

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Amar Telidji -Laghouat
Faculté des Sciences
Département de Biologie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie appliquée

THEME

Identification des inhibiteurs potentiels de la plante *Atriplex hortensis* L contre la xanthine oxydase pour le traitement de la goutte : dépistage virtuel basé sur la structure, ADMET et études de prédiction par amarrage moléculaire

Par :

Douib Khedidja & Bezzit Sabrina

Devant le jury composé de :

BOUSSOUSSA Hadjer	MCA	Présidente
NIA Samira	MCB	Examinatrice
BENAROUS Khedidja	Prof	Encadreur
LINANI Abderahmane	Doc	Co-encadreur

Année Universitaire 2021- 2022

Dédicaces

Nous remercions Dieu de nous avoir aidé tout au long de nos années d'études. Il nous a donné la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail. C'est avec des mots profonds et sincères, que nous dédions ce modeste travail.

Comme une preuve de respect et de gratitude à nos chers parents, qui n'ont jamais cessé de nous encourager et de nous conseiller.

A nos très chères sœurs et leurs maris.

A nos très chers frères.

A toutes nos familles : pour leur soutien moral tout au long de nos études.

A tous nos amis.

A tous les gens qui nous aiment.

A vous, cher lecteur.

Khedidia et Sabrina

Remerciement

Nous remercions Dieu de nous avoir donné la vie, la santé et d'avoir fait de nous ce que nous sommes aujourd'hui. C'est grâce à lui que ce présent travail a vu le jour.

Nous tenons particulièrement à remercier **Pr. BENAROUS Khedidja** d'avoir accepté de nous encadrer, pour ses conseils et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

C'est avec un grand plaisir que nous remercions **Dr. LINANI Abderahmane** pour son aide, ses orientations judicieuses, son soutien moral et ses encouragements.

Nous tenons à exprimer nos remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre travail

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous ont fait **Mm NIA Samira** et **Mm BOUSSOUSSA Hadjer**.

Merci énormément pour l'intérêt que vous portez à notre mémoire.

Nous remercions aussi **Dr. BOU-SALAH Leila** pour son aide et ses encouragements.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les Personnes qui nous ont aidé et soutenu de près ou de loin.

Résumé

Notre étude est consacrée à la recherche de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase humaine (XOH) pour le traitement de la maladie de la goutte, un important problème de santé publique. L'objectif de ce travail est d'évaluer *in silico* l'effet d'inhibition de cinq composés phénoliques de la plante *Atriplex hortensis* L sur la XOH, par docking moléculaire en utilisant les programmes AutoDock vina (ADV) et Discovery studio. Les inhibiteurs sélectionnés sont: Scopolétine (**mol1**), Scopoline (**mol2**), Méthoxycoumarine (**mol3**), Acacétine (**mol4**), et Kaempferol (**mol5**). La prédiction des paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADMET) a été vérifiée pour confirmer leurs profils pharmacocinétiques en utilisant le serveur pré-ADMET, les inhibiteurs les mieux classés ont été choisis en fonction de leur profil ADMET et de la valeur d'énergie la plus faible générée par ADV, en résultat, le composé Scopoline (**mol2**) a enregistré la valeur d'énergie la plus faible de -8,9 Kcal/mol avec le meilleur profil ADMET et se présente comme un nouvel inhibiteur possible, les autres inhibiteurs ont été classés comme modérés par rapport à **mol2**. Ces résultats pourraient être importants pour la découverte de nouveaux médicaments, mais d'autres études *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires pour confirmer leur efficacité.

Mots clés : Goutte, Xanthine oxydase humaine, composés phénoliques, *Atriplex hortensis* L, ADMET, Docking.

Abstract

Our study is devoted to the search for new inhibitors of human xanthine oxidase (XOH) for the treatment of gout disease, an important public health problem. The objective of this work is to evaluate *in silico* the inhibition effect of five phenolic compounds from the plant *Atriplex hortensis* L on XOH, by molecular docking using the AutoDock vina (ADV) and Discovery studio programs. The selected inhibitors are: Scopoletin (**mol1**), Scopolin (**mol2**), Methoxycoumarin (**mol3**), Acacetin (**mol4**), and Kaempferol (**mol5**). The prediction of absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) parameters was checked to confirm their pharmacokinetic profiles using the pre-ADMET server, the top ranked inhibitors were chosen based on their ADMET profile and the lowest energy value generated by ADV, as a result, the compound Scopolin (**mol2**) recorded the lowest energy value of -8.9 Kcal/mol with the best ADMET profile and presents itself as a possible new inhibitor, the other inhibitors were classified as moderate compared to **mol2**. These results could be important for new drug discovery; however, further *in vitro* and *in vivo* studies are needed to confirm their effectiveness.

Keywords: Gout, Human xanthine oxidase, Phenolic compound, *Atriplex hortensis* L, ADMET, Docking.

ملخص

تمحورت دراستنا حول البحث عن مثبطات جديدة لإنزيم أوكسيداز الزانثين البشري (أو ب) لعلاج داء النقرس، كأزمة صحية عمومية هامة. الهدف من هذا العمل هو تقييم تأثير تثبيط خمس مركبات فينولية من نبات القطف في السيليكون على أو ب، بواسطة الإرساء الجزيئي مستعملين برامج اوتودوك فينا (أ د ف) و ديسكوفري ستيديو. المثبطات المحددة هم: سكوبوليتين (المركب 1)، سكوبولين (المركب 2)، ميثوكسيكومارين (المركب 3)، أكاسيتين (المركب 4)، وكامبيفول (المركب 5). تم فحص خصائص الامتصاص، التوزيع، عملية الأيض، الإطراح والسُميّة (أ د م ت) للتنبؤ بالحركة الدوائية الخاصة بهم، باستخدام خادم أ د م ت، أفضل المثبطات المصنفة اختيرت وفقاً لإعداد أ د م ت وقيمة الطاقة الأقل الصادرة عن أ د ف، كنتيجة، المركب سكوبولين (المركب 2) سجل أقل قيمة طاقة ب: 8,9- كيلو كالوري/مول مع أفضل إعداد أ د م ت حيث قدم كمثبط محتمل جديد، صنفت المثبطات المتبقية على أنها معتدلة مقارنة ب المركب 2. هذه النتائج يمكن أن تكون هامة لاكتشاف أدوية جديدة، لكن الدراسات الأخرى المخبرية والحيوية ضرورية لتأكيد فعاليتها.

الكلمات الرئيسية: النقرس، أوكسيداز الزانثين البشري، المركبات الفينولية، القطف، أ د م ت، الإرساء.

Liste des figures

Figure 1. Crise de goutte de gros orteil	4
Figure 2. Cristaux d'AU au microscope à lumière polarisée.....	5
Figure 3. Radiographie avec des lésions osseuses.....	6
Figure 4. Aspect échographique des agrégats (A), des doubles contours (B) et des tophus (C).....	7
Figure 5. Reconstruction 3D à partir d'image obtenues avec un scanner double énergie	8
Figure 6. Structure chimique 2D de la colchicine	10
Figure 7. Structure chimique 2D de l'allopurinol (A), la xanthine (B) et l'hypoxanthine (C).....	11
Figure 8. Structure chimique 2D de fébuxostat	12
Figure 9. Photo représente <i>Atriplex hortensis</i> L	13
Figure 10. Classification de la plante <i>Atriplex hortensis</i> L	14
Figure 11. Interface d'accueil de la banque de données sur les protéines	17
Figure 12. Interface d'accueil de la base de données PubChem.....	17
Figure 13. Représentation graphique statistiques de citation pré-ADMET par année	18
Figure 14. Interface du logiciel Discovery studio visualizer (version 20).....	18
Figure 15. Interface du logiciel ADT (version 1.5.6).....	19
Figure 16. Représentation de la meilleure position de la Scopoline.....	27
Figure 17. Représentation de la meilleure position d'Acacétine	28
Figure 18. Représentation de la meilleure position de la Scopolétine.....	29
Figure 19. Représentation de la meilleure position de la Méthoxycoumarine	30
Figure 20. Représentation de la meilleure position de la Kaempferol.....	31

Liste des tableaux

Tableau 1. Les informations structurelles de la xanthine oxydase humaine	20
---	----

Tableau 2. Les structures 2D des inhibiteurs étudiés	20
Tableau 3. Résultats de l'amarrage moléculaire	26
Tableau 4. Les principaux paramètres ADMET	31

Liste des abréviations

A	C-E
AA :Acide Aminé	Caco-2 : Human Colon Carcinoma
ACR : American college of Radiology	CRP : C-Reactive Protein
ACY : Acide Acétique	CYP : Cytochrome P450
ADMET : Absorption Distribution Métabolisme Excrétion Toxicité	DECT : Dual Energy Computed Tomography
ADN : Acide Désoxyribonucléique	EULAR : European League Against Rheumatism
ADT : AutoDock Tools	2D : Structure bidimensionnelle
ADV : AutoDock Vina	3D : Structure tridimensionnelle
AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens	
AM : Amarrage Moléculaire	
AU : Acide Urique	
F-M	P-X

FAD : Flavine-Adénine Dinucléotide

FES : 2Fe / 2S ferrédoxine

GL : Glycérol

HERG : Human Ether Related Gene

HIA : Human Intestinal Absorption

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

MDCK : Madin-Darby Canine Kidney

PDB : Protein Data Bank

PO4 : Ion Phosphate

PK : Pharmacocinétiques

SAR : Structure Activity Relationship

SDF : Spatial Data File

TR : Taux de Répétition

UMS : Urate Monosodique

VS : Vitesse de Sédimentation

XOH : Xanthine Oxydase Humaine

Table des matières

INTRODUCTION	1
Rappels bibliographiques	3
<i>Chapitre 1 : Présentation de la maladie goutteuse</i>	
1. Définition.....	4
2. Diagnostique de la goutte	4
2.1 Examen physique.....	5
2.2 Examen microscopique	5
2.3 Examen biologique	6
2.4 Examen d'imagerie.....	6
2.5 Diagnostique différentielles	9
3. Traitement de la goutte	9
3.1 Traitement non pharmacologique	9
3.2 Traitement pharmacologique	10
3.2.1 Traitement de la crise aiguë	10
3.2.2 Traitement hypouricémiant	11
<i>Chapitre 2 : Généralités sur la plante</i>	
1. Description botanique	13
2. Taxonomie	14
3. Répartition géographique.....	14
4. Principaux constituants.....	14
5. Utilisation	14
MATERIELS ET METHODES	16
1. Matériels	17
1.1 Base de données utilisées.....	17
1.2 Programmes utilisés	18
2. Méthodes.....	19
2.1 Relation structure-activité (SAR)	19
2.2 Paramètres de l'amarrage moléculaire.....	21
2.3 Analyse des paramètres ADMET	22
RESULTATS ET DISCUSSION	25
1. Relation structure-activité (SAR)	26
2. Analyses ADMET	31
CONCLUSION	35
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	37
ANNEXES	41

INTRODUCTION

Pendant tout l'histoire de l'humanité, les gens ont souffert de la goutte qui l'une des maladies la plus anciennement décrites. Depuis l'antiquité en 2640 avant JC, elle était identifiée pour la première fois par les égyptiens [1], et au cinquième siècle avant JC elle était décrites *podagra* par le médecin grec Hippocrate ce qui signifiée « pris par le pied », un terme engloba nombre d'affections rhumatismales. Puis au moyen-âge ce terme était remplacé par le terme "goutte" qui désigne les symptômes de cette pathologie plus spécifiquement [2]. Cependant l'explication précise était par le médecin anglais qui est un patient goutteux Thomas Sydenham dans son livre "De podagra et Hydrope 1683" et il la différenciée des autres formes d'arthrites [3].

Les études pour lutter contre cette affection n'arrêtent pas là car elle peut également évoluer et aboutir à des complications rénales et cardiovasculaires si elle n'est pas prise en charge : « la goutte peut abimer de manière permanente les articulations, mais elle consiste aussi un facteur de risque cardiovasculaire, d'hypertension artérielle et d'insuffisance rénale, de mortalité prématurées » selon Pr. Thomas [4].

L'incidence et la prévalence de la goutte sont en sans cesse augmentation. La prévalence augmente avec l'âge, est plus important chez les individus de sexe masculin. Jusqu'à la ménopause, les femmes sont moins touchées que les hommes du fait des œstrogènes [5]. Elle peut aussi toucher rarement les enfants dans le cas de certaines maladies rares [6]. L'augmentation de prévalence ces dernières décennies résulte, d'une part du vieillissement de la population, d'autre part des changements d'habitude alimentaires [6].

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs, leurs utilisation en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicales par des stratégies sont souvent basées sur des approches ethnobotanique, mettant en avant l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle par les populations locales. C'est pourquoi nous sommes intéressés à l'étude de la plantes *Atriplex hortensis* pour révéler des nouvelles ressources en molécules bioactives contre la goutte [7].

La xanthine oxydase, c'est un sujet recherché à cause de leur hyperactivité qui est considérée comme un agent provoquant la goutte. Donc dans cet axe plusieurs études ont été effectuées dans notre département de Biologie, à savoir 5 mémoires de master, 2 thèses de doctorat et 7 articles scientifiques publiés dans des revues renommées et avec un impact facteur élevé. Ces études visent à chercher des molécules ayant un pouvoir inhibiteur contre XO_H sans ou avec moins d'effets indésirables [8].

L'objectif de cette étude est d'évaluer *in silico* l'effet inhibiteur de cinq composés phénoliques sur la xanthine oxydase en utilisant les programmes AutoDock vina, et Discovery studio visualiser, ce travail est supporté par une étude des paramètres pharmacocinétiques à l'aide du serveur pré-ADMET v2.0 [8].

Ce manuscrit commence par une introduction générale, suivi par rappels bibliographiques, dans la troisième partie, nous avons cité le matériel et les méthodes utilisées, ensuite, nous avons présenté les résultats avec leur discussion, nous terminons par une conclusion générale et perspectives.

Rappels bibliographiques

1. Définition

Le terme goutte est dérivé du mot latin "gutta". La goutte est une affection d'origine métabolique [9], résulte d'une hyperuricémie, ce qui provoque l'accumulation des cristaux d'urate monosodique (UMS) entraînant de l'arthrite, des tophus, de néphrolithiase et une néphropathie uratique [10].

L'arthrite goutteuse aiguë est une crise de douleur, d'érythème et de gonflement d'une ou de quelques articulations des membres inférieurs (figure 1), alors que la goutte chronique survient lorsqu'il existe une arthrite goutteuse persistante et des tophus [11].



