ou plusieurs articulations ; l'articulation de l'orteil est la plus atteinte, mais celle de la cheville, du poignet, du genou, du coude ou de la main peuvent être concernées [9].

1.2. Etude épidémiologique

La prévalence de la goutte dans les pays développés est de 1 % à 2 %, ce qui fait de cette maladie le rhumatisme inflammatoire le plus fréquent chez l'homme [10]. De très nombreux facteurs de risque de goutte ont été identifiés :

- L'uricémie est physiologiquement plus basse chez la femme par rapport à l'uricémie chez l'homme.
- Chez la femme ménopausée, l'uricémie augmente significativement à cause de la chute du taux d'œstrogènes, ces derniers favorisant l'excrétion rénale d'acide urique.
- Chez l'enfant, l'uricémie est bien plus faible que chez l'adulte. Elle augmente vers la puberté chez le garçon [5].
- Les changements alimentaires (mauvaises habitudes diététiques, sodas sucrés, régime occidental) et « l'épidémie d'obésité » [12].

1.3. Les causes de la goutte

1.3.1. Hyperuricémie

L'hyperuricémie est un élément prédictif clé du développement de la goutte.

Elle peut résulter d'une hyperproduction d'acide urique, d'une hypo excrétion urinaire d'acide urique ou bien de l'association de ces deux processus [11].

L'acide urique est principalement éliminé par excrétion urinaire. Dans la majorité des cas, l'hyperuricémie primitive est liée à une élimination rénale diminuée de l'acide urique. Celle-ci peut s'expliquer par trois mécanismes [11]:

- Une diminution de la filtration glomérulaire de l'acide urique.

CHAPITRE 1 LA GOUTTE ET LA XANTHINE OXYDASE

- Une diminution de la sécrétion tubulaire de l'acide urique.
- Une augmentation de la réabsorption tubulaire de l'acide urique.

La production d'acide urique s'effectue principalement dans le foie, à partir des acides nucléiques de l'ADN, les purines sont dégradés par une série de réactions enzymatiques pour aboutir à la formation d'acide urique par le biais de l'enzyme xanthine oxydase (XO) qui agit de façon irréversible [6].

La concentration plasmatique recommandée d'acide urique diffère selon le sexe. On suggère des valeurs moyennes entre 200 et 400 $\mu\text{mol/L}$ pour l'homme et entre 150 et 350 $\mu\text{mol/L}$ chez la femme; mais il faut garder le seuil de saturation de l'urate de sodium à un taux inférieur à 360 $\mu\text{mol/L}$ [13].

1.3.2. Facteur génétique

La goutte essentiellement une maladie chronique caractérisée par un défaut d'excrétion des urates.

La concentration plasmatique de l'acide urique dépend d'un équilibre entre sa synthèse et son élimination qui sont régulées par des facteurs génétiques. Les études ont identifié deux gènes régulateurs majeurs de l'hyperuricémie ;le gène *SLCA9* codant la protéine GLUT9 qui est un transporteur de réabsorption des urates dans le tubule rénal proximal et le gène *ABCG2* transporteur de sécrétion de urates au niveau des cellules du tubule collecteur [14].

1.3.3. Alimentations

L'alimentation joue un rôle incontestable dans la survenue de la maladie goutteuse. Ainsi, la consommation en excès de viandes grasses, de poissons gras ou de fruits de mer peut contribuer au développement d'une hyperuricémie d'autant plus qu'une augmentation insuffisante de l'uraturie en réponse à une élévation de l'uricémie due à un apport purinique alimentaire élevé, serait souvent observée. Ce mécanisme interviendrait dans 90% des cas de gouttes primitives [11]. A l'inverse, la consommation de produits laitiers allégés, de café et de vitamine C réduirait l'uricémie.

L'association entre obésité et goutte a fait l'objet de nombreuse recherche scientifique. Et il a été montré que le risque de goutte augmente avec le poids corporel et le rapport tour de hanche/ tour de taille. L'explication de cette association passe par le fait que l'obésité est associée à un hyperinsulinisme et par le fait que l'insuline augmente la réabsorption tubulaire d'urate. L'augmentation de la fréquence de l'obésité que l'on observe dans diverses parties

CHAPITRE 1 LA GOUTTE ET LA XANTHINE OXYDASE

explique en partie l'augmentation de la prévalence de l'hyperuricémie et de la goutte dans le monde. Des mesures axées sur la correction de l'hyperinsulinisme peuvent contribuer à la diminution de l'uricémie des patients gouteux [10].

1.3.4. Médicaments

Plusieurs médicaments couramment prescrits influencent positivement ou négativement la concentration plasmatique d'acide urique. Ils agissent plus souvent qu'autrement au niveau rénal en freinant ou en stimulant l'excrétion de l'acide urique. Par exemple, l'utilisation régulière de diurétiques provoque une augmentation de la concentration d'acide urique dans le sang. Tel que les diurétiques de l'anse que les thiazidiques réduisent l'excrétion d'urate, probablement par déplétion volumique, ce qui entraînerait une réabsorption au tubule proximal [10], La liste de ces médicaments est résumée dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Médicaments responsables d'hyperuricémie et de goutte

Nom du médicament	L'hyperuricémie	La goutte
Diurétiques	+	+
B-bloquants	+	-
Acide acétylsalicylique	+	-
Ciclosporine	+	+
Tacrolimus	+	+
Ritonavir	+	+

1.3.5. Autres facteurs

Plusieurs études ont montré que la consommation d'alcool augmentait la prévalence et l'incidence de la goutte. L'alcool entraîne une élévation de l'uricémie par diminution de l'urico-élimination et par une hyper-uricoformation. L'alcool le plus incriminé reste la bière. Car en plus d'être alcoolisée, cette dernière est riche en purine (même les bières sans alcools) et plus précisément en guanosine aboutissant après dégradation dans l'organisme à la synthèse d'acide urique [15].

1.4. Les symptômes

La goutte se manifeste sous deux formes cliniques, l'accès aigu, et la goutte chronique :

CHAPITRE 1 LA GOUTTE ET LA XANTHINE OXYDASE

1.4.1. Goutte aiguë

La crise débute brutalement, par des douleurs souvent intenses, qui peuvent réveiller le malade qui dort. Le gros orteil (le plus souvent touché) est rouge, chaud, gonflé. La douleur est pulsatile. La crise va durer de quelques jours à quelques semaines (les premières crises sont plus courtes et souvent moins intenses que les suivantes) [16].

En général, surtout lors des premières crises, une seule articulation est touchée. Ultérieurement, plusieurs articulations peuvent l'être, voire les tendons (tendinite goutteuse) ou les bourses séreuses péri-articulaires (bursite goutteuse)[17].

Le point le plus caractéristique est que la crise de goutte va disparaître d'elle-même, sans aucun traitement et tout va rentrer dans l'ordre sans séquelle jusqu'à la prochaine crise. Pendant plusieurs années, le goutteux va faire une crise de temps en temps (tous le un à deux ans), puis les crises vont se rapprocher, mais toujours, l'intervalle entre deux crises est normal. C'est la phase de goutte aiguë [16].



Figure 1 : Crise de goutte typique du gros orteil, gonflé et rouge[17].

1.4.2. La goutte tophacée chronique

A ce stade, atteint après des années de phase aiguë, les dépôts d'acide urique dans les tissus sont majeurs (on parle de tophus goutteux), parfois visibles sous la peau.

CHAPITRE 1 LA GOUTTE ET LA XANTHINE OXYDASE

Au fil des années cependant, non seulement les crises sont plus fréquentes, mais la période entre deux crises n'est plus totalement normale, il persiste des douleurs articulaires, cette articulation se déforme (la radiographie le montre parfaitement) et finit par se détruire, donnant les douleurs moins intenses mais permanentes. L'atteinte est désormais chronique on parle de goutte chronique [18].

Les dépôts les plus dangereux sont ceux qui se font dans le rein qui finit par ne plus fonctionner correctement conduisant à l'insuffisance rénale et son traitement ultime : la dialyse rénale [19].



Figure 2 : Goutte chronique [19].

1.5. Le diagnostic

Deux types d'examens permettent de diagnostiquer la goutte : un examen biologique et un examen radiologique.

1.5.1. Examen biologique

Cet examen se résume au dosage de l'acide urique sanguin qui est élevé (ce dosage servira à suivre l'effet des traitements) et au dosage de la créatinine dans le sang (reflet de la fonction rénale) [20].

1.5.2. Examen radiologique

Le diagnostic de la goutte repose sur un ensemble de critères cliniques selon la recommandation de l'European League Against Rheumatism (EULAR), et apport de

CHAPITRE 1 LA GOUTTE ET LA XANTHINE OXYDASE

l'imagerie. En effet, plusieurs classifications de critères cliniques ont été établie afin d'aider au diagnostic de la goutte [17].

✚ Apport de l'imagerie

Radiologie conventionnelle

La radiographie contribue à la détection des changements et des complications occasionnées par les tophes au cours des stades avancés de la goutte [21]. Les signes radiographiques peuvent être retardés de 10 à 15 ans après le début de la maladie [22].

Les images radiologiques caractéristiques de la goutte chronique correspondent à la présence d'un ou plusieurs des éléments suivants (Figure 3) :

- Tophes qui apparaissent comme des nodules denses intra-articulaires ou périarticulaires des tissus mous. Ils sont généralement ovoïdes et asymétriques et peuvent ne pas être visibles par radiographie avant d'avoir atteint 5 à 10mm.
- Le tophus intra-osseux est une lésion très évocatrice, délocalisation préférentielle aux os des mains et des pieds.
- La déposition para-articulaire des tophi est à l'origine d'une opacité « nuageuse » des tissus mous adjacents [23].

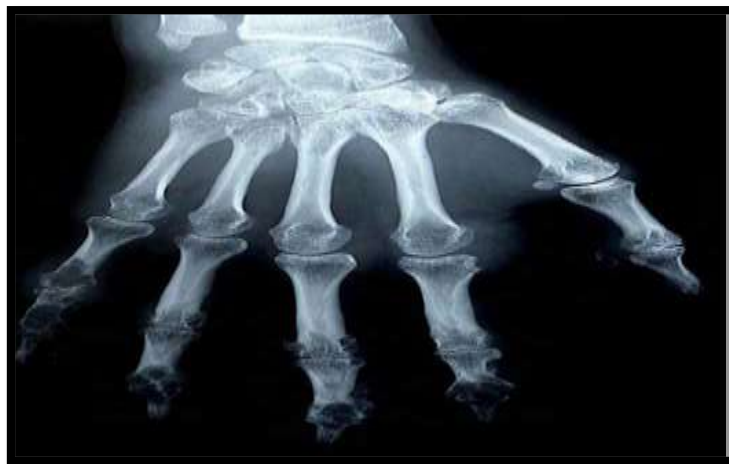


Figure 3 : Tophus intra-osseux dans une goutte [23].

1.6. Le traitement de la goutte

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens constituent habituellement le traitement de première intention de la crise de la goutte, réduisant la concentration d'acide urique en diminuant sa formation par inhibition de la xanthine oxydase et la colchicine orale un traitement de deuxième intention [24].

CHAPITRE 1 LA GOUTTE ET LA XANTHINE OXYDASE

1.6.1. Traitement de la crise aiguë

1.6.1.1. Anti-inflammatoire non stéroïdienne

Il est utilisé pour traiter les manifestations douloureuses associées à la crise aiguë, si pas de contre-indications digestives, rénales et cardiovasculaires [25].

1.6.1.2. Colchicine

La colchicine est un alcaloïde tricyclique très toxique, extrait au départ des colchiques. Il est indiqué dans le traitement et la prévention des crises de goutte, et responsable d'une action cytostatique avec inhibition de nombreuses fonctions cellulaires en particulier en agissant sur l'inflammation [26].

1.6.2. Traitements Hypouricémiants

Les traitements hypo-uricémiants sont généralement proposés aux patients avec accès récurrents de goutte, tophi, atteinte structurale et lithiases rénales.

Le but de ces traitements est de réduire le taux sérique d'urates soit par diminution de la synthèse d'acide urique (inhibiteurs de la xanthine oxydase), soit en augmentant l'excrétion rénale d'acide urique (uricosuriques) [27].

1.6.2.1. Allopurinol

L'allopurinol ou 4-hydroxypurazolo [3,4-d] pyrimidine [28], est l'inhibiteur le plus prescrit pour la prévention des crises d'arthrite goutteuse [29]. C'est un analogue de structure vue son analogie avec la xanthine et l'hypoxanthine (Figure 4), et est donc un inhibiteur compétitif de cette dernière, à des concentrations élevées il agit comme étant un inhibiteur non compétitif [30].

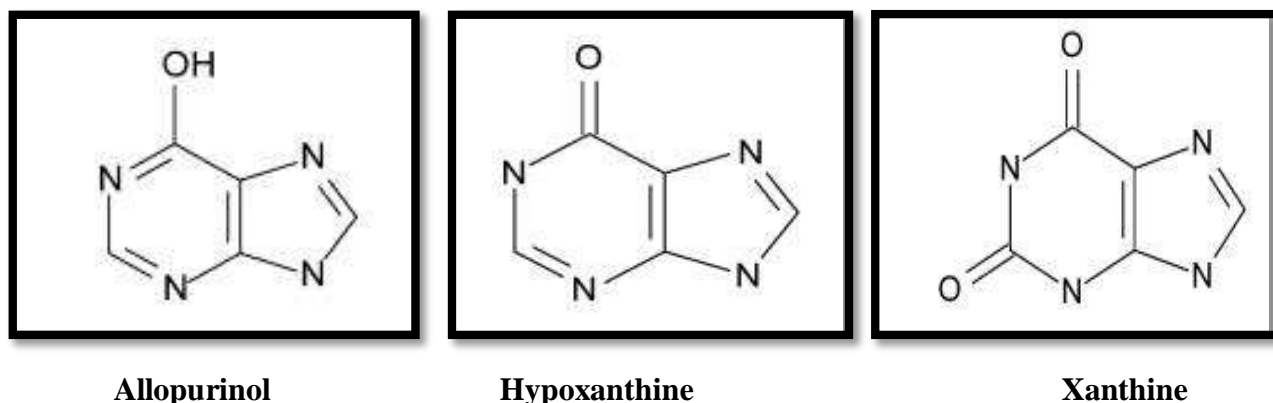


Figure 4 : Structure chimique d'allopurinol, hypoxanthine et de la xanthine.

L'allopurinol agit au niveau du site molybdène de l'enzyme, sa fixation à ce dernier empêche la liaison de l'enzyme avec les purines et forment un complexe abortif ayant une longue demi vie.

✚ Effets secondaires de l'allopurinol

- L'allopurinol peut provoquer des troubles digestifs, des troubles cutanés, des rash, des cytopénies, ou l'hypersensibilité.
- La conversion de l'allopurinol en oxypurinol permet la production des radicaux superoxydes [31].
- Interactions médicamenteuses: l'allopurinol peut potentialiser les effets immunosuppresseurs et cytolytiques de traitements comme l'azathioprine et la 6-mercaptopurine, qui sont métabolisés en partie par la xanthine oxydase [32].

1.6.2.2. Feboxostat (TEI 6270)

Un nouvel hypo-uricémiant, le feboxostat (figure 6) a été récemment décrit, c'est un inhibiteur sélectif non purinique de la xanthine oxydoréductase récemment mis sur le marché [33].

Il est utilisé dans le traitement de l'excès chronique d'acide urique et de ses manifestations (goutte), lorsqu'un dépôt d'urate dans l'organisme s'est déjà produit [34].

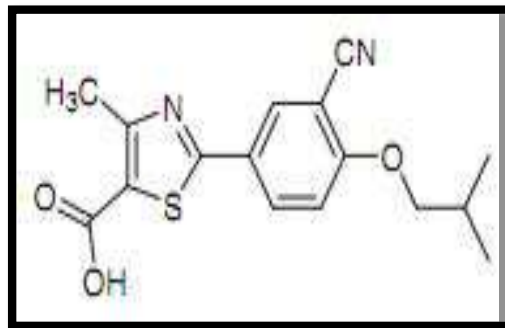



Figure 5 : Structure chimique du feboxostat.

✚ Effets secondaires du feboxostat

Les effets indésirables liés au feboxostat les plus fréquemment rapportés sont les désordres métaboliques montrés notamment par une augmentation de la concentration des enzymes hépatiques (les transaminases), des diarrhées, des céphalées, des nausées et des éruptions cutanées [35].



**La Xanthine
Oxydase**

2. La xanthine oxydase

2.1. Généralités

La xanthine oxydase (XOR) est un complexe molybdoflavoenzyme qui a été identifié pour la première fois par Schardinger en 1902 dans le lait bovine [36]. Sa structure cristalline a été déterminée en 2000 par Enroth et coll.

Il existe deux types de xanthine oxydase interconvertibles également connus sous le nom de xanthine oxydoréductase (XOR) qui diffèrent par leur forme et par leur mode d'action. Elles peuvent être soit de type xanthine oxydase (XO; EC 1.1.3.22), dépendantes de l'O₂, soit de type xanthine déshydrogénase (XDH; EC 1.1.1.204), dépendantes du NAD⁺ [37].

Elle joue un rôle très important dans le catabolisme des purines, où elle catalyse la transformation de l'hypoxanthine en xanthine puis de la xanthine en acide urique [38].

