

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثلجي بالأغواط
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de **Master***

***Filière :** Sciences Biologiques*

***Option :** Biochimie appliquée*

Thème

**Etude *in silico* de l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase
par certains alcaloïdes marins : traitement de la goutte**

Présenté par :

M^{lle}. TAIBAOUI Ikram

M^{lle}. MAAMRI Mona

Soutenue publiquement le 13/06/2024 devant les membres de jury :

Président	Dr. BOUKAROUIS Djoudi
Examineur	Dr. LINANI Abderahmane
Promotrice	Dr. BOU-SALAH Leila
Co-promotrice	Pr. BENAROUS Khedidja

Année universitaire 2023-2024

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers plusieurs personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions en premier lieu notre promotrice, Dr. BOU-SALAH Leila pour sa gentillesse, sa patience, son orientation, ses conseils et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire et pour avoir répondu à nos questions. Merci d'être une source constante d'inspiration et de motivation, et nous ne saurions jamais exprimer notre gratitude pour tout ce que tu as accompli.

Nous tenons à remercier également notre Co-promotrice Pr. BENAROUS Khedidja pour ses conseils, ses aides et sa gentillesse. Non seulement pour la réalisation de mémoires, sinon aussi pour les trois années qu'elle nous a enseignées.

Nous remercions aussi Dr. LINANI Abderahmane pour tous les efforts qu'il a fournis afin de nous aider à réaliser notre travail de recherche, pour ses conseils, ses informations ainsi que pour sa patience durant ces trois années.

Nous tenons à remercier tous les membres de notre université et tous les professeurs pour leur enseignement de qualité et les connaissances qu'ils nous ont transmises durant nos années d'études.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude sincère envers les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'être membres du jury et de bien vouloir évaluer ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers mademoiselle DALI Abir pour son précieux soutien lors de notre étude ces dernières années. Nous avons été profondément impactés par vos encouragements et votre soutien inconditionnel.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents qui m'ont soutenue et encouragée avec leurs moyens morales et matériels, ainsi que leurs prières le long de mes études.

À ma deuxième maman Biri, tous les mots ne peuvent pas exprimer ce que tu m'as donné durant toute ma vie. Merci pour tout, que Dieu vous protège et te prête la bonne santé.

À mes grands-parents paternel et maternel qui occupent une place profonde dans mon cœur.

À mes chers tantes et oncles : merci pour leurs amours et leurs encouragements.

À ma chère tante Khadîdja, qui a toujours été à mes côtés et qui m'a soutenu et encouragé. Que Dieu lui donne le bonheur.

À mes chers frères Mohammed, Khaled et Youcef, que Dieu les protège et leur offre la chance et le succès et le bonheur.

À ma chère copine BELKHIR Asma : qui m'ont aidé, soutenu, conseillé et m'ont encouragé le long de mon étude universitaire.

À ma chère binôme MAAMRI Mona : pour son aide, son soutien et son encouragement, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.

Ikram

Dédicace

Je dédie cet humble travail de fin d'étude avec grand amour par des mots profonds et sincères :

À celle qui m'a rempli de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour, à celle dont les prières sincères ont été le secret de ma réussite, à celle qui habite mon cœur : Ma merveilleuse mère.

À l'homme de lutte, à celui qui a cultivé les valeurs et les principes islamiques, à mon support dans ma vie, qui m'a appris, m'a supporté et m'a dirigé : Mon très cher père.

À mes chers frères et sœur qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

À mon cousin Khaled qui m'a toujours aidé et motivé dans mes études.

À mes défunts grands-parents.

À toutes les personnes de ma grande famille.

À TAIBAOU Ikras, chère amie avant d'être binôme, merci énormément pour ton soutien plus que précieux, Merci pour ton grand cœur, tu as été une source de force et de motivation.

À chère amie KHORSI Halima ma source de joie et de bonheur.

À toutes mes copines, en particulier Khadidja, Haifa, Nadria, Nouha.

À vous, cher lecteur.

Mona

La goutte est une forme d'arthrite inflammatoire causée par l'accumulation de cristaux d'acide urique dans les articulations. Son traitement est basé sur l'inhibition de la xanthine oxydase, qui est une enzyme impliquée dans la formation d'acide urique à partir des purines. L'inhibition de cette enzyme permet de réduire les taux élevés d'AU, ce qui est crucial dans le traitement de la goutte. Notre objectif est d'évaluer *in silico* l'effet d'inhibition de cinq alcaloïdes marins comme la Spongothymidine (mol1), la Spongouridine (mol2), la Mycalisine A (mol3), l'Ascidiathiazone A (mol4) et la Methylsulfinyladenosine (mol5) sur la xanthine oxydase du lait humain (XOH) comparé au contrôle (Febuxostat). La prédiction de l'activité biologique (PASS) a été effectuée pour filtrer les meilleurs inhibiteurs de XO, suivi par la vérification du profil pharmacocinétique (PC) comme l'absorption, la distribution, le métabolisme et la toxicité (ADMT), enfin l'amarrage moléculaire (AM) avec AutoDock vina (ADV), AutoDock Tools (ADT), et Discovery Studio Visualizer (DSV) pour expliquer le mode d'action de ces inhibiteurs. Les résultats montrent que mol1 était le meilleur modèle d'inhibiteur pour XOH, présentant un PASS et un profil ADMT validés, ainsi qu'une énergie de liaison la plus faible de -8,1 kcal/mol par rapport au contrôle, ce qui témoigne de sa remarquable affinité. En outre, mol2, mol3 et mol5 ont été considérés comme des inhibiteurs modérés, tandis que mol4 a présenté l'affinité de liaison la plus faible par rapport au contrôle. Par ailleurs, tous les inhibiteurs ont été identifiés comme des candidats potentiels pour la XOH, avec des profils pharmacocinétiques approuvés. Ces résultats prometteurs justifient une exploration plus poussée dans le développement de médicaments, y compris des essais cliniques, afin de capitaliser sur leur potentielle efficacité.

Mots clés : Goutte, Xanthine oxydase, PASS, ADMT, amarrage moléculaire, Spongothymidine.

Abstract

Gout is a form of inflammatory arthritis caused by the accumulation of uric acid crystals in the joints, and its treatment depends on inhibiting xanthine oxidase, an enzyme involved in the formation of uric acid from purines. Inhibition of this enzyme helps to reduce the high levels of UA, which is crucial in the treatment of gout. We aim to evaluate *in silico*, the inhibition effect of five marine alkaloids like Spongothymidine (mol1), Spongouridine (mol2), Mycalisine A (mol3), Ascidiathiazone A (mol4), and Methylsulfinyladenosine (mol5) to human milk xanthine oxidase (HXO) compared to the control (Febuxostat). Prediction of biological activity (PASS) was performed to filter the best XO inhibitors, followed by checking the pharmacokinetics (PK) profile like absorption, distribution, metabolism, and toxicity (ADMT), finally molecular docking (MD) with AutoDock vina (ADV), AutoDock Tools (ADT), and Discovery Studio Visualizer (DSV) was done to explain the mode of action of these inhibitors. The results show that mol1 was the best inhibitor model for HXO displaying a validated PASS and ADMET profile, along with a lowest binding energy of -8.1 kcal/mol compared to the control showing its remarkable affinity. In addition, mol2, mol3, and mol5 were considered as moderate inhibitors, while Mol4 exhibited the weakest binding affinity compared to the control. Notably, all inhibitors were identified as potential candidates for HXO, with approved pharmacokinetic profiles. Consequently, these promising results warrant further exploration in drug development, including clinical trials, to capitalize on their potential efficacy.

Keywords: Gout, Xanthine oxidase, PASS, ADMT, Molecular docking, Spongothymidine.

النقرس هو شكل من أشكال التهاب المفاصل الالتهابي الناجم عن تراكم بلورات حمض اليوريك في المفاصل، ويعتمد علاجه على تثبيط إنزيم أكسيداز الزانثين وهو إنزيم مسؤول عن إنتاج حمض اليوريك من البيورينات. يساعد تثبيط هذا الإنزيم على تقليل مستوى حمض اليوريك وهو أمر بالغ الأهمية في علاج النقرس. هدفنا من هذه الدراسة هو التقييم من خلال دراسة السيليكو تأثير قدرة بعض القلويدات البحرية ك سبونغوتيميدين (مول 1)، سبونغوردين (مول 2)، ميكاليسين (مول 3)، اسيدياتيزون أ (مول 4)، ومثيلسولفينيل ادنوزين (مول 5) على إنزيم أكسيد الزانثين من الحليب البشري (أ ز ب) مقارنة بالشاهد فيبيواكزستات. أُجريت توقع النشاط البيولوجي (باص) لتصفية أفضل مثبط ل أ ز، متبوعاً بفحص الخصائص الدوائية الحركية (دح) مثل الامتصاص والتوزيع والتمثيل الغذائي والسمية (أدمت)، وأخيراً الإرساء الجزيئي (إج) باستخدام برامج اوتودوك فينا (أ ف) و اوتودوك تولز (أت) و ديسكوفري ستيديو فيزيليذر (د أ ف) لشرح طريقة عمل هذه المثبطات. تُظهر النتائج أن مول 1 كان أفضل نموذج مثبط ل أ ز ب، مع وجود باص وملف ادمت معتمد، وكذلك طاقة ارتباط منخفضة تبلغ 8.1 - كيلو كالوري/مول مقارنة بالشاهد، مما يشهد على أفضليته الملحوظة. بالإضافة إلى ذلك، أُعْتُبِرَ مول 2، مول 3، ومول 5 كمثبطات متوسطة، بينما أظهر مول 4 أضعف ارتباط مقارنة بالشاهد. حُدِّدَت المثبطات جميعها كمركبات مرشحة ل أ ز ب، مع خصائص حركية دوائية معتمدة، النتائج المباشرة تبرز ضرورة استكشاف أكثر في التطوير الدوائي، بما في ذلك التجارب السريرية، للاستفادة من فعاليتها المحتملة.

كلمات مفتاحية: النقرس، أكسيداز الزانثين، باص، أدمت، الارساء الجزيئي، سبونغوتيميدين.

Liste des figures

Figure 1 : Dépôt des cristaux d'acide urique dans le gros orteil.	4
Figure 2 : Un diagramme résumant les étapes de diagnostic de goutte [26].	6
Figure 3 : La structure 3D de la xanthine oxydase humaine (XOH, pdb ID : 2ckj).	9
Figure 4 : Mécanisme réactionnel de la XO [37].	10
Figure 5: Photo représente : <i>Aplidium</i> sp (Obtenue le 20 avril 2024) [48].	12
Figure 6 : Photo représente : <i>Atrium Robustum</i> (Obtenues du guide : Florent's Guide To The Tropical Pacific Reefs) [51].	13
Figure 7: Photo représente : <i>Tethya crypta</i> L (Obtenue du guide : The Sponge Guide) [58].	15
Figure 8 : Photo représente : <i>Mycale</i> (Arenochalina) <i>setosa</i> [60].	16
Figure 9 : L'interface principale de la base de données PDB.	18
Figure 10 : L'interface principale du Pubchem.	18
Figure 11 : L'interface principale de logiciel AutoDock Tools [63].	19
Figure 12 : L'interface principale de logiciel DSV [65].	20
Figure 13 : L'interface principale du serveur Way2Drug.	21
Figure 14 : L'interface principale du serveur PreADMET.	21
Figure 15 : Image illustrant les étapes du Docking.	24
Figure 16 : les acides aminés impliqués dans les interactions du Febuxostat avec la XOH.	33
Figure 17 : Les acides aminés impliqués dans les interactions du Spongouridine (mol1) avec la XOH.	34
Figure 18: (A) : Les acides aminés impliqués dans les interactions du Spongouridine (mol2) avec la XOH. (B) : Les acides aminés impliqués dans les interactions du Methylsulfinyladenosine(mol5) avec la XOH. (C) : Les acides aminés impliqués dans les interactions du Mycalisine A (mol3) avec la XOH.	36
Figure 19 : Les acides aminés impliqués dans les interactions de l'Ascidithiazone A (mol 4) avec la XOH.	36

Liste des tableaux

Tableau 1: Médicaments indiqués dans le traitement de la goutte aiguë [29].	7
Tableau 2: Médicaments indiqués dans la prévention de la goutte chronique [29].	7
Tableau 3: Les composés étudiés avec leurs propriétés chimiques.	22
Tableau 4: Les paramètres utilisés pour l'étude ADMT.	23
Tableau 5: Les résultats de l'étude PASS.	28
Tableau 6: Les propriétés ADMT des molécules utilisées.	31
Tableau 7: Analyse des résultats de l'AM, les acides aminés catalytiques sont colorés en vert.	32

Annexes

Annexe 1 : Représentation du code, nom et structure 3D des ligands étudiés.	46
Annexe 2 : Informations structurales sur la XO humaine disponibles dans la PDB.	47

Liste des abréviations

A	B-D
AIH : Absorption Intestinale Humaine	BHE : Barrière Hémato-Encéphalique
ADMT : Absorption, Distribution, Métabolisme et Toxicité	Caco-2 : Human Colon Carcinoma Cell
ADN : Acide Désoxyribonucléique	CYP : Cytochrome P450
ADT : AutodockTools	DSV : Discovery Studio Visualiser
ADV : AutoDock Vina	
AINS : Les anti-inflammatoires non stéroïdiens	
E-I	L-N
Écho : Échographie	MDCK : Madin-Darby canine kidney cells
FAD : Flavine Adenine Dinucléotide	MoVI : Molybdène VI
FDA : Food and Drug Administration	MoIV : Molybdène IV
HAU : Hyper Acide Urique	Moco : Molybdène Cofacteur
HERG : Human Ether Related Gene	MOL : Molécule
HX : Hypoxanthine	NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique	NADP : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry	Phosphate
IXO : Inhibiteur de la Xanthine Oxydase	
P-R	S-X
PASS : Prediction of Activity Spectra for Substances	SDF : Structure Data File
Pa : Probabilité active	TDMDE & TDM spectrale :
PC : Pharmacocinétiques	Tomodensitométrie à Double Énergie &
PDB : Protein Data Bank	Tomodensitométrie Spectrale"
PDBQT : Protein Data Bank Quaternion	TEMP/TDM : La Tomographie par Emission
P-gp : Glycoprotéine P	Monophotonique couplée à la
Pi : Probabilité inactive	Tomodensitométrie
PreADMET : Prediction de l'Absorption, Distribution,	TR : Taux de Répétition
Métabolisme, Excretion et Toxicité	XDH : Xanthine Déshydrogénase
RX : Radiographie	XO : Xanthine Oxydase
	XOR : Xanthine Oxydoréductase
	XOH : Xanthine Oxydoréductase Humaine

Table des matières

INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. La goutte	4
I.1 Définition	4
I.2 Causes et facteurs	4
I.3 Symptômes	5
I.4 Diagnostic	5
I.5. Traitements de la goutte	6
II. Xanthine oxydase	8
II.1. Structure	8
II.2. Mécanisme réactionnel	9
II.3. Les différentes formes de la XO	10
III. Organismes marins étudiés	10
III.1. Les tuniciers.....	11
A. <i>Apliuduim sp</i>	11
B. <i>Atrium robustum</i>	12
III.2. Les spongiaires	13
A. <i>Tethya crypta</i> L	13
B. <i>Mycale sp</i>	15
MATERIELS ET METHODES	17
1. Les bases de données	18
2. Logiciels et programmes	19
3. Serveurs web.....	20
4. Etude PASS	22
5. L'analyse d'Absorption, Distribution, Métabolisme et toxicité (ADMT).....	23
6. Amarrage moléculaire	24
RESULTATS Et DISCUSSION	27
1. Etude PASS	28
2. L'analyse d'Absorption, Distribution, Métabolisme et toxicité (ADMT).....	29
3. Amarrage moléculaire	32
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	37
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39
ANNEXES	45

INTRODUCTION

Historiquement, les premières preuves documentées de la goutte remontent à l'Égypte ancienne [1]. En 2640 avant notre ère, les Égyptiens ont utilisé le terme "podagre" pour décrire les poussées de goutte de la première articulation métatarso-phalangienne. De plus, des preuves archéologiques ont révélé la présence de cristaux d'urate dans les articulations de momies égyptiennes [1]. Au 5^e siècle avant J-C, du fait de son lien avec les aliments riches en purines et la consommation excessive d'alcool, Hippocrate la qualifiait d'« arthrite des riches » et de « maladie qui entrave la marche ». En raison de son association avec un mode de vie opulent, elle était également désignée comme « la maladie des rois » [2].