Figure 1. Crise de goutte de gros orteil [12]

2. Diagnostique de la goutte

Bien que la goutte est une affection liée à un excès d'acide urique (AU) dans le sang, l'existence d'une hyperuricémie n'est pas suffisante pour poser un diagnostic. En effet, beaucoup plus d'individus atteints d'hyperuricémie sans présenter de crises de goutte [13]. Donc le diagnostic repose tout d'abord, sur un interrogatoire d'un médecin qui recherche notamment les symptômes, leurs fréquence d'apparition et leurs durée et leurs facteurs de

risques (l'âge avancé, des antécédents familiaux de goutte, et des apports alimentaires riche en purine) [11].

❖ Le diagnostic peut être confirmé par :

2.1 Examen physique

Le rhumatologue recherchera la présence des signes physique qui l'aidant à poser le diagnostic juste. Il examinera les articulations touchées pour rechercher un gonflement, une rougeur et une chaleur [14].

2.2 Examen microscopique

La mise en évidence des cristaux d'UMS dans le liquide synovial après ponction d'une articulation enflammée et observation au microscope à lumière polarisée (figure 2) est l'unique critère permettant d'établir un diagnostic sûr de la goutte, même dans la forme chronique. Ces cristaux consistent donc un critère pathognomonique [11].

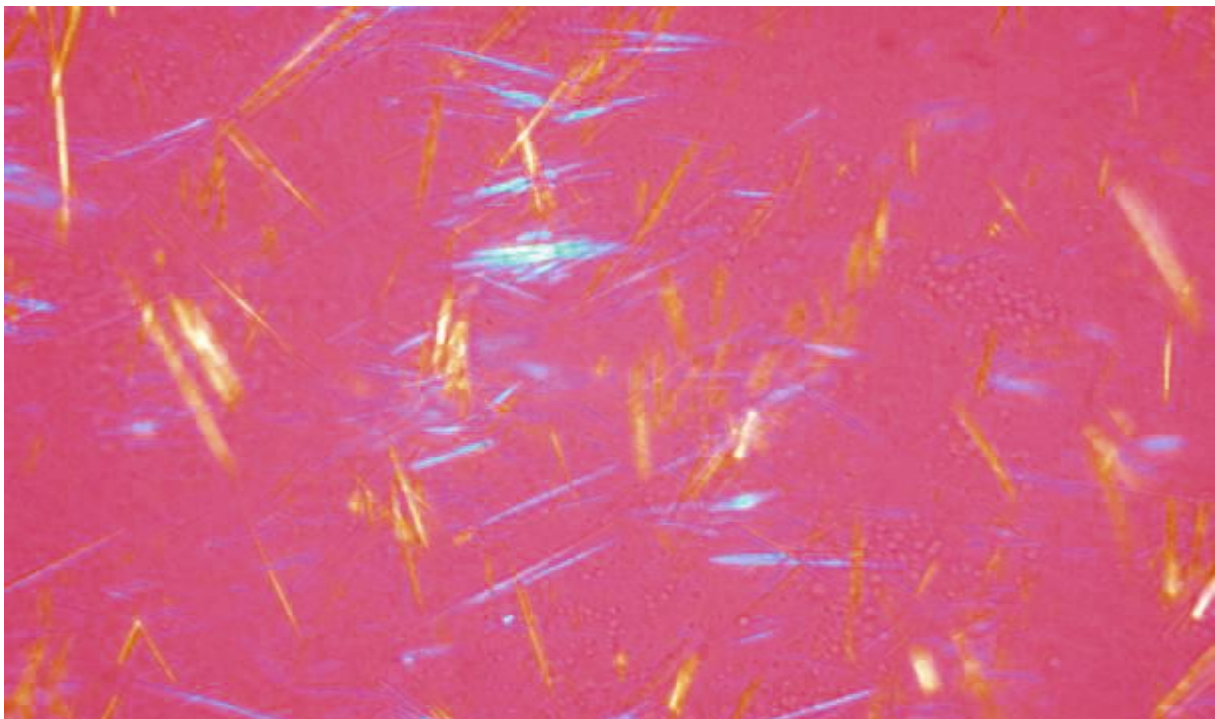


Figure 2. Cristaux d'AU au microscope à lumière polarisée [15]

2.3 Examen biologique

La mesure plasmatique du taux d'AU est l'une des premiers étapes dans le diagnostic de la goutte. Mesure des signes biologiques de la réaction inflammatoire provoquée par les cristaux UMS, en particulier la vitesse de sédimentation (VS), la protéine réactive C (CRP) qui sont généralement augmentées ainsi que la présence d'une leucocytose à polynucléaires neutrophiles [11].

2.4 Examen d'imagerie

Ce sont des examens pour visualiser les articulations atteintes : la radiographie, échographie, scanner et finalement imagerie par résonance magnétique (IRM) [16].

➤ La radiographie

Elle est peu utile pour le diagnostic de la phase aiguë, les microcristaux étant radio-transparents. En revanche elle est utile en phase chronique pour observer les lésions goutteuses (figure 3), comme une rupture corticale avec marge sclérotique et bord saillant qui forme l'image en hallebarde, ou des lésions érosives marginales ou périarticulaires avec expansion corticoperiostée [17].



Figure 3. Radiographie avec des lésions osseuses [17]

➤ **L'échographie**

C'est un outil intéressant dans la prise en charge des patients goutteux. L'échographie ostéoarticulaire caractérisée par l'apparition de trois signes spécifiques de la goutte : les agrégats, le double contour à la surface du cartilage dû au dépôt des cristaux et les tophus (figure 4), elle a également permis de guider la ponction pour l'analyse du liquide ou des matériels contenant des cristaux d'UMS [18].

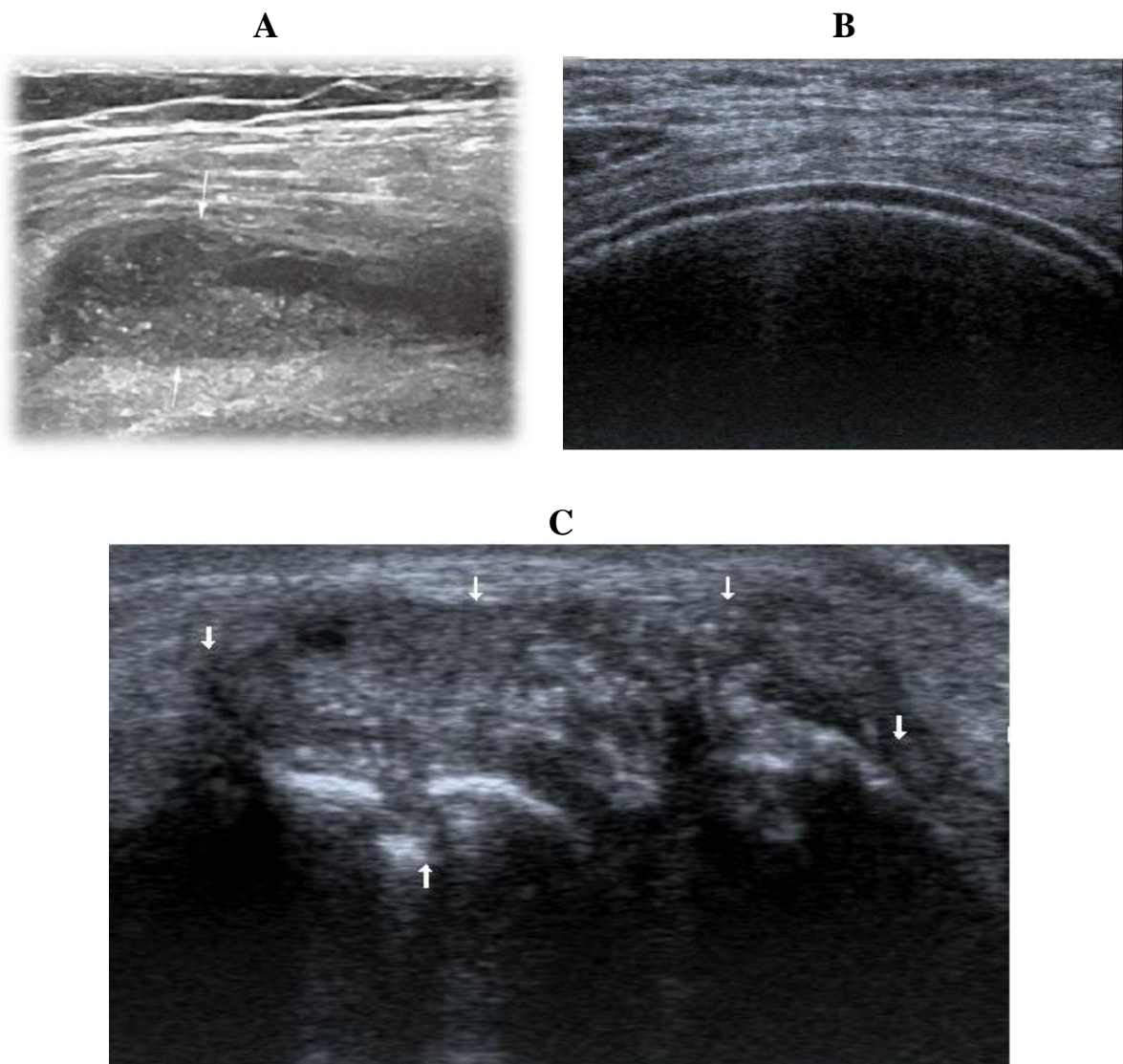


Figure 4. Aspect échographique des agrégats (A), des doubles contours(B) et des tophus (C) [18]

➤ **Le scanner**

Egalement appelé tomodensitométrie (figure 5), est particulièrement utilisé pour détecter des lésions difficilement visualisées par la radiographie standard [19].

Le Scanner double énergie à deux faisceaux (DECT) peut contribuer au diagnostic de goutte dans les cas difficiles. C'est l'examen le plus sensible et le plus spécifique car il peut reconnaître les différences dans la composition des tissus (mettre en évidence les dépôts d'urate en les différenciant entre autre des dépôts calciques) par attribution de code couleur aux tissus présentant des caractéristiques spécifiques. mais son utilisation est très limitée par son coût [19].

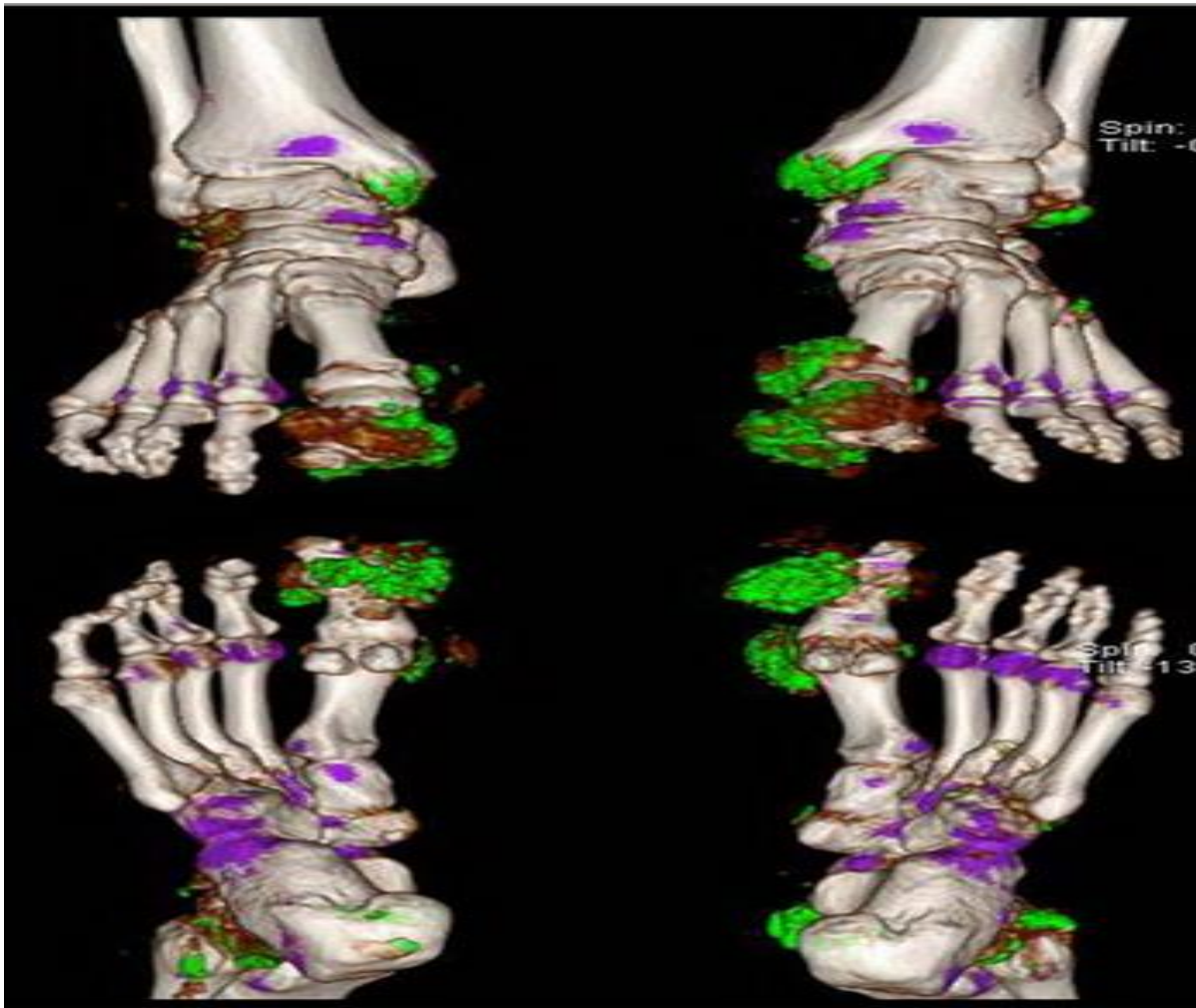


Figure 5. Reconstruction 3D à partir d'images obtenues avec un scanner double énergie, les dépôts d'urate sont représentés en vert et les dépôts calciques en mauve [16]

2.5 Diagnostic différentielles

Comprend principalement :

➤ **La pseudogoutte (chondrocalcinose)**

Le diagnostic nécessite l'identification, lors de la ponction articulaire, de cristaux de pyrophosphate de calcium intracellulaire [20].

➤ **L'arthrite septique**

Est une infection causée par un germe au niveau d'une articulation. La clinique est également proche de celle de la goutte, le liquide articulaire est inflammatoire [20].

La différence se fait sur l'absence de cristaux dans le liquide synovial ainsi que sur la mise en culture de celui-ci [20].