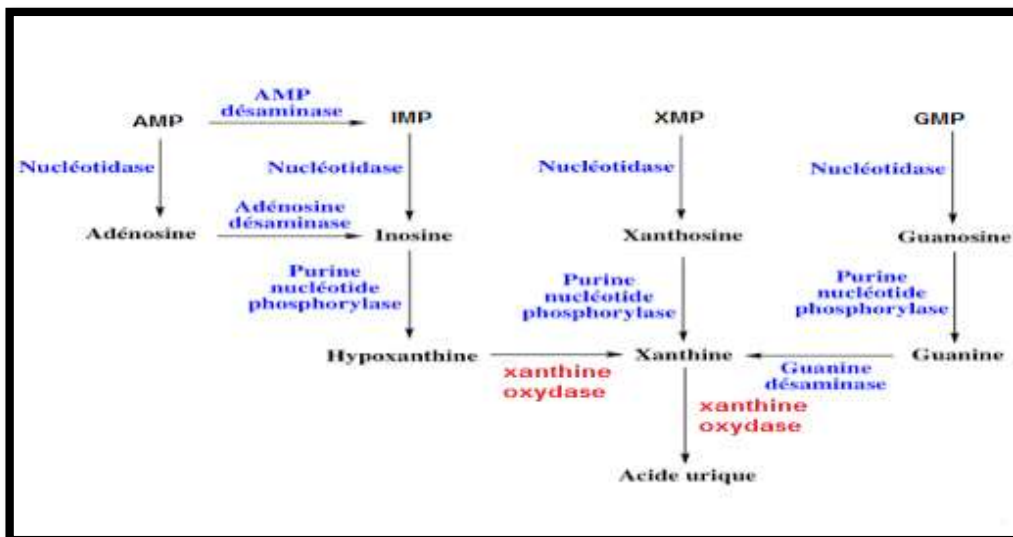


Figure 6 : Processus enzymatique de catabolisme des purines.

2.2. Distribution et localisation

La XOR est une enzyme présente chez la plus part des êtres vivants [39]. Chez les mammifères, l'activité de cette enzyme est largement distribuée, avec des niveaux les plus élevés étant trouvés dans le foie et l'intestin [40], ainsi détectée dans l'épithélium et l'endothélium des glandes mammaires, et l'endothélium du cœur, poumons, et reins [41].

Chez l'homme, la XOR a été détectée principalement dans les cellules endothéliales des capillaires sanguins, le tissu pulmonaire, la glande mammaire, le foie et la muqueuse intestinale et en faible quantités dans muscle squelettique, cœur et cerveau [42]. Les travaux d'Hellsten Westing ont également détecté la XOR dans les macrophages humains [43].

2.3. Gène de la XOR

Le gène codant pour la XOR humain est situé sur le bras court du chromosome 2 dans la bande p22 [44], comme il est mentionné dans la figure 7. Il est de 60 Kb et comporte 36 exons et 35 introns [45]. L'ARNm de XOR contient une armature ouverte de la lecture à 3999 Pb codant pour 1333 acide aminés [44].

L'augmentation de l'expression de gène de la XOR en fin de grossesse est maximale suivante à la parturition, les niveaux de la transcription sont élevés jusqu'au 7 premier jour de la période de lactation [46].

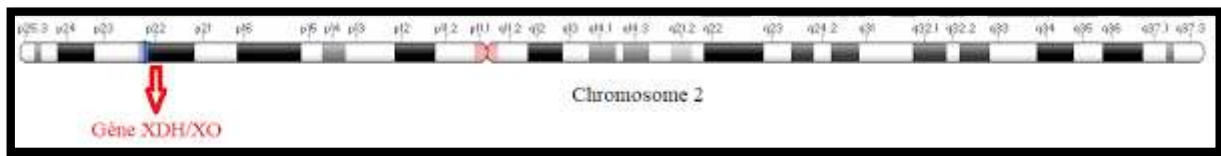


Figure 7 : Localisation du gène de la XOR (NCBI, 2019).

2.4. Structure de la xanthine Oxydase

La forme active de cette enzyme se produit comme un homo-dimère de poids moléculaire de 300 KDa. Chaque sous-unité de l'enzyme contient un cofacteur molybdèneptérine (Mo-pt), deux centre fer-soufre (Fe₂-S₂) distincts et un cofacteur flavine adénine dinucléotide (FAD) [47], comme il est mentionné dans la figure 8. Les électrons sont donnés à partir de tels substrats au site de molybdène de XOR et sont rapidement équilibrés entre les centres redox avant d'être transmis au NAD⁺ ou à l'oxygène moléculaire au site du FAD. La réduction du NAD⁺ donne du NADH, et celui de l'oxygène moléculaire donne du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et anion superoxyde (O₂⁻) [48]. Le transport des électrons est assuré par les deux centre Fe₂-S₂, puis par une molécule de FAD et enfin au NAD⁺ ou O₂ [49], comme il est présenté dans la figure.

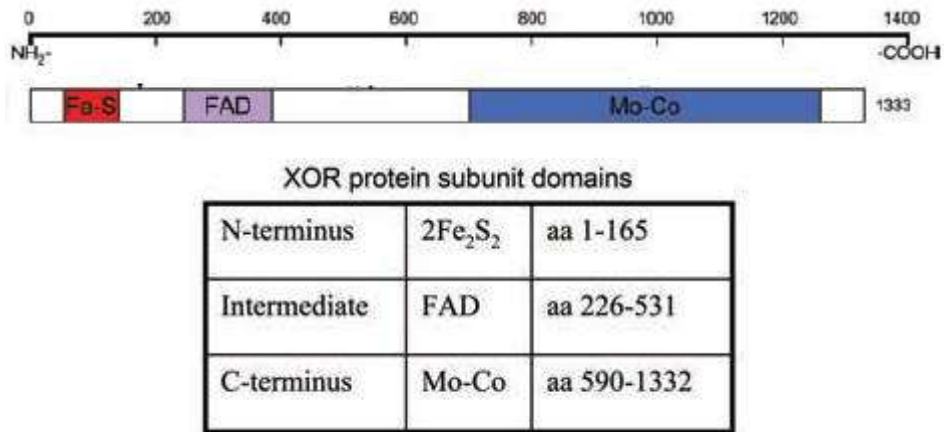


Figure 8 : Domaines constituant une sous unité de la XOR .

Le domaine N-terminal (1-165 acides aminés) est composé de deux sous domaines avec un centre fer-soufre (Fe₂S₂). Le domaine intermédiaire (226-531 acides aminés) contient une molécule FAD. Le domaine C-terminal est le plus large (590-1332 acides aminés) et où siège le cofacteur du molybdène [41].

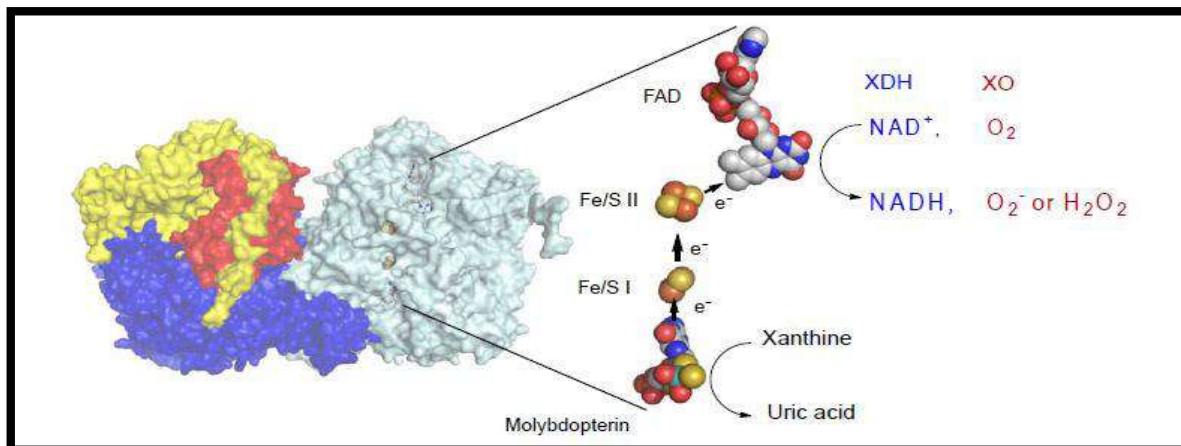


Figure 9 : Structure cristalline du XOR bovine. La gauche; Structure homodimère du XOR bovin. Les domaines N-terminal (en rouge), C-terminal (en bleu) et intermédiaire (en jaune) contiennent les centres fer-soufre, la molybdoptérine et les centres FAD. Droite: arrangements cofacteurs de l'enzyme. Les flèches indiquent les directions du flux d'électrons pendant la catalyse. Le FAD réduit réagit avec le NAD⁺ ou l'oxygène pour produire du NADH, du H₂O₂ ou de l'O₂⁻ [49].

2.5. Mode d'action de la Xanthine Oxydase

La xanthine oxydase est une enzyme indispensable au métabolisme des purines. Elle catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide urique [50], comme le montre la figure. Ces étapes ultérieures sont irréversibles [36].

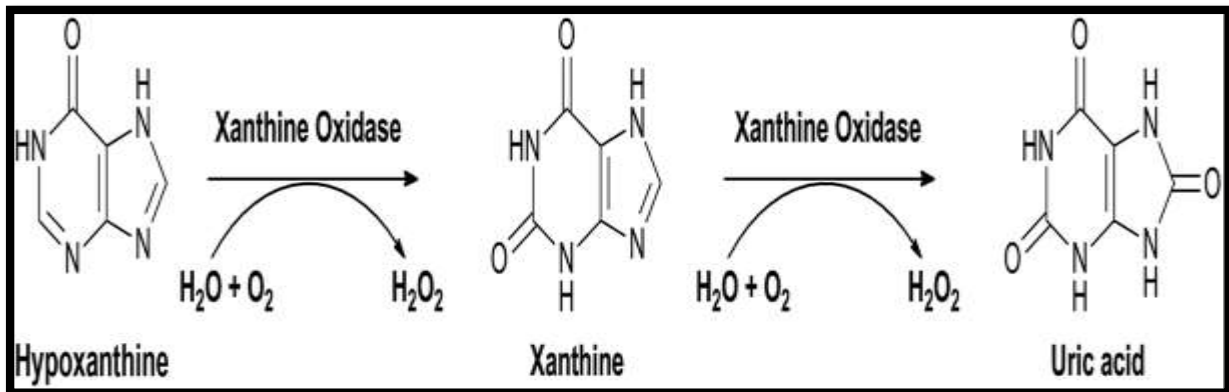


Figure 10 : Métabolisme de l'acide urique.

Le mécanisme d'action s'effectue en deux étapes représentées dans la figure 11.

La première étape est une demi-réaction de réduction qui a lieu au niveau du centre le molybdène (Mo). Elle est caractérisée par la réduction de Mo(VI) en Mo(IV) et l'oxydation de la xanthine en acide urique. Pour continuer sa fonction catalytique, le molybdène perd les deux électrons.

Ces derniers sont transférés au centre FAD par l'intermédiaire des clusters Fe₂/S₂.

Sachant que les centres Fe₂/S₂ peuvent être considérés comme des pompes d'électrons [51].

La deuxième est une demi-réaction d'oxydation qui se déroule au centre FAD.

Dans cette étape, si la réaction est catalysée par la xanthine déshydrogénase XDH, FADH₂ transfère les deux électrons au NAD⁺ pour donner NADH. Si elle est catalysée par la XO, les électrons seront transférés à l'oxygène moléculaire O₂ pour produire le radical superoxyde (O₂⁻) d'une manière univalente, ou d'une manière bivalente en donnant le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) [52]. Cette dernière forme, par les réactions de Fenton et/ou Haber-Weiss, le radical hydroxyle (OH) [53].

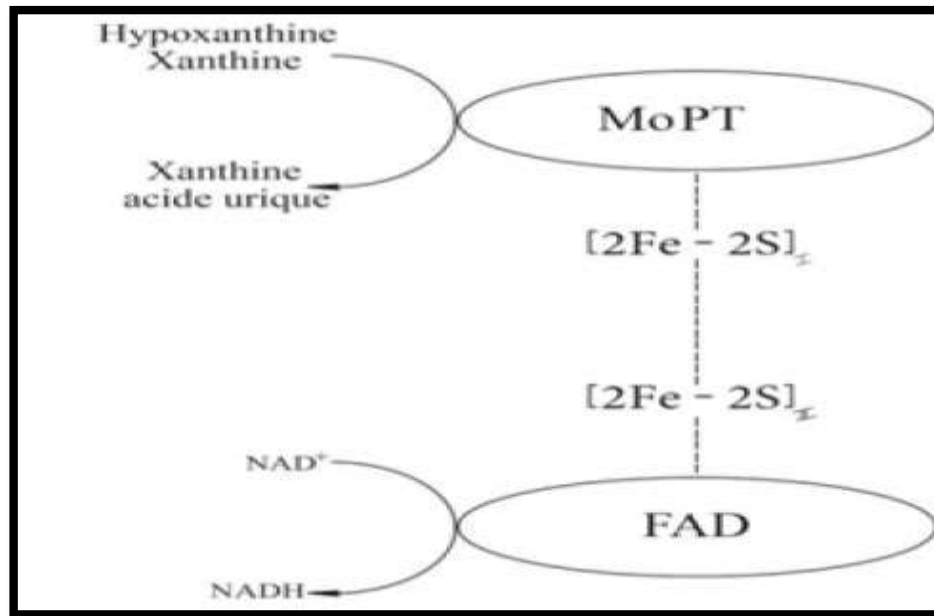


Figure 11 : Représentation du mécanisme réactionnel de la Xanthine Oxydase.



Docking moléculaire

1. Généralités

L'identification et la mise au point de nouveaux médicaments se fait par l'amarrage moléculaire ou docking moléculaire, il sert souvent à déterminer l'orientation de petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité. Ainsi, l'amarrage joue un rôle important dans la conception pensée de nouveaux médicaments.

Les progrès en matière de cristallographie et l'introduction de structures obtenues par RMN a conduit à la création d'une ressource basée sur les technologies modernes qui faciliterait l'usage et l'analyse de données structurales. Dans le domaine de la biologie, la « Protein Data Bank » (PDB) est la base de données par excellence [54].

Cependant, les outils informatiques ont pris place pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. L'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglosaxon "Docking") est l'une des méthodes *in silico* les plus récentes. La problématique du « Docking », a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand par étude l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation des complexes moléculaires [55].

2. Le docking moléculaire

Le docking peut être défini comme étant l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires. Il a des applications pratiques dans l'ingénierie des protéines et la conception de nouveaux médicaments. Il existe différents types de docking dont ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine et ADN-protéine.

Le Docking moléculaire permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie [56].

D'un point de vue informatique, la prédiction de la structure se traduit par un problème d'optimisation. A chaque position relative possible est associée une énergie (également appelé score, fitness, etc.). La structure la plus probable est alors celle qui minimise cette énergie [57].

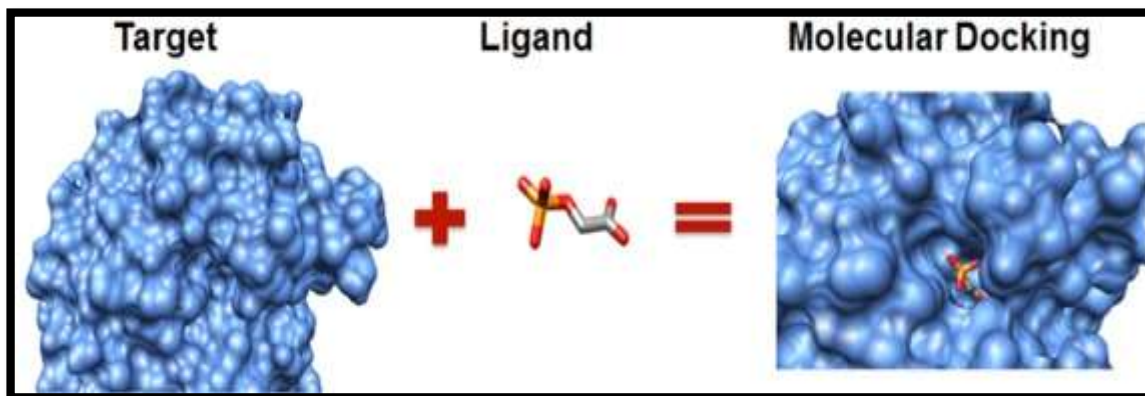


Figure 12 : Représentation schématique du Docking de deux molécules(protéine+ Ligand Complexe moléculaire).

3. Principe de docking

Le docking moléculaire se déroule en deux étapes principales :

La première consiste à rechercher et générer toutes les conformations possibles et donc générant les modes d'interaction possibles entre la protéine et le ligand. Cette étape doit parcourir au mieux l'espace conformation pour trouver l'énergie minimale globale.

La deuxième est une donnée numérique dite fonction de score capable de déterminer la conformation qui représentera le mode d'interaction le plus juste pour chaque ligand par rapport à son récepteur. En calculant rapidement l'énergie libre totale du complexe protéine-ligand formé : c'est l'étape de marquage de score [58].

4. Applications

Il y a deux principales applications au programme de Docking, La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur. L'optimisation de la structure du ligand déjà connu peut avoir plusieurs raisons : l'amélioration de son affinité, de sa spécificité, de sa synthèse ou encore de ses propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité) [59].

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer les performances des différents programmes de docking pour chaque application. L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport à son récepteur est habituellement déterminée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square deviation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal [60].

5. Les outils du docking moléculaire

Les éléments indispensables pour pratiquer un Docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire de nature protéique appelée « cible », une petite molécule appelée ligand et un programme de Docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi.

5.1. Ligand

Le ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal [61].

Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions.

La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure en trois dimensions (3D). L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre la protéine et son ligand permet de promouvoir ce changement de conformation, appelé ajustement induit. Cette modification structurale peut ainsi moduler éventuellement son état fonctionnel et son activité [62].

La structure des ligands est obtenue par deux moyens :

- Le premier : consiste à utiliser des ligands du pdb ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....) grâce à des logiciels de construction moléculaires tels que Titan.
- Le deuxième : consiste à utiliser des collections de molécules (chimiothèques) virtuelles aussi bien commerciales, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimique les plus utilisées, nous citons la PubChem [63].

5.2. Le récepteur

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand. Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB « Protein Data Bank » [56].

Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolue la structure, la méthode expérimentale, ...etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [63].

6. Les Programmes du docking

Le tableau suivant représente quelques exemples des programmes de docking.