L'histoire scientifique de la goutte a pris son départ en 1776, lorsque le chimiste Carl Wilhelm Scheele a identifié l'acide urique (AU) présent dans les calculs rénaux. Plus tard, au cours du XIX^e siècle, Alfred Baring Garrod a mené des expériences démontrant que l'urate de soude déposé n'est pas l'effet de l'inflammation goutteuse, mais bien sa cause [3].

La goutte, maladie inflammatoire, se caractérise par des épisodes douloureux, conséquence d'une hyperuricémie favorisant la cristallisation d'urate de sodium au sein des articulations et des tissus [4]. De plus, un taux d'acide urique anormal est associé à diverses pathologies, telles que l'hypertension, les troubles lipidiques, les maladies cardiovasculaires et rénales chroniques.

Actuellement, le principal traitement de l'hyperuricémie dans la pratique clinique consiste à réduire la production d'AU et à promouvoir l'excrétion d'AU en tant que supplément. Par conséquent, l'inhibition de la XO peut être une méthode efficace pour réduire le niveau d'AU [5].

Les patients se voient souvent prescrire des anti-inflammatoires non stéroïdiens ou de la colchicine pour améliorer les crises aiguës. Mais l'utilisation prolongée de ces médicaments peut entraîner des effets secondaires dangereux pour les patients. Ainsi, d'un point de vue clinique, il est crucial d'étudier de nouvelles méthodes de traitement de la goutte [6]. Nous avons choisi la pharmacognosie marine, soutenant une nouvelle stratégie utilisant des alcaloïdes

dérivés des spongiaires et tuniciers pour trouver un traitement efficace avec moins d'effets secondaires. Ces derniers sont des invertébrés qui produisent des métabolites secondaires bioactifs agissant comme défenses chimiques contre les prédateurs et les organismes incrustants [7]. Ils ont montré un potentiel thérapeutique prometteur dans divers domaines, notamment le traitement du cancer, en tant qu'antiviraux, antitumoraux, antifongiques et inhibiteurs d'enzymes [8, 9].

Cette étude vise à identifier de nouveaux alcaloïdes antigoutteux en prédisant leur capacité inhibitrice sur la xanthine oxydase humaine (XOH). Les sources étudiées sont les spongiaires *Tethya crypta* et *Mycale sp* et les tuniciers *Atrium robustum* et *Aplidium sp*. Ce travail sera réalisé par prédiction d'activité biologique (PASS) utilisant le serveur Way2Drug, évaluation de leurs propriétés pharmacocinétiques telles que l'absorption, la distribution, la métabolisation et la toxicité (ADMT) avec le serveur pre-ADMET 2.0, et prédiction de leur affinité de liaison par amarrage moléculaire utilisant les programmes AutoDock Vina et AutoDock Tools.

Le document était composé de trois parties principales, structurées comme suit :

- ✚ La section initiale offre une revue littéraire concise, résumant les concepts clés essentiels à cette étude. Initialement, nous définissons la goutte, ses causes, symptômes, diagnostic et traitements disponibles. Ensuite, nous nous plongeons dans la XOH, mettant en avant son importance en tant que cible thérapeutique. De plus, nous explorons la taxonomie, la répartition et la morphologie des éponges marines utilisées dans nos recherches.
- ✚ La deuxième section se concentre sur les procédures expérimentales, détaillant les matériaux et méthodologies employées tout au long de la recherche. Cela est suivi par une présentation des résultats obtenus, qui sont ensuite analysés et discutés.

La dernière partie du document est la conclusion et les perspectives.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. La goutte

I.1 Définition

La goutte est une arthrite inflammatoire caractérisée par l'accumulation de cristaux d'urate monosodique dans les articulations et d'autres tissus conjonctifs [10]. L'alcool et les aliments riches en purines sont les causes directes de cette affection, car ils augmentent les taux sanguins d'AU qui est un produit de dégradation des purines [11]. Les humains excrètent de l'acide urique par voie rénale [12].

Lorsque les concentrations sériques d'acide urique dépassent les limites de solubilité (6,8 mg/dl à pH physiologique), cela entraîne une hyperuricémie, qui, si elle n'est pas traitée, peut causer des calculs rénaux, de l'arthrite aiguë et d'autres effets indésirables [13]. C'est pourquoi, chez les patients souffrant de goutte, les concentrations sériques d'acide urique doivent être réduites au moins à la moitié du niveau cible de 6 mg/dL (et même à moins de 5 mg/dL chez les patients atteints de goutte sévère) [14]. Exemple de dépôt de cristaux d'acide urique dans le gros orteil illustré dans la figure 1.



Figure 1 : Dépôt des cristaux d'acide urique dans le gros orteil.

I.2 Causes et facteurs

L'une des principales causes de goutte est l'hyperuricémie, caractérisée par une concentration élevée d'AU dans le sang [15]. Mais d'autres facteurs de risque ont également été identifiés. On peut citer :

- ✚ **Les facteurs génétiques** : Le niveau d'AU et la prévalence de la goutte sont associés à la diversité génétique dans *slc2a9*, *apcg2* et *slc17a3*. Ces gènes sont impliqués dans le transport rénal de l'urine. Des différences génétiques au niveau de ces gènes peuvent entraîner un risque de goutte [16].
- ✚ **L'alimentation et l'alcool** : Parmi les boissons alcoolisées, la bière est celle qui représente le facteur de risque le plus élevé car elle a une haute teneur en purines [17].
- ✚ **L'Age et le sexe** : Le risque de développer la goutte augmente avec l'âge et sa prévalence est plus élevée chez les hommes que chez les femmes, cette différence peut s'expliquer par l'action uricosurique des estrogènes [18].
- ✚ **Obésité** : L'obésité a été associée à l'hyperuricémie, qui peut induire une augmentation sérique ou une diminution de l'excrétion rénale de l'acide urique [19].
- ✚ **L'hypertension** : Le traitement de l'hypertension artérielle par des diurétiques favorise l'hyperuricémie [20].

I.3 Symptômes

La crise de goutte se manifeste généralement en quelques heures, avec une rougeur, une chaleur, une douleur et un gonflement de l'articulation à cause de cristaux d'AU. En général, la crise de goutte affecte le gros orteil, mais elle peut parfois toucher plusieurs articulations. Celle des chevilles, des genoux, des pieds et des poignets. Les attaques répétées peuvent provoquer des dommages à l'articulation, ce qui peut conduire à une goutte chronique [21]. Les principaux symptômes de la goutte chronique sont : les déformations articulaires, la formation de tophi [15]. La douleur permanente, les signes d'usure articulaire et les atteintes rénales [22].

I.4 Diagnostic

En général, le diagnostic de la goutte se fait à partir d'une évaluation des antécédents médicaux du patient et d'un examen physique. On peut effectuer des tests sanguins pour évaluer les niveaux d'acide urique [21]. Si un diagnostic de goutte reste incertain ou incomplet il est important de considérer l'aspiration articulaire et la microscopie du liquide synovial [23].

Cependant, l'identification des cristaux d'urate monosodique peut être difficile car l'aspiration articulaire et l'analyse du liquide synovial nécessitent des compétences et des installations qui ne sont pas toujours disponibles, en particulier dans les soins primaires. Ainsi, les techniques d'imagerie jouent un rôle important dans le diagnostic de la goutte, en particulier chez les patients dont les diagnostics sont incertains [24]. Comme illustré dans la figure 2.

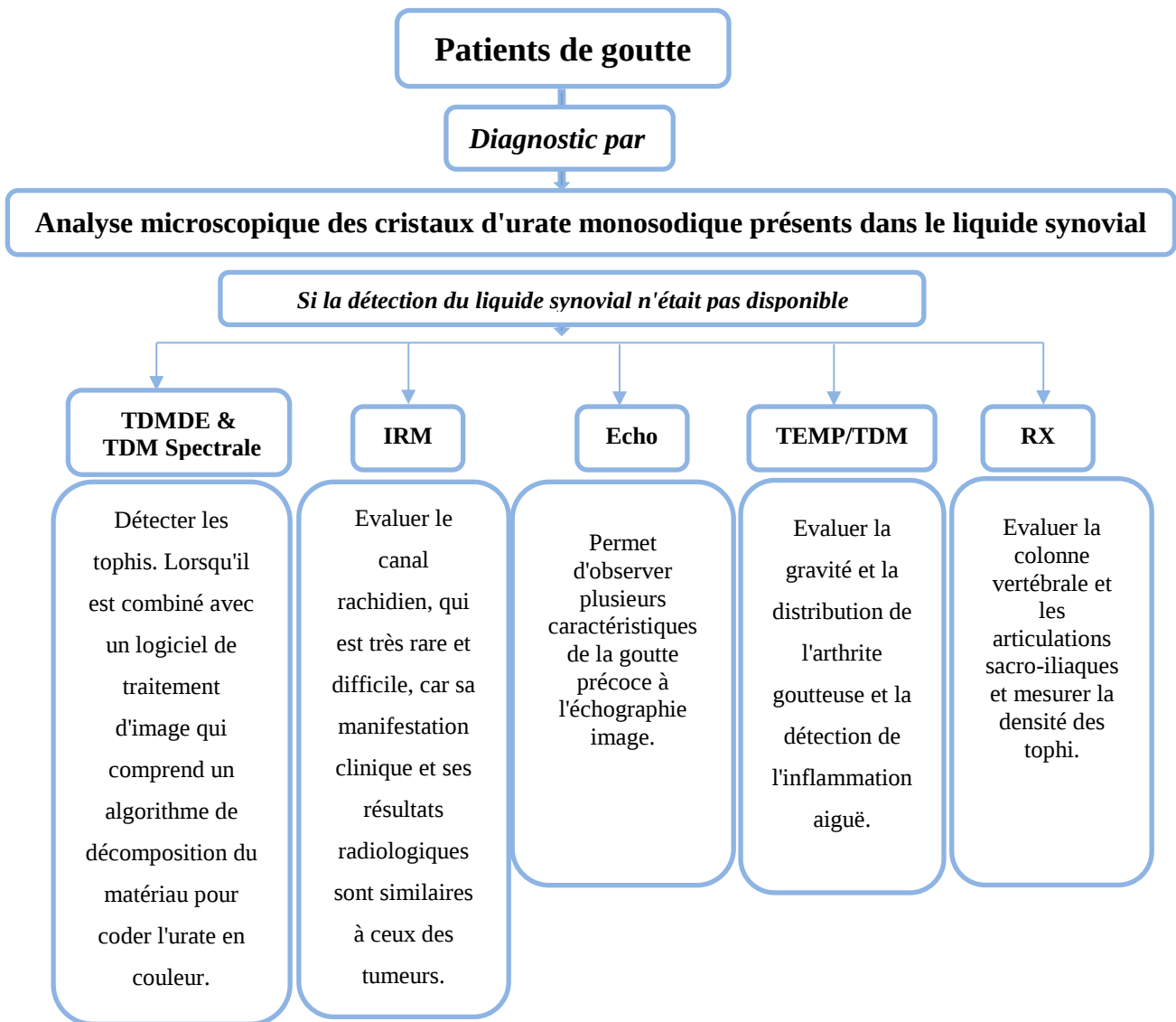


Figure 2 : Un diagramme résumant les étapes de diagnostic de goutte [25].

I.5. Traitements de la goutte

Le traitement de la goutte comprend les inhibiteurs de xanthine oxydase, cette enzyme est la principale cible thérapeutique pour traiter la goutte et l'hyperuricémie et réduire la production d'AU [26]. Dans le traitement d'une crise de goutte, tout d'abord, il faut reposer l'articulation

affectée, puis le médecin prescrira des médicaments pour l'inflammation. Les principaux médicaments utilisés sont dans le tableau 1.

D'autre part, il est essentiel de modifier le mode de vie des patients souffrant de goutte; en évitant la consommation d'alcool et de réduire leur consommation d'aliments contenant une grande quantité de purines, comme la viande blanche et rouge [27]. Les tableaux (1et 2) ci-dessous mentionnent certains médicaments de la goutte avec leurs dosages :

Tableau 1: Médicaments indiqués dans le traitement de la goutte aiguë [28].

Les médicaments	Dosage	Remarques
Les AINS	Exp : Indométacine (Indocine), une dose de 50 mg trois fois par jour.	Les AINS doivent être évités ; en cas de maladie cardiovasculaire
Colchicine	1,2 mg au départ, puis 0,6 mg après une heure, puis 0,6 à 1,2 mg par jour	La colchicine doit être évitée en cas de maladies rénales et hépatiques
Les corticoïdes	Dosage variable, voies orale, intramusculaire ou intra articulaire, (prednisone, 40 mg pour quatre jours, puis 20 mg pendant quatre jours, puis 10 mg pendant quatre jours)	Lors de l'arrêt du traitement par corticostéroïde oral, il est recommandé d'éviter les poussées de rebond en effilant.

Après avoir résolu la crise de goutte, il est possible de mettre en œuvre un traitement préventif pour éviter de nouvelles crises et de diminuer le taux d'acide urique dans le sang. On le recommande surtout si le patient présente deux crises ou plus par an [29]. Parmi les médicaments utilisés, on peut citer :

Tableau 2: Médicaments indiqués dans la prévention de la goutte chronique [28].

Médicaments	Dosage	Remarques
Allopurinol (Zyloprim)	Le dosage initial est 100 mg par jour, sauf chez les patients avec dysfonctionnement rénal ; dosage efficace commun est de 300 mg par jour, mais des doses plus élevées peuvent être nécessaire	Il est recommandé de réaliser des tests génétiques avant d'initier un traitement chez les patients présentant un risque de réaction cutanée d'hypersensibilité sévère

Febuxostat (Uloric)	40 mg une fois quotidiennement, peut augmenter jusqu'à	Il est déconseillé chez les patients traités avec de l'azathioprine (Imurane) et de la mercaptopurine
	80 mg quotidiennement, si taux sérique d'acide urique est au-delà de 6 mg après deux semaines	

II. Xanthine oxydase

La xanthine oxydase, également connue sous le nom de xanthine oxydoréductase XOR, est une enzyme essentielle dans le processus de catabolisme des purines [30]. Historiquement, l'enzyme a été isolée pour la première fois du lait bovin sous le nom d'aldéhyde oxydase en 1902, puis il a été découvert en 1926 qu'elle était identique à l'enzyme xanthine oxydase [31].

La xanthine oxydase (XO), une molybdo-flavo-protéine, est largement distribuée dans divers types d'organismes, des bactéries aux humains. Elle catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine, puis en AU dans le métabolisme des purines [32].

Il existe deux formes inter-convertibles qui peuvent être exprimées sous la forme déshydrogénase en utilisant le NAD comme accepteur final d'électrons du site flavine de l'enzyme, mais elle peut également exister sous la forme d'oxydase qui utilise l'O₂ [33].

II.1. Structure

La xanthine oxydase est un homodimère de 290 kDa dont chaque monomère agit indépendamment et possède un centre de molybdène au niveau duquel l'hydroxylation oxydative des substrats a lieu [34].

Chaque monomère de la XO se compose de trois domaines :

- ✚ Le domaine C-terminal de 85 kDa contient un cofacteur de molybdoptérine (Moco) contenant du molybdène, qui permet l'hydroxylation oxydative des purines,
- ✚ Le domaine intermédiaire de 40 kDa contient un cofacteur flavine adénine dinucléotide (FAD),
- ✚ Le domaine N-terminal de 20 kDa contenant deux clusters fer-soufre non identiques (2Fe/2S) (Figure 3) [35].