3. Traitement de la goutte

Le traitement de la goutte comprend d'une part le traitement du crise aiguë d'autre part, le traitement de l'hypouricémie qui permet à présent de guérir cette maladie ou moins de diminuer la fréquence de crise, il doit être entreprise précocement afin d'éviter l'évolution de cette maladie vers la forme chronique [21].

3.1 Traitement non pharmacologique

Ce traitement consiste de soulager la douleur par l'immobilisation de l'articulation touchée pour éviter l'enraidissement [21] associée avec l'application de glace, qui est recommandée par le comité d'experts de collège américain de radiologie (ACR), il faut prendre en considération le risque de lésion de la peau due au froid prolongé [12].

Tout patient goutteux doit être pleinement informé sur sa maladie et des règles d'hygiène de vie doivent être expliquées : il faut conseiller un régime pauvre en purines (viandes, abats, alcool...). Cependant il faut encourager la consommation des laitages à faible teneur en graisse [22].

3.2 Traitement pharmacologique

Dépend du stade de maladie, lors du premier épisode de goutte aigue en cherchant de soulager les douleurs et d'interrompre la réaction inflammatoire. Lors ce que la maladie devient chronique l'objectif est de garder le taux d'AU dans les limites normales.

3.2.1 Traitement de la crise aigue

La colchicine

Est un alcaloïde du colchique (figure 6), agit à plusieurs niveaux. Elle est d'autant plus efficace qu'elle est pris précocement dès le début de la crise [16]. Recommandée par la ligue européenne contre les rhumatismes (EULAR) en premier intention mais en faible doses du fait de leur toxicité digestive en provoquant des diarrhées et des vomissements [23].

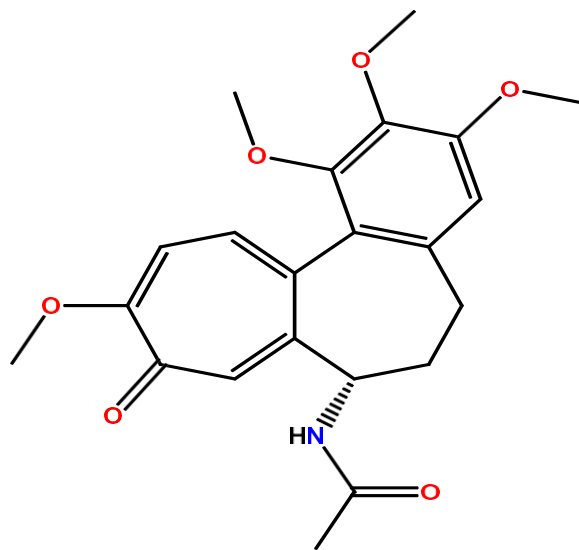


Figure 6. Structure chimique 2D de la colchicine

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Tel que l'indométacine, l'ibuprofène ou la phénylbutazone présentent une activité anti-inflammatoire puissante dans l'accès goutteux, peuvent également traiter une crise de goutte en particulier dans le cas d'intolérance ou contre-indication à la colchicine. Néanmoins elles présentent des effets indésirables d'ordre digestif restent fréquents (douleurs gastriques ou abdominales, diarrhées, ulcère gastrique ou duodéal, saignement digestif ...) [24].

3.2.2 Traitement hypouricémiant

Le but de ce traitement est de réduire la concentration d'AU soit en diminuant sa formation par inhibition de la xanthine oxydase, soit en facilitant son élimination ou bien encore en accélérant sa dégradation.

Allopurinol

Allopurinol ou le 1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-one est un analogue chimique pyrimidine de l'hypoxanthine (figure 7), qui est à son tour un substrat de la xanthine oxydase qui la métabolise en oxypurinol, molécule assure l'inhibition de cette enzyme [25]. Donc est un inhibiteur compétitif cependant à des concentration élevées agit comme étant un inhibiteur non compétitif [26].

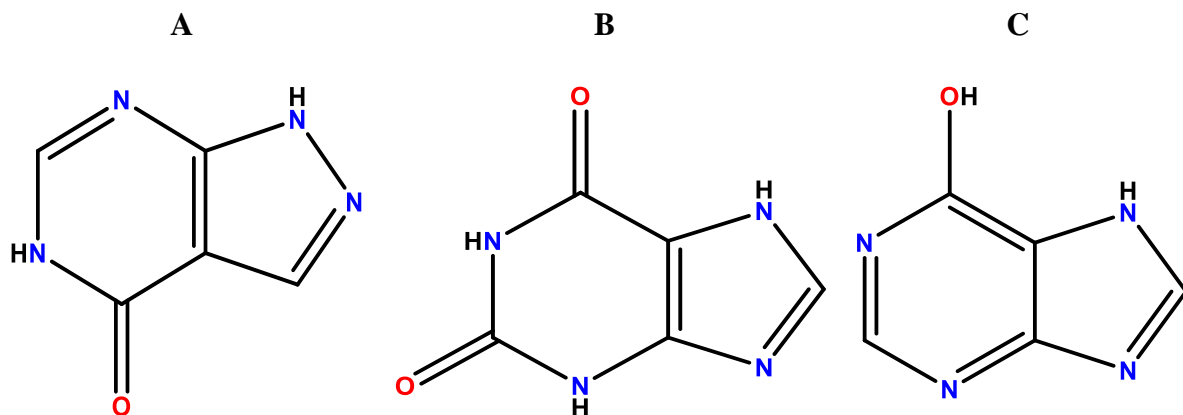


Figure 7. Structure chimique 2D de l'allopurinol (A), la xanthine (B) et l'hypoxanthine (C)

Fébuxostat

Est un nouvel inhibiteur non purinique (figure 8) plus puissant de l'uricosynthèse. Il permet d'abaisser l'uricémie en dessous de 60 mg/l. Il constitue une alternative intéressante à l'allopurinol, sa demi-vie est de 6 heures et son métabolisme est essentiellement hépatique. Le fébuxostat est déconseillé en cas d'insuffisance rénale ou hépatique sévère [22].

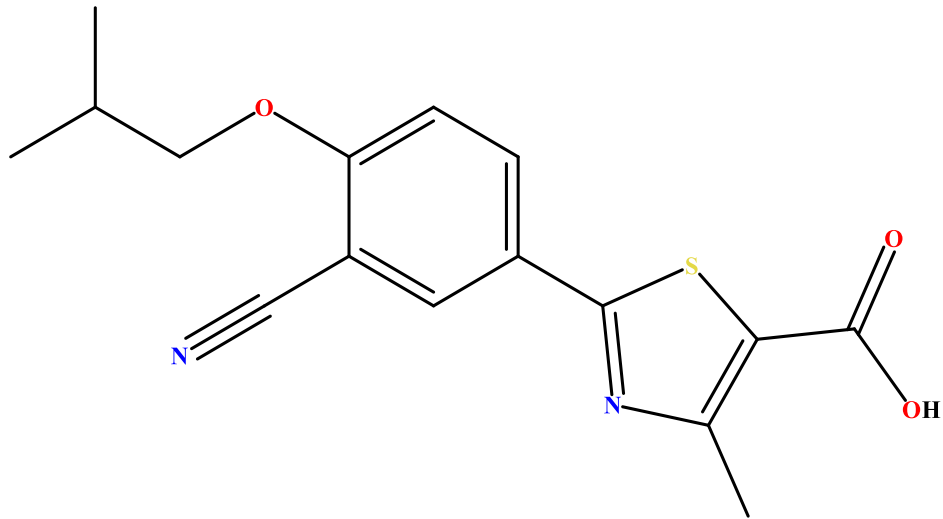


Figure 8. Structure chimique 2D de fébuxostat

Depuis des temps immémoriaux, des botanistes ont entrepris de valoriser les espèces végétales qui ont servi comme première source de médicaments [27], compris le genre *Atriplex* est une dicotylédone qui appartient à la famille des chénopodiacées. Il renferme plusieurs espèces distinguables par leurs cycles de développement et par leurs morphologies, elles sont réparties dans la plupart des régions du globe, leur nombre total est estimé à 400 espèces [28].

1. Description botanique

Atriplex hortensis L aussi appelée arroche (figure 9) des jardins ou épinards de montage (garden orache en anglais) [29]. Plante annuelle herbacée dépassant 1m à racine centrale développé, tige dressé anguleuse et rameuse. Les feuilles sont pétiolés alternes, se forme de flèche, un peu glauques ou parfois rougeâtre. Les fleurs petites sans pétales, sa floraison est entre le mois de juillet-septembre. Les graines sont plates et entourées d'une fine membrane jaune claire [30, 31].



Figure 9. Photo représente *Atriplex hortensis* L [32]

2. Taxonomie

Atriplex hortensis L appartient à la taxonomie suivante (figure 10) à partir de la flore électronique de Tela Botanica [31] consulté le 08/04/2022.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophyte
Classe	Dicotylédones
Ordre	Caryophyllales
Famille	Chénopodiaceae / Amaranthaceae
Genre	<i>Atriplex</i>

Figure 10. Classification de la plante *Atriplex hortensis* L

3. Répartition géographique

Les plantes du genre *Atriplex* sont présentes dans la plupart des régions du globe. En Algérie l'*Atriplex* est spontanée dans les étages bioclimatiques semi-arides et arides des plus grandes superficies correspondant aux zones dites steppiques (Batna, Biskra, Boussaâda, Djelfa, Saïda, M'sila, Tébessa, Tiaret) [33].

Atriplex hortensis L est une halophyte facultative présente en Asie et en Europe, qui est l'avantage de pouvoir se développer sur une large gamme de salinité [34].

4. Principaux constituants

L'*Atriplex hortensis* L est considérée comme plante riche en minéraux, elle contient principalement des flavonoïdes, des acides aminés (AA) et aussi des fortes concentrations en vitamines A et C, ses feuilles sont source des protéines [35].

5. Utilisation

L'arroche est une plante cultivée depuis l'antiquité, utilisée dans l'industrie alimentaire, la biothérapie et la médecine humaine [36].

- ✚ Elle peut être une source potentielle de pigments alimentaires naturels due à la présence des anthocyanes (bleu sombre) et des bétacyanines (rouge violacée) [37, 38].
- ✚ Cette plante considérée comme un légume sauvage utilisé dans différentes cuisines du monde [39].
- ✚ Elle utilisée contre les affections respiratoires, digestives, urinaires [35] et aussi comme remède contre les morsures [40].
- ✚ Elle a des propriétés hémostatiques [37] diurétiques, rafraîchissante [35], et des activités antioxydante [41].

Cependant les grecs n'encouragent pas la consommation excessive de cette plante car elle est nocive pour l'estomac [40].

MATERIELS ET METHODES

1. Matériels

1.1 Base de données utilisées

➤ La banque de données sur les protéines ou (BDP)

La banque de données sur les protéines (figure 11) constitue la principale source de données de biologie structurale contenant des expériences qui déterminent la structure 3D des protéines, des acides nucléiques et d'autres macromolécules [42].

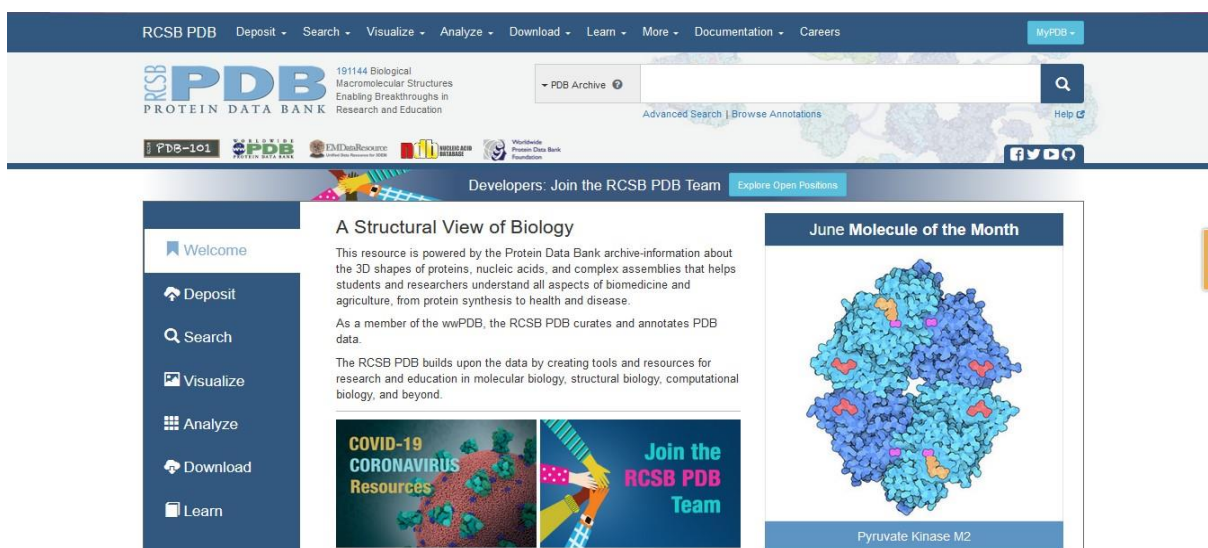


Figure 11. Interface d'accueil de la banque de données sur les protéines

➤ PubChem

PubChem est une banque de donnée chimique publique (figure 12) indispensable pour la communauté de recherche biomédical englobe plusieurs millions de composé mis en ligne [43].

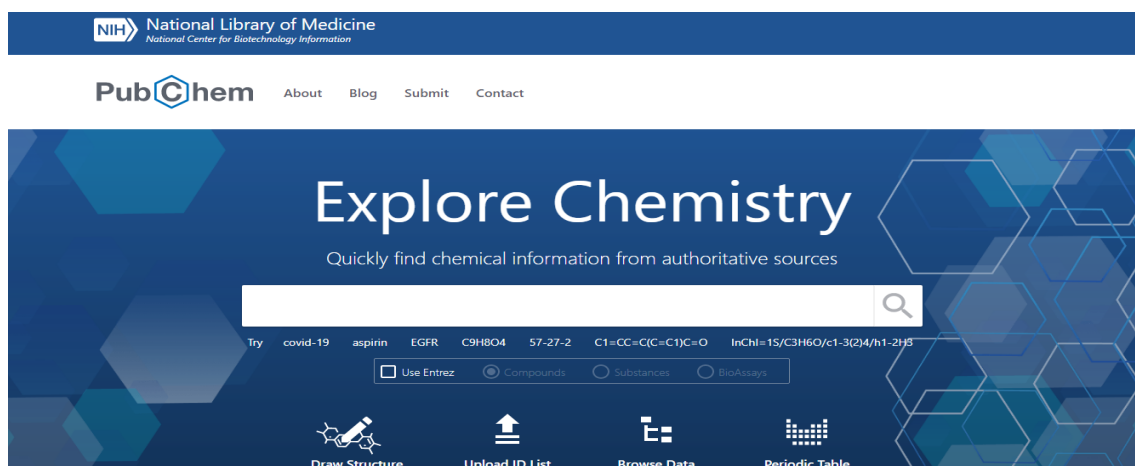


Figure 12. Interface d'accueil de la base de données PubChem

➤ Pré-ADMET

C'est un outil web gratuit permet la prédiction des propriétés ADMET (figure 13). Mise en place dans la plupart des sociétés pharmaceutique pour but d'éliminer les composés en phase de découvert susceptibles d'échouer ultérieurement. Cette application permet la réduction du temps et aussi les ressources [44].