Tableau 2 : les Principaux programmes de docking moléculaire [64]

Nom	Editeur	Sites internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/application/fred.html
Glide	Schrodinger	http://www.schrodinger.com/products/glide.html
Gold	CCDC	http://ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

7. Le programme de docking moléculaire Surflex

Parmi les programmes de Docking moléculaire, nous avons utilisé le programme Surflex pour réaliser le travail de recherche. Ce programme repose sur l'ajustement de fragments en commençant par construire un modèle « en négatif » du site actif dit protomol.

Ce modèle est constitué par le volume accessible du site et les points d'interaction tels que les sites de liaison hydrogène, les charges ou les sites lipophiles. Son algorithme est appelé également de fragmentation incrémentale car, dans un premier temps, la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles. Par la suite, les parties rigides sont positionnées en premier et le ligand est reconstruit de proche en proche, explorant diverses conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles ce qui permet un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés [65].



**Partie
Pratique**

1. Matériel :

1.1. Micro-ordinateur

Dans cette étude, nous avons utilisé des programmes installés dans deux microordinateurs présentant les performances suivantes :

- ASUS Vivobook Max avec 4GB de RAM ,500 GB HDD et une vitesse de 1.6GHz
- HP i5 4200 u avec 4 GB de RAM ,500 GB HDD et une vitesse de 1.7 GHz 2.40 GHz

1.2. Programmes

L'utilisation de plusieurs programmes été nécessaire pour pouvoir réaliser notre partie pratique.

- **Surflex (1.3)** : est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision [66].
- **Titan** : Dans sa version 1.0.1, nous a permis la construction moléculaire des ligands issus de la littérature scientifique ainsi que la minimisation de leur énergie intramoléculaire.
- **Open Babel (2.4.1)** : est un programme libre, visant à faciliter l'inter conversion des données chimiques d'un format à un autre de fichiers. Les formats de fichier que le programme Open Babel prend en charge comprennent : PDB, MOL, MOL2, SDF, XYZ, PC, SMI...etc [67].
- **Biovia Discovery studio visualizer** : Nous a permis de préparer et visualiser aussi bien l'enzyme que les ligands afin d'étudier les interactions effectuées entre la protéine et le ligand.
- **Excel 2013** : Pour tracer un diagramme utilisé lors du test de fiabilité de Surflex (RMSD).

1.3. Sites internet

- **Protein Data Bank (PDB)** La banque de données protéiques (*protein Data Bank* ou PDB) est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique. Ces structures sont principalement déterminées par les deux méthodes ; la cristallographie à rayons X et la RMN [68] ; <https://www.rcsb.org/> .

- **PubChem**

C'est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la National Institute of Health (NIH).

La PubChem englobe plusieurs millions de composés mis en ligne, gratuitement, pour chaque Substance une grande quantité de données de divers ordres chimique, biochimique, Pharmacologique, production, toxicologie [69] ; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> .

- **SwissADME**

Permet de calculer les propriétés physico-chimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion), les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la convivialité de la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour soutenir la découverte de médicaments ; <http://www.swissadme.ch/> .

2. Méthode :

2.1. Docking moléculaire

Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules extraites, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interactions entre deux molécules. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand ».

2.2. Tests d'évaluation de la fiabilité du programme Surflex

Il est nécessaire d'étudier la fiabilité des logiciels d'ancrage moléculaire afin de valoriser les résultats obtenus tout au long de notre travail. Pour ce faire, nous avons réalisé deux tests

qui nous ont permis d'affirmer la fiabilité du logiciel utilisé « Surflex », le premier étant le **RMSD** (*Root-Mean-Square Deviation*) et le deuxième, le **coefficient de corrélation (r)**.

2.2.1. Root-Mean-Square Deviation (RMSD)

La valeur de déviation quadratique moyenne ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*) entre la conformation et l'orientation du ligand déterminée par le programme de docking et sa pose dans le complexe expérimental doit être la plus petite possible. Plus la valeur de déviation quadratique moyenne se rapproche de 0, plus la conformation prédite par le logiciel se superpose avec celle de référence. La norme actuelle pour évaluer la performance d'un logiciel de docking est de faire ce test sur environ une centaine de complexes protéine-ligand cristallisés. Ce premier test a été réalisé sur 100 complexes tirés de la PDB.

2.2.2. Coefficient de corrélation linéaire (r)

Il s'agit du deuxième moyen permettant de tester la fiabilité du programme Surflex.

- **L'IC₅₀** : est la concentration d'inhibiteur nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition de l'enzyme. Cette grandeur peut également être exprimée en $\log IC_{50}$ ou en $p IC_{50} = -\log IC_{50}$. Ce test consiste à déterminer le degré de corrélation entre le $\log IC_{50}$ déterminées expérimentalement, issues de la PDB, et les affinités correspondantes pour l'enzyme calculées par Surflex.

La détermination du coefficient de corrélation entre l'activité biologique et le score de docking moléculaire semble être un bon moyen pour tester la performance du programme Surflex utilisé dans notre travail.

2.3. Préparation des molécules pour le docking moléculaire

2.3.1. Préparation de l'enzyme (récepteur)

La structure 3D de la Xanthine Oxydase (XO) qui fait l'objet de notre étude, a été téléchargée sous format pdb à partir de la PDB sous le code **3NVY** ; où elle existe sous forme de complexe lié à un inhibiteur avec une valeur de résolution de 2 Å.

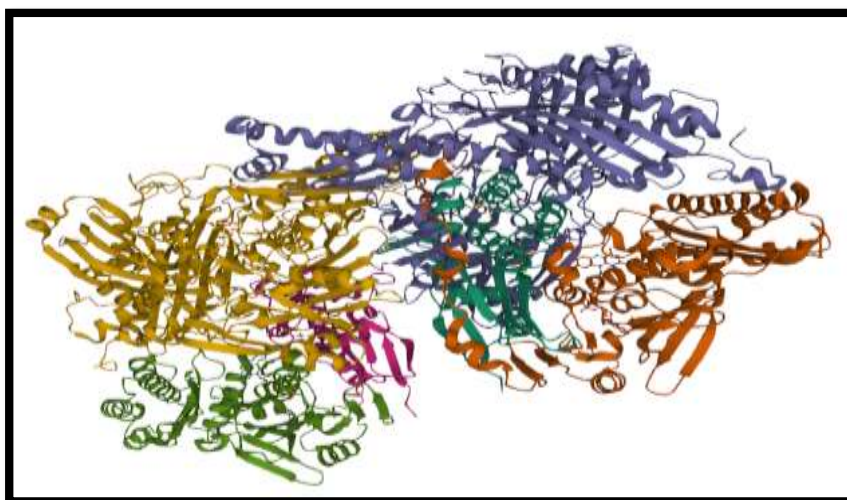


Figure 13 : Structure 3D du complexe 3NVY.

Les molécules d'eau et l'inhibiteur liés au récepteur ont été éliminés pour ne conserver que la structure de l'enzyme et l'enregistrer ensuite sous format pdb, puis convertie au format mol2 par le programme Open Babel que reconnaît Surfex.

2.3.2. Préparation du ligand

Dans notre étude, nous avons tiré 30 structures issues de la littérature et mentionnées dans les annexes . Ces molécules ont été dessinées avec le programme de construction moléculaire « Titan » puis enregistrées sous format pdb après minimisation de leur énergie intramoléculaire.

Avant d'utiliser le programme Surfex, il est important de préparer un fichier pdb comportant la structure 3D de l'inhibiteur de référence **QUE** du complexe 3NVY utilisé. Ce ligand nous servira pour la génération du *protomol* par Surfex.

La conversion des ligands (ligand de référence ou autres) au format. mol2 pour les adapter au docking par Surfex s'est faite grâce à OpenBabel 2.4.1.

2.4. Docking par Surfex

Le docking moléculaire a été réalisé en utilisant le programme Surfex, différentes étapes sont nécessaires :

- **Génération du protomol**

Identification du site actif par construction d'une pseudo-molécule appelée "protomol". Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

Surflex-dock proto ligand. mol2 protein.mol2 pl

- **Docking du ligand**

L'étape de docking débute par une fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments obtenus permet de rechercher les meilleures conformations du ligand dans le site actif de l'enzyme.

La réalisation de cette étape nécessite la commande suivante :

Surflex-dock dock ligand. mol2 pl-protomol.mol2 protein.mol2

Les résultats pour les dix meilleurs conformères sont fournis dans un même fichier. Chaque conformère possède trois scores : le premier correspond à l'affinité, le second au degré de pénétration impropre du ligand dans la protéine appelé « *crash score* » et enfin le troisième ou « *polar score* » correspond au niveau de contribution des interactions polaires. Surflex donne, par défaut les dix meilleures affinités en M⁻¹ (figure 14)

```
Polishing: .....
Times (total 1): search 0 align 0 merge+chain 1 polish 0
Neofns (final 65): 3 16 1698 2008
[ret_conf 3.22] [ret_conf 0.97] [ret_conf 1.09] [ret_conf 1.03] [ret_conf 0.91]
[ret_conf 1.09] [ret_conf 1.01] [ret_conf 0.95] [ret_conf 0.81] [ret_conf 1.07]
[ret_conf 3.65] [ret_conf 2.02] [ret_conf 1.94] [ret_conf 0.86] [ret_conf 3.68]
[ret_conf 4.18] [ret_conf 3.65] [ret_conf 0.79] [ret_conf 0.85] [ret_conf 1.72]
[ret_conf 1.33] [ret_conf 0.91] [ret_conf 2.82] [ret_conf 1.80] [ret_conf 0.85]
[ret_conf 0.66] [ret_conf 1.09] [ret_conf 1.80] [ret_conf 4.02] [ret_conf 1.45]
[ret_conf 0.63] [ret_conf 0.91] [ret_conf 1.01] [ret_conf 4.07] [ret_conf 0.63]
[ret_conf 0.96] [ret_conf 0.64] [ret_conf 1.21] [ret_conf 1.01] [ret_conf 0.96]
[ret_conf 0.90] [ret_conf 0.59] [ret_conf 1.37] [ret_conf 1.87] [ret_conf 3.50]
[ret_conf 4.05] [ret_conf 2.15] [ret_conf 1.71] [ret_conf 1.89] [ret_conf 0.43]
final-0: 4.21 (crash -0.62 (self -0.15))
final-1: 4.07 (crash -0.58 (self -0.15))
final-2: 4.07 (crash -0.49 (self -0.22))
final-3: 4.03 (crash -0.49 (self -0.25))
final-4: 3.79 (crash -0.41 (self -0.19))
final-5: 3.72 (crash -0.42 (self -0.21))
final-6: 3.72 (crash -0.42 (self -0.21))
final-7: 3.71 (crash -0.50 (self -0.26))
final-8: 3.63 (crash -0.38 (self -0.15))
final-9: 3.22 (crash -1.38 (self -0.68))
```

Figure 14 : Résultat du docking par Surflex.

2.5. Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques

➤ Le criblage virtuel

La banque de donnée PubChem fournit un nombre de similaires coordonné avec le taux de similarité structurale désiré au ligand de référence. PubChem, nous a proposé 300 composés présentant 92 % d'homologie à notre ligand de référence. Nos similaires ont été téléchargés puis convertis du format (.sdf) au format (.mol2) avec le programme OpenBabel 2.4.1.

Ces similaires ont subi un criblage virtuel au niveau du site actif de notre cible enzymatique dans le but de prédire leur affinité envers l'enzyme et ce en utilisant le logiciel Surflex.

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, brevetable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADME/Tox).

2.6. Filtrage ADME/Tox

En 1997, Lipinski et al ont proposé « la règle de 5 » également appelée « règle de LIPINSKI » permettant de déterminer si un composé chimique possède des caractéristiques médicamenteuses précises. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être disponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants[70] :

1. Possède une masse moléculaire inférieure à 500 daltons.
2. Un coefficient de partition (log P) ou une lipophilie entre -2 et 5.
3. Ne possède pas plus de 5 donneurs de ponts hydrogène (OH et NH).
4. Ne possède pas plus de 10 accepteurs de ponts hydrogène (O et N).
5. Le nombre de fonctions rotatives (flexibles et linéaires) inférieur à 15.

Le log P est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau. $\text{Log P} = \log (\text{Coct}/\text{Ceau})$. Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule.

2.7. Analyse visuelle

C'est une étape importante qui permet de vérifier et de comparer les résultats du RMSD calculé et la superposition des molécules. Elle permet également d'observer et de dénombrer les différentes interactions réalisées entre le ligand et les résidus du site actif.



Résultats et Discussion

Notre travail de master a pour objectif essentiel d'acquérir des compétences en simulation informatique, notamment le docking moléculaire par le programme Surflex, afin de contribuer à la conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la goutte. Ce travail s'articule en trois parties. Nous avons tenté dans une première partie de tester la performance du programme de docking moléculaire Surflex utilisé dans ce travail. Dans une deuxième partie, nous avons étudié les interactions intervenant lors de l'inhibition de la xanthine oxydase afin de concevoir, dans une dernière partie, de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affins envers la xanthine oxydase.

1. Tests de fiabilité du programme Surflex :

Afin de prédire le mode d'interaction qui consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur, il est indispensable de tester la fiabilité du programme Surflex par l'écart quadratique moyen (RMSD) suivi par l'analyse visuelle.

1.1. RMSD (*root mean square deviation*) :

Correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes du ligand (le ligand de référence). Les performances d'un programme de docking sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Le mieux possible signifie que la valeur du RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est le plus petit possible avec une valeur de résolution qui égale à 2Å et qui provient de la PDB (Protein Data Bank). Le positionnement, c'est-à-dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD [71].

La prédiction est acceptable si la valeur du RMSD ne dépasse pas les 2Å.

Pour cela, nous avons utilisé 100 complexes protéine-ligands qui ont été téléchargés à partir de la PDB au format pdb de manière arbitraire, les complexes ont été séparés, dans deux fichiers différents, et après nous avons converti ces derniers du format pdb au format mol2 par le programme Open Babel.

Les résultats de RMSD des 100 complexes seront représentés dans l'annexe N°1.

La figure ci-dessous représente le pourcentage (%) des résultats de 100 complexes à deux intervalles de RMSD pour le programme Surflex.

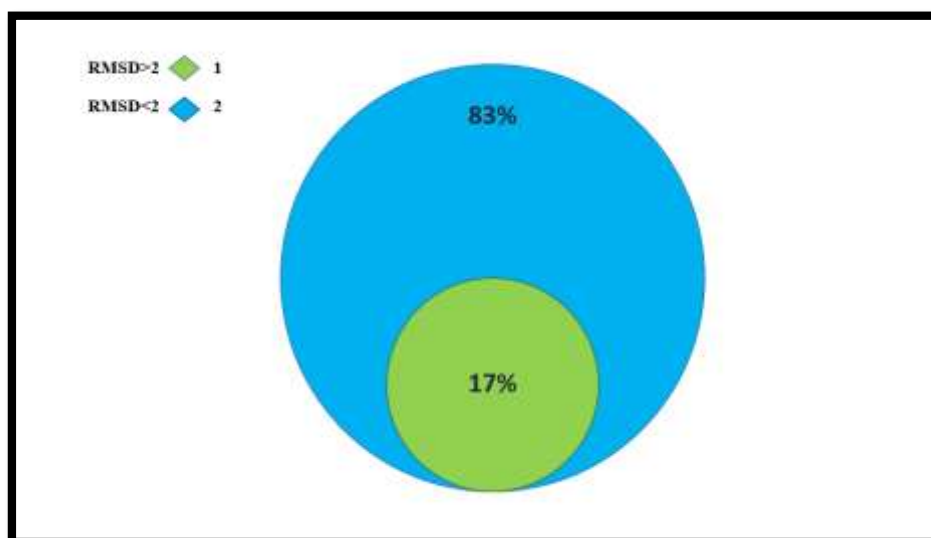


Figure 15 : Résultats en % obtenus par Surfex à deux intervalles de RMSD(A°).

Les résultats montrent que 83% des complexes présentent des valeurs de RMSD inférieures ou égale à 2 Å, et que seulement 17% des valeurs sont supérieures à 2 Å.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de CHIKHI A. et BENSEGUENI A. (2008) qui ont trouvé 63% des RMSD sont $\leq 2\text{Å}$. On peut ainsi conclure que Surfex est un programme de docking moléculaire performant.

Nous avons appliqué le test RMSD sur cinq complexes de la xanthine oxydase disponibles au niveau de la PDB portant les codes : 3NVY, 3NVV ; 3NVZ, 3NRZ, 3ETR afin de nous assurer que le programme Surfex peut être utilisé sans trop de risque d'erreurs dans notre travail sur la xanthine oxydase. Les résultats sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Valeurs RMSD (Å) des cinq complexes protéine-ligand.

Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD (Å)
3NVY	QUE	1.94
3NVV	AST	2.668
3NVZ	I3A	1.62
3NRZ	HPA	0.71
3ETR	LUZ	0.84

1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle par Biovia Discovery Studio Visualizer faite à la suite du test RMSD, est une étape essentielle pour confirmer la fiabilité du programme Surflex.

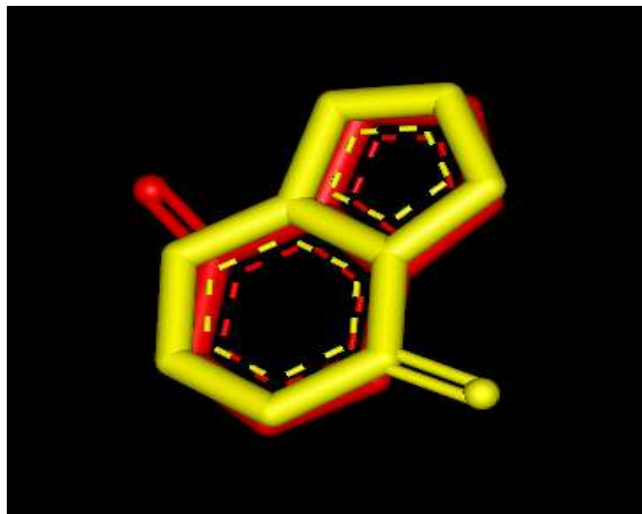


Figure 16 : Superposition du ligand (coloré en jaune) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en rouge) du complexe **3NRZ** (RMSD = 0.71 Å).