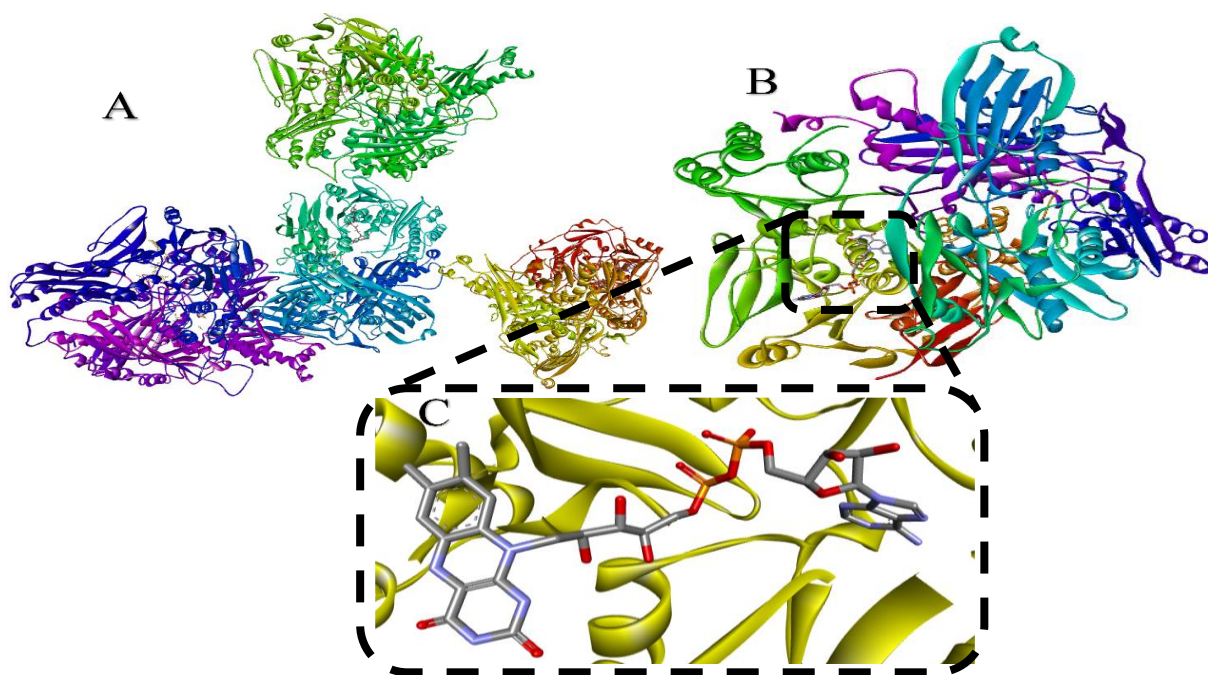


Figure 3 : La structure 3D de la xanthine oxydase humaine (XOH, pdb ID : 2ckj).

(A) : La XOH, (B) : La chaîne A de la XOH, (C) : Zoom sur le site actif avec la flavine-adénine dinucléotide (FAD).

II.2. Mécanisme réactionnel

La xanthine oxydase est une enzyme clé dans le métabolisme des purines. Elle utilise l'oxygène pour réguler les deux dernières étapes de la dégradation des purines (Figure 4): l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et l'oxydation de la xanthine en AU suivant ces étapes [36]:

- ✚ Le substrat est oxydé au centre molybdène (Mo) qui est réduit de Mo^{VI} à Mo^{IV} au cours du processus [37], par deux électrons qui sont transférés du substrat à l'unité molybdoptérine.
- ✚ La réoxydation du centre Mo et la réactivation de l'enzyme se produisent par le transfert de deux électrons vers une molécule d'oxygène.
- ✚ Les deux électrons se déplacent du centre Mo vers le premier cluster fer-soufre appelé Fe/S, puis vers le deuxième cluster fer-soufre Fe/S II, ensuite transférés vers l'unité FAD avant d'être utilisés pour réduire les molécules d'oxygène, produisant des anions superoxydes et du peroxyde d'hydrogène comme produits finaux du processus [38].

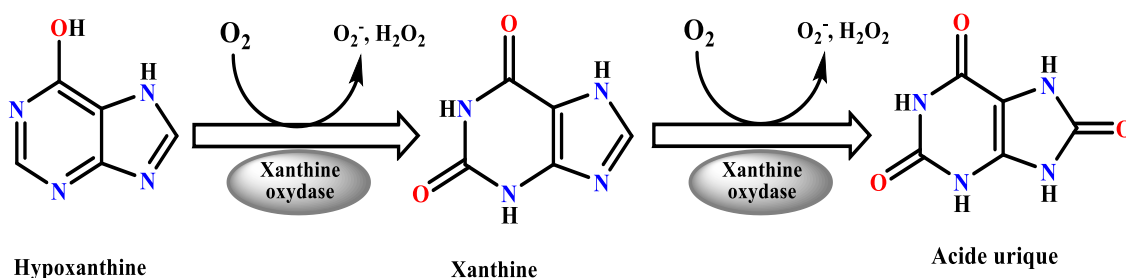


Figure 4 : Mécanisme réactionnel de la XO [36].

II.3. Les différentes formes de la XO

La xanthine oxydase existe sous deux formes : la XDH est la forme native, qui est principalement présente à l'intérieur de la cellule, peut être convertie en XO par oxydation des groupes sulfhydriles ou protéolyse limitée. La forme XO est la plus courante dans les fluides biologiques comme le plasma et le lait [39]. XDH préfère le NAD comme substrat d'oxydation (mais réagit également avec l' O_2 alors que XO ne peut pas réagir avec le NAD et ne peut utiliser que l' O_2 [34].

Il est intéressant de noter que seuls les mammifères peuvent convertir la déshydrogénase en oxydase ; les autres organismes, des poulets aux bactéries, ont des déshydrogénases nécessaires qui ne peuvent pas être converties en oxydases [31].

III. Organismes marins étudiés

Les alcaloïdes sont utilisés sous forme d'extraits naturels, depuis de nombreuses années, en raison de leurs propriétés biologiques et thérapeutiques intéressantes [40]. D'autre part, les mers et les océans occupent environ 70 % de la surface de la terre, donc les chercheurs ont commencé à les étudier de manière systématique pour y trouver des produits pharmacologiques provenant d'organismes marins [41]. On distingue les alcaloïdes marins qui sont une catégorie de composés présentant différentes structures azotées qui peuvent être étudiées comme des composés bioactifs naturels potentiels, comme présentent dans : les tuniciers et les spongiaires [42]. Nous avons sélectionné deux tuniciers : *Aplousia sp* (Figure 5) et *Atrium robustum* (Figure 6), et deux éponges : *Tethya crypta* L (Figure 7) et *Mycale sp* (Figure 8), en fonction

de leur potentiel en alcaloïdes. Leur taxonomie linnéenne et leurs répartitions géographiques ont été obtenues le 20 avril 2024 à partir de (<https://spongeguide.uncw.edu>), guide de Florent's To The Tropical Pacific Reefs, et du guide : Splendid sponges of Palau [43].

III.1. Les tuniciers

Les tuniciers sont des organismes marins sessiles au corps mou, sont hermaphrodites dont le corps varie du translucide au bleu, au vert, au jaune, au rouge et au brun, et ne vivent que de deux mois à un an, appartenant à la famille des Ascidiacea. Les tuniciers produisent d'abondants produits naturels marins, y compris des alcaloïdes. En raison de leurs puissants systèmes de défense, les tuniciers sont très appréciés comme ressources médicamenteuses [44]. Dans ce travail, nous avons étudié deux alcaloïdes provenant de tuniciers marins, à savoir la méthylsulfinyladénosine isolée d'*Atriolum robustum* L [45], et l'ascidiathiazone A, isolée d'*Apliuduim* sp L [45].

A. *Apliuduim* sp

Nom commun : Aplidium a doubles cercles Blancs.

A.1. Taxonomie

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Chordata</i>
Classe	<i>Ascidiacea</i>
Ordre	<i>Enterogona</i>
Famille	<i>Polyclinidae</i>
Genre	<i>Aplidium</i>
Espèce	<i>Aplidium</i> sp L.

A.2. Répartition géographique et morphologie

Apliuduim sp est répartie dans les régions Méditerranée Nord-Occidentale [46], le nom scientifique de cette *Aplidium* n'est pas encore connu, elle présente 6 points rouges autour du siphon buccal entre deux cercles blancs (Figure 5). La tunique commune est extrêmement transparente, ce qui laisse voir un motif triangulaire à sommet arrondi qui semble représenter ce qui doit être la base du siphon cloacal de chaque zoïde [47].

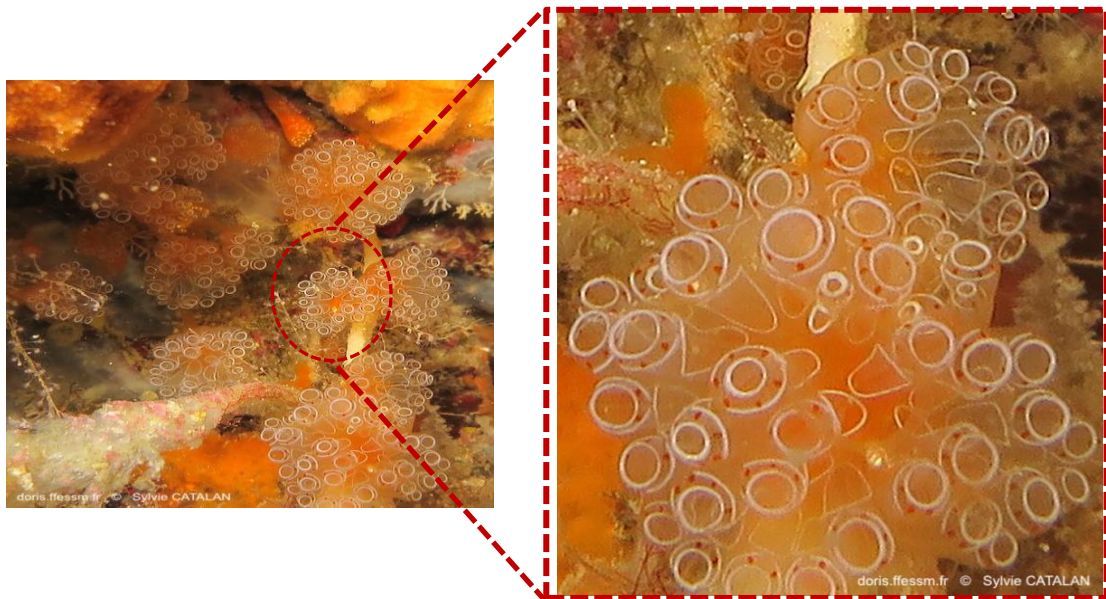


Figure 5: Photo représente : *Apliudum* sp (Obtenue le 20 avril 2024) [47].

B. *Atriolum robustum*

Nom Commun : Petite synascidie-urne.

B.1. Taxonomie

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Chordata</i>
Classe	<i>Ascidiacea</i>
Ordre	<i>Aplousobranchia</i>
Famille	<i>Didemnidae</i>
Genre	<i>Atriolum</i>
Espèce	<i>Atriolum robustum</i> L.

B.2. Répartition géographique et morphologie

Atriolum Robustum est présent à des profondeurs de 12 à 300 m dans la région tropicale de l'ouest et du centre de l'Indopacifique, son aire de répartition s'étend de Madagascar à l'Australie et à la Papouasie-Nouvelle-Guinée, en passant par la Réunion et Mayotte [48]. Les colonies se composent de plusieurs petites urnes contiguës (Figure 6) et de forme ovoïde allongée mesurant chacune au maximum 15 mm de hauteur reliées entre elles par une base encroûtante commune, colonies de consistance ferme au toucher. Chaque lobe érigé de la colonie montre une grande

cavité avec une ouverture apicale, les côtés de chaque urne présentent des petits trous, Elle est de coloration presque vert-jaune à l'ensemble de la colonie [49].

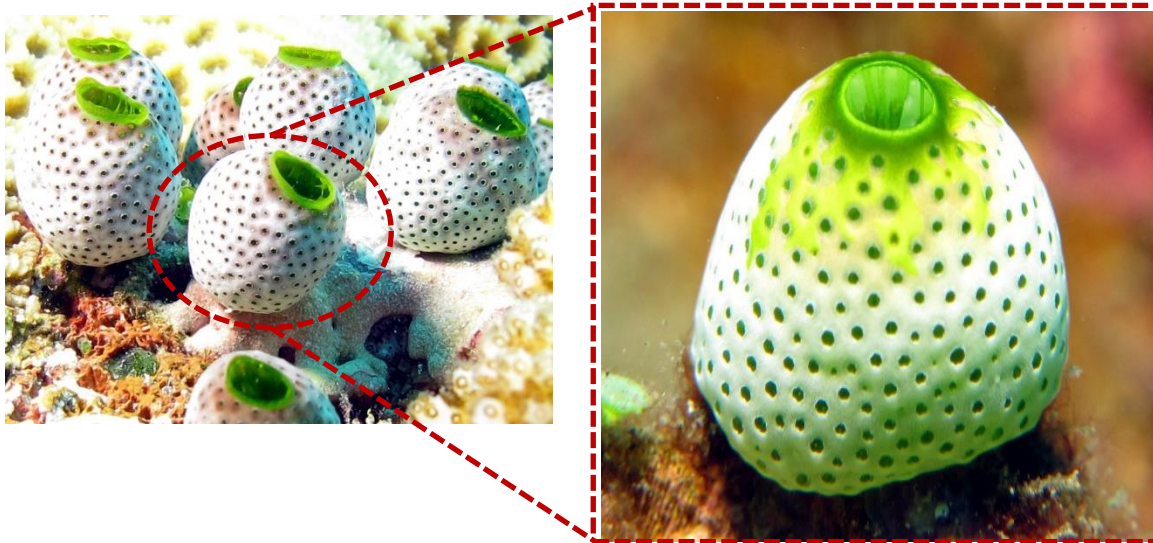


Figure 6 : Photo représente : *Atriolum Robustum* (Obtenues du guide : Florent's Guide To The Tropical Pacific Reefs) [50].

III.2. Les spongiaires

Les éponges, également connues sous le nom de spongiaires, sont des animaux marins de forme, de taille et de couleurs très variée. Il existe environ 10 000 espèces, considérées comme des animaux multicellulaires, qui sont parmi les plus simples et les plus anciennes connues [51]. Dans ce travail, nous avons étudié trois alcaloïdes provenant d'éponges marines, à savoir la spongothymidine, la spongouridine isolée de *Tethya crypta* et la mycalisine A isolée de *Mycale* sp [52, 53].

A. *Tethya crypta* L

Nom Commun : *Cryptotheca crypta*.

A.1. Taxonomie

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Porifera</i>
Classe	<i>Demospongiae</i>
Ordre	<i>Tethyida</i>
Famille	<i>Tethyidae</i>
Genre	<i>Tethya</i>

Espèce*Tethya crypta* L.**A.2. Répartition géographique et morphologie**

Tethya crypta L est répartie dans les zones récifales situées sur des substrats plus mous tels que le sable ou la boue dans le Sud de la Floride et Caraïbes (Floride, Bahamas, République Dominicaine, Jamaïque, et Belize) [54] et dans l'Atlantique Centre-Ouest : Etats-Unis et Cuba [55]. Elle est vert olive foncé (Figure 7) de la taille d'un poing, la couche externe visible de l'animal présente des tubercules plats d'environ 3 à 5 mm de diamètre et une épaisse couche de sédiments, on trouve à la surface de l'animal des mégasclères, qui sont des structures rayonnantes et se ramifiant vers l'extérieur. Les rayons ont des extrémités arrondies ; les micrasters ont un diamètre compris entre 8 et 12 µm. L'éponge se distingue par des ostiums qui sortent de sa cavité corporelle et qui peuvent s'ouvrir ou se refermer brusquement [56].