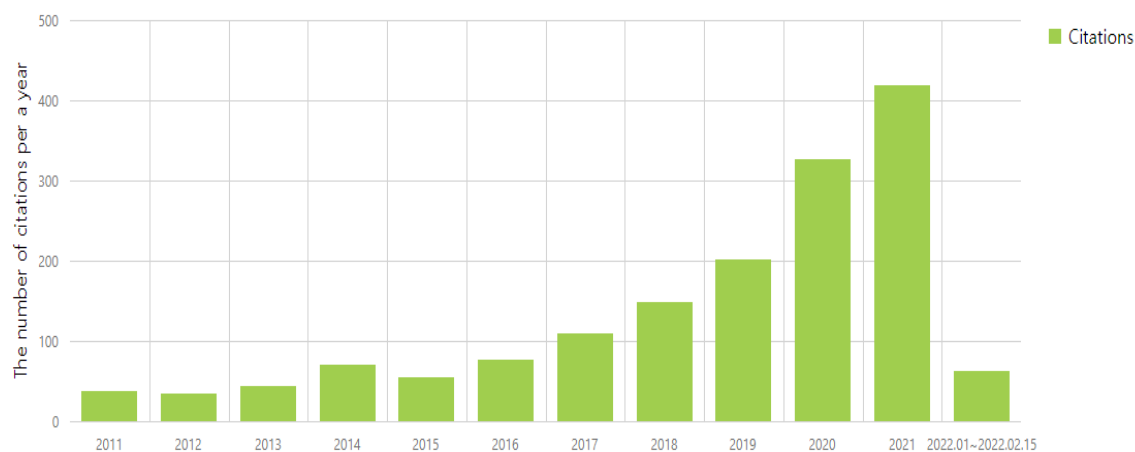


Figure 13. Représentation graphique statistiques de citation pré-ADMET par année [32]

1.2 Programmes utilisés

➤ Discovery Studio Visualiser

Est un logiciel de modélisation moléculaire gratuite (figure 14) et riche en fonctionnalités pour visualiser et analyser les données des résultats d'amarrage moléculaire (AM) [45].

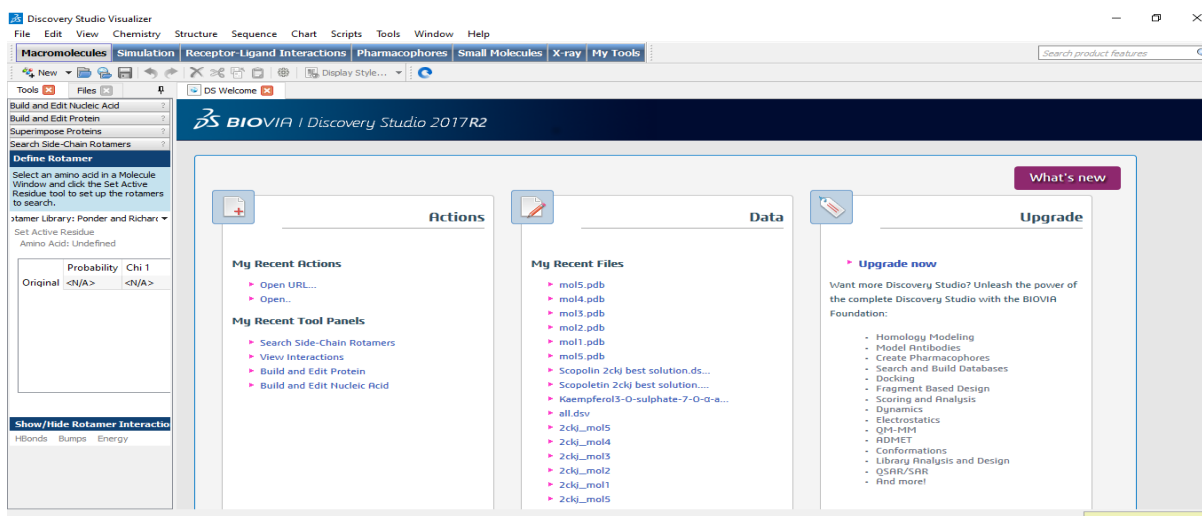


Figure 14. Interface du logiciel Discovery Studio Visualizer (version 20)

➤ AutoDock Tools (ADT)

Est une interface utilisateur graphique permet la préparation des molécules d'encrages (ligands) et la molécule cible (protéine) et aussi l'analyse des amarrages générés (figure 15) par AutoDock vina [46]. Ce programme reconnue seulement les fichiers en format pdb [47].

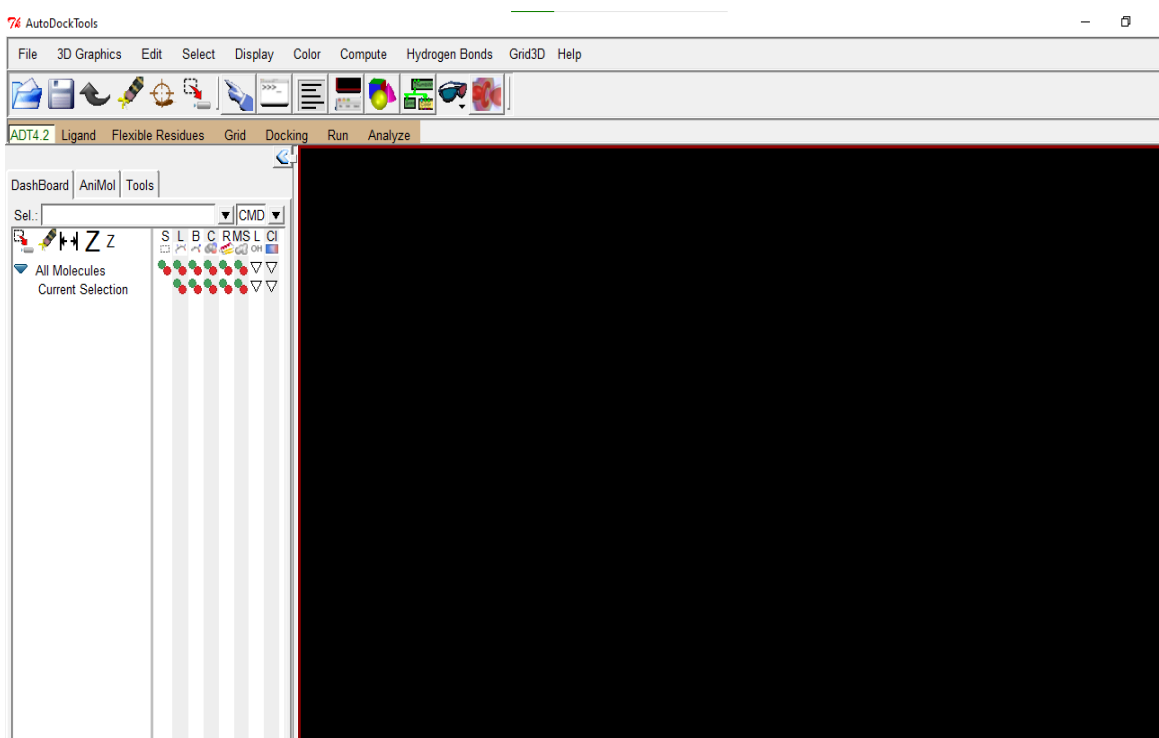


Figure 15. Interface du logiciel ADT (version 1.5.6)

➤ AutoDock vina (ADV)

C'est un programme de docking disponible gratuitement, utilisé pour prédire les affinités et les poses de liaisons protéine-ligand, permet de générer un fichier de type « pdbqt » [48].

2. Méthodes

2.1 Relation structure-activité (SAR)

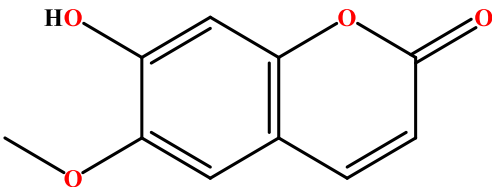
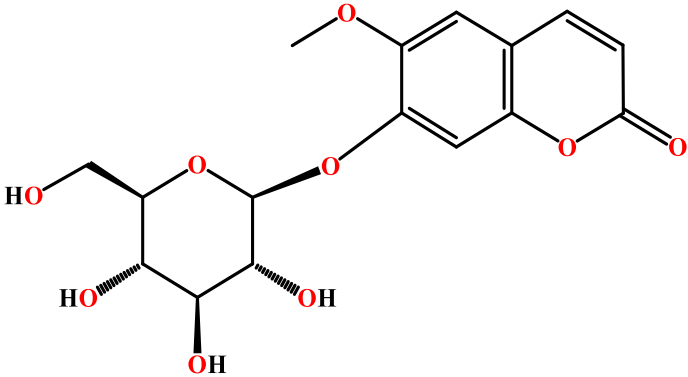
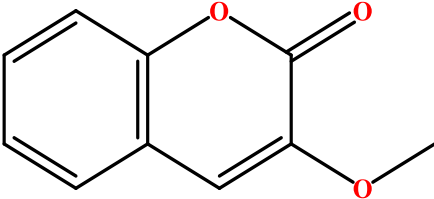
Afin de comprendre le mécanisme d'inhibition et les interactions impliquées, nous avons utilisé le logiciel ADV pour l'AM. Tout d'abord la structure cristalline de XOH a été obtenue à partir de la base de données des protéines (PDB) (tableau 1), ensuite, les résultats de l'amarrage ont été analysés par Discovery Studio Visualiser.

Tableau 1. Les informations structurales de la xanthine oxydase humaine

Code	2ckj
Nombre des chaînes	(A) (B) (C) (D)
Poids moléculaire	591,48kDa
Nombre des acides aminés	5119
Ligand	ACY, FAD, FES, GL et PO4

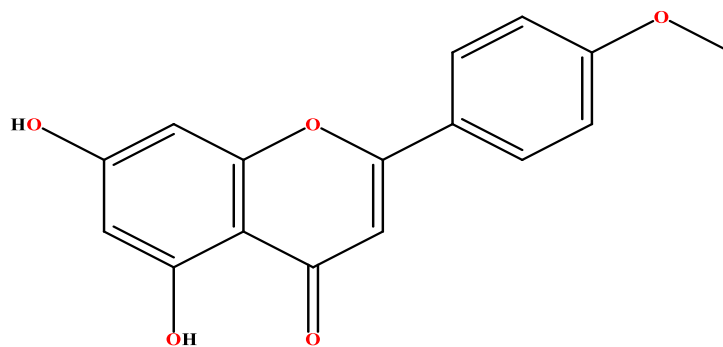
Les inhibiteurs utilisés dans la présente étude (tableau 2) sont : Scopolétine (mol1), Scopoline (mol2), Méthoxycoumarine (mol3), Acacétine (mol4), et Kaempferol3-O-sulphate-7-O- α -arabinopyranoside (mol5).

Tableau 2. Les structures 2D des inhibiteurs étudiés

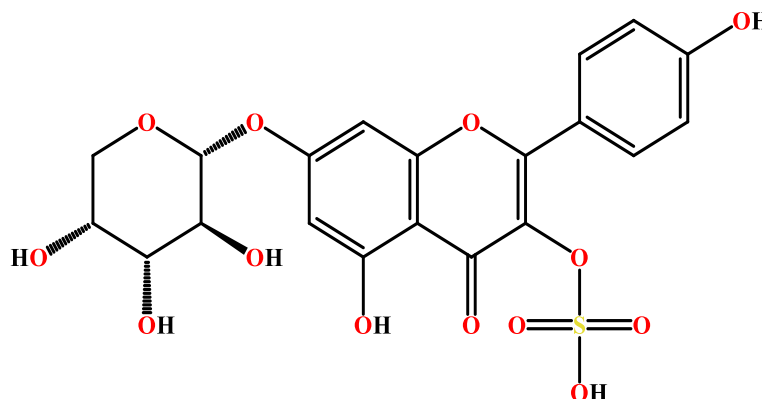
Inhibiteurs	Structure
Scopolétine (mol1) FB:C ₁₀ H ₈ O ₄	
Scopoline (mol2) FB:C ₁₆ H ₁₈ O ₉	
Méthoxycoumarine (mol3) FB:C ₁₀ H ₈ O ₃	

Acacétine

(mol4)

FB: C₁₆H₁₂O₅**Kaempferol****3-O-sulphate-7-O- α -
arabinopyranoside**

(mol5)

FB : C₂₀H₁₈O₁₃S

FB : formule brute

2.2 Paramètres de l'amarrage moléculaire Préparation de la protéine

La structure 3D de la xanthine oxydase humaine non mutée (ID : 2CKJ) a été préparé en trois étapes :

- ✚ 1^{er} étape : Elimination des molécules d'eau, des solvants Co-cristallisés, de ligand et tous les hétéroatomes.
- ✚ 2^{ème} étape : L'ajout des hydrogènes polaires et des charges partielles en utilisant AutoDock tools.
- ✚ 3^{ème} étape : Détermination de boîte de grille était par ADT et des points de grille séparés de 1 Å, positionnés au centre de la protéine (x =79,017 ; y =77,284 ; z = 141,85). Les paramètres par défaut ont été utilisés, à l'exception du nombre de conformations résultantes défini par la valeur 1. Pour affecter l'amarrage moléculaire à l'aide de programme AutoDock vina. Le nombre des cycles a été fixé à 10 cycles, alors nous avons

10 conformations. Toutes ont été bien traitées. Les conformations préférées étaient celles de la plus faible énergie de fixation dans le site actif. Enfin ces résultats sont traitées par le programme Discovery studio visualiser [8].

➤ Préparation des ligands

Tout d'abord, nous avons téléchargé les structures tridimensionnelles des ligands à partir de la base de données PubChem sous forme SDF, par la suite ces ligands ont été enregistré en formats pdb à l'aide de programme Discovery Studio Visualiser et finalement nous avons les transformé en fichiers pdbqt par ADT pour les adapter à l'AM.