1.3. Le coefficient de corrélation (r)

Dans le même objectif, nous avons fait un deuxième test qui consiste principalement à évaluer le degré de corrélation qui existe entre les affinités de 30 inhibiteurs de la xanthine oxydase calculées par Surflex et les valeurs de leurs IC₅₀ déterminées expérimentalement dans la littérature.

Ces derniers sont téléchargés à partir de la PDB dans le format pdb portant des codes et des IC₅₀ différents. Les résultats obtenus sont présentés dans l'annexe.

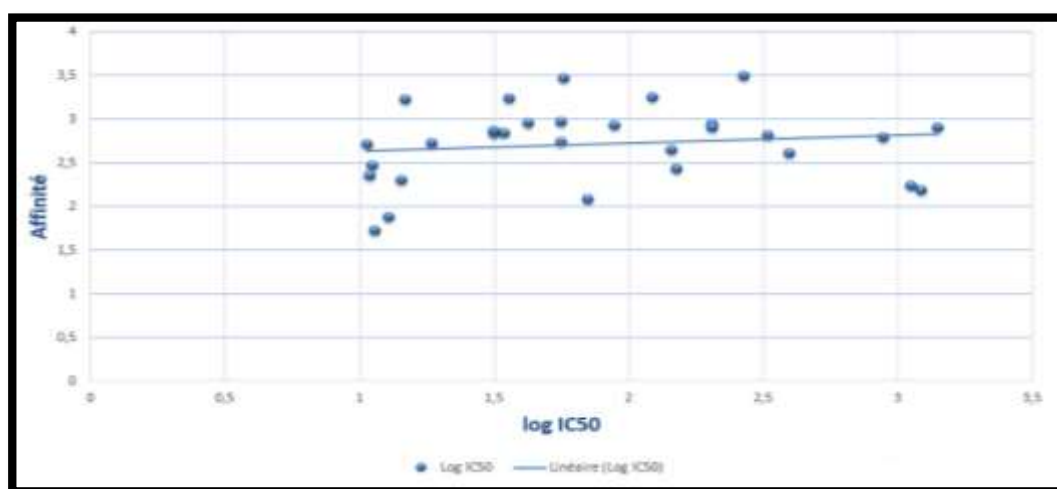


Figure 17 : Corrélation entre logIC₅₀ et l'affinité calculée par Surflex des 30 complexes choisis.

Les résultats de l'analyse de régression linéaire représentés dans la figure 17 montrent une bonne corrélation entre l'affinité des scores et les valeurs de Log IC₅₀ des inhibiteurs étudiés (r=0.71).

Les résultats des travaux effectués par d'autres auteurs sont proches du nôtre. En effet, ils ont trouvé la valeur r = 0.70 affirmant ainsi la performance du logiciel Surflex.

2.Etude d'interaction entre la xanthine oxydase et le ligand de référence la quercétine (QUE)

Pour effectuer le docking de ces molécules, nous avons utilisé le complexe 3NVY. L'analyse visuelle de ce complexe montre que l'enzyme xanthine oxydase est liée à son ligand portant le code « QUE ».

2.1. Le choix du complexe (3NVY)

Tableau 4 : Caractéristique de l'enzyme

Molécule	La xanthine oxydase EC 1.17.3.2
Complexe	3NVY
Classification	OXYDOREDUCTASE
Organisme	<u>Bos taurus</u>
Inhibiteur	QUE
N° de chaine	A B C D E F
RMSD	0.027
Affinité	3.15
Libéré	2010-07-08
Résolution	2.00 Å

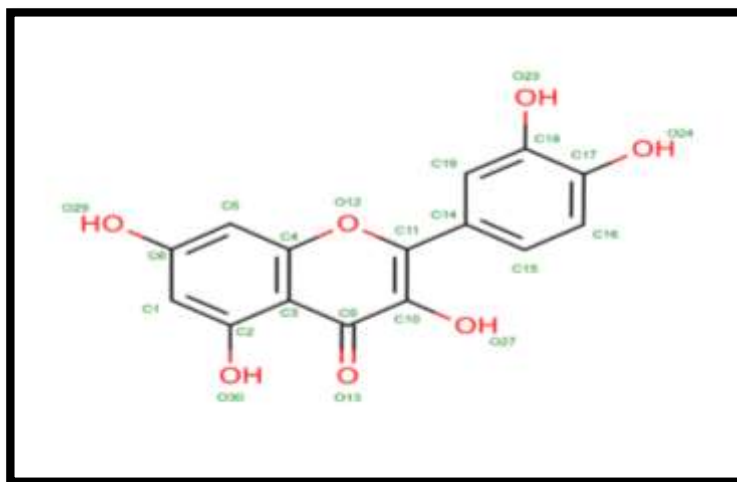


Figure 18 : Structure chimique développée de l'inhibiteur QUE.

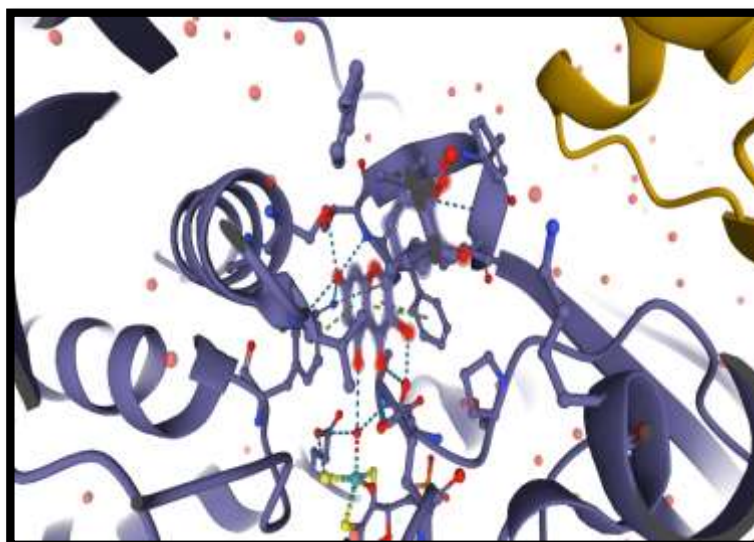


Figure 19 : La position du ligand (QUE) dans le site actif de la xanthine oxydase.



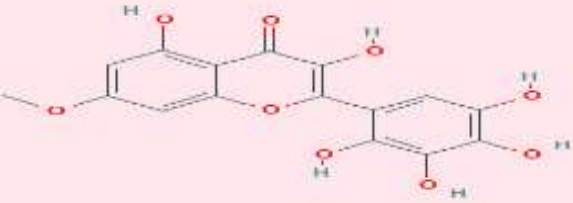
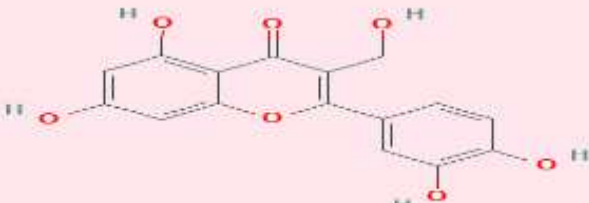

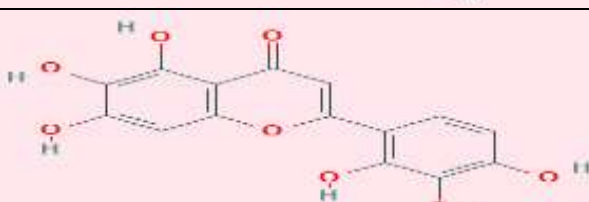
➤ Le criblage virtuel

Nous avons effectué le criblage virtuel de 300 similaires du ligand de notre complexe **3 NVY** téléchargés de la chimiothèque PubChem présentant une homologie structurale de 92 % à notre ligand de référence.

A l'aide du programme Surflex, nous avons pu simuler la formation de ces complexes et évaluer leurs affinités. L'interface graphique Biovia Discovery Studio, nous a aidé à visualiser le nombre et le type de liaisons mises en jeu lors de ces interactions.

Sur les 300 ligands testés (regroupés dans le tableau 2 des annexes), seulement 32 ont présenté une affinité supérieure à celle de notre ligand de référence, estimée à 3.15 M^{-1} et que nous regroupons dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Les affinités des 5 meilleurs ligands de la xanthine oxydase

N°	N° CID	Affinité (M ⁻¹)	La structure
01	5280343 (ligand de référence OUE)	3.15	
02	676309	4.30	
03	57691829	4.08	
04	11347622	4.05	
05	85638679	3.97	
06	86060142	3.78	

2.2. La règle de cinq de Lipinski

Chaque pro-médicament doit respecter certaines conditions pour être considéré comme « Drug-like ». Notamment l'absorption, et la distribution du futur médicament dans le corps humain, donc la règle de Lipinski présente un excellent test pour accepter ou refuser les similaires comme inhibiteurs à potentiel médicamenteux.

Plusieurs serveurs web proposent le calcul de ces paramètres, comme le site Web SwissADME que nous avons consulté. Parmi les 32 ligands similaires, nous avons choisi les 5 premiers qui présentent une affinité largement supérieure à celle de notre ligand de référence QUE, les résultats de cette opération sont cités dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Les paramètres de la règle de cinq de lipinski des 5 meilleurs similaires

N° CID	Affinité (M-1)	PM (g/mol) ≤ 500	Donneur De H	Accepteur De H	Liaison Rotable (≤15)	Log P (≤ 5)
5280343 (ligand de référence 'QUE')	3.15	302.24	5	7	1	1.23
676309	4.30	270.24	3	5	1	1.90
57691829	4.08	348.26	6	9	2	0.84
11347622	4.05	316.26	5	7	2	1.25
85638679	3.97	302.24	5	7	1	1.21
49849859	3.78	348.26	6	9	2	0.84

D'après les 2 tableaux nous avons conclu que les 5 similaires inhibent la xanthine oxydase avec une affinité supérieure à $3.15M^{-1}$ et remplissent tous les critères de la règle de cinq de Lipinski.

2.3. L'analyse visuelle et discussion des interactions

Dans cette étude, nous avons sélectionnés les cinq molécules ayant présentés les meilleures propriétés pharmaco-dynamique.

Le docking de ces composés dans le site actif de la protéine donne plusieurs informations intéressantes concernant les interactions formées entre ces derniers. Nous avons fait appel à l'interface graphique " Show 2D" du programme Biovia Discovery Studio pour visualiser et analyser le nombre et le type de liaison formant le complexe.

Les interactions prédites par le docking sont, en général, électrostatiques. Parmi les liaisons électrostatiques, les liaisons hydrogènes sont très répandues et importantes en raison de leur force qui bascule entre celle de la liaison covalente et celle des forces de Van Der Waals

A - Etude des interactions du composé 1

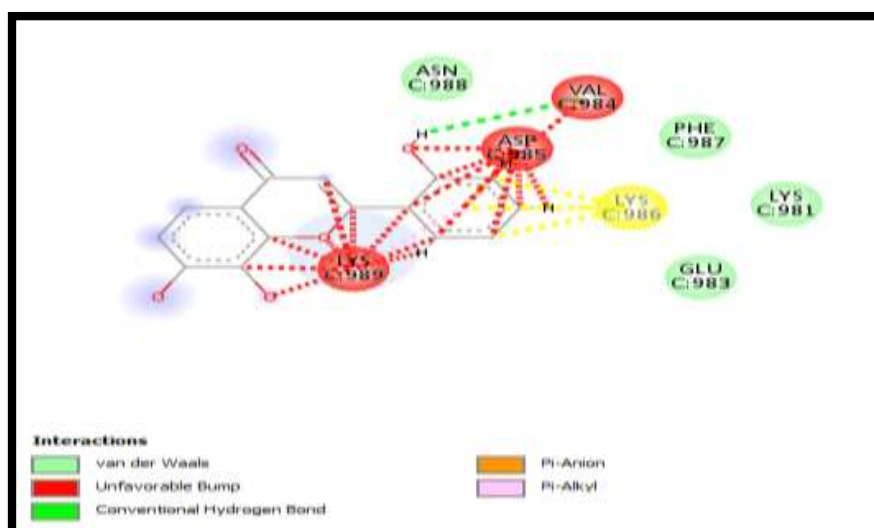


Figure 20: La présentation des interactions récepteur-ligand 1 en schéma 2D.

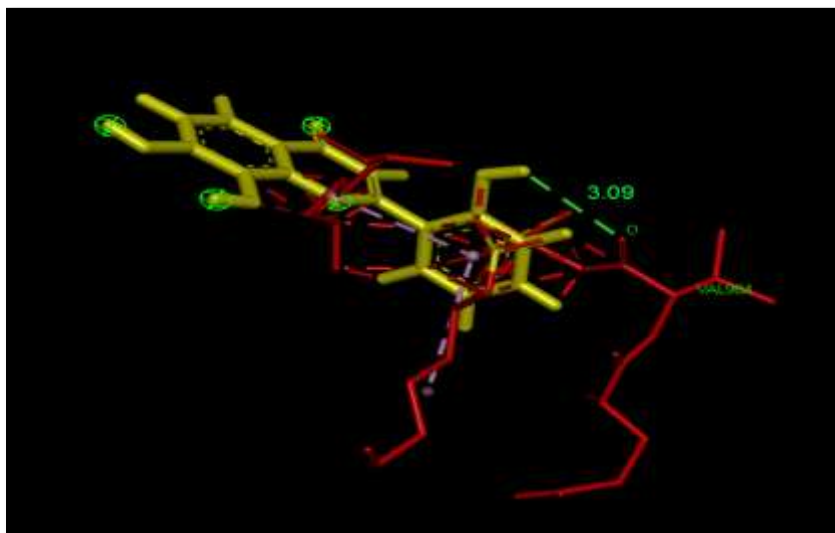


Figure 21 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 1 avec le site actif de la 3NVY.

- **Discussion des résultats**

Tableau 7 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 1 avec le site actif.

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	VAL984	7088 O	30 H	3.09

Le composé 1 forme 1 liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électro-négatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

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

- l'Asparagine numérotée 988 et l'acide glutamique 983.
- Phénylalanines numérotée 987 ; Lysine 981

B- Etude des interactions du composé 2

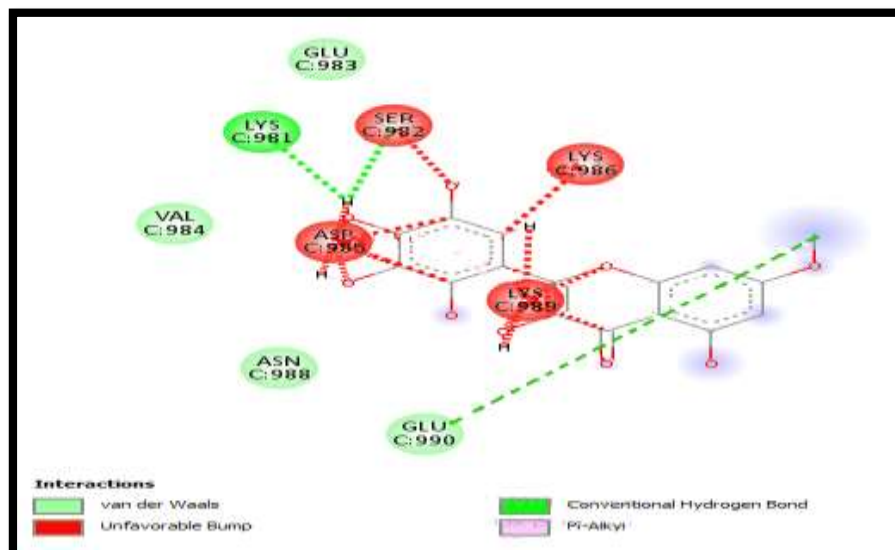


Figure 22 : Présentation des interactions récepteur-ligand 2 en schéma 2D.

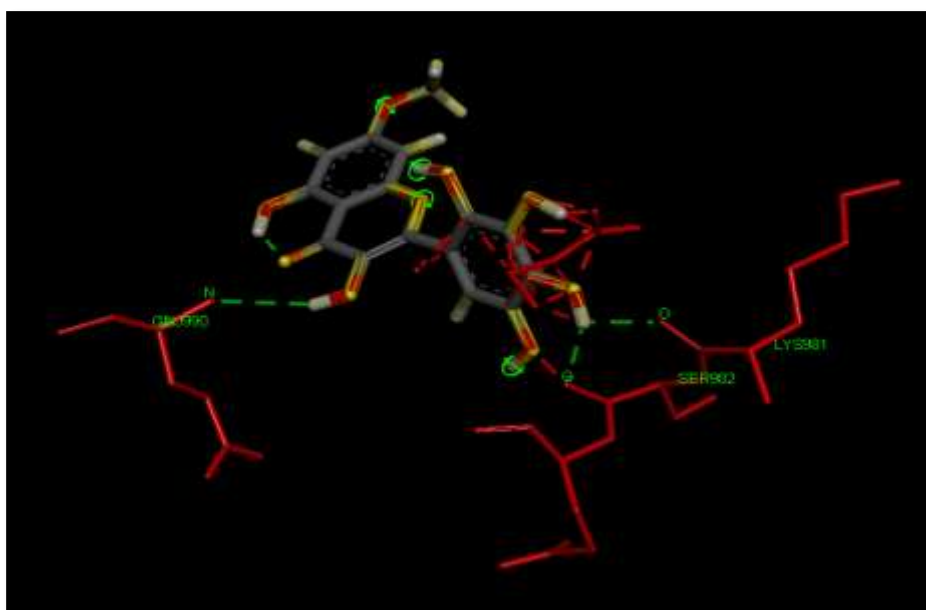


Figure 23 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 2 avec le site actif de la 3NVY.