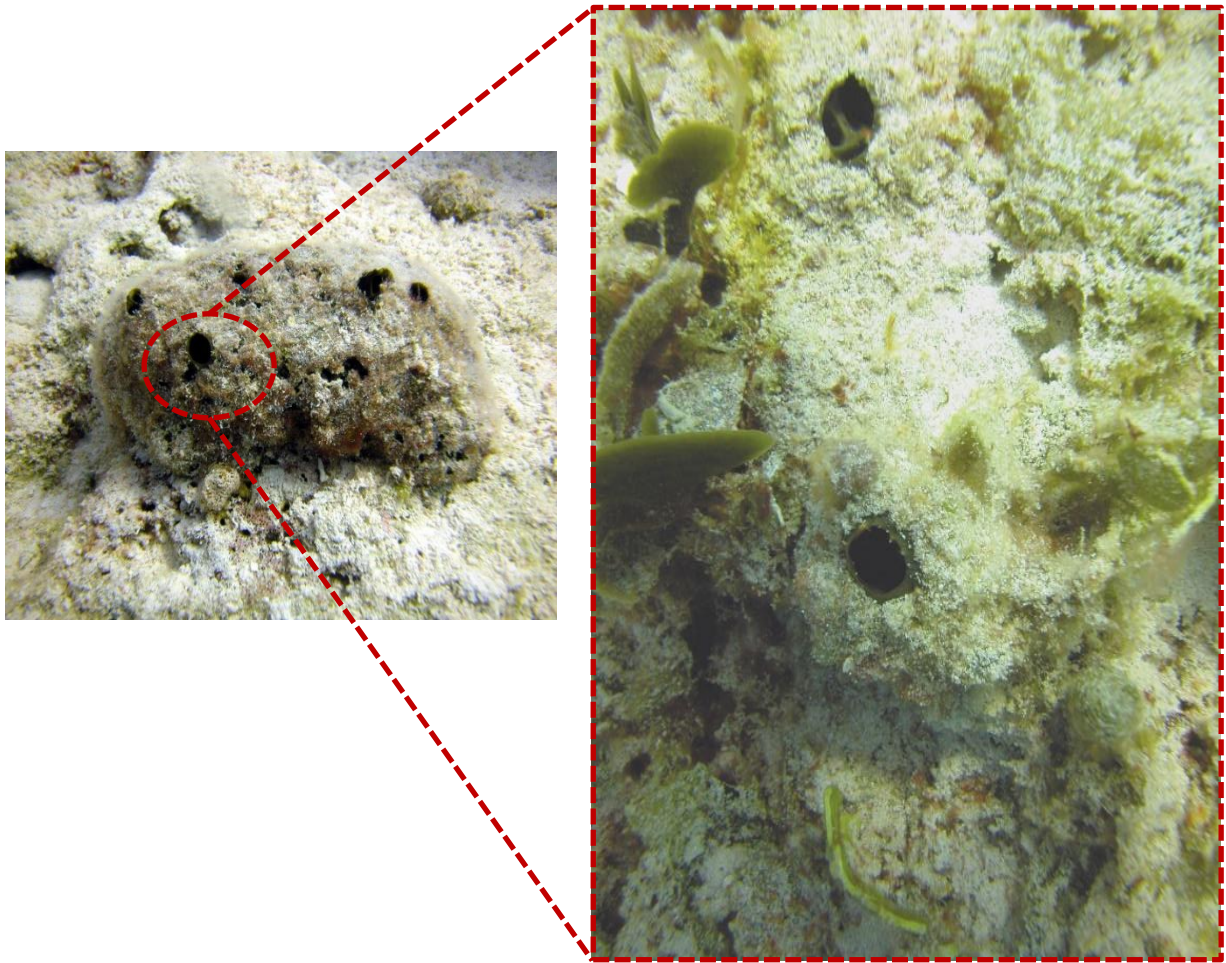


Figure 7: Photo représente : *Tethya crypta* L (Obtenue du guide : The Sponge Guide) [57].

B. *Mycale* sp

Nom commun : Arenochalina

B.1. Taxonomie

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Porifera</i>
Classe	<i>Demospongiae</i>
Ordre	<i>Poecilosclerida</i>
Famille	<i>Mycalidae</i>
Genre	<i>Mycale</i>
Espèce	<i>Mycale</i> sp L.

B.2. Répartition géographique et morphologie

Mycale sp est répartie dans des récifs peu profonds jusqu'à 45m aussi en Indonésie, en Australie occidentale, aux Seychelles, à Oman, à Zanzibar, à Madagascar et en Inde [58] cette *Mycale* est de couleur beige-grisâtre (Figure 8), avec une forme branches ramifiées, anastomosées, érigées ou étalées. La surface présente des alvéoles et des conules épineuses. On peut parfois observer les pores inhalant dans les trous de la surface. La taille des oscules varie, ils sont irrégulièrement répartis sur les branches. Le corps est constitué de fibres avec des pointes à la surface. Il y a des spicules : tête arrondie et extrémité marquée [59].

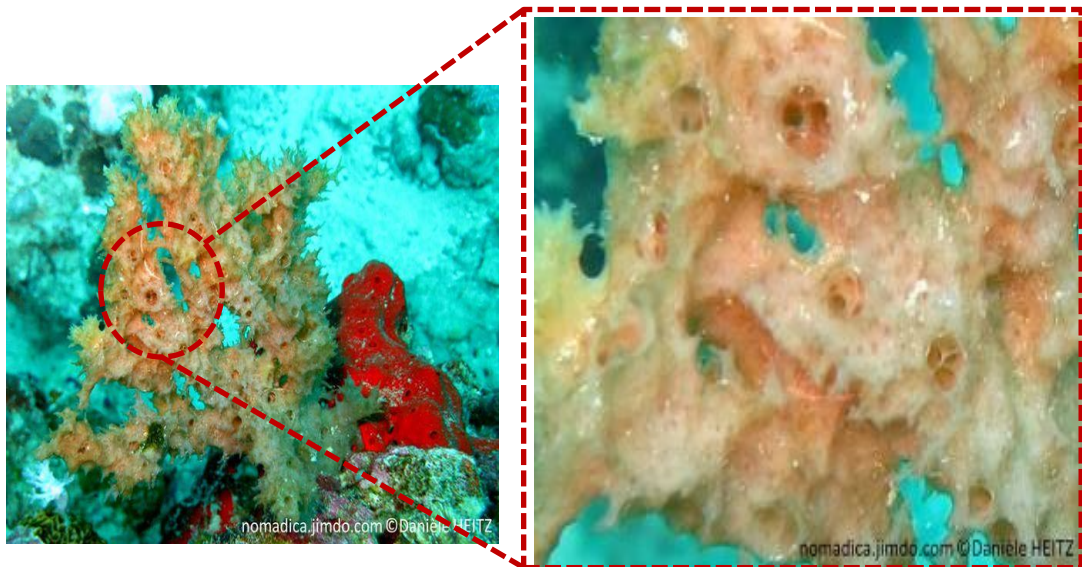


Figure 8 : Photo représente : *Mycale (Arenochalina) setosa* [59].

MATERIELS ET METHODES

- Logiciels, bases de données et serveurs web

1. Les bases de données

- ✓ **Protein Data Bank (PDB)** : Il s'agit de la première source de données en libre accès en biologie et constitue un référentiel mondial unique pour les informations structurales en 3D. Il offre une accessibilité libre des plusieurs structures expérimentalement déterminées de protéines, d'ADN, d'ARN et de leurs complexes avec des médicaments et/ou d'autres petites molécules (Figure 9) [60].

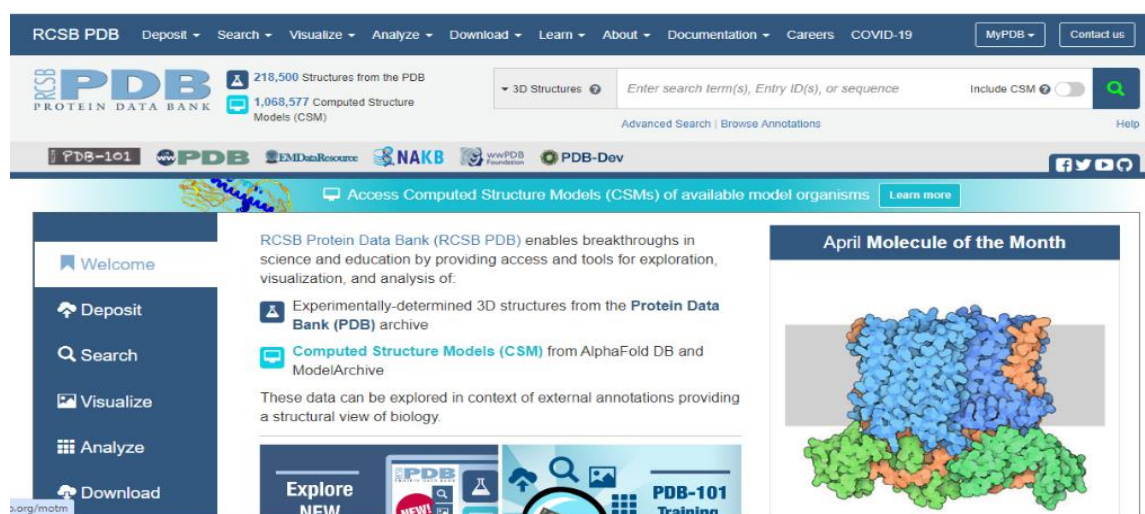


Figure 9 : L'interface principale de la base de données PDB.

- ✓ **Pubchem** : est un agrégateur de données qui regroupe des informations chimiques provenant de centaines de sources de données (Figure 10) [61].

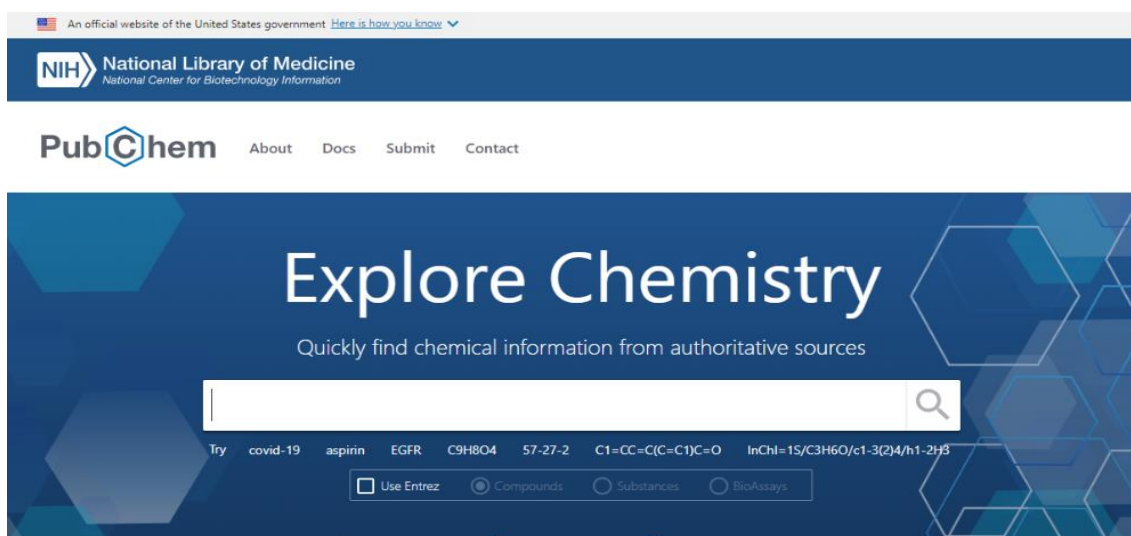


Figure 10 : L'interface principale du Pubchem.

2. Logiciels et programmes

- ✓ **AutoDock Tools 1.5.7 (ADT)** : Il s'agit d'une interface utilisateur visuelle qui permet de préparer, d'exécuter et d'analyser les ancrages générés à partir de l'AutoDock Vina. Cette interface permet de réaliser des opérations telles que l'ajout d'hydrogènes, l'ajout de charges atomiques, la préparation du ligand et de la cible au format pdbqt compatible avec l'AutoDock Vina, la création de grilles et de fichiers de paramètres d'ancrage, ainsi que la visualisation interactive des résultats d'ancrage (Figure 11) [62].

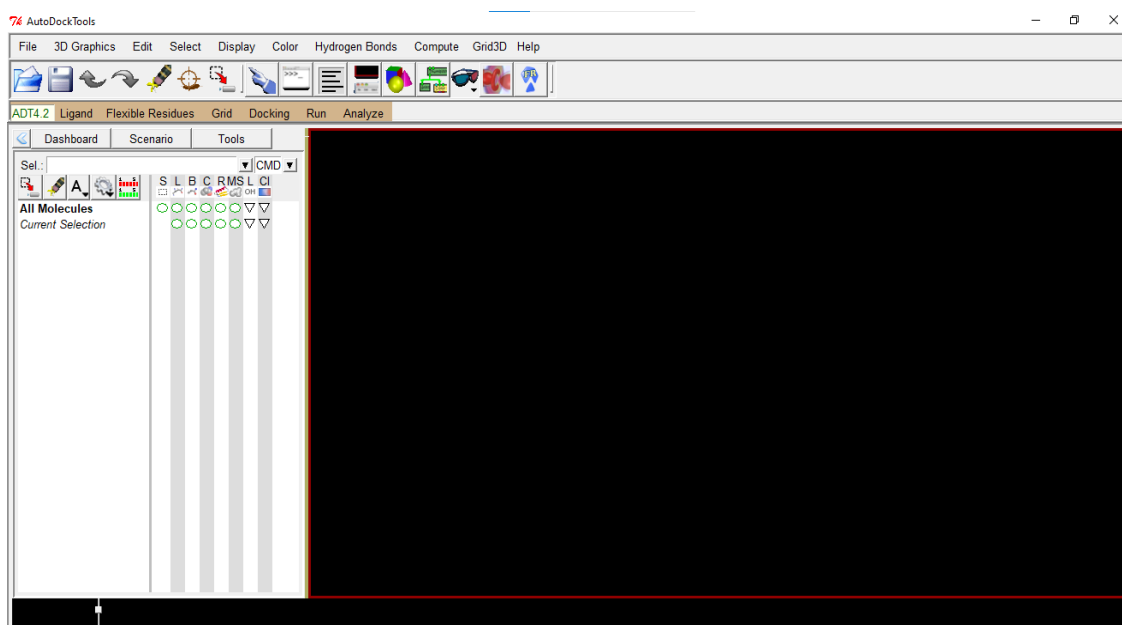


Figure 11 : L'interface principale de logiciel AutoDock Tools [62].

- ✓ **AutoDock Vina (ADV)** est l'un des programmes d'amarrage moléculaire open source les plus répandus, spécialement conçu pour prédire avec précision les interactions entre les protéines et les ligands. Il utilise un algorithme de recherche hybride combinant des algorithmes génétiques avec une fonction de notation basée sur des données empiriques d'affinité de liaison. Grâce à cette approche, ADV peut explorer efficacement l'espace conformationnel des ligands dans le site de liaison d'une protéine, identifier les modes de liaison les plus favorables énergétiquement et évaluer les affinités de liaison [63].

- ✓ **Discovery studio visualizer (DSV) :** DSV est un outil d'analyse et de visualisation moléculaire gratuit. Il permet de représenter en 3D une grande variété de biomolécules telles que les protéines, les glucides, les lipides et les acides nucléiques. Cet outil offre également la possibilité d'importer et d'exploiter les données générées par d'autres logiciels. Grâce à DSV, il est possible de visualiser les interactions et liaisons intramoléculaires, de calculer les distances entre atomes, d'éditer des structures moléculaires et des séquences génétiques. Cet outil est particulièrement utile pour analyser les résultats d'amarrage moléculaire, en permettant de représenter graphiquement les interactions entre un ligand et son récepteur (Figure 12) [64].

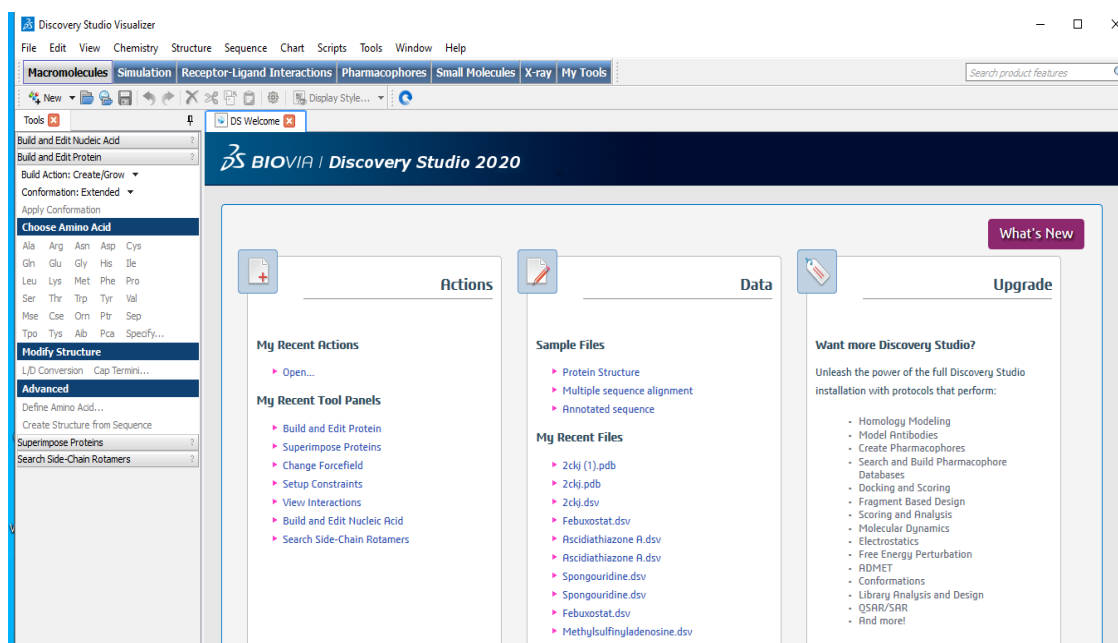


Figure 12 : L'interface principale de logiciel DSV [64].