2.3 Analyse des paramètres ADMET

Les essais cliniques sont une étape importante dans le développement d'un médicament pour garantir les propriétés pharmacocinétiques (PK) et éviter les échecs dans les dernières phases. Le profil ADMET a été choisi en fonction des paramètres les plus utilisés pour les médicaments :

➤ Absorption

Est le processus par lequel les molécules de principe actif passent dans la circulation sanguine pour atteindre leur site d'action après l'administration [49], il implique trois paramètres importants tels que :

✚ **Caco-2 cell (nm/sec)** ou (human colorectal carcinoma) : sont une lignée cellulaire de carcinome épithélial du colon humain utilisé pour prédire l'absorption intestinale humaine de médicament et d'autres composés [44].

✚ **HIA (%)** ou (absorption intestinale humaine) : indicateur important d'absorption intestinale des médicaments administrés par voie orale pour suivre les cibles de transport des médicaments [50].

✚ **P-glycoprotéine inhibition** : c'est une pompe d'efflux qui régule la distribution tissulaire et l'élimination biliaire [23]. L'inhibition de la fonction de transport de Pgp peut

provoquer des interactions médicamenteuses cliniquement significatives et peut également augmenter l'accumulation des médicaments dans le cerveau [51].

➤ **Distribution**

C'est le déplacement par diffusion d'un principe actif via la circulation sanguine dans différentes tissus de l'organisme [52]. Elle implique trois paramètres importants tels que :

✚ **Blood-brain barrier** : c'est une barrière formée par des cellules endothéliales qui sont hautement spécialisées pour permettre un contrôle précis des substances qui sortent ou pénètrent dans le cerveau [53], ce paramètre est représenté par le rapport de la concentration du médicament dans le cerveau sur la concentration du médicament dans le sang [54].

✚ **MDCK cell permeability (nm/sec)** : c'est une lignée cellulaire dérivée de cellules rénales canines Mandin Darby [55], à croissance rapide, ce système de cellules peut être utilisé comme un bon outil pour le dépistage rapide de la perméabilité [56].

✚ **Liaison de protéines plasmatiques** : c'est le pourcentage de fraction liées aux protéines plasmatiques peut influencer la pharmacocinétique et la pharmacodynamique ou les deux [57].

➤ **Métabolisme**

L'activité du cytochrome P450 (CYP) a été évaluée comme paramètre du métabolisme puisque les CYP sont essentielles pour métaboliser 90 % des médicaments. Il intervient dans le processus de biotransformation du principe actif qui sera plus facilement dissous dans les milieux aqueux (bile, urine) pour être éliminé par l'organisme [58]. Elles peuvent être inhibées par un principe actif ce qui bloque le cytochrome. Cependant le xénobiotique peut être un substrat donc il sera métabolisé par le cytochrome. Les isoenzymes 2D6 et 3A4 sont les deux enzymes les plus importantes [59].

➤ **Excrétion**

Afin d'éviter les phénomènes d'accumulation / toxicité, il faut veiller à ce que les composés administrés, ainsi que leurs métabolites soient bien excrétés de l'organisme par voie rénale (urine), gastro-intestinale (fèces) [60].

➤ Toxicité

Enfin, la toxicité aux premiers stades de la découverte de médicaments permet de gagner du temps et de réduire les coûts de développement. Le profil de toxicité résume les :

✚ **Ames test** : c'est un test pour déterminer la capacité d'un produit chimique ou d'un médicament à induire des mutations dans l'ADN [61].

✚ **HERG_inhibition** ou (human ether related gene channel) : est un canal potassique important, c'est-à-dire une protéine jouant le rôle de canal ionique responsable de la modulation de la fonction cardiaque [62].

✚ **Test de carcinogénicité** : la carcinogénicité est un critère d'effet toxicologique qui concerne la capacité d'un produit chimique à provoquer le cancer chez les animaux ou les êtres humains. Ce test permet de détecter un éventuel pouvoir cancérigène du composé (test *in vivo* généralement sur les rats et les souris) [58].

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Relation structure-activité (SAR)

Selon la valeur d'énergie la plus faible et le taux de répétition (TR) ; Scopoline et Acacétine sont les meilleurs inhibiteurs parmi les autres testés de valeur de -8,9 et -8,6 Kcal/mol, respectivement (tableau 3), les autres inhibiteurs sont rapportés comme satisfaisants à l'exception de Kaempferol 3-O-sulphate-7-O- α -arabinopyranoside qui est classé comme le modèle d'inhibiteur le plus faible de l'enzyme avec une valeur d'énergie de -5,77 Kcal/mol.

Sinon, tous les résultats obtenus sont enregistrés avec un TR de 100%. Les résultats sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3. Résultats de l'amarrage moléculaire

Ligands	Energie (kcal/mol)	TR (%)	AA Impliquées	Types. In	Distance (Å)	Nbr. In
Scopolétine Mol1	-6,9	100	GLU803, ARG913 MET1039, ALA1079	In. Hydrogène In. hydrophobe In. sulfure	2,71 >3,4 5,47	1 5 2
Scopoline Mol2	-8,9	100	GLY798, PHE799 GLY800, GLU803 PHE912, PHE915 MET1039, SER1083 GLU1262	In. Hydrogène In. hydrophobe In. sulfure	2,28 >3,4 3,58	7 2 1
Méthoxycoumarine Mol3	-6,54	100	CYS150, PHE799 ARG913, MET1039	In. Hydrogène In. hydrophobe In. sulfure	3,14 >3,4 4,95	1 4 1
Acacétine Mol4	-8,6	100	CYS150, PHE799 GLY800, ARG913 MET1039, GLN1195	In. Hydrogène In. hydrophobe In. sulfure	1,83 >3,4 5,38	4 9 1
Kaempferol3-O-sulphate-7-O- α -arabinoside Mol5	-5,77	100	PHE799, ARG913 GLN1041, SER1081 ASP1085, LYS1258 VAL1260	In. Hydrogène In. hydrophobe	2,19 >3,4	6 1

AA : Acide Aminé **TR** : Taux de répétition **In** : Interaction **Nbr** : Nombre

Nous avons étudié le mécanisme d'action des composés phénoliques sur la XOH, notamment le type d'interactions et les acides aminés impliqués ; les résultats prédits montrent une inhibition significative par certains ligands utilisés à l'intérieur de la cavité du site actif.

La scopoline (mol2) ou 7-(β -D-Glucopyranosyloxy)-6-méthoxy-2H-chromène-2-one, est une coumarine dont le cycle chromane est lié à un sucre et à un groupe méthoxy en C6. Il a été intégré dans la cavité du site actif par une forme L. Les résultats du docking montrent que cet inhibiteur présente une très bonne stabilité avec une énergie de -8,9 kcal/mol (Tableau 3), le classant comme le meilleur inhibiteur. Toutefois, son affinité avec XOH est adéquate avec un TR de 100%.

Pour les interactions établies, nous avons enregistré une interaction π -sulfure avec Met1039 et des interactions hydrophobes π -alkyle et π - π forme T entre le cycle chromane et Met1039 et Phe799, respectivement, également 7 interactions hydrogènes ont été observées, les plus proches sont : une avec le côté glucopyranose et Glu803 avec la plus petite distance de 2,28Å, l'autre avec la fonction cétone et Glu798 avec une distance de 3,31Å. D'autre part, 5 autres interactions hydrogènes ont été obtenues avec des distances différentes ; les plus proches sont avec Glu1262, et deux autres avec Phe912 avec les fonctions hydroxyles du groupe glucopyranose dont la distance est de 3,14Å, 2,53Å et 3,28Å, respectivement..

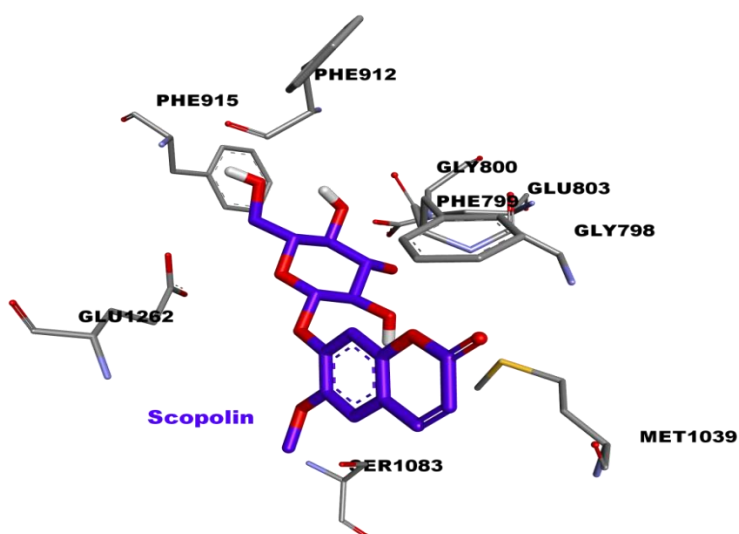


Figure 16. Représentation de la meilleure position de la Scopoline

Acacétine (mol4) ou 5,7-dihydroxy-2-(4-méthoxyphényle)-4H-chromène-4-one est un flavonoïde, son cycle chromane est lié à un groupe anisole et porte deux groupes hydroxyles sur les carbones C5 et C7 et un groupe cétone sur C4, d'un point de vue structurelle. Il se trouve bloqué verticalement dans le site actif avec un TR optimal égal à 100% et une bonne stabilité avec une énergie gale à -8,6 Kcal/mol.

La conformation du cycle chromane obtenue permet à l'Acacétine de former des interactions hydrogènes : deux interactions avec le groupe hydroxyle porté par C7 avec Cys150, et le groupe hydroxyle porté par C5 avec Gln1195, ainsi Arg913 a formé deux autres interactions avec le groupe cétone porté par C4, dont les distances sont : 3,29Å et 2,83Å.

Aussi nous enregistrons une interaction π -sulfure et plusieurs interactions hydrophobes à savoir π -alkyle et π - π empilées avec Cys150, Met1039 et Phe799. En outre, la partie anisole a formé 5 interactions hydrophobes π -alkyle et π -amide avec Arg913, Gly800, Phe915, Ala1080 et Ala1079. Ceci explique la valeur d'énergie trouvée, et la forme d'ancrage verticale, le cycle anisole se trouvant à l'entrée du site actif face aux acides aminés hydrophobes.

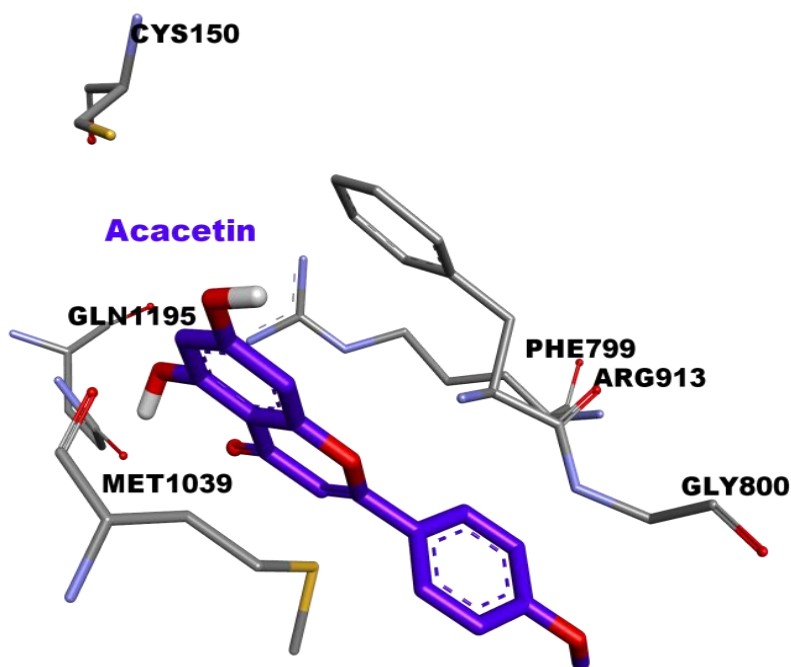


Figure 17. Représentation de la meilleure position d'Acacétine

La Scopolétine (mol1) ou 7-hydroxy-6-méthoxy-2H-chromène-2-one, est une coumarine, qui porte un groupe méthoxy en C6 et un groupe hydroxyle en C7. Elle a été intégrée dans la cavité du site actif de façon horizontale. Selon les résultats du docking, son affinité s'avère être élevée pour XOH avec une valeur TR de 100%, cependant, son énergie est modérée parmi les autres inhibiteurs (Tableau 3). Nous avons observé une seule interaction hydrogène entre le groupe hydroxyle C7 et Glu803, dont la distance est de 2,71Å. De l'autre côté, nous observons deux interactions π -sulfure et 05 interactions π -alkyl hydrophobes avec Met1039, Arg913 et Ala1079. Ces interactions hydrophobes ont influencé sa meilleure conformation dans le site actif et par conséquent il a été trouvé au début du site actif et peut-être son mode d'action est de préférence en bloquant le site actif.

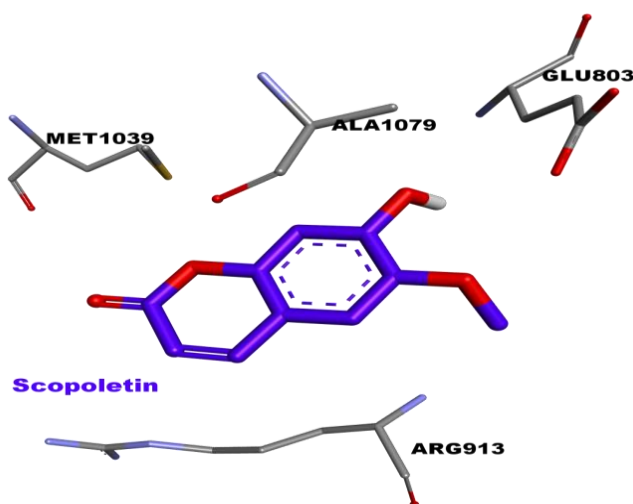


Figure 18. Représentation de la meilleure position de la Scopolétine

Méthoxycoumarine (mol3) ou 3-méthoxy-2H-chromène-2-one est une coumarine similaire à la Scopolétine (mol1) en termes de structure, la différence est dans la position de méthylation, mol3 a un groupe méthoxy en C3. Il a été amarré à l'intérieur du site actif de manière inclinée. Les résultats montrent que cet inhibiteur représente une stabilité modérée avec une énergie d'interaction de -6.5 Kcal/mol et un TR optimal égal à 100%. Le cycle pyrane a été pointé vers le site catalytique et a établi une seule interaction hydrogène avec le résidu Arg913 d'une distance égale à 3,15Å, les autres interactions formées sont de type π - π -empilé et π -alkyle avec

les acides aminés Phe799 et Met1039. Une seule interaction π -sulfure avec Cys150 a été trouvée. La substitution en C3 et les interactions hydrophobes qui en résultent ont influencé sa meilleure conformation dans le site actif. Il a donc été trouvé au début du site actif et partage le même mode d'action que mol1 qui bloque le site actif.