- Discussion des résultats

Tableau 8 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 2 avec le site actif

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	GLU990	7138 N	27 H	3.07

2	SER982	7074 O	34 H	2.09
3	LYS981	7065 O	34 H	2.11

Le composé 2 forme 3 liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électronégatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

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

- La valine numérotée 984 ; l'Asparagine 988.
- L'acide glutamique numérotées 983

C- Etude des interactions du composé 3

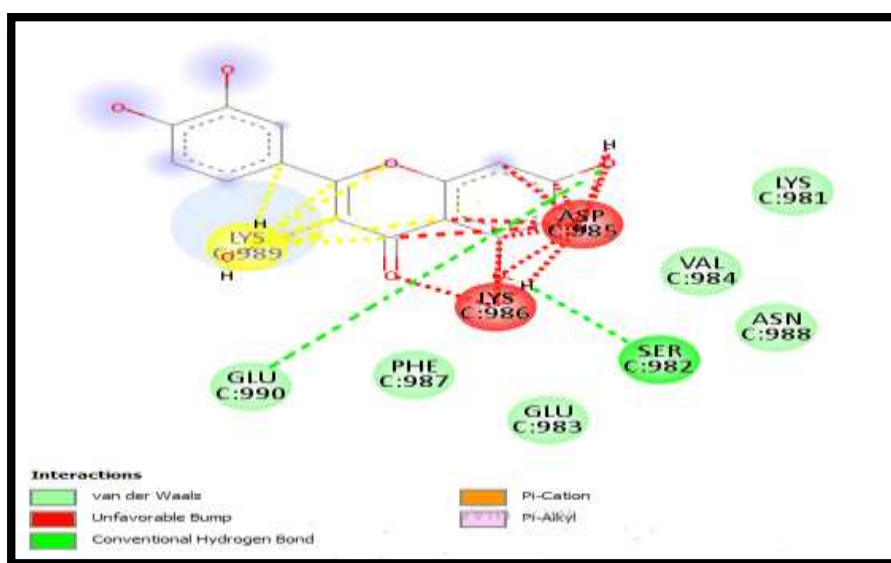


Figure 24 : Présentation des interactions récepteur-ligand 3 en schéma 2D.

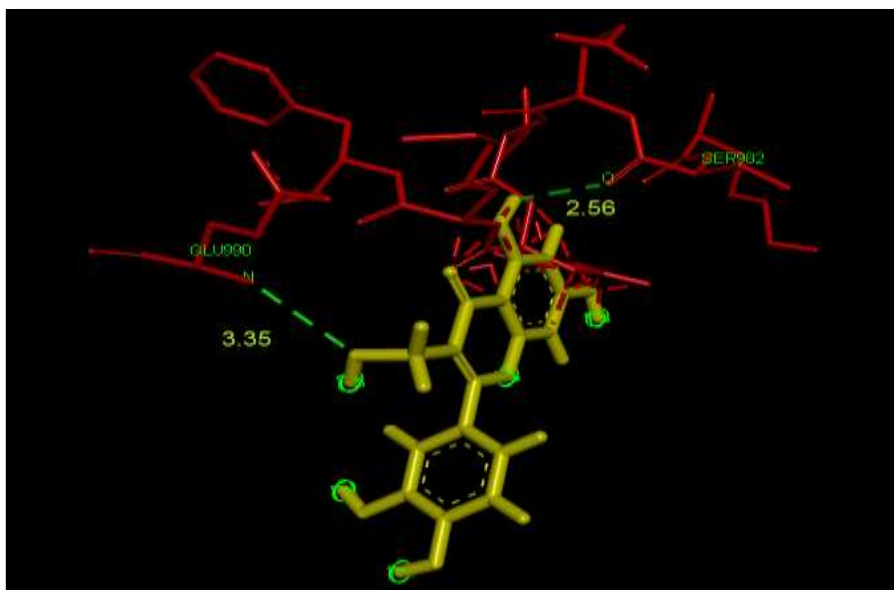


Figure 25 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 3 avec le site actif de la 3NVY.

- **Discussion des résultats**

Tableau 9 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 3 avec le site actif

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	GLU990	7138 N	35 H	3.35
2	SER982	7074 O	31 H	2.56

Le composé 3 forme 2 liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électronégatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

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

- La valine numérotée 984 ; l'Asparagine 988.
- L'acide glutamique numérotées 983 ; Lysines 981
- phénylalanines numérotées 987.

D- Etude des interactions du composé 4

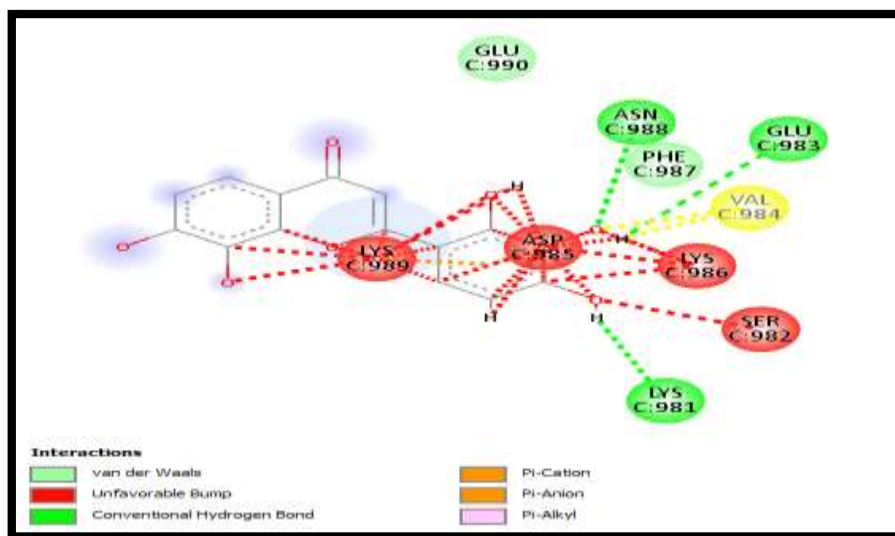


Figure 26 : La présentation des interactions récepteur-ligand 4 en schéma 2D.

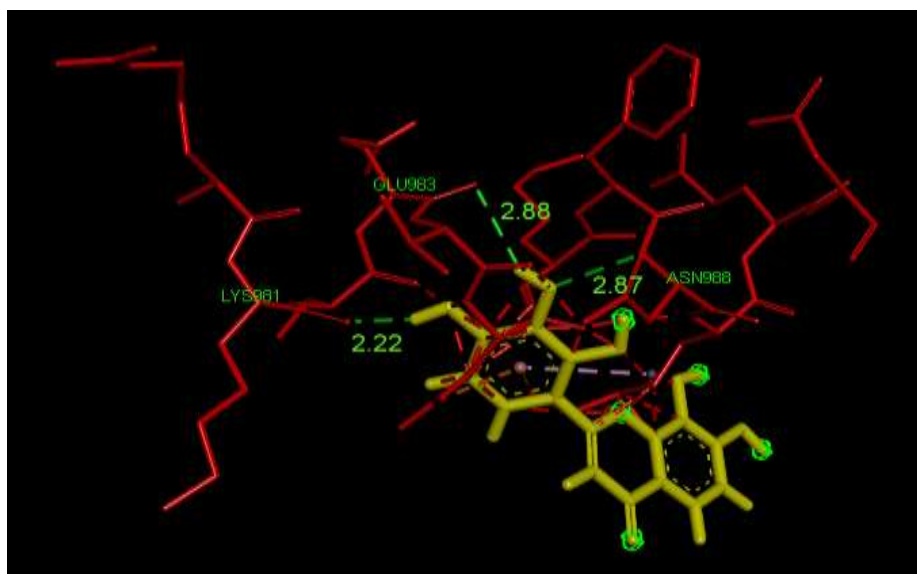


Figure 27 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 4 avec le site actif de la 3NVY.

- Discussion des résultats

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	LYS981	7063 O	32 H	2.22
2	GLU983	7079 O	31 H	2.88
3	ASN988	7121 N	6 O	2.87

Tableau 10 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 4 avec le site actif.

Le composé 4 forme 3 liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électronégatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

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

- L'acide glutamique numérotées 990 .
- phénylalanines numérotées 987.

E- Etude des interactions du composé 5

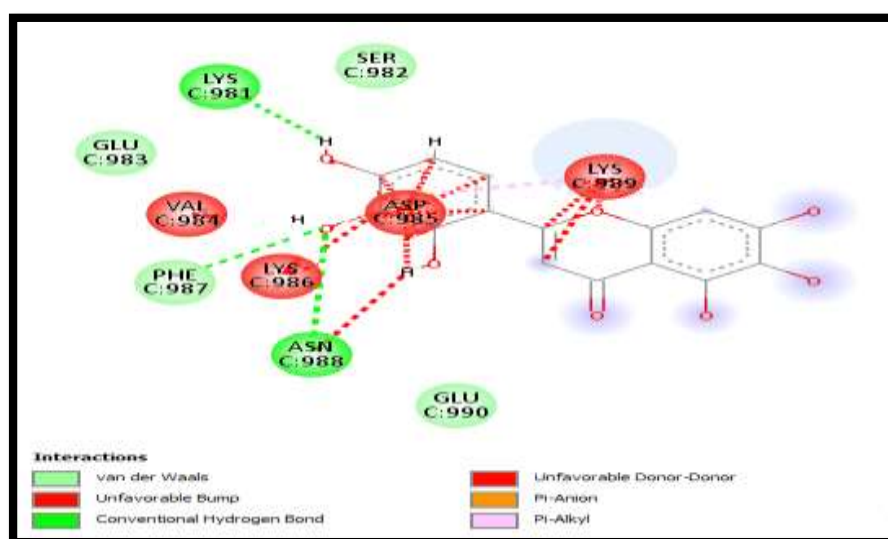


Figure 28 : La présentation des interactions récepteur-ligand 5 en schéma 2D.

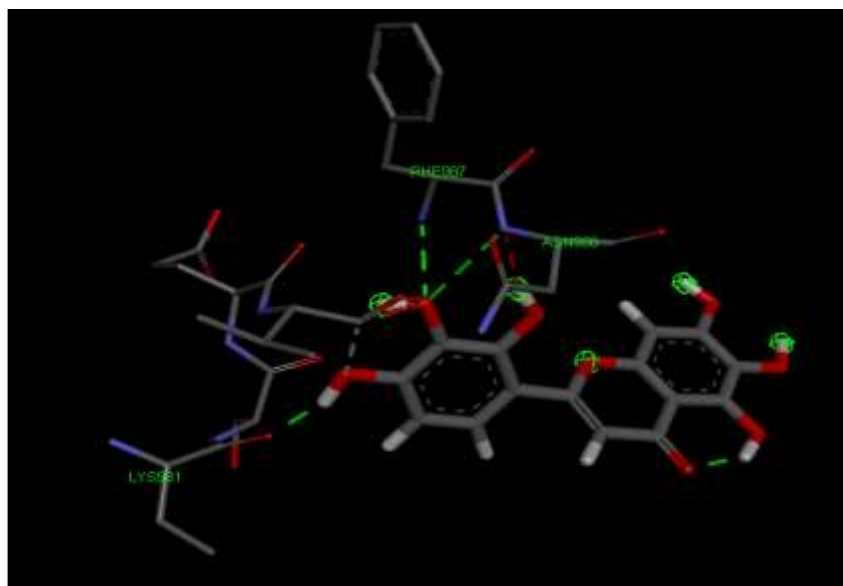


Figure 29 : Analyse visuelle par Biovia Discovery Visualizer du mode d'interaction du ligand 5 avec le site actif de la 3NVY.

- **Discussion des résultats :**

Tableau 11 : Les liaisons hydrogène établies par le composé 5 avec le site actif.

N°	Résidus impliqués	Atome d'acide aminé	Atome du ligand	Distance Å
1	ASN988	7121 N	7 O	3.02
2	PHE987	7110 N	28 H	2.47
3	LYS981	7065 O	33 H	1.79

Le composé 5 forme 3 liaisons hydrogènes conventionnelles (Conventional Hydrogen Bond) qui lient deux atomes électronégatifs discutées dans le tableau ci-dessus.

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

- 2 Acide glutamique numérotées 990 et 983.
- phénylalanines numérotées 987.



Conclusion

Conclusion

Notre travail de recherche avait pour but essentiel de mettre en évidence de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase en faisant appel à l'approche *in silico* par docking moléculaire, pour cela nous avons choisi le programme de docking « Surfex ». Nous nous sommes appuyés sur des travaux expérimentaux montrant que la quercétine est un inhibiteur de la xanthine oxydase dans le domaine du traitement de la goutte dans le but de proposer d'autres inhibiteurs appartenant à la même classe.

Sur les 100 complexes pris arbitrairement de la PDB ;83 % ont présenté un RMSD inférieur à 2 Å. L'analyse visuelle confirme ces résultats puisqu'on observe une bonne superposition des 2 conformations ; celle du ligand calculé par Surfex et celle du ligand de référence pris initialement de la PDB pour des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å. La superposition devient mauvaise pour des valeurs de RMSD supérieures à 2 Å.

Le deuxième test utilisé est celui du coefficient de corrélation linéaire qui existe entre les valeurs expérimentales de l'IC₅₀ des molécules étudiées et leurs affinités simulées par le docking moléculaire.

La recherche de nouveaux inhibiteurs potentiels plus puissants et plus sélectifs de la xanthine oxydase a été réalisée par docking moléculaire avec Surfex en utilisant 300 composés similaires au ligand de référence (QUE) téléchargés à partir de la banque de données chimiques « PubChem ».

Parmi ces similaires, Cinq composés A (CID 676309), B (CID 57691829), C (CID 11347622), D (CID 85638679) et E (CID 86060142) ont donné des scores d'affinités successifs de 4.30, 4.08, 4.05, 3.97 et 3.78 M⁻¹ légèrement supérieurs à celui du composé de départ (QUE) qui est de 3.15 M⁻¹.

Dans un troisième temps, nous avons pu élucider les mécanismes d'interactions entre les inhibiteurs proposés et la xanthine oxydase par visualisation des liaisons hydrogènes, en prenant à titre d'exemple les cinq dérivés naturels présentant les meilleures affinités.

CONCLUSION

Enfin la règle de Lipinski, nous a permis de vérifier que les composés sont des nouveaux inhibiteurs théoriques potentiels de la xanthine oxydase, car leurs propriétés physico chimiques indiquent qu'ils ne présentent aucun problème en cas de leur utilisation.

Sur la base de ces résultats préliminaires, nous envisageons d'approfondir l'étude de l'effet des dérivés de la quercetine sur l'inhibition de la xanthine oxydase, en faisant appel à d'autres programmes d'étude de docking moléculaire.

Notre étude ici n'étant qu'initiale, une étude expérimentale complémentaire *in vitro* et/ou *in vivo* devra permettre de vérifier les résultats théoriques obtenus *in silico*.