3. Serveurs web

- ✓ **Serveur Way2Drug :** est un outil puissant (<https://www.way2drug.com/passonline/>) permettant de prédire les activités biologiques de manière précise. En fournissant la structure 2D d'un composé chimique, il apporte une liste exhaustive d'activités biologiques associées à des probabilités de découverte. Avec une capacité de prédiction de plus de 4000 types d'activités biologiques (Figure 13). Way2Drug couvre un large

éventail de phénomènes, allant des effets pharmacologiques et des mécanismes d'action aux effets toxiques et indésirables, ainsi qu'à l'interaction avec les enzymes métaboliques et les transporteurs, et même à l'influence sur l'expression des gènes [65].

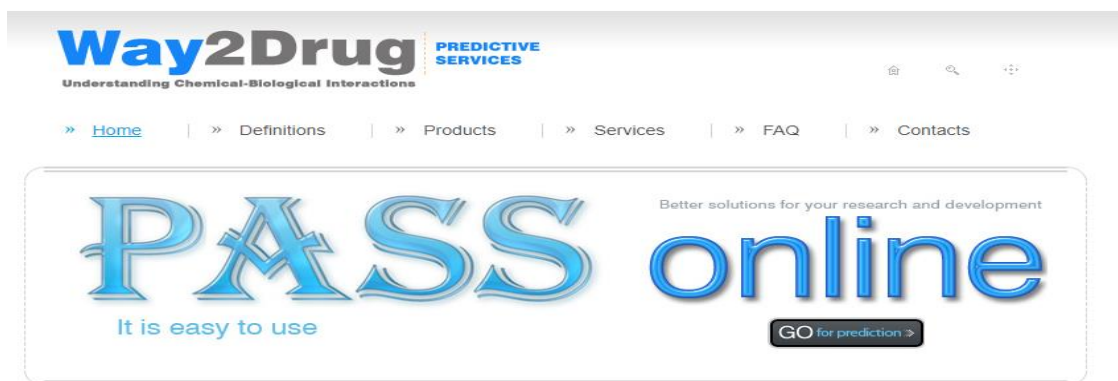


Figure 13 : L'interface principale du serveur Way2Drug.

- ✓ **Serveur PreADMET :** Ce serveur web est conçu pour fournir des prédictions rapides et préliminaires des propriétés clés de la pharmacocinétique, notamment l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET), ainsi que pour analyser les avantages et les inconvénients associés à ces propriétés (Figure 14) [66].

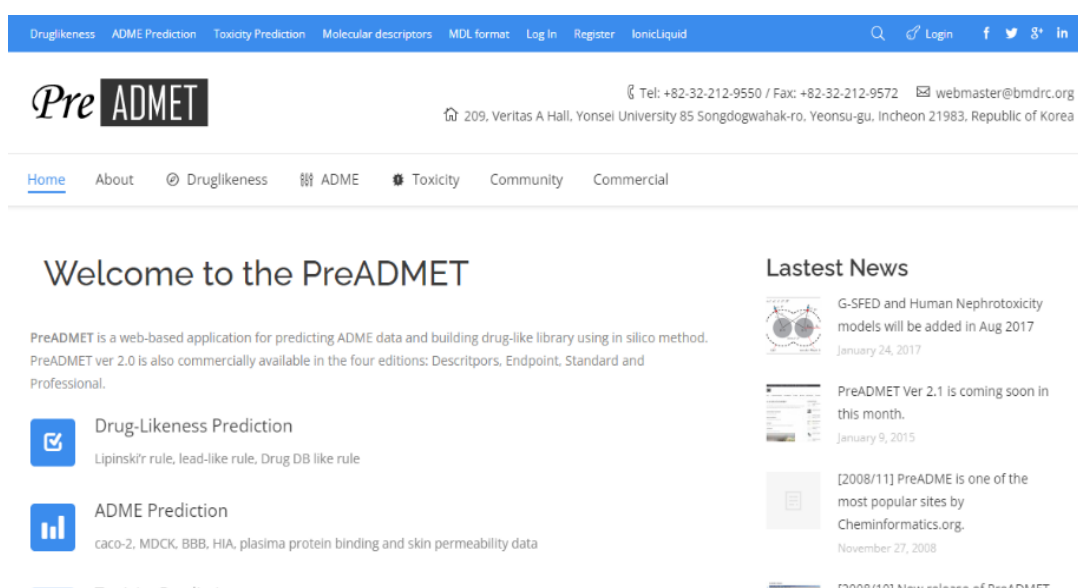


Figure 14 : L'interface principale du serveur PreADMET.

4. Etude PASS

L'étude PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) a été mise à contribution afin de prédire, les activités biologiques potentielles de quelques alcaloïdes sur la base de leur structure chimique, en particulier celles liées au traitement de la goutte et à l'inhibition de la XO. Les résultats PASS pour un composé donné se présentent sous la forme de deux probabilités : l'activité probable (Pa) et l'inactivité probable (Pi). Ces deux valeurs, exprimées en pourcentage, varient entre 0 et 1 et permettent d'estimer la probabilité que le composé présente ou non l'activité biologique considérée [67]. Nous avons utilisé le serveur Way2Drug pour prédire les activités biologiques de nos molécules vis-à-vis de l'XOH.

Cinq alcaloïdes ont été sélectionnés pour cette étude : Spongothymidine (mol1), Spongouridine (mol2), Mycalisine A (mol3), Ascidiathiazone A (mol4) et Methylsulfinyladenosine (mol5). Par rapport au contrôle Febuxostat. Les propriétés chimiques de ces composés sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3: Les composés étudiés avec leurs propriétés chimiques.

Ligands	Poids moléculaire (g/mol)	Nom IUPAC	Formule brute
Febuxostat (Contrôle)	316,4 g/mol	2-[3-cyano-4-(2-methylpropoxy)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazole-5-carboxylic acid	C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₃ S
Spongothymidine (mol1)	258,23g/mol	1-[(2R,3S,4S,5R)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]-5-methylpyrimidine-2,4-dione	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₆
Spongouridine (mol2)	244,2g/mol	1-[(2R,3S,4S,5R)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]pyrimidine-2,4-dione	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆
Mycalisine A (mol3)	287,27g/mol	4-amino-7-[(2R,3R,4S)-3-hydroxy-4-methoxy-5-methylideneoxolan-2-yl]pyrrolo[2,3-d]pyrimidine-5-carbonitrile	C ₁₃ H ₁₃ N ₅ O ₃
Ascidiathiazone A (mol4)	308,27g/mol	1,1,5,10-tetraoxo-3,4-dihydro-2H-pyrido[2,3-g][1,4]benzothiazine-7-carboxylic acid	C ₁₂ H ₈ N ₂ O ₆ S
Methylsulfinyladenosine (mol5)	329,34g/mol	(2S,3R,4S,5R)-2-(6-aminopurin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)-2-methylsulfinyloxolane-3,4-diol	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₅ S

5. L'analyse d'Absorption, Distribution, Métabolisme et toxicité (ADMT)

L'analyse d'Absorption, Distribution, Métabolisme, et Toxicité (ADMT) aide à comprendre le devenir du nouveau composé dans l'organisme et à prédire leur comportement après leur administration. Les données ADMT jouent un rôle dans le développement et l'évaluation des médicaments présentant des propriétés souhaitables afin de garantir leurs propriétés pharmacocinétiques (PC), car elles déterminent si les médicaments candidats seront développés, suspendus ou abandonnés [68].

Dans notre étude, nous avons utilisé le serveur Pre-ADMET v2.0 (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org/adme/>) reconnu comme une ressource puissante et citée dans la littérature [69]. Avec le médicament de contrôle, Febuxostat. Les paramètres utilisés sont mentionnés dans le tableau 4.

Tableau 4: Les paramètres utilisés pour l'étude ADMT.

Paramètres	Description	Normes	Référence
Absorption			
Perméabilité des cellules Caco-2 (nm/sec)	Permet d'évaluer la perméabilité intestinale d'un composé chimique, c'est-à-dire sa capacité à traverser la paroi intestinale.	> 20 (mieux)	[70]
Absorption intestinale humaine (AIH %)		entre (80-100) % sont mieux	[71]
Solubilité dans l'eau (mg/l)	L'une des paramètres les plus importantes des composés qui permet d'évaluer le comportement de solubilisation du composé au cours du processus de digestion intestinale	Plus grand (mieux)	[72]
Inhibition de la glycoprotéine P	La glycoprotéine P (P-gp) protège les cellules des toxines et des xénobiotiques.	Inhibiteur (mauvais) ou pas	[73]
Distribution			
Pénétration de la barrière hémato-encéphalique (C.cerveau/C.sang)	Est une barrière physique qui contrôle étroitement les échanges entre le sang et le compartiment cérébral.	Normes > 2 (mieux)	[74]
Perméabilité des cellules MDCK (nm/sec)	Les cellules MDCK sont utilisées pour étudier la distribution des xénobiotiques	Plus grand (mieux)	[75]

Liaison aux protéines plasmatiques (%)	Evaluer la liaison aux protéines plasmatiques principales à savoir l'albumine, l'alpha1-glycoprotéine, les lipoprotéines et les globulines	Plus faible (mieux)	[76]
Perméabilité pour la peau (logKp, cm/heure)	Comprendre la perméabilité cutanée des composés présente un intérêt pour l'administration transdermique	Normes < -2,5	[77]
Métabolisme			
Inhibition du cytochrome P450 3A4	Evaluer le métabolisme de 90% des xénobiotiques.	Mauvais (Inhibiteur)	[78]
Substrat du cytochrome P450 3A4		Bon (Substrat)	
Toxicité			
Test d'Ames	Le test d'Ames est utilisé comme test de risque pour déterminer les effets mutagènes des xénobiotiques.	Doit être Non-mutagène	[79]
Carcinogénicité souris/ rat	Évaluer le potentiel cancérogène des xénobiotiques.	Doit être Négative	[80]
Inhibition de la HERG	Evaluer l'inhibition du canal de potassium dans le cœur (responsable de battement).	Doit être impérativement Négative	[81]

6. Amarrage moléculaire

L'amarrage moléculaire (AM), également connu sous le nom Docking moléculaire (Figure 15) est un outil puissant qui permet aux chercheurs d'explorer les interactions entre les molécules, facilitant la découverte de médicaments et l'identification de composés thérapeutiques potentiels, Ces dernières années, l'AM est devenu un aspect essentiel du développement de médicaments *in silico*. Cette technique consiste à prédire l'interaction entre une petite molécule (ligand) et une protéine (récepteur) au niveau atomique [82].

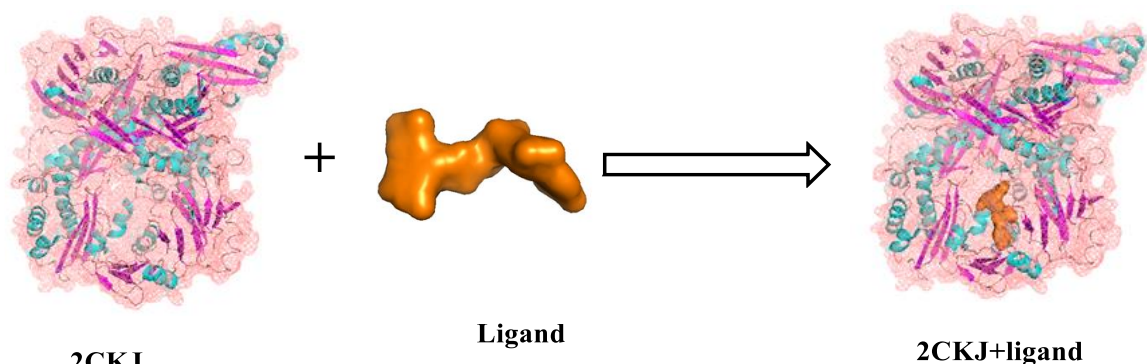


Figure 15 : Image illustrant les étapes du Docking.

Nous avons effectué l'AM pour étudier la fonction principale du XO_H avec les cinq alcaloïdes mol1, mol2, mol3, mol4, et mol5 comme inhibiteurs possibles pour identifier le mécanisme d'inhibition et les interactions impliquées. Les composés utilisés ont été obtenus à partir de la base de données PubChem [83]. Ensuite ont été enregistrées au format SDF. Elles ont ensuite été converties au format PDB à l'aide de DSV. Les fichiers PDB ont été transformés au format PDBQT grâce au programme ADT pour préparer les ligands à l'AM. Aucune étude antérieure n'a été menée sur les effets anti-goutte des composés sélectionnés. Cette étude est donc originale.

Initialement, la structure cristalline de la xanthine oxydase humaine (PDB ID : 2ckj) a été obtenue à partir de la PDB, qui représente la XO_H ; nous avons utilisé une chaîne polypeptidique unique nommée (A) qui contient cinq hétéroatomes : flavine adénine dinucléotide (NAD), Fe₂/S₂ (inorganique) cluster (FES), glycérol (GOL), acide acétique (ACY), et l'ion phosphate (PO₄), aucun substrat ou inhibiteur n'a été trouvé dans le site actif. Le fébuxostat a été utilisé comme contrôle positif pour la validation de l'AM de cette cible. Le système a été validé afin d'augmenter l'enrichissement en ligands, ce qui est nécessaire dans le processus de l'AM.

L'AM a été défini comme un type d'amarrage spécifique étant donné la flexibilité totale de l'inhibiteur et la flexibilité du site catalytique du récepteur. La préparation de la protéine se fait en trois étapes :

-  **La première étape (1)** consiste à éliminer les substances inutiles, notamment les molécules d'eau, les hétéroatomes, les ligands et les co-ligands, à l'exception de celles qui sont nécessaires dans le site actif.
-  **La deuxième étape (2)** consiste à ajouter des hydrogènes polaires et des charges partielles à la structure de l'enzyme, ce qui a été fait à l'aide du programme ADT.

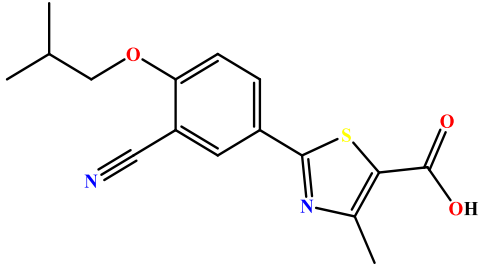
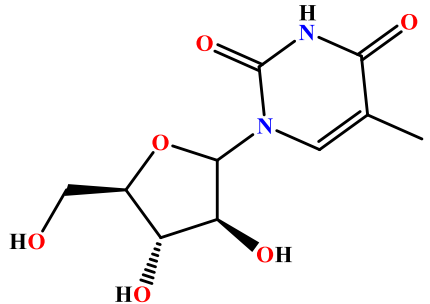
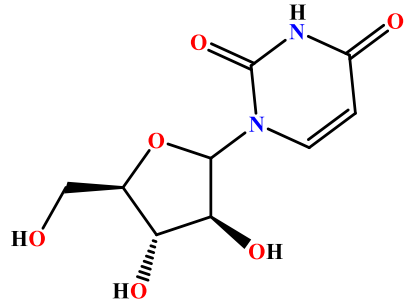
✚ **La troisième étape (3)** consiste à définir la taille et le centre de la boîte (CB) à l'aide du programme ADT (avec les coordonnées x, y et z). Le CB est déterminé avec les valeurs (x=79,017, y=77,284 et z= 141,85) et la taille (x=22, y=22 et z=22). Après avoir défini le CB, nous avons effectué l'AM en utilisant l'ADV.