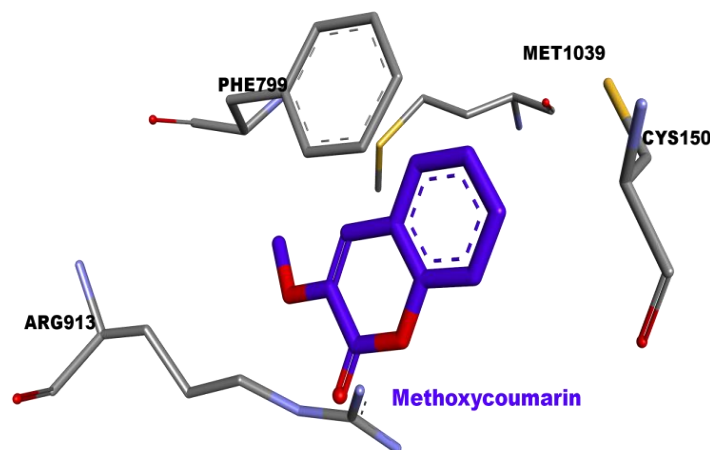


Figure 19. Représentation de la meilleure position de la Méthoxycoumarine

Kaempferol (mol5) est un flavonoïde sulfaté en C3, lié à un sucre en C7, et à un groupe hydroxyle en C5. Il est amarré dans la cavité du site actif de XOH sous forme verticale avec un TR optimal de 100%, son énergie a été classée la plus faible parmi tous les ligands testés avec une valeur de -5,77 Kcal/mol (Tableau 3).

Afin de bien comprendre son mode d'action, nous avons localisé la fonction la plus réactive dans sa structure, il s'agit du cycle pyrane sulfaté, qui a été pointé vers le site catalytique et forme 02 interactions hydrogènes importantes : avec Arg913 et Phe799, d'autres interactions hydrogènes ont été trouvées entre le groupe hydroxyle sur C5 et Gln1041 et trois autres avec les groupes hydroxyles du sucre avec : Val1260, Asp1085 et Lys1258 dont les distances sont respectivement : 3,09Å, 2,32Å, 2,19Å. Néanmoins nous n'avons enregistré qu'une seule interaction π -alkyl hydrophobe entre le cycle hydroxyphényle et Arg913. Il semble que la glycosylation par le sucre arabinose a influencé la stabilité du mol5 ce qui reflète la valeur d'énergie trouvée, car la plupart des interactions en nombre de 05 ont été trouvées avec le côté

hydrophile du site actif avec Lys, Asp, et Ser. La fonction sulfate en C3 a été plongée dans le site catalytique cependant, le reste du cycle chromane est trouvé loin du site actif.

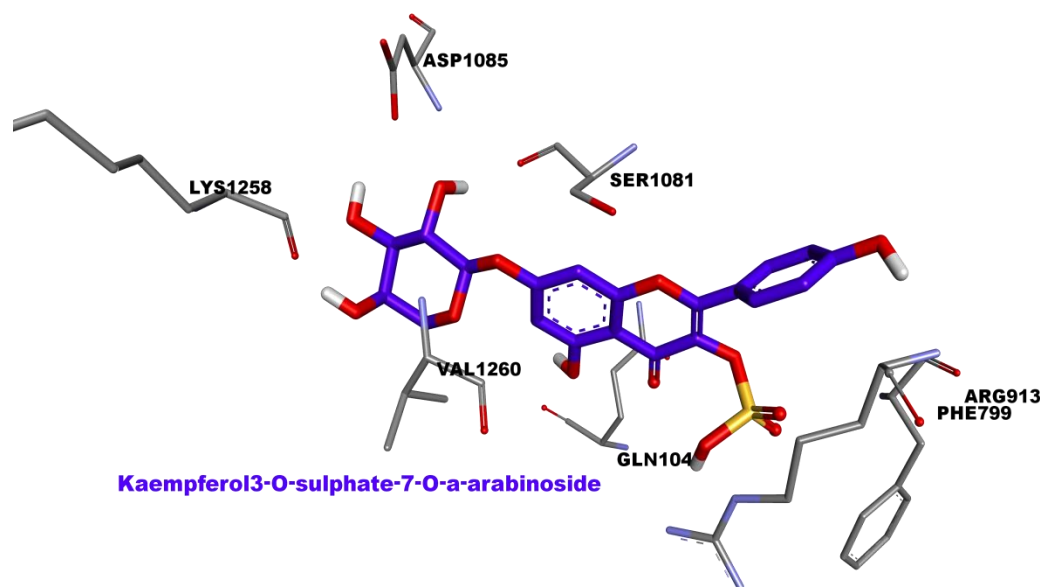


Figure 20. Représentation de la meilleure position de la Kaempferol

2. Analyses ADMET

Les paramètres ADMET ont été calculés et leur qualification a été vérifiée par rapport à leurs intervalles standards.

Tableau 4. Les principaux paramètres ADMET

Pharmacocinétique	Mol1	Mol2	Mol3	Mol4	Mol5
Absorption					
Caco-2 cell permeability (nm/sec) > 20	0,277	11,356	40,786	12,79	5,128
Absorption intestinale humaine (AIH %) 80 à 100 %	93,923	53,81	99,135	93,0427	23,06
Inhibition de P-glycoprotéine Ne doit pas inhiber. Un substrat de celui-ci indique des niveaux élevés d'absorption	Non	Non	Non	Non	Non

Distribution					
Pénétration de la barrière hémato-encéphalique (C. cerveau/C. sang) > 2	0,644	0,028	1,667	0,15	0,0317
Traverser facilement la barrière hémato-encéphalique					
MDCK cell permeability (nm/s)	67,459	0,593	331,33	20,23	0,5678
Faible (< 10 nm/s)					
Elevé (> 10 nm/s)					
Liaison des protéines plasmatiques (%)	29,418	41,843	45,838	90,917	73,779
80 à 100 % est considéré comme élevé, 50 à 80 % (modéré), < 50 % (faible)					
Métabolisme					
inhibition du Cytochrome P450 2D6	Non	Non	Non	Non	Non
substrat du Cytochrome P450 2D6	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibition du Cytochrome P450 3A4	Non	Non	Non	Inhibiteur	Inhibiteur
Substrat du Cytochrome P450 3A4	Non	Faiblement	Non	Non	Faiblement
Excrétion					
Urine	+	+	+	+	Indisponible
Fèces	+	-	-	+	Indisponible
Toxicité					
Test d'Ames	Mutagène	Non-mutagène	Mutagène	Mutagène	Mutagène
Carcinogénicité (souris)	Négative	Positive	Positive	Négative	Négative
Carcinogénicité (Rat)	Positive	Négative	Positive	Positive	Négative
Inhibition de HERG	Risque faible	Risque faible	Risque moyen	Risque moyen	Indisponible

Caco-2: Human colorectal carcinoma **CYP450:** Cytochrome P450 **HERG:** Human Ether Related Gene channel **MDCK:** Mandin Darby Canine Kidney

Vert: Retenu **Orange:** Modéré **Rouge:** Risque

Scopolétine

Les paramètres ADMET prédits (Tableau 4) de la Scopolétine (mol1) montrent que sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique est faible, mais que son absorption intestinale est meilleure. D'autre part, ce composé ne peut être ni un substrat ni un inhibiteur des isoenzymes 2D6 et 3A4 du cytochrome P450, mais il peut inhiber d'autres cytochromes P450, à savoir 2C19 et 2C9. Le profil de toxicité montre une mutagénicité dans le test d'Ames, mais le risque d'inhibition du HERG est faible. L'excrétion de ce dernier se fait par voie urinaire et fécale [63, 64].

Scopoline

Les paramètres ADMET prédits (tableau 4) de la Scopoline (mol2) montrent que sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique est très faible par rapport aux autres composés et qu'elle présente également une absorption intestinale moyenne. En outre, elle n'a pas inhibé l'inhibition de la glycoprotéine P, ainsi son transport sera facile dans la circulation sanguine, son profil de toxicité ne montre pas de mutagénicité dans les tests d'Ames, avec un faible risque d'inhibition des canaux ioniques (HERG). Il peut être excrété dans l'urine [65, 66].

Méthoxycoumarine

La perméabilité aux cellules MDCK et l'absorption intestinale de la Méthoxycoumarine (mol3) prennent une valeur considérable par rapport aux autres composés. Le résultat élevé de MDCK révèle une perméabilité rénale élevée. Cependant, la pénétration à la barrière hémato-encéphalique est faible, aussi, nous avons enregistré un résultat positif et mutagène pour les tests de toxicité, ce qui confirme sa capacité à provoquer le cancer et à induire des mutations dans l'ADN. Son élimination se fait uniquement par voie urinaire [67, 68].

Acacétine

Les résultats ADMET du composé Acacétine (mol4) montrent que sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique est faible, contrairement à l'absorption intestinale qui est

importante. Cependant il inhibe le cytochrome P450 3A4. En outre, le profil de toxicité montre qu'il existe des résultats positifs et mutagènes pour les tests de toxicité, avec un risque moyen pour l'inhibition de HERG, ce qui peut être dangereux pour les patients souffrant de maladies cardiovasculaires. L'excrétion de ce dernier se fait par voie urinaire et fécale. [69, 70].

Kaempferol 3-O-sulphate-7-O- α -arabinopyranoside

Nous signalons que le Kaempferol3-O-sulphate-7-O- α -arabinopyranoside (mol5) pénètre faiblement la barrière hémato-encéphalique et également peu absorbé par le système intestinal et peu distribué dans la circulation sanguine. Parallèlement, il inhibe le cytochrome P450 3A4 et provoque des mutations (test d'Ames +) avec un risque indéterminé d'inhibition des canaux ioniques cardiaques. Dans ce cas, il peut être dangereux pour les patients souffrant de maladies cardiovasculaires.

CONCLUSION

A travers de ce travail, nous avons montré l'importance fondamentale des deux méthodes discutées, à savoir le docking moléculaire et la prédiction ADMET, la découverte et l'investigation de nouveaux inhibiteurs naturels par le domaine *in silico* est l'une des stratégies prometteuses pour accélérer le processus de développement de médicaments, surtout dans les premières phases.

La goutte est une maladie très ancienne, son traitement est connu, mais basé sur des traitements forts qui provoquent des effets secondaires, l'utilisation des plantes médicinales reste encore le choix le plus sécurisé, dans ce travail, nous avons montré l'importance des flavonoïdes et des coumarines de l'*Atriplex* comme source d'inhibiteur potentiel contre la goutte.

Les résultats du docking moléculaire ont montré que les ligands Scopoline (**mol2**) et Acacétine (**mol4**) sont les meilleurs inhibiteurs de la xanthine oxydase humaine, avec des énergies minimales de -8,9 et -8,6 kcal/mol, respectivement, avec l'identification de plusieurs interactions importantes dans le site actif, tandis que le Kaempferol3-O-sulphate-7-O- α -arabinopyranoside (**mol5**) montre la valeur d'énergie la plus basse avec -5,77 kcal/mol et il est classé comme faible par rapport à tous les ligands étudiés dans ce travail.

Les résultats de la prédiction ADMET des ligands ont qualifié un inhibiteur convenable, à savoir Scopoline (**mol2**) et des inhibiteurs non convenables tels que : Scopolétine (**mol1**), Méthoxycoumarine (**mol3**), Acacétine (**mol4**) et Kaempferol3-O-sulphate-7-O- α -arabinopyranoside (**mol5**), ces derniers peuvent présenter un risque cardiaque et des mutations dans l'ADN dans ce cas ils doivent être prescrits avec prudence car ils sont dangereux pour les personnes atteintes de maladies chroniques.

Finalement, il serait souhaitable de consacrer cette étude, pour tester l'activité inhibitrice des meilleurs ligands trouvés *in vitro* et *in vivo* pour confirmer les résultats obtenus.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