**Référence
Bibliographiques**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] G. S. de l'OMS sur les maladies Rhumatismales, *MALADIES RHUMATISMALES Rapport d' un Groupe scientifique de l'OMS Organisation mondiale de la Sante Geneve.* 1992.
- [2] J. L. Schlienger, "L'histoire des tourments de la podagre (goutte)," *Med. des Mal. Metab.*, vol. 8, no. 2, pp. 230–234, 2014, doi: 10.1016/S1957-2557(14)70747-3.
- [3] S. Changizi Ashtiyani, A. Golestanpour, M. Shamsi, S. M. Tabatabaei, and M. Ramazani, "Rhazes' prescriptions in treatment of gout," *Iran. Red Crescent Med. J.*, vol. 14, no. 2, pp. 107–111, 2012.
- [4] M. Florkin, "Rôle de la recherche biochimique fondamentale en médecine," *Bull. World Heal. Organ.*, vol. 41, no. 6, pp. 961–973, 1969.
- [5] F. Kayser, "Étude descriptive de la prise en charge de la goutte en pratique de Médecine Générale dans le bassin annécien," 2015, [Online]. Available: <http://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01167332>.
- [6] S. S, "L'acide urique : une molécule physiologique pouvant être pathologique [thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie];," *Univ. limoges*, 2011.
- [7] Z. Guo *et al.*, "Intestinal Microbiota Distinguish Gout Patients from Healthy Humans," *Sci. Rep.*, vol. 6, no. January, pp. 1–10, 2016, doi: 10.1038/srep20602.
- [8] R. Sun, J. Lu, H. Li, X. Cheng, Y. Xin, and C. Li, "Evaluation of febuxostat initiation during an acute gout attack: A prospective, randomized clinical trial," *Jt. Bone Spine*, vol. 87, no. 5, pp. 461–466, 2020, doi: 10.1016/j.jbspin.2020.03.017.
- [9] F. Couic-marinier and F. Pillon, "Un accès goutteux chez un homme âgé de 57 ans," *Actual. Pharm.*, vol. 56, no. 567, pp. 13–15, 2017, doi: 10.1016/j.actpha.2017.03.029.
- [10] P. Richette and T. Bardin, "Épidémiologie de la goutte Epidemiology of gout," pp. 6–9, 2012, [Online]. Available: <http://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/18868.pdf>.
- [11] B. Charlene, "Universite toulouse iii paul sabatier faculte des sciences pharmaceutiques," *Thèse d'Etat*, no. Ccmm, p. 123, 2013.
- [12] K. G. Saag and H. Choi, "Epidemiology , risk factors , and lifestyle modifications for gout," vol. 7, pp. 1–7, 2006, doi: 10.1186/ar1907.
- [13] A. M. Recordier, "Le Traitement De La Goutte," *Ann. Med. Nancy*, vol. 12, no. 10, pp. 1695–1702, 1973.
- [14] P. De, "Physiopathologie de la goutte.," pp. 7–15, 2019, doi: 10.24398/A.337.2019.
- [15] M. Vacheret, "Place du pharmacien d ' officine dans l ' observance d ' un patient goutteux To cite this version : HAL Id : dumas-01544037 PLACE DU PHARMACIEN D ' OFFICINE DANS L ' OBSERVANCE D ' UN PATIENT GOUTTEUX Directeur de thèse," 2017.
- [16] N. Valeix and X. Guillot, "La goutte, une complication des hyperuricémies," *Actual. Pharm.*, vol. 52, no. 524, pp. 18–20, 2013, doi: 10.1016/j.actpha.2013.01.006.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [17] B. S, "Un patient se plaignant d'une crise de goutte," *Actual. Pharm.*, vol. 53, no. 532, pp. 44–7, 2016.
- [18] F. FRANCON, "Goutte.," *Lyon médical*, vol. 87, no. 23, pp. 552–555, 1955, doi: 10.1016/s1879-8551(06)74029-5.
- [19] C. Battu, "L'accompagnement nutritionnel d'un patient présentant une goutte," *Actual. Pharm.*, vol. 56, no. 563, pp. 53–56, 2017, doi: 10.1016/j.actpha.2016.11.031.
- [20] M. Gromova, V. Tsurko, A. Kashkadayeva, and S. Averinova, "Early diagnostics of nefrosclerosis and urinary infection in patient with chronic tophaceous gout," *MOJ Gerontol. Geriatr.*, vol. 3, no. 6, pp. 4–7, 2018, doi: 10.15406/mojgg.2018.03.00165.
- [21] S. Schlee, L. C. Bollheimer, T. Bertsch, C. C. Sieber, and P. Härle, "Crystal arthritides – gout and calcium pyrophosphate arthritis: Part 2: clinical features, diagnosis and differential diagnostics," *Z. Gerontol. Geriatr.*, vol. 51, no. 5, pp. 579–584, 2018, doi: 10.1007/s00391-017-1198-2.
- [22] C. Ayyad, "Enquete sur la prise en charge de la goutte par le medecin generaliste," [*these pour l'obtention du Dr. en Pharm. Univ. mohammed v-rabat*, 2011.
- [23] B. L. Hainer, E. Matheson, R. T. Wilkes, and S. Carolina, "Diagnosis, Treatment, and Prevention of Gout," *Med. Univ. South Carolina, Charleston, South*, 2014.
- [24] T. Girou and J. De Gercourt, "Prise en charge de l' hyper uricémie en médecine générale : approche qualitative," [*these du Dr. en Med. Santé ROUEN*, 2018.
- [25] T. Pascart and R. Flipo, "La goutte : présentations cliniques et diagnostic," *Rev. Rhum.*, vol. 78, pp. S116–S121, 2011, doi: 10.1016/S1169-8330(11)70023-0.
- [26] P. Richette and T. Bardin, "Colchicine for the treatment of gout," vol. 11, no. 17, pp. 2933–2938, 2010.
- [27] F. Lioté and T. Bardin, "Treatment of gout," *Rev. Rhum.*, vol. 74, no. 2007, pp. 160–167, 2007.
- [28] L. M. Seebach, "Allopurinol in the treatment of gout.," *J. Lancet.*, vol. 87, no. 10, pp. 411–414, 1967.
- [29] P. Gaudin, A. El Maghraoui, and M. Allouchery, "Goutte : rôles du clinicien et du biologiste en 2013.," *Rev Mar Rhum*, vol. 24, pp. 26–31, 2013.
- [30] I. Fabreguet and A. So, "Les traitements hypo-uricémiants dans la goutte. Indications et cibles thérapeutiques," *Rev. Générales*, pp. 1–4, 2012.
- [31] D. J. Miric, B. B. Kistic, L. D. Zoric, R. V. Mitic, B. M. Miric, and I. M. Dragojevic, "Xanthine oxidase and lens oxidative stress markers in diabetic and senile cataract patients," *J. Diabetes Complications*, vol. 27, no. 2, pp. 171–176, 2013, doi: 10.1016/j.jdiacomp.2012.09.005.
- [32] P. Richette, "Les traitements hypo-uricémiants disponibles dans la goutte," *Ann. Pharm. Fr.*, vol. 70, no. 3, pp. 133–138, 2012, doi: 10.1016/j.pharma.2012.02.003.
- [33] P. Ye *et al.*, "Efficacy and Tolerability of Febuxostat in Hyperuricemic Patients With or Without Gout: A Systematic Review and Meta-Analysis," *Clin. Ther.*, vol. 35, no. 2, pp. 180–189, 2013, doi: 10.1016/j.clinthera.2012.12.011.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [34] M. A. Becker *et al.*, “Febuxostat Compared with Allopurinol in Patients with Hyperuricemia and Gout,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 353, no. 23, pp. 2450–2461, 2005, doi: 10.1056/nejmoa050373.
- [35] P. Richette, S. Ottaviani, and T. Bardin, “Nouveaux traitements de la goutte,” *Press. Medicale*, vol. 40, no. 9, pp. 844–849, 2011, doi: 10.1016/j.lpm.2011.02.043.
- [36] D. A. K. T, D. S. D. T, G. S. S. T, I. R. P. T, S. Y. Z. T. Aleksandra, and J. D. Ickovski, “Xanthine Oxidase : Isolation , Assays of Activity , and Inhibition,” *J. Chem.*, vol. 2015, p. 8, 2015.
- [37] M. G. Battelli, M. Bortolotti, L. Polito, and A. Bolognesi, “BBA - Molecular Basis of Disease The role of xanthine oxidoreductase and uric acid in metabolic syndrome,” *BBA - Mol. Basis Dis.*, vol. 1864, no. 8, pp. 2557–2565, 2018, doi: 10.1016/j.bbadis.2018.05.003.
- [38] M. G. Battelli, A. Bolognesi, and L. Polito, “Biochimica et Biophysica Acta Pathophysiology of circulating xanthine oxidoreductase : New emerging roles for a multi-tasking enzyme,” *BBA - Mol. Basis Dis.*, vol. 1842, no. 9, pp. 1502–1517, 2014, doi: 10.1016/j.bbadis.2014.05.022.
- [39] N. Cantu-medellin and E. E. Kelley, “Redox Biology Xanthine oxidoreductase-catalyzed reactive species generation : A process in critical need of reevaluation,” *Redox Biol.*, vol. 1, no. 1, pp. 353–358, 2013, doi: 10.1016/j.redox.2013.05.002.
- [40] A. Manuscript, “Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol,” *NIH Public Access*, vol. 58, no. 1, pp. 87–114, 2008.
- [41] J. T. Hancock *et al.*, “Antimicrobial Properties of Milk : Dependence on Presence of Xanthine Oxidase and Nitrite,” vol. 46, no. 10, pp. 3308–3310, 2002, doi: 10.1128/AAC.46.10.3308.
- [42] A.-K. T. H. CHAGLIASSIAN, “The Species Distribution of Xanthine Oxidase,” pp. 318–320, 1965.
- [43] J. W. De Jong *et al.*, “Enhanced Expression and Activity of Xanthine Oxidoreductase in the,” vol. 2089, pp. 2083–2089, 2000, doi: 10.1006/jmcc.2000.1240.
- [44] A. J. R. H. PING XU, THOMAS P. HUECKSTEADT, “Molecular Cloning ,Tissue expression of Human Xanthine Dehydrogenase (XDH).” pp. 998–1004, 1994.
- [45] A. J. R. H. PING XU, THOMAS P. HUECKSTEADT, “Molecular Cloning and Characterization of the Human Xanthine Dehydrogenase Gene (XDH),” vol. 180, pp. 173–180, 1996.
- [46] M. Kurosaki, S. Zanotta, M. L. I. Calzi, E. Garattini, and M. Terao, “during pregnancy and lactation : regulation of gene expression by,” vol. 810, pp. 801–810, 1996.
- [47] H. M. Schmidt, E. E. Kelley, and A. C. Straub, “Redox Biology The impact of xanthine oxidase (XO) on hemolytic diseases,” *Redox Biol.*, vol. 21, no. December 2018, p. 101072, 2019, doi: 10.1016/j.redox.2018.101072.
- [48] R. Harrison, “Physiological Roles of Xanthine Oxidoreductase,” vol. 36, no. 2, pp. 363–375, 2004, doi: 10.1081/DMR-120037569.
- [49] K. Okamoto, T. Kusano, and T. Nishino, “Chemical Nature and Reaction Mechanisms

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- of the Molybdenum Cofactor of Xanthine Oxidoreductase,” no. Vi, pp. 2606–2614, 2013.
- [50] J. Escribano, F. Garcia-canovas, and F. Garcia-carmona, “A kinetic study of hypoxanthine oxidation by milk xanthine oxidase,” vol. 254, pp. 829–833, 1988.
- [51] B. H. Dalton, D. J. Lowe, R. T. Pawlik, and R. C. Bray, “Studies by Electron-Paramagnetic-Resonance Spectroscopy on the Mechanism of Action of Xanthine Dehydrogenase from *Veillonella alcalescens*,” pp. 287–295, 1976.
- [52] E. E. Kelley, N. K. H. Khoo, N. J. Hundley, U. Z. Malik, A. Bruce, and M. M. Tarpey, “Hydrogen Peroxide is the Major Oxidant Product of Xanthine Oxidase,” *NIH Public Access*, vol. 48, no. 4, pp. 493–498, 2011, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.012.Hydrogen.
- [53] D. J. Grieve, J. A. Byrne, A. C. Cave, A. M. Shah, and S. Thomas, “Role of Oxidative Stress in Cardiac Remodelling after Myocardial Infarction,” 2004, doi: 10.1016/j.hlc.2004.02.008.
- [54] M. Stahl and M. Rarey, “Detailed Analysis of Scoring Functions for Virtual Screening,” pp. 1035–1042, 2001.
- [55] M. W. Chang, C. Ayeni, S. Breuer, and B. E. Torbett, “Virtual Screening for HIV Protease Inhibitors : A Comparison of AutoDock 4 and Vina,” vol. 5, no. 8, pp. 1–9, 2010, doi: 10.1371/journal.pone.0011955.
- [56] A. Beautrait, “Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel,” *Thèse Dr. Chim. Inform. théorique. Nancy Univ. Nancy. Fr.*, 2008.
- [57] T. Lengauer and M. Rarey, “Computational methods for biomolecular docking,” *Curr. Opin. Struct. Biol.*, vol. 6, no. 3, pp. 402–406, 1996.
- [58] I. Halperin, B. Ma, H. Wolfson, and R. Nussinov, “Principles of Docking : An Overview of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions,” *PROTEINS Struct. Funct. Genet.*, vol. 443, no. 47, pp. 409–443, 2002, doi: 10.1002/prot.10115.
- [59] Merzoug.A, “Étude in silico de l ’ inhibition de la peptide déformylase,” *Thèse Magistère. Univ Mentouri Constantine*, p. 65p, 2012.
- [60] M. Vieth, J. D. Hirst, A. Kolinski, and C. L. B. Iii, “Assessing energy functions for flexible docking,” *J. Comput. Chem*, vol. 19, no. 14, pp. 1612–1622, 1998.
- [61] T. Baysal and A. Demird, “Lipoxygenase in fruits and vegetables : A review,” *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 40, no. 4, pp. 491–496, 2017.
- [62] A. R. Leach, “Molecular Modelling Principles and applications.” 2001.
- [63] M. El-hassen, “Contribution à l ’ amélioration de l ’ activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique .,” *Thèse magister d’université Technol. des Explor. Biochim. Constantine Univ. Mentouri Constantine. Algérie*, p. 75p, 2012.
- [64] R. D. Taylor, P. J. Jewsbury, and J. W. Essex, “FDS : Flexible Ligand and Receptor Docking with a Continuum Solvent Model and Soft-Core Energy Function,” *J. Comput. Chem*, vol. 24, no. 13, pp. 1637–1656, 2003.
- [65] A. Bessadok, “La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC Anis Bessadok To cite this version: HAL Id: tel-00711662 La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC,” 2012.
- [66] A. N. Jain, “Surflex-Dock 2 . 1 : Robust performance from ligand energetic modeling , ring flexibility , and knowledge-based search,” *J Comput Aided Mol Des*, vol. 21, pp. 281–306, 2007, doi: 10.1007/s10822-007-9114-2.
- [67] N. M. O. Boyle, M. Banck, C. A. James, C. Morley, T. Vandermeersch, and G. R. Hutchison, “Open Babel : An open chemical toolbox,” *J. Cheminform.*, pp. 1–14, 2011.
- [68] H. M. Berman *et al.*, “The Protein Data Bank,” *Nucl.Ac.Res*, vol. 28, no. 1, pp. 235–242, 2000.
- [69] S. Kim *et al.*, “PubChem substance and compound databases,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 44, pp. 1–12, 2016, doi: 10.1093/nar/gkv951.
- [70] E. H. M. H. BOUCHERIT, A. CHIKHI, A. BENSEGUENI, A. MERZOUG1, K. S.HIOUAL, “L ’ Amarrage Moléculaire : Une Nouvelle Approche Pour Lutter Contre Le Développement De La,” vol. 7, no. January 2013, pp. 133–149, 2013.
- [71] B. Munos, “Lessons from 60 years of pharmaceutical innovation,” *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 8, no. 12, pp. 959–968, 2009, doi: 10.1038/nrd2961.



Annexes

Annexe 1

Tableau 12 : Les résultats des calculs des 100 complexes utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex.

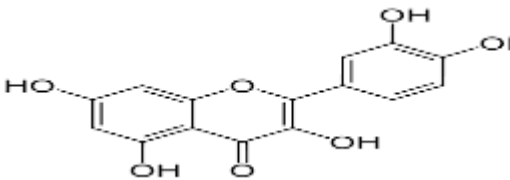
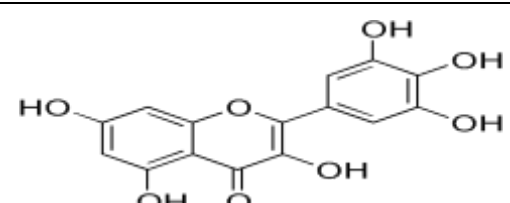
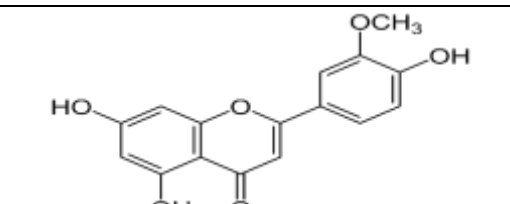
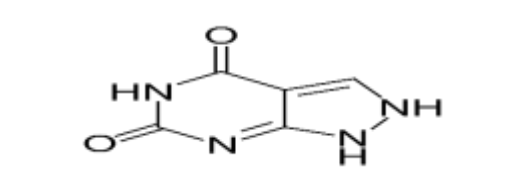
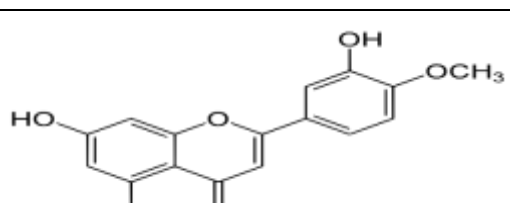
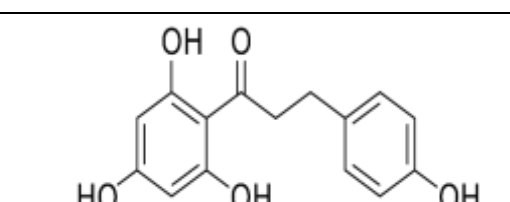
Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD (Å°)
1A3V	LIG	0.45
1ENA	FAD	0.47
1JOK	THP	0.97
1STH	DIT	1.158
1TR5	PPP	1.361
1ZM8	ZOM	0.27
2OXP	EXO	0.691
2PZU	POO	0.705
2RKS	TTT	1.363
2SNM	NAD	0.402
2SNS	LOG	1.548
3BDC	MMM	2.316
3D4D	CCC	1.122
3D8G	NOO	3.488
3DHQ	AAA	1.42
3DMU	CUS	2.242
3ERQ	FAS	1.114
3EVQ	MOH	1.90
3H6M	CAM	1.84
3HZX	PRO	2.247
3ITP	LAM	1.86
03MHB	HMH	1.404
3NHH	ABC	4.009
3NP8	NPP	1.403
3PMF	FFF	1.59
3SR1	SSR	1.336
3SXH	XOH	2.091
3W52	WWW	1.94
4CWM	CCM	3.301
4EQP	EQP	1.111
4HMI	HMI	1.75
4IAL	IAL	1.45
4IUN	IUN	1.118
4J1M	JJM	2.513
4OL7	PIC	1.714
4WOR	HHH	1.288
4YJI	PAS	1.686
4ZUI	UII	1.133
5C3X	CXX	0.709
5EKK	EKK	3.701
5F2D	DFD	1.60