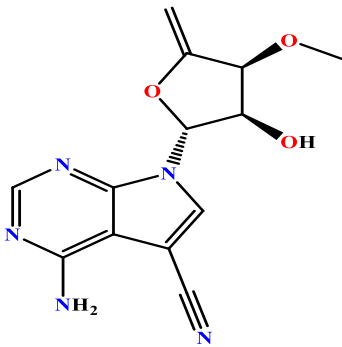
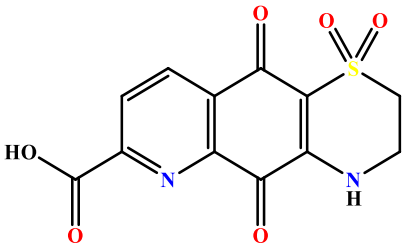
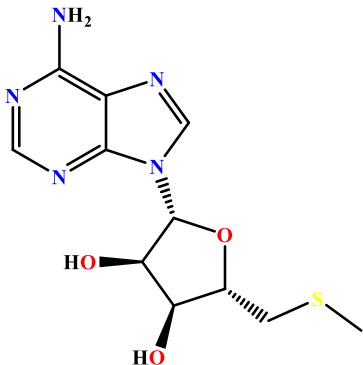
RESULTATS Et DISCUSSION

1. Etude PASS

Les résultats de l'analyse PASS pour les inhibiteurs sélectionnés sont résumés dans le tableau 5. Les résultats initiaux montrent des valeurs de Pa significatives pour le traitement de la goutte et l'inhibition de la XO. Les valeurs de Pa pour mol 1, mol2, mol3 et mol5 sont modérées, allant de 0,346 à 0,399, tandis que la valeur Pa pour mol4 atteint le score le plus élevé avec 0,769. Mol1 et mol2 partagent presque le même résultat. Febuxostat, utilisé comme contrôle, a été identifié comme un inhibiteur de la XO avec une valeur Pa de 0,892. Finalement, tous les composés ont été prédits comme des inhibiteurs potentiels de la XO.

Tableau 5: Les résultats de l'étude PASS.

Composé	Valeur Pa	Pubchem ID	Activité inhibitrice du PASS	2D Structure	Référence
Febuxostat (Contrôle)	0,892	134018	Inhibiteur de la xanthine oxydase		[84]
Spongothymidine (mol1)	0,372	65049	Traitement de la goutte		[85]
Spongouridine (mol2)	0,346	18323	Traitement de la goutte		[86]

Mycalisine A (mol3)	0,399	176826	Traitement de la goutte		[87]
Ascidiathiazone A (mol4)	0,769	11673949	Traitement de la goutte		[45]
Methylsulfinyladenosine (mol5)	0,392	137321343	Traitement de la goutte		[45]

2. L'analyse d'Absorption, Distribution, Métabolisme et toxicité (ADMT)

Les paramètres ADMT prédits pour tous les composés sont présentés dans le tableau 6. Les résultats indiquent une faible perméabilité des cellules Caco-2, variant de 0,43 nm/sec à 9,09 nm/sec, pour mol1, mol2, mol4, mol5 et le contrôle, ce qui suggère des difficultés à traverser cette membrane restrictive. En revanche, mol3 montre une perméabilité modérée.

D'un autre côté, mol3, mol4 et le contrôle présentent une absorption intestinale humaine élevée, allant de 80 à 85 %, à l'exception de mol1, mol2 et mol5 ont faibles valeurs variant de 35 à 42 %. Cela suggère des propriétés d'absorption bénéfiques pour les mol3 et mol4. D'autre part, les composés présentent une solubilité différente dans l'eau. En outre, tous les composés

n'ont pas montré d'inhibition de la glycoprotéine P à l'exception du contrôle, ce qui permet d'éliminer ces composés des cellules en cas d'effets négatifs [88].

Le profil de distribution de nos composés prédits présente des difficultés de passage par la barrière hémato-encéphalique (BHE) avec des scores variant de 0,052 à 0,42. Ces résultats sont faibles par rapport aux valeurs standard (>2 , indiquant un passage facile de la BHE). Par conséquent, leurs effets neurologiques potentiels sont réduits, car ils sont moins susceptibles de franchir cette barrière [89]. Les valeurs de perméabilité pour les différents composés à travers les cellules MDCK sont faibles allant de 0,32 à 0,94, ce qui indique des difficultés de la distribution [90]. A l'exception de mol3 qui a obtenu une valeur modérée de 1,19.

Toutes les molécules présentaient un faible pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques, à l'exception du contrôle qui présente un fort pourcentage de 97,47. Cela indique que nos composés ont de faibles interactions avec ces derniers. Cela nécessite des doses plus faibles pour atteindre leurs cibles [91]. Cependant, toutes les molécules ont la capacité de traverser facilement la peau.

Le profil métabolique est jugé favorable et il a été démontré que mol1, mol2, mol4 et mol5 n'inhibent que le CYP3A4, tandis que le contrôle de cette étude inhibe le CYP 2C9 seulement. En outre, tous les composés ne sont ni des substrats ni des inhibiteurs du reste de cytochrome. Ces résultats fournissent des informations précieuses sur le métabolisme des inhibiteurs étudiés. Ils pourront guider les prochaines étapes de développement de ces composés en tant que candidats médicaments potentiels.

Le profil de toxicité des composés montre des résultats de mutagénicité cohérents dans le test d'Ames (Tableau 6). Bien que tous les composés aient montré une cancérogénicité négative chez la souris, il en va de même pour la cancérogénicité chez le rat, à l'exception de mol4 qui a un résultat positif. Et puisque les rats sont plus proches des gènes humains, cela suggère un

potentiel élevé de cancérogénicité, notamment à des doses élevées et en cas d'exposition prolongée [79, 89].

L'inhibition de canal de potassium (HREG) présentait un faible risque, sauf pour mol3 qui présentait un risque modéré. Il est donc indispensable d'adapter les doses, les voies d'administration et la durée du traitement.

Tableau 6: Les propriétés ADMT des molécules utilisées.

Paramètres Pharmacocinétiques	Mol1	Mol2	Mol3	Mol4	Mol5	Contrôle
Absorption						
Perméabilité des cellules Caco-2 (nm/sec) > 20	4,63	8,87	20,42	0,54	0,43	9,09
Absorption intestinale humaine (% AIH) 80 à 100	38,22	35,28	85,06	80,46	42,20	93,01
Solubilité dans l'eau (mg/l)	2817,46	30735,6	84,43	35681,6	1186,4	17229,8
Inhibition de la glycoprotéine P un substrat de cette protéine indique des niveaux élevés d'absorption	Non	Non	Non	Non	Non	Inhibiteur
Distribution						
Pénétration de la barrière hémato-encéphalique (C.cerveau/C.sang) > 2 traverse facilement la barrière hémato-encéphalique	0,25	0,36	0,094	0,057	0,052	0,42
Perméabilité des cellules MDCK (nm/sec) Faible (< 1 nm/s), modérée (1-10 nm/s) et élevée (>10 nm/s)	0,52	0,52	1,19	0,56	0,94	0,32
Liaison aux protéines plasmatiques (%) 80 à 100 % est considéré comme élevé, 50 à 80 % (modéré), < 50 % (faible)	9,34	8,08	39,30	48,53	16,56	97,47
Perméabilité de la peau (logKp, cm/heure) < -2,5 considéré comme très perméable	-5,12	-5,15	-4,36	-3,97	-5,03	-3,35
Métabolisme						
Inhibition du cytochrome P450 2C19	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibition du cytochrome P450 2C9	Non	Non	Non	Non	Non	Inhibiteur
Inhibition du cytochrome P450 2D6	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Substrat du cytochrome P450 2D6	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibition du cytochrome P450 3A4	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Inhibiteur	Inhibiteur	Non
Substrat du cytochrome P450 3A4	Faible	Faible	Faible	Non	Faible	Non
Toxicité						
Test d'Ames	Mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène
Carcinogénicité (souris)	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative

Cancérogénicité (Rat)	Négative	Négative	Négative	Positive	Négative	Négative
Inhibition de HERG	Faible risque	Faible risque	Risque moyen	Faible risque	Faible risque	Faible risque

HERG: Human ether related gene channel, MDCK: Mandin Darby Canine Kidney, Caco-2: Human colorectal carcinoma, Kp: skin permeability constant (constante de perméabilité de la peau).

3. Amarrage moléculaire

L'analyse des résultats de l'AM pour nos cinq ligands montre des résultats significatifs basés sur l'énergie de liaison la plus faible, qui se situe entre -7,5 et -8,1 Kcal/mol. Mol1 était le meilleur inhibiteur parmi les autres alcaloïdes testés, avec une valeur de -8,1 kcal/mol par rapport au contrôle. En outre, les taux de répétition pour tous les alcaloïdes étaient de 100 %. Tous les résultats sont résumés dans le tableau 7.

Tableau 7: Analyse des résultats de l'AM, les acides aminés catalytiques sont colorés en vert.

Ligand	Energie (Kcal/mol)	Taux de répétition (%)	Acides aminés en interaction	Type d'interactions	Liaison Hydrogène (Å)
Febuxostat (Contrôle)	-7,9	100	Arg913 , Met1039, Leu1043, Lys1046, Ala1084, Gly1261	Liaison hydrogène conventionnelle, Alkyl, π -Alkyl.	Lys1046 (3,25) Gly1261 (3,31)
Spongothymidine (Mol1)	-8,1	100	Gln768 , Phe799, Glu803, Arg913 , Thr1078	Liaison hydrogène conventionnelle, π -alkyl, π - π Stacked	Gln768 (2,70) Glu803 (2,41) Arg913 (3,14) Thr1078 (2,98)
Spongouridine (Mol2)	-7,6	100	Phe799, Arg913 , Met1039, Gly1040	Liaison hydrogène conventionnelle, π -alkyl,	Gly1040 (2,29) Arg913 (3,22)
Mycalisine A (Mol3)	-7,5	100	Cys150, Met1039, Ala1079, Ser1081, Gly1261	Liaison hydrogène conventionnelle, π -alkyl, Liaison hydrogène carbone	Ser1081 (2,97) Ala1079 (2,31)
Ascidithiazone A (Mol4)	-6,9	100	Gln768 , Gln1041, Thr1078, Ser1083, Gly1261	Liaison hydrogène conventionnelle, Liaison hydrogène carbone, π -Sigma.	Thr1078 (2,67) Ser1083 (2,58 / 3,09) Gln1041 (3 ,32)
Methylsulfinyladenosine (Mol5)	-7,5	100	Gln768 , Arg913 , Met1039, Ala1079, Glu1262	Liaison hydrogène conventionnelle, Liaison hydrogène carbone, π -Soufre, π -Alkyl.	Glu1262 (2,31)

La xanthine oxydase est une oxydoréductase molybdo-flavine [92] dont le cofacteur est le NAD, le FAD ou le NADP [93]. On la trouve principalement dans le foie et l'intestin [94]. La XO joue un rôle important dans le métabolisme des purines [95] en favorisant leur oxydation en AU [96]. Son hyperactivité entraîne une hyperuricémie et la goutte [97].

La structure cristalline de la XO a été trouvée sans substrat ni inhibiteur comme mentionné précédemment. La validation de l'AM avec le febuxostat (Figure16) révèle que ce dernier se lie au site actif par sa partie aliphatique (isopentane) et établit principalement des interactions hydrophobes de type Alkyle et Pi-Alkyle avec Arg913, l'un des acides aminés catalytiques, ainsi qu'avec Ala1084, Met1039 et la Leu1043. De plus, le febuxostat forme des liaisons hydrogène conventionnelles avec deux autres résidus, la Lys1046 et la Gly1261. Ces interactions clés sont principalement médiées par le motif 4-méthylthiazole-5-carboxylique du febuxostat, qui joue un rôle essentiel dans son mécanisme d'inhibition.

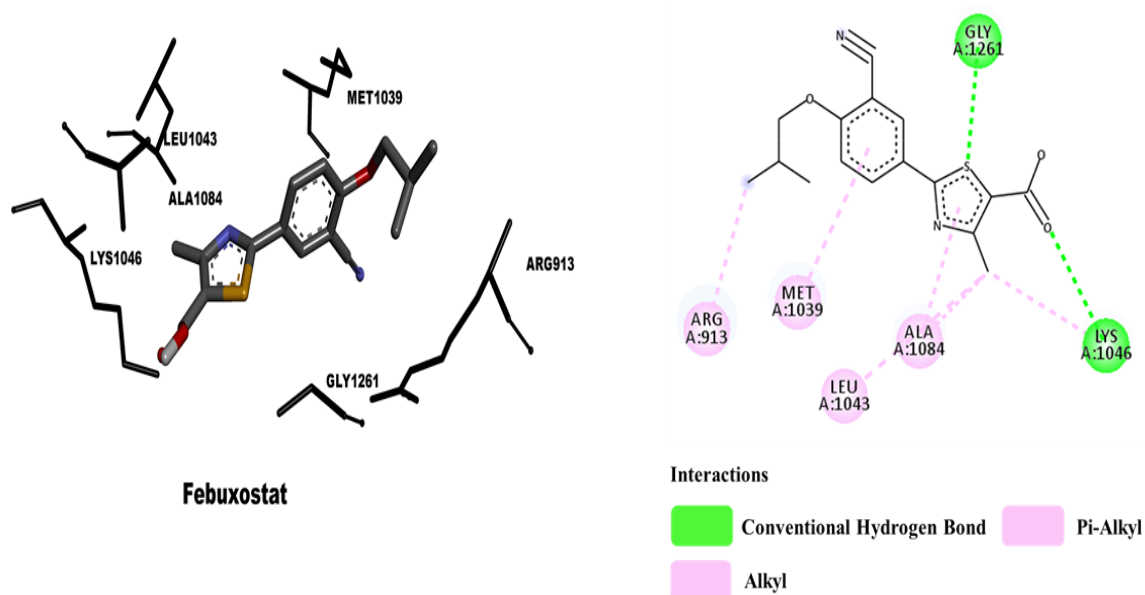


Figure 16 : les acides aminés impliqués dans les interactions du Febuxostat avec la XOH.

Mol1 est un alcaloïde nucléosidique composé de deux hétérocycles attachés à une méthylpyrimidine et un ribose (Figure 17). Parmi les composés ciblant la XO, mol1 présente la plus faible valeur d'énergie de liaison (tableau 7), ce qui suggère une forte affinité et en fait un

modèle potentiellement intéressant pour le développement d'inhibiteurs de la XO. Mol1 se lie à la XO par l'intermédiaire d'une liaison hydrogène conventionnelle cruciale avec les résidus Gln768 et Arg913, qui sont des acides aminés catalytiques, ainsi qu'avec Glu803 et Thr1078. De plus, mol1 établit des interactions hydrophobes de type Pi-Pi Stacked avec Phe799 et Pi-Alkyle avec Arg913. Parmi ces interactions, le côté hydroxyméthylfurane de mol1 semble jouer un rôle clé dans la formation de ces interactions.

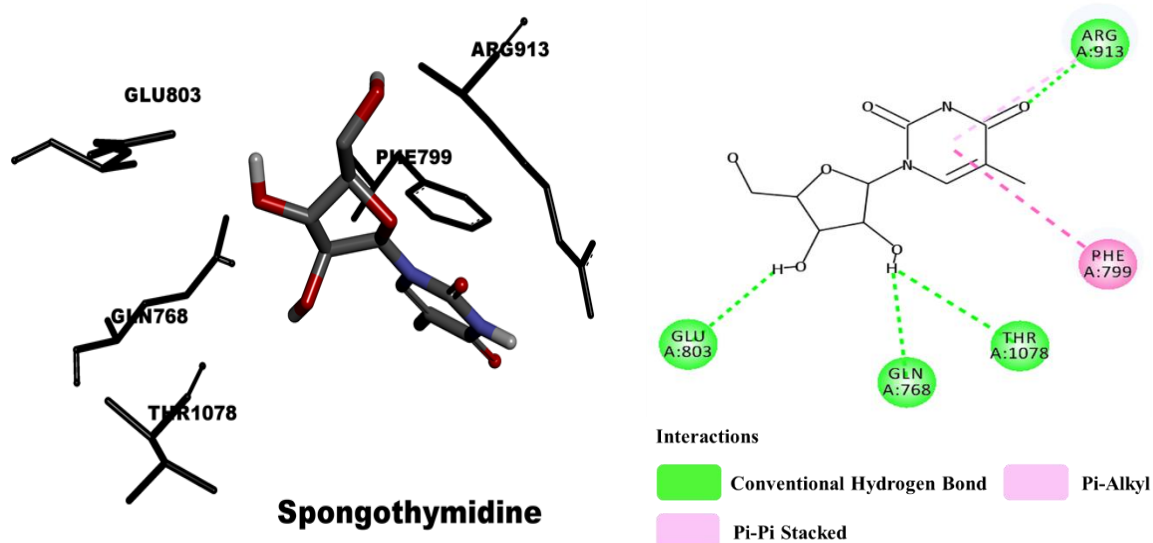
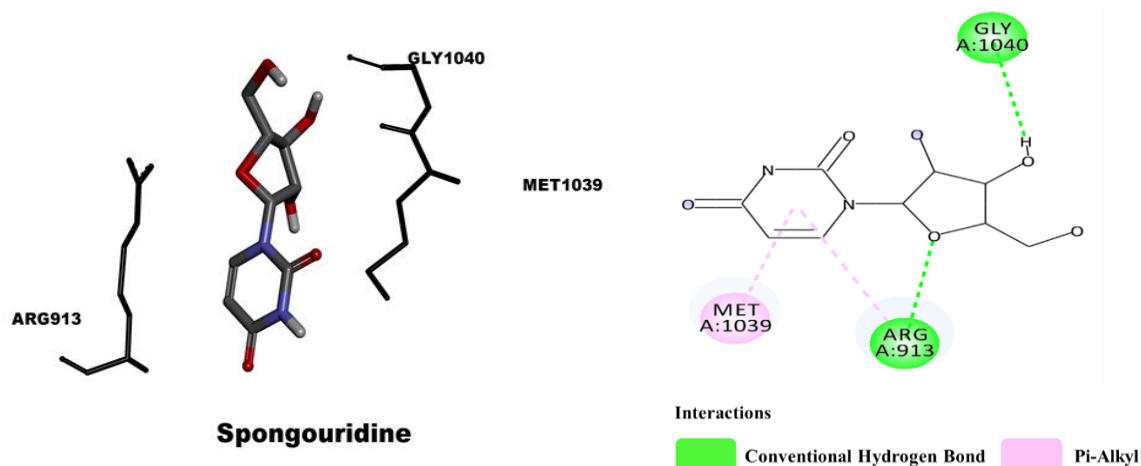


Figure 17 : Les acides aminés impliqués dans les interactions du Spongothymidine (mol1) avec la XO.