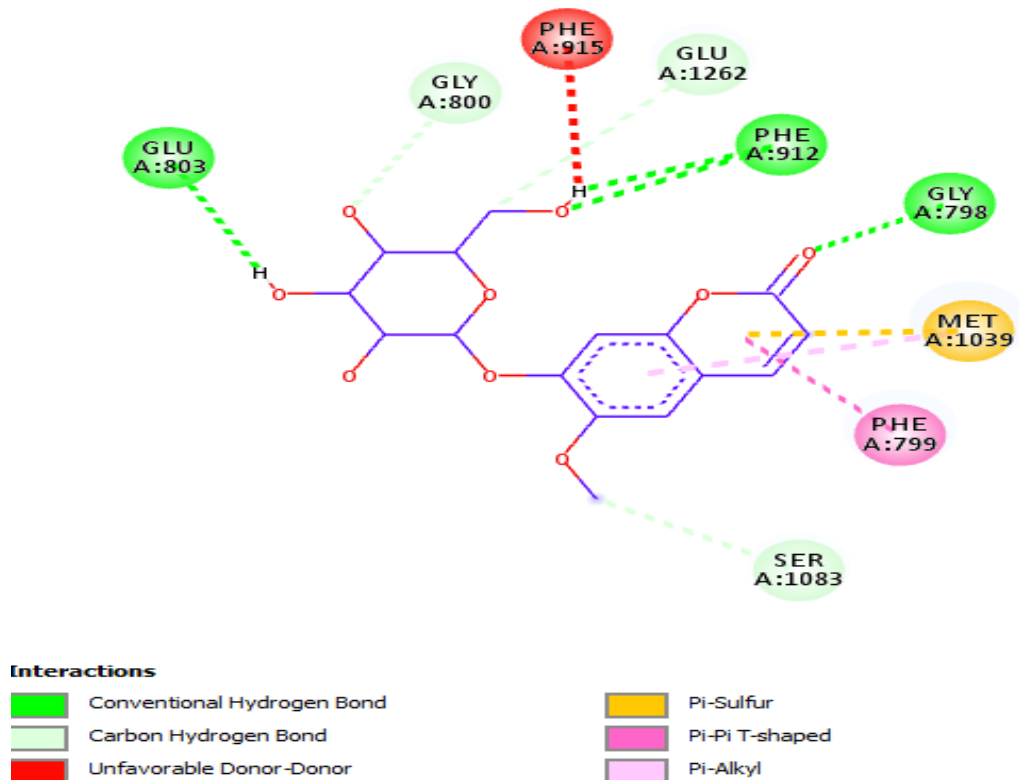
- [1] S.C. Ashtiyani, A. Golestanpour, M. Shamsi, S.M. Tabatabaei, M. Ramazani, Rhazes' prescriptions in treatment of gout, *Iranian Red Crescent Medical Journal* 14(2) (2012) 108.
- [2] J.M. Pearce, Thomas Sydenham "The British Hippocrates", *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 58(3) (1995) 292.
- [3] L. Vandeputte, , La goutte : une douleur lancinante à traiter sans tarder, 2018. <https://www.mieux-etre.fr/professionnels-du-btp/actus/la-goutte-une-douleur-lancinante-traiter-sans-tarder>.
- [4] F. Lioté, Epidémiologie de la goutte, *Réflexions* (2010) 11.
- [5] D.J.-P. Marre, Goutte : l'acide urique bas protège de la crise douloureuse, 2021. <https://www.pourquoidoctor.fr/MaladiesPkoidoc/350-Goutte-la-douleur-articulaire-n-est-pas-une-fatalite>.
- [6] J.M. Dittmar, P.D. Mitchell, P.M. Jones, B. Mulder, S.A. Inskip, C. Cessford, J.E. Robb, Gout and 'Podagra' in medieval Cambridge, England, *International journal of paleopathology* 33 (2021) 170-181.
- [7] R. Sahli, Etude phytochimique de quelques plantes extrêmophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques, Université du Droit et de la Santé-Lille II; Université de Carthage (Tunisie), 2017.
- [8] L. Bou-Salah, K. Benarous, A. Linani, F. Rabhi, K. Chaib, I. Chine, H. Bensaidane, M.J.M. Yousfi, c. probes, Anti-inflammatory drugs as new inhibitors to xanthine oxidase: In vitro and in silico approach, 58 (2021) 101733.
- [9] G. Avhad, Ganesh Avhad, Priyanka Ghuge¹, *Indian Dermatology Online Journal* 5(2) (2014).
- [10] A.T. Eggebeen, Gout: an update, *American family physician* 76(6) (2007) 801-808.
- [11] N. Dalbeth, L. Stamp, T. Merriman, Gout, Oxford University Press, Incorporated, Oxford, UNITED KINGDOM, 2016.
- [12] F. Kayser, Étude descriptive de la prise en charge de la goutte en pratique de médecine générale dans le bassin annécien, (2015).
- [13] A.B. Vargas-Santos, T. Neogi, Management of gout and hyperuricemia in CKD, *American Journal of Kidney Diseases* 70(3) (2017) 422-439.
- [14] J.-L. Tremblay, L'examen musculosquelettique, Presses de l'Université de Montréal PUM2014.
- [15] K. Andreas, Arthropathies microcristallines—partie 1: goutte, (2017).
- [16] L. Regy, La maladie goutteuse: pathologie, traitements et rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge de la goutte. Enquêtes réalisées en officine auprès de patients goutteux et de pharmaciens, (2021).
- [17] A. Sculler, T. Pascart, A. Bernard, E. Oehler, La maladie goutteuse, *La Revue de Médecine Interne* 41(6) (2020) 396-403.
- [18] K. Benbouazza, Aspects échographiques de la goutte.
- [19] S.N. Christiansen, F.C. Müller, M. Østergaard, O. Slot, J.M. Møller, H.F. Børgesen, K.K. Gosvig, L. Terslev, Dual-energy CT in gout patients: Do all colour-coded lesions actually represent monosodium urate crystals?, *Arthritis research & therapy* 22(1) (2020) 1-11.
- [20] E. Maquin, La goutte, une maladie en recrudescence: enquête à l'officine, Université de Lorraine, 2018.
- [21] A. Mary, A. Boursier, M. Brazier, P. Fardellone, Traitement de la goutte, *Pharmacie Clinique et Thérapeutique*, Elsevier Masson2018, pp. 303-315. e2.
- [22] I. Ghozlani, M. Ghazi, A. Kherrab, R. Niamane, Traitement de la goutte: actualités et perspectives, *Rev Mar Rhum* 39 (2017) 26-36.
- [23] E. Niel, J.-M. Scherrmann, Actualité de la colchicine, *Revue du rhumatisme* 73(12) (2006) 1338-1345.
- [24] S. Berthélémy, Un patient se plaignant d'une crise de goutte, *Actualités Pharmaceutiques* 53(532) (2014) 44-47.
- [25] A. Mary, A. Boursier, M. Brazier, P. Fardellone, Traitement de la goutte, *Pharmacie Clinique et Thérapeutique*, Elsevier Masson2018, pp. 303-315.
- [26] I. Fabreguet, A. So, Les traitements hypo-uricémiants dans la goutte. Indications et cibles thérapeutiques, *Revue générale* 201.
- [27] S. ZaimenI, Y. Abour, N.E. Larichelariche, Les activités biologiques des constituants bioactifs de la plante médicinale «*Atriplex halimus*», Université de jijel, 2020.

- [28] S. MÂAlem, S. Koufi, C. Rahmoune, Analyse moléculaire de la diversité génétique de plantes Xéro/Halophytes du genre *Atriplex* moyennant RAPD-PCR, Algerian Journal of Arid Environment "AJAE" 1(1) (2011) 10-10.
- [29] S.P. Hunt, D.E. Jarvis, D.J. Larsen, S.L. Mosyakin, B.A. Kolano, E.W. Jackson, S.L. Martin, E.N. Jellen, P.J. Maughan, A chromosome-scale assembly of the garden orach (*Atriplex hortensis* L.) genome using Oxford Nanopore sequencing, *Frontiers in plant science* 11 (2020) 624.
- [30] P.J. Lauriault, L'arroche, cousine de l'épinard.
- [31] *Atriplex hortensis*, 2011. <https://www.tela-botanica.org/bdtx-nn-8387>.
- [32] *Atriplex hortensis*. <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/62340-Atriplex-hortensis>.
- [33] K. BOUCHOUL, S. HEZLA, Le comportement des trois genres des semences d'*Atriplex* (*halimus*, *canescens*, *nummularia*), a l'application des différentes doses de Na Cl, (2017).
- [34] R. Suaire, Dynamique de transfert des fondants routiers dans un bassin de rétention des eaux de ruissellement routières: vers une solution d'assainissement par phytoremédiation, Université de Lorraine, 2015.
- [35] B. Ali, S. Musaddiq, S. Iqbal, T. Rehman, N. Shafiq, A. Hussain, The Therapeutic Properties, Ethno pharmacology and Phytochemistry of *Atriplex* Species: A review, *Pakistan Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2(1) (2021) 49-64.
- [36] O. Livadariu, In Vitro Experimental Researches Regarding the Treatment with Phytochemicals of Orach (*Atriplex hortensis* L.), *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies* 70(2) (2013) 289-295.
- [37] E.G. Vila Roa, Evaluation of pigments from a purple variety of *Atriplex hortensis* L. for use in food applications, (2018).
- [38] L.G. Izzo, C. Arena, V. De Micco, F. Capozzi, G. Aronne, Light quality shapes morpho-functional traits and pigment content of green and red leaf cultivars of *Atriplex hortensis*, *Scientia Horticulturae* 246 (2019) 942-950.
- [39] A. Ramazan, N. Kayak, D.A.L. Yeşim, K.A.L. Ünal, M. Seymen, K. Nur, Ö. TÜRKmen, Farklı Ekim Zamanlarının Dağ İspanağının (*Atriplex hortensis*= *Atriplex nitens*) Bitkisel Özellikleri Üzerine Etkisi, *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences* 9(2) 81-84.
- [40] J.L. Donate, J.F. García, J.F. Rodríguez, A.V. López, de una verdura tradicional.
- [41] S.S. Kachout, A. Mansoura, J.C. Leclerc, R. Mechergui, M.N. Rejeb, Z. Ouerghi, Effects of heavy metals on antioxidant activities of *Atriplex hortensis* and *A. rosea*, *J Food Agric Environ* 7(3-4) (2009) 938-945.
- [42] S.K. Burley, H.M. Berman, G.J. Kleywegt, J.L. Markley, H. Nakamura, S. Velankar, Protein Data Bank (PDB): the single global macromolecular structure archive, *Protein Crystallography* (2017) 627-641.
- [43] S. Kim, T. Cheng, S. He, P.A. Thiessen, Q. Li, A. Gindulyte, E.E. Bolton, PubChem Protein, Gene, Pathway, and Taxonomy Data Collections: Bridging Biology and Chemistry through Target-Centric Views of PubChem Data, *Journal of Molecular Biology* (2022) 167514.
- [44] R.B. van Breemen, Y. Li, Caco-2 cell permeability assays to measure drug absorption, *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 1(2) (2005) 175-185.
- [45] B.L. Jejurikar, S.H. Rohane, Drug designing in discovery studio, *Asian J Res Chem* 14(2) (2021) 135-138.
- [46] N. El-Hachem, B. Haibe-Kains, A. Khalil, F.H. Kobeissy, G. Nemer, AutoDock and AutoDockTools for protein-ligand docking: beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1) as a case study, *Neuroproteomics*, Springer2017, pp. 391-403.
- [47] M.A. Rauf, S. Zubair, A. Azhar, Ligand docking and binding site analysis with pymol and autodock/vina, *International Journal of Basic and Applied Sciences* 4(2) (2015) 168.
- [48] W. GUERRAB, Conception de molécules bioactives: approche innovante pour la synthèse de nouveaux dérivés de l'acétamide à potentiel thérapeutique, 2020.
- [49] A. Seth, Effet de la rétention magnétique sur le passage d'un principe actif peu perméable à travers la membrane intestinale, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 2014.
- [50] A. Yan, Z. Wang, Z. Cai, Prediction of human intestinal absorption by GA feature selection and support vector machine regression, *International journal of molecular sciences* 9(10) (2008) 1961-1976.

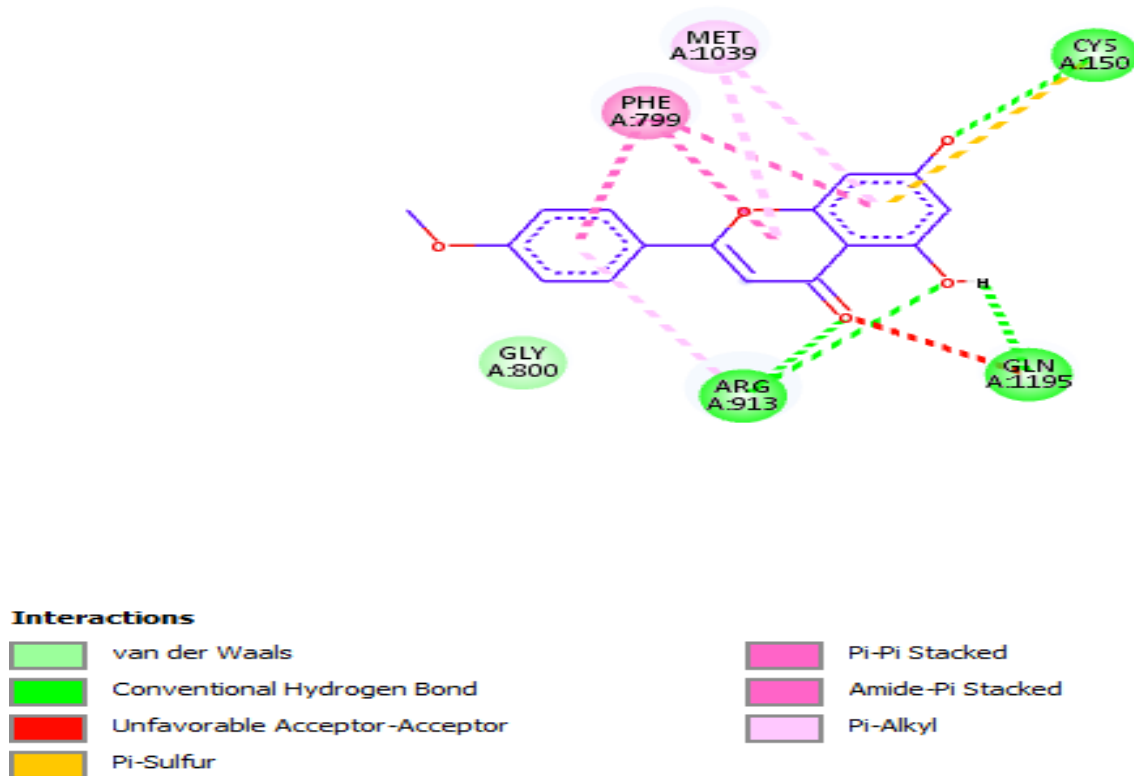
- [51] Y. Tanigawara, Role of P-glycoprotein in drug disposition, *Therapeutic drug monitoring* 22(1) (2000) 137-140.
- [52] J.P. Tillement, R. Zini, S. Glasson, B. Jacotot, Fixation plasmatique et pharmacocinétique des médicaments, *La Revue de Médecine Interne* 3(1) (1982) 75-80.
- [53] S. Liebner, B. Engelhardt, Development of the blood–brain barrier, *The blood-brain barrier and its microenvironment*, CRC Press 2005, pp. 23-48.
- [54] J.M. Lefauconnier, J.J. Hauw, The blood-brain barrier. II. Physiological data (conclusion), *Revue neurologique* 140(2) (1984) 89-109.
- [55] S. Luo, V.S. Kansara, X. Zhu, N.K. Mandava, D. Pal, A.K. Mitra, Functional characterization of sodium-dependent multivitamin transporter in MDCK-MDR1 cells and its utilization as a target for drug delivery, *Molecular pharmaceutics* 3(3) (2006) 329-339.
- [56] S.Z. Kovačević, L.R. Jevrić, S.O.P. Kuzmanović, E.S. Lončar, Prediction of in-silico ADME properties of 1, 2-O-isopropylidene aldohexose derivatives, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR* 13(3) (2014) 899.
- [57] R.L. Nation, U. Theuretzbacher, B.T. Tsuji, Concentration-dependent plasma protein binding: Expect the unexpected, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 122 (2018) 341-346.
- [58] B. Canault, Développement d'une plateforme de prédiction in silico des propriétés ADME-Tox, Orléans, 2018.
- [59] T. Lynch, A.P. Neff, The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects, *American family physician* 76(3) (2007) 391-396.
- [60] V. MALLO, SOUS-TRAITANCE ET DEVELOPPEMENT PHARMACEUTIQUE D'UN MEDICAMENT: APPLICATION A LA CONCEPTION D'UN COMPRIME A CROQUER.
- [61] B. LAHCENE, Recherche de nouveaux inhibiteurs d'origine naturelle du COVID-19: Etude in silico, (2021).
- [62] A. Garrido, A. Lepailleur, S.M. Mignani, P. Dallemagne, C. Rochais, hERG toxicity assessment: Useful guidelines for drug design, *European Journal of Medicinal Chemistry* 195 (2020) 112290.
- [63] Q. Tian, L. Wang, X. Sun, F. Zeng, Q. Pan, M. Xue, Scopoletin exerts anticancer effects on human cervical cancer cell lines by triggering apoptosis, cell cycle arrest, inhibition of cell invasion and PI3K/AKT signalling pathway, *J BUON* 24(3) (2019) 997-1002.
- [64] T. Yi, L. Zhu, Y.-N. Tang, J.-Y. Zhang, Z.-T. Liang, J. Xu, Z.-Z. Zhao, Z.-L. Yu, Z.-X. Bian, Z.-J. Yang, An integrated strategy based on UPLC–DAD–QTOF-MS for metabolism and pharmacokinetic studies of herbal medicines: Tibetan “Snow Lotus” herb (*Saussurea laniceps*), a case study, *Journal of ethnopharmacology* 153(3) (2014) 701-713.
- [65] N.Z. Msomi, M.B.C. Simelane, *Olea europaea* subsp. *africana* (Oleaceae), *Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants* (2017) 159-174.
- [66] M. Runkel, A. Moeller, M. Tegtmeier, I. Willigmann, W. Legrum, Detection of scopolin in the grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.), *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 359(6) (1997) 516-520.
- [67] N. Kudo, A. Sakai, A. Mitsumoto, Y. Hibino, T. Tsuda, Y.J.B. Kawashima, P. Bulletin, Tissue distribution and hepatic subcellular distribution of perfluorooctanoic acid at low dose are different from those at high dose in rats, 30(8) (2007) 1535-1540.
- [68] M. Lončar, M. Jakovljević, D. Šubarić, M. Pavlić, V. Buzjak Služek, I. Cindrić, M. Molnar, Coumarins in food and methods of their determination, *Foods* 9(5) (2020) 645.
- [69] D.-G. Han, E. Cha, J. Joo, J.S. Hwang, S. Kim, T. Park, Y.-S. Jeong, H.-J. Maeng, S.-B. Kim, I.-S. Yoon, Investigation of the factors responsible for the poor oral bioavailability of acacetin in rats: Physicochemical and biopharmaceutical aspects, *Pharmaceutics* 13(2) (2021) 175.
- [70] S.E. Nielsen, J.F. Young, B. Daneshvar, S.T. Lauridsen, P. Knuthsen, B. Sandström, L.O. Dragsted, Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects, *British Journal of Nutrition* 81(6) (1999) 447-455.