ANNEXES

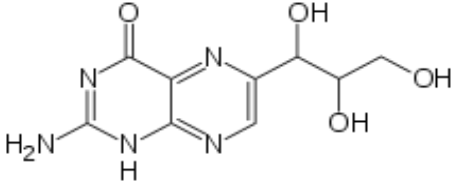
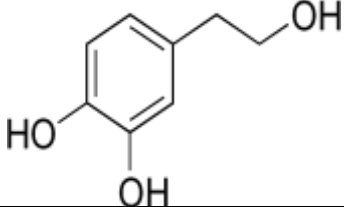
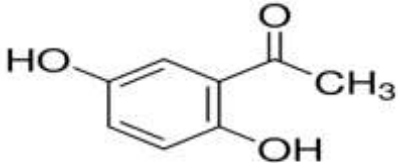
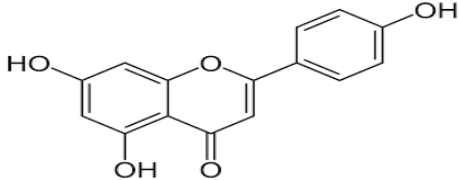
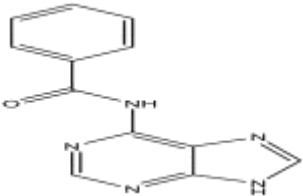
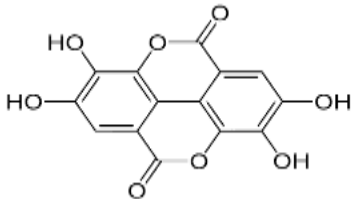
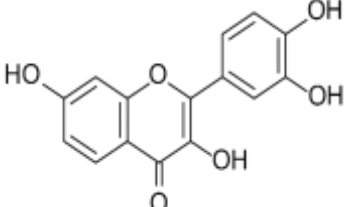
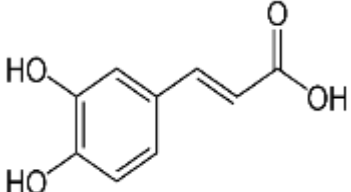
5FBB	NAG	1.175
5JAV	JAV	1.406
5K5P	KPP	6.041
5KIX	KIX	1.64
5KRU	KRU	2.111
5KYL	KYL	1.517
5NUC	HOH	1.99
6OK8	LIL	2.676
1JRO	MOS	1.525
1JRP	141	5.014
1V97	LIG	1.635
1VDV	YSH	0.022
2BIB	PC	3.266
.2E3T	URC	2.217
2PNR	RED	1.754
2VJM	COA	0.032
2W3R	HPA	1.892
2W3S	XAN	1.111
2W54	HAR	1.118
3AMZ	NAI	2.089
3AN1	URC	1.132
3B9J	LIG	4.097
3EEI	MTM	1.752
3ETR	LUZ	1.117
3EUB	XAN	4.026
3NRZ	HPA	5.198
3NS1	PM6	2.61
3NVV	AST	2.668
3NVW	GUN	1.65
3NVY	QUE	1.94
3NVZ	I3A	3.125
3OXO	COA	6.042
3SR6	RMO	1.73
4FFS	BIG	1.125
4G89	SAH	2.148
4GMH	ACT	3.652

Annexe 2

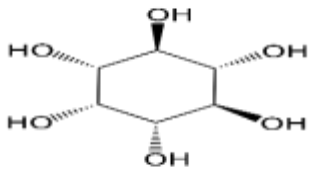
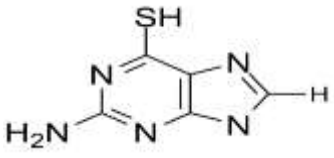
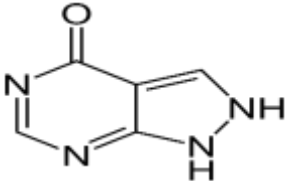
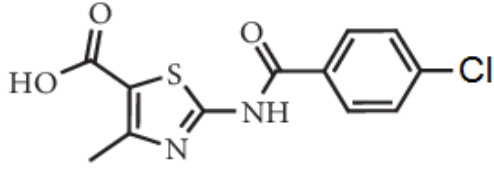
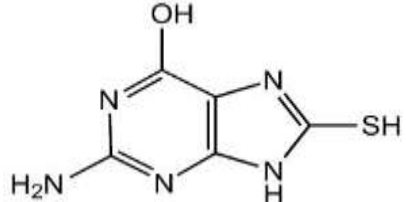
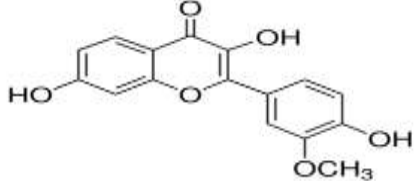
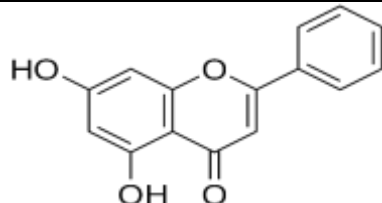
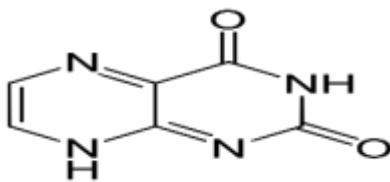
Tableau 13 : Résultat de l'analyse entre les affinités obtenus par Surfex et les log IC₅₀ des ligands déterminés expérimentalement de la pdb.

N°	Nom	Structure	IC ₅₀ (nM)	Log IC ₅₀	Affinité
01	Quercétine		800	2.9	3.15
02	Myricétine		150	2.18	3.09
03	Chrysoériol		170	2.23	3.05
04	oxypurinol		610	2.78	2.95
05	Diosmetin		400	2.60	2.60
06	Phlorétine		660	2.81	2.52

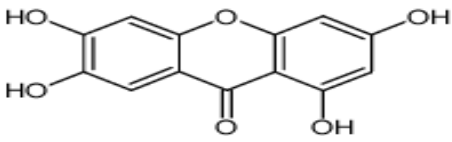

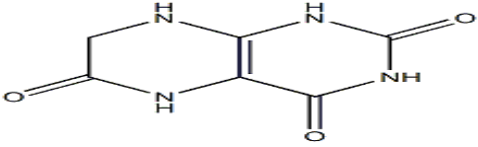
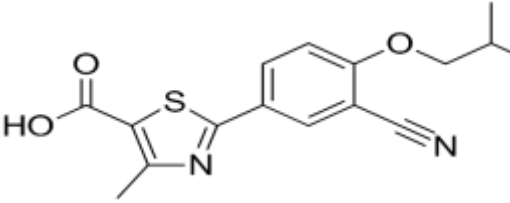
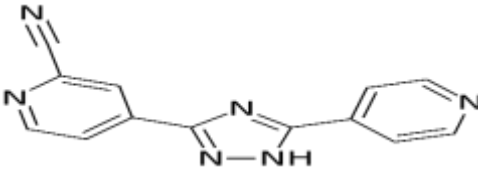
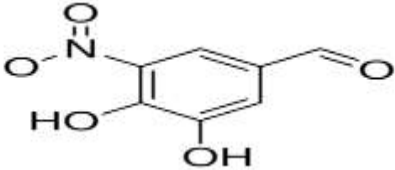
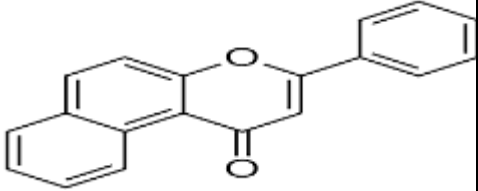
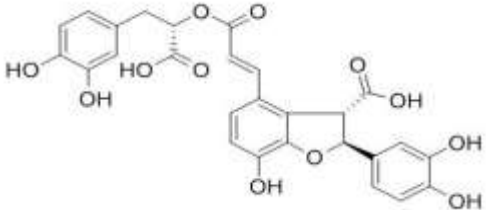
ANNEXES

07	Neopterin		3100	3.49	2.43
08	Hydroxytyrosol		875	2.94	2.31
09	2,5-dihydroxyacetophenone		812	2.90	2.31
10	Apigenine		270	2.43	2.18
11	6- (N-benzoyl amino) purine		450	2.65	2.16
12	Ellagic acid		1800	3.25	2.09
13	Fisetine		860	2.93	1.95
14	caffeic acid		121.22	2.08	1.85

ANNEXES

15	myo-inositol		3000	3.47	1.76
16	2-Amino-6-purinethiol		540	2.73	1.75
17	Allopurinol		937	2.97	1.75
18	2-Benzamido-4-methylthiazole-5-carboxylic acide		910	2.95	1.63
19	2-Amino-6-hydroxy-8-mercaptopurine		1717	3.23	1.56
20	Geraldol		680	2.83	1.54
21	Chrysin		700	2.84	1.50
22	Lumazine		740	2.86	1.50

ANNEXES

23	1,3,6,7-tetrahydroxyl xanthone		530	2.72	1.27
24	5-hydroxymethylfurfural		1680	3.22	1.17
	6-hydroxylumazine		200	2.30	1.16
26	Febuxostat		76	1.88	1.11
27	topiroxostat		53	1.72	1.06
28	3,4-dihydroxy-5-nitrobenzaldehyde		300	2.47	1.05
29	5,6-benzoflavone		225	2.35	1.04
30	lithospermic acid		520	2.71	1.03

Annexe 3

Tableau 14 : Les résultats du criblage par Surflex des similaires du ligand 3NVY

N°	Ligands	Affinités	N°	Ligands	Affinités
1	1880	1.80	2	26034	1.68
3	88281	2.26	4	96506	2.95
5	147651	2.05	6	627207	-4.39
7	628780	2.36	8	632128	0.27
9	676309	4.30	10	676310	2.09
11	688798	2.56	12	688853	2.29
13	797370	2.70	14	4125009	-0.30
15	5280343	3.15	16	5280362	2.51
17	5280402	2.57	18	5280403	0.07
9	5280417	1.11	20	5280445	2.69
21	5280544	3.02	22	5280616	3.43
23	5280631	-0.25	24	5280632	1.75
25	5280647	3.00	26	5280666	3.01
27	5280681	2.24	28	5280682	1.27
29	5281604	3.30	30	5281605	1.94
31	5281612	2.69	32	5281614	1.89

ANNEXES

33	5281638	2.36	34	5281642	3.14
35	5281648	3.60	36	5281649	3.36
37	5281654	2.68	38	5281665	2.69
39	5281672	3.12	40	5281674	1.68
41	5281677	-2834.45	42	5281679	1.85
43	5281680	3.59	44	5281691	3.01
45	5281692	2.72	46	5281697	2.65
47	5281699	2.76	48	5281701	2.87
49	5281953	1.05	50	5282154	0.26
51	5315126	2.09	52	5316900	2.53
53	5318214	1.75	54	5319492	2.25
55	5319731	2.92	56	5320287	1.44
57	5320496	1.82	58	5320848	-0.69
59	5320945	1.36	60	5321864	2.51
61	5322065	2.78	62	5353357	1.33
63	5362017	1.80	64	5378244	2.83

ANNEXES

65	5380905	2.04	66	5388949	2.95
67	5393155	3.11	68	5393164	3.26
69	5393165	1.39	70	5400219	0.53
71	5464381	2.22	72	5481966	1.99
73	5482101	1.73	74	5482937	3
75	5487855	1.62	76	5489501	1.79
77	6105183	3.22	78	6452329	0.16
79	6477683	1.25	80	6477684	3.26
81	6477685	1.62	82	6481478	0.80
83	9799499	2.93	84	9814421	2.41
85	9818879	3.10	86	9839293	2.68
87	9860659	2.87	88	9949390	2.13
89	10355753	1.88	90	10357421	3.04
91	10359384	2.26	92	10365850	1.92
93	10473561	2.37	94	10493280	2.34
95	10516160	1.19	96	10517292	3.57

ANNEXES

97	10532672	1.35	98	10556475	0.73
99	10598612	2.30	100	10636768	1.74
101	10807373	1.10	102	10895435	-9450.63
103	11012936	0.04	104	11347622	4.05
105	11474580	2.47	106	11834044	2.64
107	12133005	1.35	108	12305312	2.77
109	12305712	2.53	110	12309593	2.32
111	12314325	2.51	112	12359024	2.64
113	12359025	2.86	114	12417670	2.26
115	12988287	1.93	116	13370459	2.90
117	13940734	0.63	118	13942543	0.34
119	13964547	0.83	120	13964548	1.25
121	13964549	1.48	122	13964550	2.70
123	14016780	3.04	124	14079475	1.12
125	14162696	1.77	126	14162697	1.65
127	14376433	3.37	128	14825647	2.71

ANNEXES

129	15167957	3.01	130	15227607	1.49
131	15233950	1.89	132	15293760	3.49
133	15380608	2.56	134	15428222	1.65
135	15559735	2.61	136	15560442	2.57
137	15661823	2.94	138	15895793	2.70
139	15901374	1.99	140	16113029	3.54
141	16662883	3.26	142	17840570	1.49
143	17840571	2.02	144	17840574	2.88
145	17851159	2.23	146	17918606	1.86
147	18372853	1.48	148	18372862	2.24
149	18471844	3.10	150	18542127	2.20
151	18778789	1.93	152	19890110	-0.09
153	20159736	1.33	154	20833257	2.69
155	21158518	2.80	156	21600688	2.71
157	21633676	1.18	158	21676161	1.74
159	21676162	2.81	160	21676163	1.78

ANNEXES

161	21676164	1.20	162	21676167	0.28
163	21676170	-0.17	164	21676173	-0.05
165	21676176	-0.35	166	21676177	-0.03
167	21725618	1.08	168	21725619	0.34
169	22138197	2.96	170	22138200	2.14
171	22239065	1.85	172	22339062	2.82
173	22507435	1.31	174	22507438	3.61
175	23064865	3.29	176	23105025	3.45
177	23320229	2.04	178	24721082	3.41
179	24721178	2.59	180	24721539	3.17
181	24721651	0.52	182	24721675	3.32
183	25030204	2.19	184	25087106	0.79
185	25164913	-2835.57	186	25183346	1.81
187	25189611	3.28	188	25201643	2.04
189	25201917	2.92	190	25201972	2.84
191	25202270	2.26	192	25202413	1.66

ANNEXES

193	25202456	2.18	194	25202871	-945.08
195	25203006	2.24	196	25203115	1.77
197	25227000	3.02	198	44258151	1.48
199	44258152	2.19	200	44258703	1.02
201	44258706	1.68	202	44259330	0.01
203	44259511	2.67	204	44259518	2.63
205	44259636	2.72	206	44259638	1.65
207	44259678	2.13	208	44259679	1.60
209	44259709	1.44	210	44260065	3.25
211	44594804	2.12	212	44608109	0.57
213	44610309	3.23	214	44610310	0.65
215	44610311	2.43	216	44610312	-0.62
217	44610313	-0.92	218	44610474	1.36
219	44610477	0.80	220	45157618	3.16
221	46228135	1.95	222	46228151	1.91
223	46228152	1.93	224	46781386	2.78

ANNEXES

225	46782412	2.92	226	46878558	2.13
227	46906036	2.37	228	46913430	3.03
229	46937312	1.92	230	49835129	3.02
231	49849634	2.78	232	49849859	3.78
233	49849860	3.78	234	53696629	2.57
235	54758660	2.63	236	56929794	2.88
237	57017443	2.68	238	57168286	3.14
239	57215985	1.29	240	57330590	1.32
241	57330974	2.46	242	57330975	1.81
243	57330978	-2835.68	244	57331040	2.37
245	57384111	0.97	246	57402278	2.09
247	57691814	3.20	248	57691815	2.89
249	57691821	3.28	250	57691829	4.08
251	57691835	0.14	252	57691843	2.42
253	57691844	1.86	254	57691846	3.31
255	57692964	3.15	256	57696284	1.84

ANNEXES

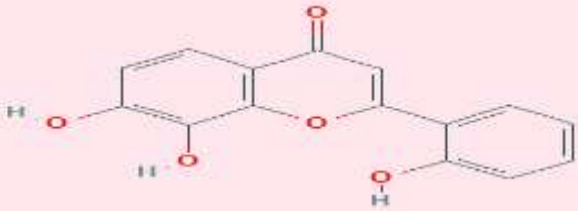
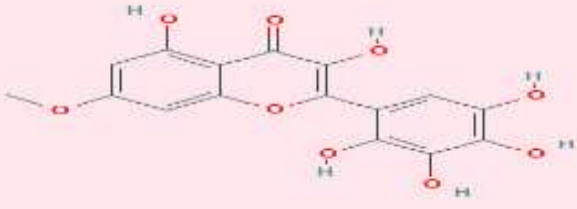

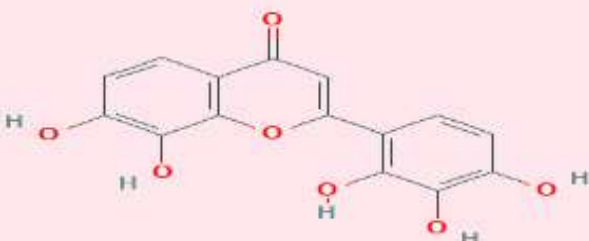
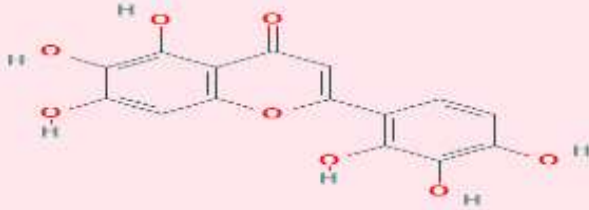
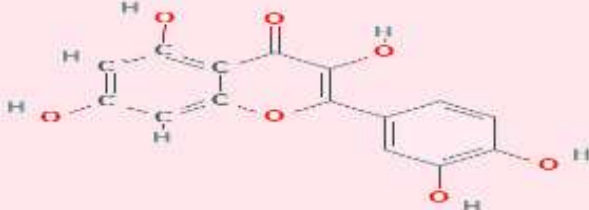
257	57887327	3.22	258	57887355	2.91
259	59383830	2.12	260	59574960	3.38
261	59991301	2.84	262	59991307	1.96
263	59991319	3.36	264	59991320	2.76
265	59991338	2.55	266	66573998	3.11
267	66574000	2.23	268	67984060	0.41
269	68011983	2.43	270	68014117	-0.27
271	68321616	2.13	272	68467588	3.51
273	68602879	2.26	274	69211947	2.23
275	69339279	1.41	276	69900880	3.59
277	69907339	-2.51	278	70020252	2.50
279	70227462	2.12	280	70231225	2.92
281	70406309	2.09	282	71314865	2.52
283	71414490	1.63	284	71517774	1.25
285	71723737	1.34	286	73507110	1.61
287	76319461	2.60	288	76327075	2.22