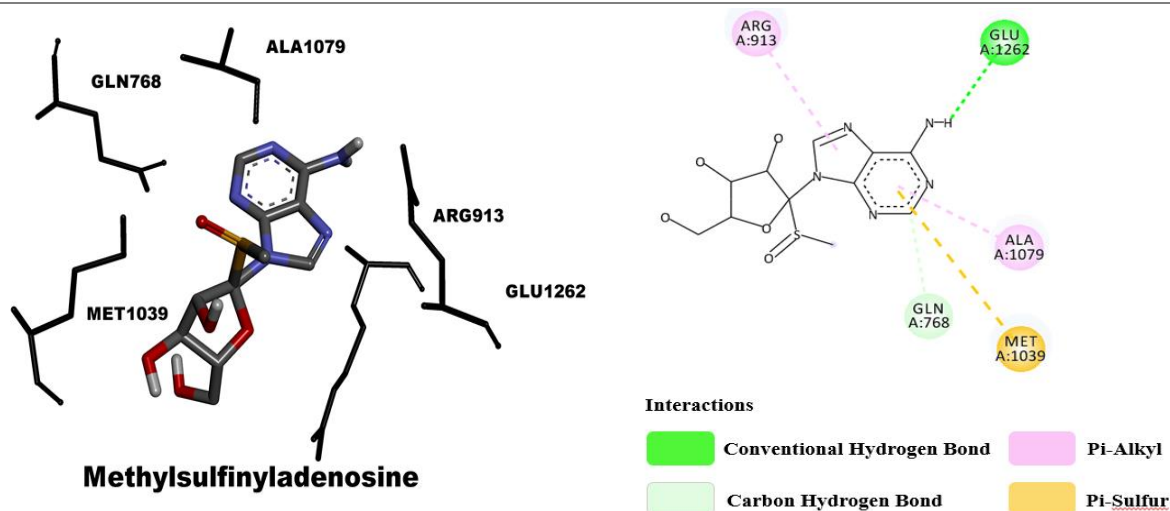
Mol2, **mol3**, et **mol5** sont des alcaloïdes nucléosidiques ont présenté des valeurs d'énergie presque identiques (Tableau 7). Parmi eux, **mol2** (Figure 18 : (A)) a obtenu la deuxième place parmi tous les composés avec une valeur d'énergie de -7,6. **Mol2** a enregistré une liaison hydrogène conventionnelle importante et une interaction hydrophobe type Pi-Alkyl avec **Arg913**. En se basant sur les liaisons et interactions formé avec les acides aminés catalytiques nous avons classé **mol5** (figure 18 : (B)) en troisième position meilleur par rapport à **mol3** (figure 18 : (C)) qui est classée quatrième. **Mol5** à positionner profondément dans le site actif et a enregistré une liaison hydrogène carbone cruciale avec Gln768 et une liaison hydrogène conventionnelle avec Glu1262 et à une interaction hydrophobe de type Pi-alkyle avec Arg913.

Ces trois résidus constituent un rôle important dans le mécanisme d'inhibition. Le cycle purine de mol5 lui confère un avantage structural, renforçant son affinité pour XO.

A



B



C

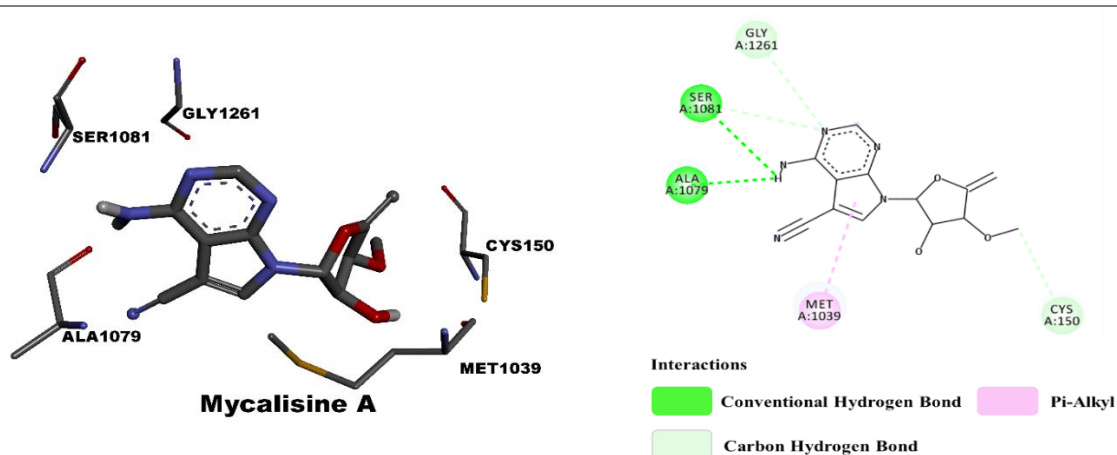


Figure 18: (A) : Les acides aminés impliqués dans les interactions du Spongouridine (mol2) avec la XOH. (B) : Les acides aminés impliqués dans les interactions du Methylsulfinyladenosine(mol5) avec la XOH. (C) : Les acides aminés impliqués dans les interactions du Mycalisine A (mol3) avec la XOH.

Mol4 est un alcaloïde quinoléine-quinone contenant des thiazines (figure 19). Son énergie est la plus élevée par rapport aux autres composés (tableau 7), ce qui reflète sa faible affinité de liaison. Mol4 a enregistré deux liaisons hydrogène de type carbone avec Gln768 et Gly1261 et de type conventionnel avec Thr1078, Ser1083 et Gln1041, ce dernier enregistré une liaison hydrophobe de type Pi-sigma.

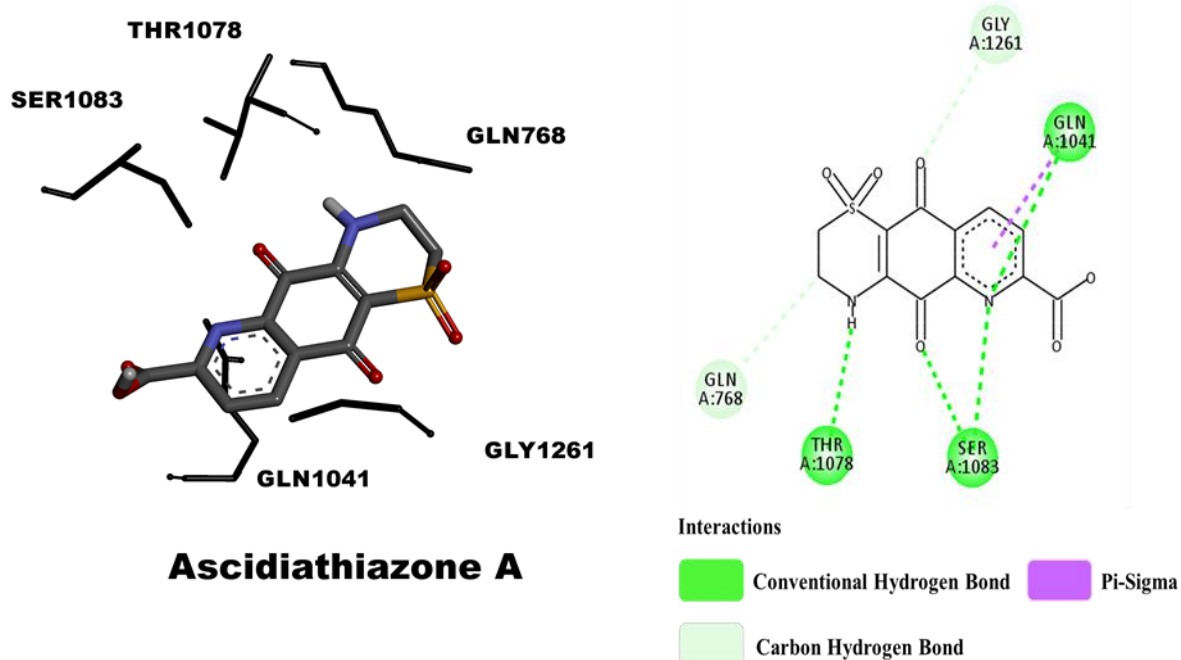


Figure 19 : Les acides aminés impliqués dans les interactions de l'Ascidiathiazone A (mol 4) avec la XOH.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La goutte est considérée comme l'une des arthrites inflammatoires les plus répandues dans le monde. Elle se caractérise par une augmentation continue de l'acide urique dans le sang, entraînant la précipitation de cristaux d'urate monosodique dans les articulations et provoquant des douleurs.

La xanthine oxydase est une enzyme clé qui convertit les purines en acide urique. Le traitement de la goutte repose souvent sur des médicaments qui inhibent la xanthine oxydase afin de réduire la production d'acide urique. Par conséquent, l'objectif de cette étude était d'examiner, *in silico*, l'effet inhibiteur de cinq alcaloïdes marins provenant de tuniciers et d'éponges après les avoir filtrés parmi plusieurs alcaloïdes.

Les résultats obtenus montrent que tous les alcaloïdes étudiés ont été prédits comme étant des inhibiteurs de la XO ou des candidats au traitement de la goutte grâce à l'étude PASS. Nous avons déduit que mol1 est prédit comme un inhibiteur modèle avec un profil ADMT intéressant et une affinité élevée pour la XO sur la base de l'étude d'amarrage moléculaire par rapport au contrôle.

Ces résultats suggèrent que mol1, par sa structure unique et ses interactions spécifiques avec des résidus clés du site actif de la XO, pourrait constituer un point de départ intéressant pour le développement d'un inhibiteur efficace avec des applications potentielles dans le traitement de la goutte.

En outre, mol2, mol3 et mol5 ont obtenu des résultats similaires, avec un profil ADMT également intéressant et une affinité modérée pour la XO. En revanche, mol5 est classé dernier dans cette étude d'après l'amarrage moléculaire.

Grâce à cette étude *in silico*, il est essentiel de mener d'autres études sur ces alcaloïdes, telles que des études *in vitro* et *in vivo*, afin de développer des médicaments contre la goutte avec moins d'effets secondaires.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Helget LN, Mikuls TRJRDCoNA. Environmental triggers of hyperuricemia and gout. 2022;48(4):891-906.
- [2]. Smith HS, Bracken D, Smith JMJTJoP. Gout: current insights and future perspectives. 2011;12(11):1113-29.
- [3]. García-Nieto VM, Claverie-Martín F, Moraleda-Mesa T, Perdomo-Ramírez A, Tejera-Carreño P, Cordoba-Lanus E, et al. Gout associated with reduced renal excretion of uric acid. Renal tubular disorder that nephrologists do not treat. 2022;42(3):273-9.
- [4]. Maquin E. La goutte, une maladie en recrudescence: enquête à l'officine: Université de Lorraine; 2018.
- [5]. Liu X, Wu D, Liu J, Li G, Zhang Z, Chen C, et al. Characterization of xanthine oxidase inhibitory activities of phenols from pickled radish with molecular simulation. 2022;14:100343.
- [6]. Zeng D, Yin C, Wei H, Li Y, Yang Y, Nie H, et al. Activation of Nrf2 antioxidant signaling alleviates gout arthritis pain and inflammation. 2024;170:115957.
- [7]. Anjum K, Abbas SQ, Shah SAA, Akhter N, Batool S, ul Hassan SS. Marine sponges as a drug treasure. *Biomolecules & Therapeutics*. 2016;24(4):347.
- [8]. Rinehart KL. Antitumor compounds from tunicates. *Medicinal research reviews*. 2000;20(1):1-27.
- [9]. Kobayashi J, Ishibashi M. Bioactive secondary metabolites from Okinawan sponges and tunicates. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2000;23:185-231.
- [10]. Huang Y-Y, Ye Z, Gu S-W, Jiang Z-Y, Zhao LJJoIMR. The efficacy and tolerability of febuxostat treatment in a cohort of Chinese Han population with history of gout. 2020;48(5):0300060520902950.
- [11]. He Y, Liu K, Cao F, Song R, Liu J, Zhang Y, et al. Using deep learning and molecular dynamics simulations to unravel the regulation mechanism of peptides as noncompetitive inhibitor of xanthine oxidase. 2024;14(1):174.
- [12]. Jin M, Yang F, Yang I, Yin Y, Luo JJ, Wang H, et al. Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases. 2012;17:656.
- [13]. Chen X, Guan W, Li Y, Zhang J, Cai LJF. Xanthine oxidase inhibitory peptides from *Larimichthys polyactis*: Characterization and in vitro/in silico evidence. 2023;12(5):982.
- [14]. BORGHI C, Perez-Ruiz FJERfM, Sciences P. Urate lowering therapies in the treatment of gout: a systematic review and meta-analysis. 2016;20(5).
- [15]. Goutte - Troubles musculosquelettiques et du tissu conjonctif [Available from: <https://www.msmanuals.com/fr/professional/troubles-musculosquelettiques-et-du-tissu-conjonctif/arthropathies-microcristallines/goutte>].
- [16]. Dehghan A, Köttgen A, Yang Q, Hwang S-J, Kao WL, Rivadeneira F, et al. Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. 2008;372(9654):1953-61.
- [17]. Stibůrková B, Pavlíková M, Sokolová J, Kožich VJPo. Metabolic syndrome, alcohol consumption and genetic factors are associated with serum uric acid concentration. 2014;9(5):e97646.
- [18]. Saag KG, Choi HJAr, therapy. Epidemiology, risk factors, and lifestyle modifications for gout. 2006;8:1-7.
- [19]. Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Curhan GJAoim. Obesity, weight change, hypertension, diuretic use, and risk of gout in men: the health professionals follow-up study. 2005;165(7):742-8.
- [20]. Jean-Mermoze DK, Mariam G, Mohamed D, Marina O, Kawélé CA, Aboubakar B, et al. La Goutte: Aspects Cliniques Et Paracliniques.
- [21]. Yip K, Berman JJJ. What is gout? 2021;326(24):2541-.
- [22]. Goutte - symptômes, causes, traitements et prévention [Available from: <https://www.vidal.fr/maladies/metabolisme-diabete/goutte.html>].