ANNEXES

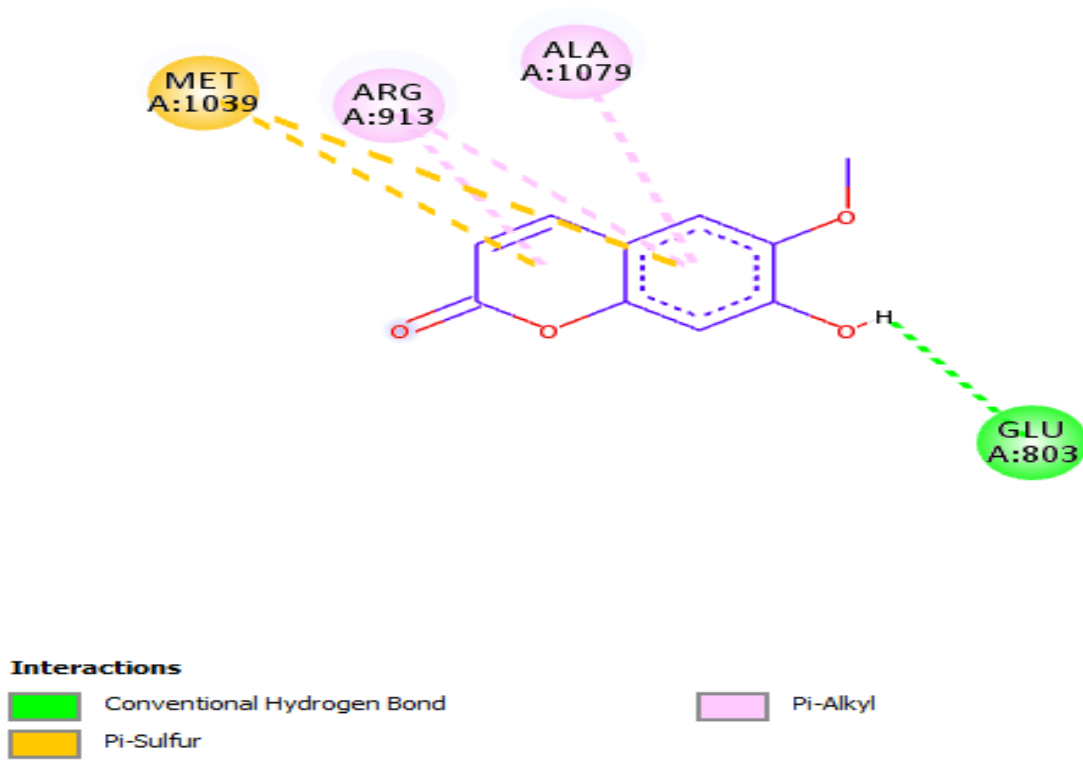
Annexe 1. Les interactions 2D de la Scopoline obtenues avec la meilleure position



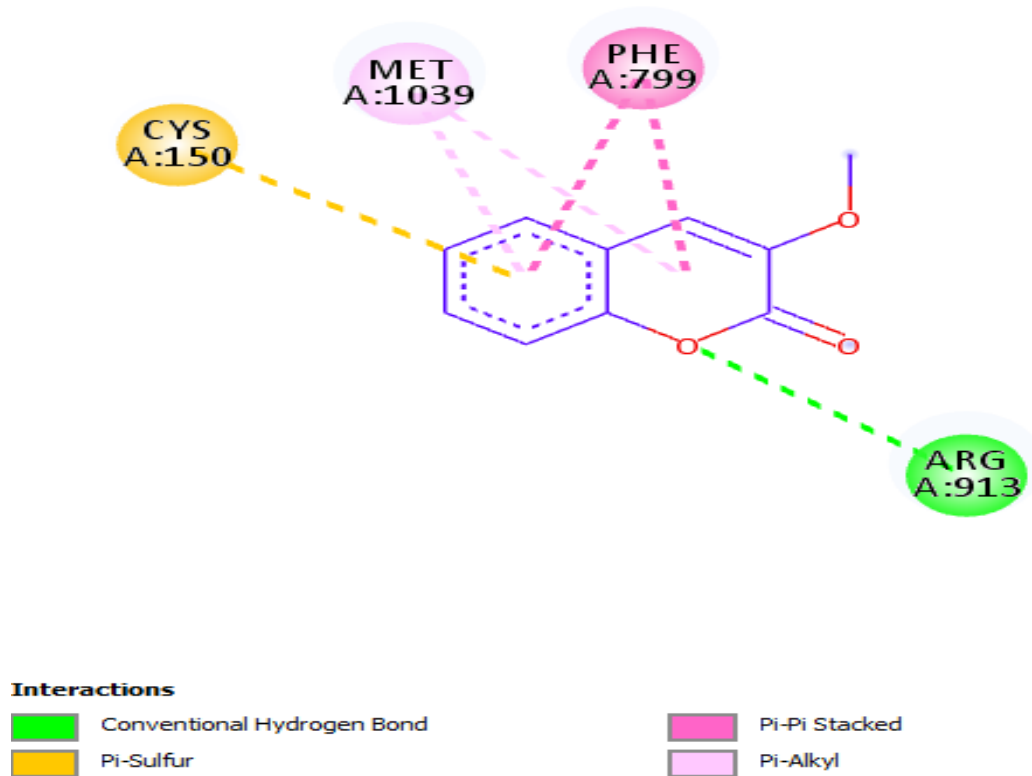
Annexe 2. Les interactions 2D d'Acacétine obtenues avec la meilleure position



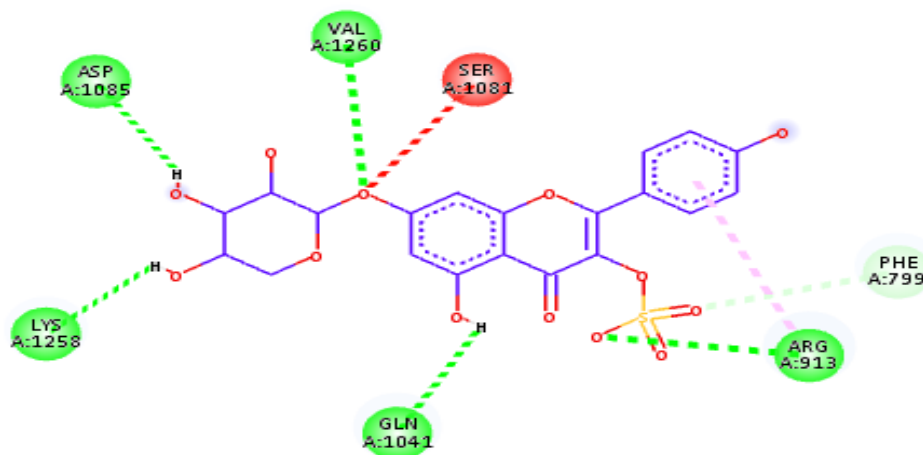
Annexe 3. La structure 2D de la Scopolétine obtenu avec la meilleure position







Annexe 4. Les interactions 2D de la Méthoxycoumarine obtenues avec la meilleure position



Annexe 5. Les interactions 2D du Kaempferol obtenues avec la meilleure position

**Interactions**

 Conventional Hydrogen Bond
 Carbon Hydrogen Bond

 Unfavorable Acceptor-Acceptor
 Pi-Alkyl

Résumé

Notre étude est consacrée à la recherche de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase humaine (XOH) pour le traitement de la maladie de la goutte, un important problème de santé publique. L'objectif de ce travail est d'évaluer *in silico* l'effet d'inhibition de cinq composés phénoliques de la plante *Atriplex hortensis* L sur la XOH, par docking moléculaire en utilisant les programmes AutoDock vina (ADV) et Discovery studio. Les inhibiteurs sélectionnés sont: Scopolétine (**mol1**), Scopoline (**mol2**), Méthoxycoumarine (**mol3**), Acacétine (**mol4**), et Kaempferol (**mol5**). La prédiction des paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADMET) a été vérifiée pour confirmer leurs profils pharmacocinétiques en utilisant le serveur pré-ADMET, les inhibiteurs les mieux classés ont été choisis en fonction de leur profil ADMET et de la valeur d'énergie la plus faible générée par ADV, en résultat, le composé Scopoline (**mol2**) a enregistré la valeur d'énergie la plus faible de -8,9 Kcal/mol avec le meilleur profil ADMET et se présente comme un nouvel inhibiteur possible, les autres inhibiteurs ont été classés comme modérés par rapport à mol2. Ces résultats pourraient être importants pour la découverte de nouveaux médicaments, mais d'autres études *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires pour confirmer leur efficacité.

Mots clés : Goutte, Xanthine oxydase humaine, composés phénoliques, *Atriplex hortensis* L, ADMET, Docking

Abstract

Our study is devoted to the search for new inhibitors of human xanthine oxidase (XOH) for the treatment of gout disease, an important public health problem. The objective of this work is to evaluate *in silico* the inhibition effect of five phenolic compounds from the plant *Atriplex hortensis* L on XOH, by molecular docking using the AutoDock vina (ADV) and Discovery studio programs. The selected inhibitors are: Scopoletin (**mol1**), Scopolin (**mol2**), Methoxycoumarin (**mol3**), Acacetin (**mol4**), and Kaempferol (**mol5**). The prediction of absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) parameters was checked to confirm their pharmacokinetic profiles using the pre-ADMET server, the top ranked inhibitors were chosen based on their ADMET profile and the lowest energy value generated by ADV, as a result, the compound Scopoline (**mol2**) recorded the lowest energy value of -8.9 Kcal/mol with the best ADMET profile and presents itself as a possible new inhibitor, the other inhibitors were classified as moderate compared to mol2. These results could be important for new drug discovery; however, further *in vitro* and *in vivo* studies are needed to confirm their effectiveness.

Keywords: Gout, Human xanthine oxidase, Phenolic compound, *Atriplex hortensis* L, ADMET, Docking.

ملخص

تمحورت دراستنا حول البحث عن مثبطات جديدة لإنزيم أوكسيداز الزانثين البشري (أو ب) لعلاج داء النقرس، كأزمة صحية عمومية هامة. الهدف من هذا العمل هو تقييم تأثير تثبيط خمس مركبات فينولية من نبات القطف في السيليكون على أو ب، بواسطة الإرساء الجزيئي مستعملين برامج اوتودوك فينا (أ د ف) وديسكوفري ستيديو. المثبطات المحددة هم: سكوبوليتين (المركب 1)، سكوبولين (المركب 2)، ميثوكسيكومارين (المركب 3)، أكاسيتين (المركب 4)، و كايامبيفرول (المركب 5). تم فحص خصائص الامتصاص، التوزيع، عملية الأيض، الإطراح والسمية (أ د م ت) للتنبؤ بالحركية الدوائية الخاصة بهم، باستخدام خادم أ د م ت، أفضل المثبطات المصنفة اختيرت وفقاً لإعداد أ د م ت وقيمة الطاقة الأقل الصادرة عن أ د ف، كنتيجة، المركب سكوبولين (المركب 2) سجل أقل قيمة طاقة ب: -8,9 كيلو كالوري/مول مع أفضل إعداد أ د م ت حيث قدم كمثبط محتمل جديد، صنفت المثبطات المتبقية على أنها موافقة مقارنة ب المركب 2. هذه النتائج يمكن أن تكون هامة لاكتشاف أدوية جديدة، لكن الدراسات الأخرى المخبرية والحيوية ضرورية لتأكيد فعاليتها.

الكلمات الرئيسية: النقرس، أوكسيداز الزانثين البشري، المركبات الفينولية، القطف، أ د م ت، الإرساء.