ANNEXES

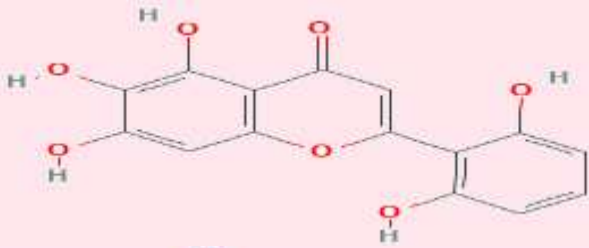
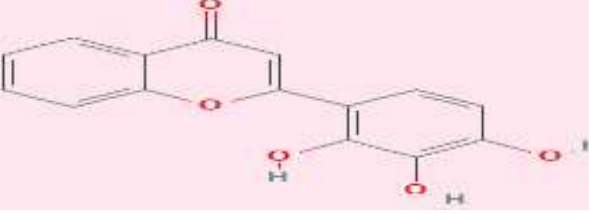
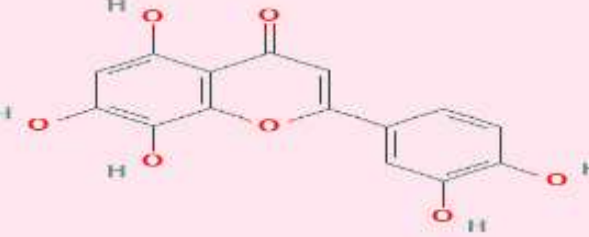
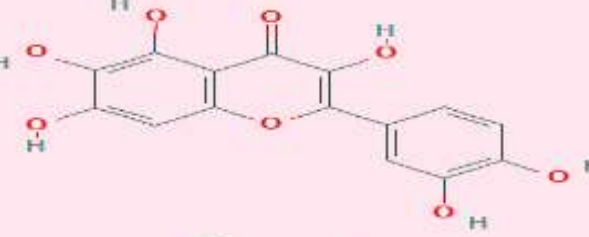

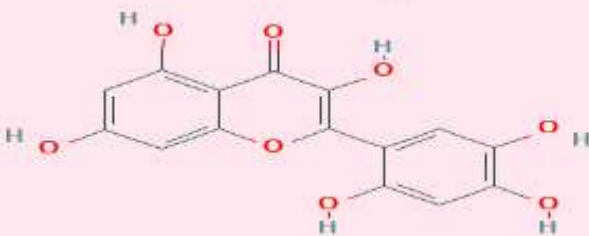
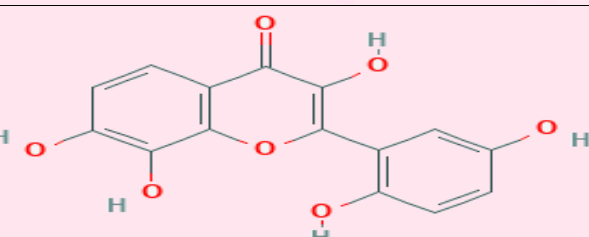
289	76330740	3.42	290	85538074	3.28
291	85638679	3.97	292	85975408	2.97
293	85981660	3.29	294	85981668	2.85
295	86060130	1.68	296	86060132	3.64
297	86060136	3.37	298	86060137	3.46
299	86060142	3.67	300	86289338	1.67

Annexe 4


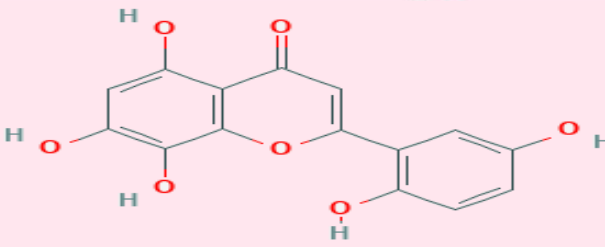

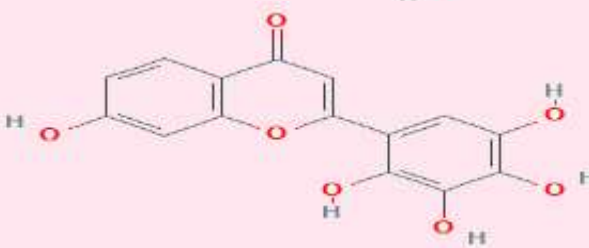
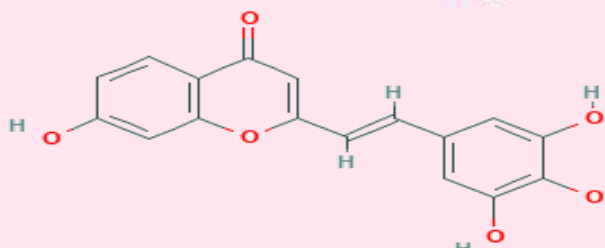
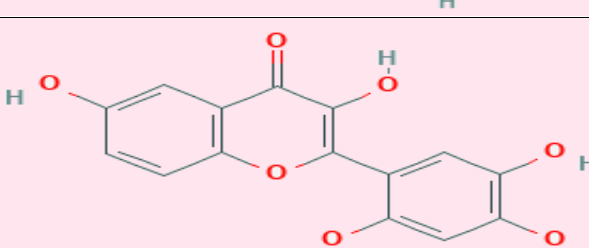
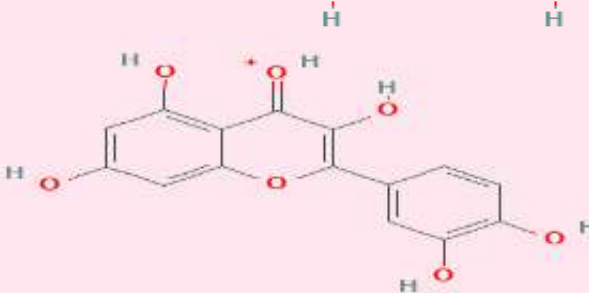
Tableau : Les affinités des ligands a la xanthine oxydase

N°	N° CID	Affinité (M-1)	La structure
01	676309	4.30	
02	57691829	4.08	
03	11347622	4.05	
04	85638679	3.97	
05	86060142	3.78	
06	49849859	3.67	

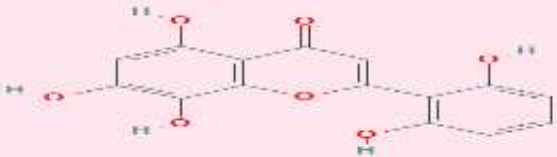
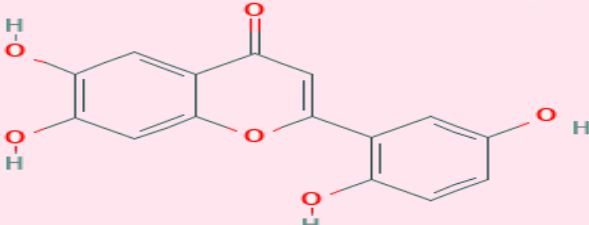
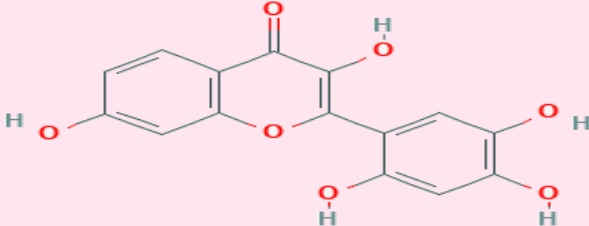
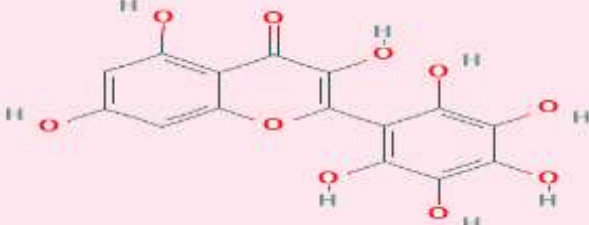
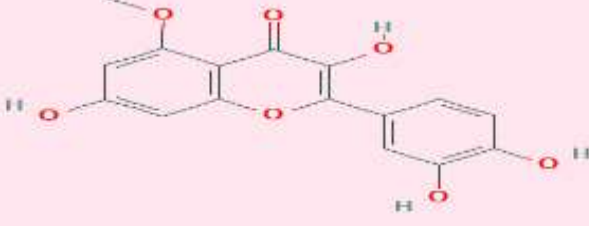
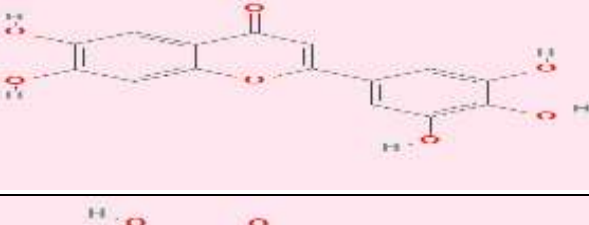

ANNEXES

07	86060132	3.64	
08	22507438	3.61	
09	5281648	3.60	
10	5281680	3.59	
11	10517292	3.57	
12	16113029	3.54	
13	68467588	3.51	

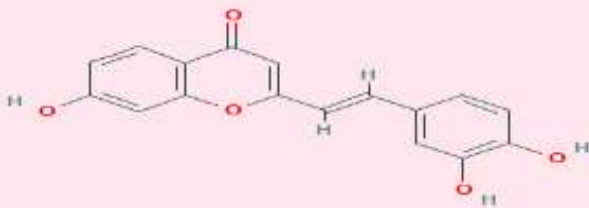
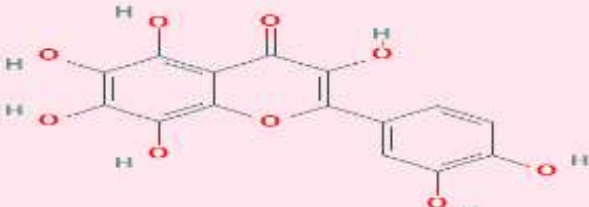
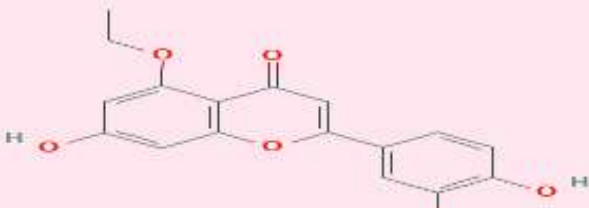

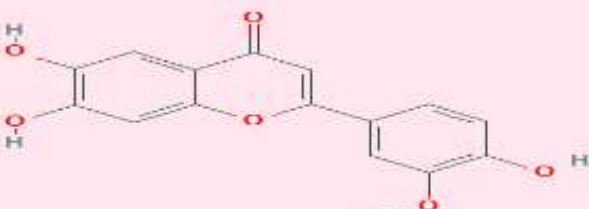
ANNEXES

14	15293760	3.49	
15	86060137	3.46	
16	23105025	3.45	
17	5280616	3.43	
18	76330740	3.42	
19	24721082	3.41	
20	59574960	3.38	

ANNEXES

21	86060136	3.37	
22	59991319	3.36	
23	24721675	3.32	
24	57691846	3.31	
25	5281604	3.30	
26	85981660	3.29	
27	57691821	3.28	

ANNEXES

28	6477684	3.26	
29	44260065	3.25	
30	44610309	3.23	
31	57887327	3.22	
32	24721539	3.17	



Résumés

Résumé

Application du docking moléculaire par SURFLEX pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase

La goutte constitue un problème important de santé publique mondiale et représente la maladie la plus fréquente chez les hommes vers 35 ans et les femmes à la ménopause.

Le programme de docking moléculaire Surfex a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å de 83 % et un coefficient de corrélation de 0.71, les performances du programme Surfex sont avérées. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands de référence et ceux obtenus par docking moléculaire.

Un criblage virtuel a été effectué sur une collection de 300 structures avec un taux de similarité de 92% à notre ligand de référence ont été téléchargés à partir de la chimiothèque « PubChem » afin d'évaluer leur affinité envers la XO. Parmi les 300 structures, 32 composés ont présenté des affinités supérieures à celle de notre ligand qui est de $3.15M^{-1}$.

Les résultats du criblage virtuel par le logiciel Surfex nous a permis de sélectionner les 5 meilleurs composés qui peuvent être proposés comme meilleurs inhibiteurs de notre cible thérapeutique XO et pour lesquels nous avons fait une analyse détaillée des diverses interactions afin de proposer d'autres inhibiteurs appartenant à cette classe.

La modélisation par docking moléculaire qui vise à prédire la structure d'un complexe à partir de molécules isolées nous a permis de proposer 32 dérivés tryptamiques naturels.

Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous informe de manière positive sur les propriétés physicochimiques de ces nouvelles molécules .

Il est nécessaire de vérifier et valider nos résultats théoriques par une étude expérimentale in vitro et/ou in vivo.

Mots clés : Docking moléculaire, Criblage virtuel, Surfex, RMSD, XO , la goutte, Inhibition, Lipinski.

Abstract

Application of Molecular Docking by SURFLEX for the demonstration of new inhibitors of xanthine oxidase

Gout is a major global public health problem and is the most common disease in men around 35 and women going through menopause.

The Surfex molecular docking program was developed to help develop molecules with therapeutic activity. With a rate of RMSD values less than or equal to 2 Å of 83% and a correlation coefficient of 0.71, the performance of the Surfex program is proven. This test was followed by a visual analysis of the superposition of the reference ligands and those obtained by molecular docking.

A virtual screening was performed on a collection of 300 structures with a 92% similarity rate to our reference ligand were downloaded from the "PubChem" chemical library in order to assess their affinity towards the XO. Among the 300 structures, 32 compounds exhibited affinities greater than that of our ligand which is $3.15M^{-1}$.

The results of the virtual screening by the Surfex software allowed us to select the 5 best compounds which can be proposed as better inhibitors of our therapeutic target XO and for which we have made a detailed analysis of the various interactions in order to propose other inhibitors belonging to this class.

Molecular docking modeling, which aims to predict the structure of a complex from isolated molecules, has enabled us to propose 32 natural tryptamic derivatives.

Finally, the application of Lipinski rule informs us in a positive way about the properties physicochemicals of these new molecules.

It is necessary to verify and validate our theoretical results by an experimental study in vitro and / or in vivo.

Keywords: Molecular docking, Virtual screening, Surfex, RMSD, XO, gout, Inhibition, Lipinski

ملخص

تطبيق الالتحام الجزيئي بواسطة SURFLEX لتطوير مثبطات جديدة لـ Xanthine oxydase

يعد النقرس مشكلة صحية عامة عالمية كبرى وهو أكثر الأمراض شيوعاً بين الرجال في سن 35 عاماً والنساء اللاتي يعانين من انقطاع الطمث.

ال RMSD للمساعدة في تطوير الجزيئات ذات النشاط العلاجي. مع معدل قيم Surflex تم تطوير برنامج الالتحام الجزيئي هذا الاختبار تحليل مرني للتراكب الروابط المرجعية وتلك التي تم x تساوي 2 من 83 % ومعامل ارتباط 0.71 تم إثبات أداء برنامج الحصول عليها عن طريق الالتحام الجزيئي.

تم إجراء فحص افتراضي على مجموعة من 300 هيكل بمعدل تشابه 92% مع من أجل تقييم مدى تقاربها "PubChem" تم تنزيل الرابط المرجعي الخاص بنا من مكتبة المواد الكيميائية من بين 300 مبنى ، أظهر 32 مركباً تقاربات أكبر من تلك التي لدينا XO. نحو 1-3.15 م-1

باختيار أفضل 5 مركبات Surflex سمحت لنا نتائج الفحص الافتراضي بواسطة برنامج والتي نحن من أجلها XO والتي يمكن اقتراحها كمثبطات أفضل لهدفنا العلاجي إجراء تحليل مفصل للتفاعلات المختلفة من أجل اقتراح مثبطات أخرى تنتمي إلى هذه الفئة.

نمذجة الالتحام الجزيئي ، التي تهدف إلى التنبؤ ببنية معقد من جزيئات معزولة ، مكنتنا من اقتراح 32 مشتقاً طبيعياً من التريتاميك

أخيراً ، يُعلمنا تطبيق قاعدة ليبينسكي بطريقة إيجابية عن الخصائص

الفيزيائية والكيميائية لهذه الجزيئات الجديدة وكذلك توافرها الحيوي عن طريق الفم

دواء لن يسبب أي مشكلة

من الضروري التحقق والتحقق من صحة نتائجنا النظرية من خلال دراسة تجريبية في المختبر و / أو على الأجسام الحية

الكلمات الدالة : Lipinski ، النقرس ، التثبيط ، XO ، RMSD ، Surflex الالتحام الجزيئي ، الفحص الافتراضي ،

Thème : Application du docking moléculaire par SURFLEX pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase

Résumé :

La goutte constitue un problème important de santé publique mondiale et représente la maladie la plus fréquente chez les hommes vers 35 ans et les femmes à la ménopause.

Le programme de docking moléculaire Surfex a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å de 83 % et un coefficient de corrélation de 0.71, les performances du programme Surfex sont avérées.

Un criblage virtuel a été effectué sur une collection de 300 structures avec un taux de similarité de 92% à notre ligand de référence ont été téléchargés à partir de la chimiothèque « PubChem » afin d'évaluer leur affinité envers la XO.

Parmi les 300 structures, 32 composés ont présenté des affinités supérieures à celle de notre ligand qui est de 3.15M⁻¹.

Les résultats du criblage virtuel par le logiciel Surfex nous a permis de sélectionner les 5 meilleurs composés qui peuvent être proposés comme meilleurs inhibiteurs de notre cible thérapeutique XO et pour lesquels nous avons fait une analyse détaillée des diverses interactions.

Afin de proposer d'autres inhibiteurs appartenant à cette classe. La modélisation par docking moléculaire qui vise à prédire la structure d'un complexe à partir de molécules isolées nous a permis de proposer 32 dérivés tryptamiques naturels.

Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous informe de manière positive sur les propriétés physicochimiques de ces nouvelles molécules.

Il est nécessaire de vérifier et valider nos résultats théoriques par une étude expérimentale in vitro et/ou in vivo.

Mots clés : Docking moléculaire, Criblage virtuel, Surfex, RMSD, la XO , la goutte, Inhibition, Lipinski

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie appliquée.

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Mr. MOKRANI E.H.	M.C.B/ U.F.M	Constantine 1
Rapporteur :	Mme DEMMAK R.G	M.C.B/ U.S.B	Constantine 3
Examineur :	Mme TENIOU S.	M.A.A/ U.F.M	Constantine 1