- [23]. Neilson J, Bonnon A, Dickson A, Roddy E. Gout: diagnosis and management—summary of NICE guidance. 2022;378.
- [24]. Filippucci E, Cipolletta E, Sirotti S, Filippou GJG, Urate, Disease CD. Optimising the Use of Ultrasound in Gout: A Review from the Ground Up. 2024;2(2):86-100.
- [25]. Wang Y, Zha Y, Liu L, Liao A, Dong Z, Roberts N, et al. Single photon emission computed tomography/computed tomography imaging of gouty arthritis: A new voice. 2023(0).
- [26]. Xu Y, Gong H, Zou Y, Mao XJJoDS. Antihyperuricemic activity and inhibition mechanism of xanthine oxidase inhibitory peptides derived from whey protein by virtual screening. 2024;107(4):1877-86.
- [27]. Alghamdi AA, Mutlaqah MA, Labani AM, Alahmadi LM, Alahmari AF, Albalawi RA, et al. Gout management in primary care approach; Literature Review. 2021;10(1-2021):19-23.
- [28]. Hainer BL, Matheson E, Wilkes RTJAfp. Diagnosis, treatment, and prevention of gout. 2014;90(12):831-6.
- [29]. Goutte : en quoi consiste le traitement [Available from: <https://www.tuasaude.com/fr/goutte-traitement/>].
- [30]. Alam M, Uddin G, Rashid U, Rauf A, Raza M, Shah SMM, et al. In vitro and in silico xanthine oxidase inhibitory potential of Benzofuran isolated from *Viburnum grandiflorum* Wall. Ex DC. 2021;143:359-62.
- [31]. Kusano T, Nishino T, Okamoto K, Hille R, Nishino TJRB. The mechanism and significance of the conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase in mammalian secretory gland cells. 2023;59:102573.
- [32]. Hsu S-J, Verpoorte R, Lin S-M, Lee C-KJFri. Fast dereplication of xanthine oxidase-inhibiting compounds in alfalfa using comparative metabolomics. 2021;141:110170.
- [33]. Pauff JM, Zhang J, Bell CE, Hille RJJoBC. Substrate orientation in xanthine oxidase: crystal structure of enzyme in reaction with 2-hydroxy-6-methylpurine. 2008;283(8):4818-24.
- [34]. Pauff JM, Cao H, Hille RJJobc. Substrate orientation and catalysis at the Molybdenum site in xanthine oxidase. 2009;284(13):8760-7.
- [35]. Polito L, Bortolotti M, Battelli MG, Bolognesi AJRB. Xanthine oxidoreductase: A leading actor in cardiovascular disease drama. 2021;48:102195.
- [36]. Chen C, Lü J-M, Yao QJMsimmjoe, research c. Hyperuricemia-related diseases and xanthine oxidoreductase (XOR) inhibitors: an overview. 2016;22:2501.
- [37]. Xia M, Dempsey R, Hille RJJoBC. The reductive half-reaction of xanthine oxidase: reaction with aldehyde substrates and identification of the catalytically labile oxygen. 1999;274(6):3323-30.
- [38]. Luna G, Dolzhenko AV, Mancera RLJC. Inhibitors of xanthine oxidase: scaffold diversity and structure-based drug design. 2019;14(7):714-43.
- [39]. Battelli MG, Bortolotti M, Polito L, Bolognesi AJRb. Metabolic syndrome and cancer risk: the role of xanthine oxidoreductase. 2019;21:101070.
- [40]. Ceccon J. Synthèse Totale d'Alcaloïdes Polyhydroxylés: la (–)-Swainsonine, la (+)-6-Épicastanospermine, la (+)-Castanospermine et la (–)-Détoxinine: Université Joseph Fourier; 2006.
- [41]. Levy T. Synthèse totale d'un alcaloïde marin: Wakayine et étude d'analogues ayant une activité immunothérapeutique potentielle: Université Paul Sabatier-Toulouse III; 2020.
- [42]. Munekata PE, Pateiro M, Conte-Junior CA, Domínguez R, Nawaz A, Walayat N, et al. Marine alkaloids: Compounds with in vivo activity and chemical synthesis. 2021;19(7):374.
- [43]. Kelly M, Bell LJ, Herr B. Splendid sponges of Palau: NIWA; 2016.
- [44]. Ramesh C, Tulasi BR, Raju M, Thakur N, Dufossé LJMD. Marine natural products from tunicates and their associated microbes. 2021;19(6):308.

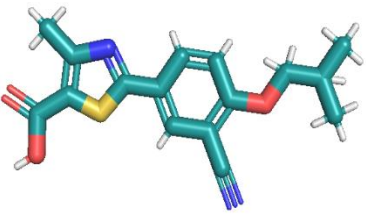
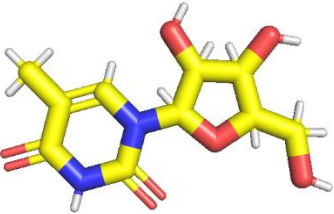
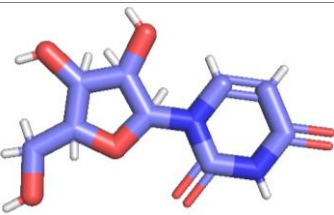
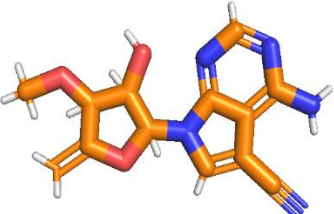
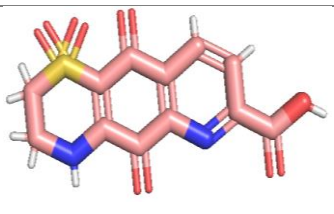
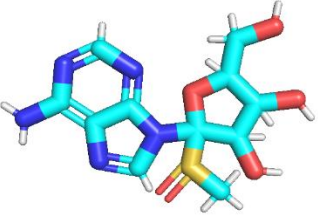
- [45]. Zhang Z, Li Y, Sun Y, Wang W, Song X, Zhang DJAJoC. Chemical diversity and biological activities of marine-derived sulphur containing alkaloids: A comprehensive update. 2023;105011.
- [46]. Aplidium à double cercles blancs - Aplidium sp Med6 [Available from: <https://bioobs.fr/blog/fiche-espece/4525/>].
- [47]. Aplidium à doubles cercles blancs [Available from: <https://doris.ffessm.fr/Especies/Aplidium-sp.-Med6-Aplidium-a-doubles-cercles-blancs-5100>].
- [48]. Robust Sea Squirt (Atriolum robustum) [Available from: <https://uk.inaturalist.org/taxa/202163-Atriolum-robustum>].
- [49]. Synascidie pomme de pin [Available from: <https://doris.ffessm.fr/Especies/Atriolum-robustum-Synascidie-pomme-de-pin-2922>].
- [50]. Tropical Pacific Reefs [Available from: <https://reefguide.org/indopac/pixhtml/atriolumrobustum2.html>].
- [51]. Pastor L, St Jérôme M. RECHERCHE ET ISOLEMENT.
- [52]. Varijakzhan D, Loh J-Y, Yap W-S, Yusoff K, Seboussi R, Lim S-HE, et al. Bioactive compounds from marine sponges: Fundamentals and applications. 2021;19(5):246.
- [53]. Dou Y-H, Ding H-X, Yang R-C, Li W, Xiao QJCL. A total synthesis of mycalisine A. 2013;24(5):379-82.
- [54]. Tectitethya crypta [Available from: https://guide.poriferatreeoflife.org/sp_35.html].
- [55]. Tectitethya crypta (de Laubenfels, 1949) [Available from: <https://www.sealifebase.se/FieldGuide/FieldGuideSummary.php?GenusName=Tectitethya&SpeciesName=crypta&pda=&sps=>].
- [56]. Pérez T, Díaz MC, Ruiz C, Córdor-Luján B, Klautau M, Hajdu E, et al. How a collaborative integrated taxonomic effort has trained new spongiologists and improved knowledge of Martinique Island (French Antilles, eastern Caribbean Sea) marine biodiversity. PloS one. 2017;12(3):e0173859.
- [57]. tSG: Tectitethya crypta [Available from: <https://spongeguide.uncw.edu/speciesinfo.php?species=76>].
- [58]. Mycale (Arenochalina) imperfecta Baer, 1906 [Available from: <http://treatment.plazi.org/id/361087A7FFE1FF8955ABFEEF513CCCC7/8>].
- [59]. Mycale (Arenochalina) setosa [Available from: <https://nomadica.jimdofree.com/spongiaires/eponges-blanches-noires-brunes-grises/mycale-arenochalina-setosa/>].
- [60]. Rose Y, Duarte JM, Lowe R, Segura J, Bi C, Bhikadiya C, et al. RCSB Protein Data Bank: architectural advances towards integrated searching and efficient access to macromolecular structure data from the PDB archive. 2021;433(11):166704.
- [61]. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2023 update. 2023;51(D1):D1373-D80.
- [62]. El-Hachem N, Haibe-Kains B, Khalil A, Kobeissy FH, Nemer GJNM, Protocols. AutoDock and AutoDockTools for protein-ligand docking: beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1) as a case study. 2017:391-403.
- [63]. Krause F, Voigt K, Di Ventura B, Öztürk MAJFiMB. ReverseDock: a web server for blind docking of a single ligand to multiple protein targets using AutoDock Vina. 2023;10:1243970.
- [64]. Visualizer DS. Discovery Studio Visualizer. 2. Accelrys software inc. 2005.
- [65]. Filimonov D, Lagunin A, Gloriovova T, Rudik A, Druzhilovskii D, Pogodin P, et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. 2014;50:444-57.
- [66]. Dulsat J, López-Nieto B, Estrada-Tejedor R, Borrell IJM. Evaluation of free online ADMET tools for academic or small biotech environments. 2023;28(2):776.

- [67]. Agahi F, Juan C, Font G, Juan-García AJF, Toxicology C. In silico methods for metabolomic and toxicity prediction of zearalenone, α -zearalenone and β -zearalenone. 2020;146:111818.
- [68]. Chandrasekaran B, Abed SN, Al-Attraqchi O, Kuche K, Tekade RK. Computer-aided prediction of pharmacokinetic (ADMET) properties. Dosage form design parameters: Elsevier; 2018. p. 731-55.
- [69]. Linani A, Benarous K, Bou-salah L, Yousfi M. Hispidin, Harmaline, and Harmine as potent inhibitors of bovine xanthine oxidase: Gout treatment, in vitro, ADMET prediction, and SAR studies. Bioorganic Chemistry. 2021;112:104937.
- [70]. Perrine Z. Cyanotoxines et barrière intestinale humaine: Étude comparée de l'absorption et de la toxicité de deux variants de microcystine sur le modèle cellulaire Caco-2: Agrocampus-Ecole nationale supérieure d'agronomie de rennes; 2011.
- [71]. Waters LJ, Shokry DS, Parkes GM, Mitchell JCJ. The use of bile salt micelles for the prediction of human intestinal absorption. 2016;105(12):3611-4.
- [72]. Birch H, Redman AD, Letinski DJ, Lyon DY, Mayer PJ. Determining the water solubility of difficult-to-test substances: a tutorial review. 2019;1086:16-28.
- [73]. Amin MLJ. P-glycoprotein inhibition for optimal drug delivery. 2013;7:DTI. S12519.
- [74]. Gosselet F, Candela P, Cecchelli R, Fenart LJ. La barrière hémato-encéphalique: Une nouvelle cible thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer? 2011;27(11):987-92.
- [75]. Volpe DA. Drug-permeability and transporter assays in Caco-2 and MDCK cell lines. 2011;3(16):2063-77.
- [76]. Kratochwil NA, Huber W, Müller F, Kansy M, Gerber PR. Predicting plasma protein binding of drugs: a new approach. 2002;64(9):1355-74.
- [77]. Lundborg M, Wennberg CL, Narangifard A, Lindahl E, Norlén LJ. Predicting drug permeability through skin using molecular dynamics simulation. 2018;283:269-79.
- [78]. Lynch T, Price AJ. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. 2007;76(3):391-6.
- [79]. Thomas DN, Wills JW, Tracey H, Baldwin SJ, Burman M, Williams AN, et al. Ames test study designs for nitrosamine mutagenicity testing: qualitative and quantitative analysis of key assay parameters. 2024;39(2):78-95.
- [80]. van der Laan JW, Kasper P, Silva Lima B, Jones DR, Pasanen MJ. Critical analysis of carcinogenicity study outcomes. Relationship with pharmacological properties. 2016;46(7):587-614.
- [81]. Kharkar PS. Two-dimensional (2D) in silico models for absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME/T) in drug discovery. 2010;10(1):116-26.
- [82]. Muhammed MT, Aki-Yalcin EJ. Molecular docking: principles, advances, and its applications in drug discovery. 2024;21(3):480-95.
- [83]. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, et al. PubChem Substance and Compound databases. Nucleic acids research. 2016;44(D1):D1202-13.
- [84]. Thorsteinsdottir UA, Runolfssdottir HL, Eiriksson FF, Agustsdottir IMS, Edvardsson VO, Palsson R, et al. Optimization and validation of a UPLC-MS/MS assay for simultaneous quantification of 2, 8-dihydroxyadenine, adenine, allopurinol, oxypurinol and febuxostat in human plasma. 2024;124041.
- [85]. Banday AH, ul Azha N, Farooq R, Sheikh SA, Ganie MA, Parray MN, et al. Exploring the potential of marine natural products in drug development: A comprehensive review. 2024;59:124-35.
- [86]. Avhad AB, Bhangale CJ. Marine natural products and derivatives. 2023;2(2):rqad008.
- [87]. Hamoda AM, Fayed B, Ashmawy NS, El-Shorbagi A-NA, Hamdy R, Soliman SS. Marine sponge is a promising natural source of anti-SARS-CoV-2 scaffold. 2021;12:666664.

- [88]. Amin ML. P-glycoprotein inhibition for optimal drug delivery. Drug target insights. 2013;7:DTI-S12519.
- [89]. Linani A, Serseg T, Benarous K, Bou-salah L, Yousfi M, Alama MN, et al. Cupressus sempervirens L. flavonoids as potent inhibitors to xanthine oxidase: in vitro, molecular docking, ADMET and PASS studies. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. 2023;41(15):7055-68.
- [90]. Volpe DA. Variability in Caco-2 and MDCK cell-based intestinal permeability assays. Journal of pharmaceutical sciences. 2008;97(2):712-25.
- [91]. Benarous K, Bombarda I, Iriepa I, Moraleda I, Gaetan H, Linani A, et al. Harmaline and hispidin from Peganum harmala and Inonotus hispidus with binding affinity to Candida rugosa lipase: In silico and in vitro studies. Bioorganic Chemistry. 2015;62:1-7.
- [92]. Adjadj M, Baghiani A. Propriétés antioxydantes et activité inhibitrice de la Xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale Ajuga iva (L.) Schreber. 2009.
- [93]. Habte ML, Beyene EA. Biological application and disease of oxidoreductase enzymes. Oxidoreductase: IntechOpen; 2020.
- [94]. Kumar R, Darpan, Sharma S, Singh R. Xanthine oxidase inhibitors: a patent survey. Expert opinion on therapeutic patents. 2011;21(7):1071-108.
- [95]. Liu N, Xu H, Sun Q, Yu X, Chen W, Wei H, et al. The role of oxidative stress in hyperuricemia and xanthine oxidoreductase (XOR) inhibitors. 2021;2021.
- [96]. Hille RJM. Xanthine oxidase—a personal history. 2023;28(4):1921.
- [97]. Kostić DA, Dimitrijević DS, Stojanović GS, Palić IR, Đorđević AS, Ickovski JDJJoC. Xanthine oxidase: isolation, assays of activity, and inhibition. 2015;2015.
- [98]. Pearson A, Godber B, Eisenthal R, Taylor G, Harrison RJASE. Human milk xanthine dehydrogenase is incompletely converted to the oxidase form in the absence of proteolysis. 2006.
- [99]. Yamaguchi Y, Matsumura T, Ichida K, Okamoto K, Nishino TJJoB. Human xanthine oxidase changes its substrate specificity to aldehyde oxidase type upon mutation of amino acid residues in the active site: roles of active site residues in binding and activation of purine substrate. 2007;141(4):513-24.

ANNEXES

Annexe 1 : Représentation du code, nom et structure 3D des ligands étudiés.

Code	Nom	Structure 3D
(Contrôle)	Febuxostat	
(mol1)	Spongothymidine	
(mol2)	Spongouridine	
(mol3)	Mycalisine A	
(mol4)	Ascidiathiazone A	
(mol5)	Methylsulfinyladenosin	

Annexe 2 : Informations structurales sur la XO humaine disponibles dans la PDB.

Code PDB	Ligands	Résolution	Références
2CKJ	FES, FAD, GOL, ACY, PO4	3,59 Å	[98]
2E1Q	BCT, FES, FAD, MTE, MOM, SAL, CA	2,6 Å	[99]