

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2017

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER**

**Domaine : SNV**      **Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Analyse Biologiques et Biochimiques**

**Présenté par :**

***LARIBI Ahlam & RABAHI Karima***

***Thème***

***Etude in-silico de l'inhibition de la Xanthine oxydase***

**Soutenu le : 01 / 07 / 2017**

**Devant le jury composé de :**

***Nom et Prénom***

***Grade***

***M. REKAB DJABRI Hamza***

***MAA***

***Univ. de Bouira***

***Président***

***M. KHERRAZ Karim***

***MAA***

***Univ. de Bouira***

***Promoteur***

***M. BOURNINE Lamine***

***MCA***

***Univ. de Bouira***

***Examineur***

**Année Universitaire : 2016/2017**

## *REMERCIEMENTS*

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

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

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

*Et nous tenons à adresser notre profonde gratitude et notre grand reconnaissance et remerciement à *Mr. BOURNINE L.* d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*On n'oublie pas de remercier *Mr. ZOUGGAGH F.* pour son disponibilité et ces conciles.*

*Et au final on tient à remercier toute la section d'analyses biologique et biochimiques promotion 2017.*

*Karima & Ahlam*

# *Dédicaces*

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

*De fin d'études*

*A mes chers parents : Saïd & Laldja*

*A mon frères : Ali*

*A mes sœurs et leurs maris : Samira & Yousef, Djamila & Houcin*

*A ma petite sœur : Zahira*

*A ma très chère binôme : Ahlam*

*A tous mes amis sans exception*

*Karima*

# *Dédicace*

*A la mémoire de mon très cher père.*

*A la mémoire de mon très cher sœur Meriem.*

*A ma très chère mère : Nouria.*

*A mes très chers frères : Djamel & Mohamed.*

*A mes très chères sœurs: Nacera, Sadia, Hanane.*

*A mes sœurs et leurs maris: Razika & Kamel, Naïma & Khaled,*

*Wardia & Omar.*

*A mes Fils de sœurs : Chahrazed, Younes, Marame, Meriem*

*A mon très cher binôme Karima.*

*A mes chères ami (e)s*

*Ahlam.*



## TABLE DES MATIERES

### LISTE DES ABREVIATIONS

### LISTE DES FIGURES

### LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION .....	1
--------------------	---

## PARTIE THEORIQUE

### CHAPITRE I : LA GOUTTE ET LA XANTHINE OXYDASE

I. La goutte	
I.1. Définition de la goutte.....	2
I.2. Etude épidémiologique.....	2
I.3. Les causes de la goutte .....	2
I.3.1. Facteur génétique .....	2
I.3.2. Hyperuricémie.....	2
I.3.3. Alimentation.....	3
I.3.4. Médicaments .....	4
I.3.5. Autres facteurs .....	4
I.4. Les symptômes.....	4
I.4.1. L'accès goutteux ou "la crise de goutte " typique.....	4
I.4.2. La goutte tophacée chronique .....	5
I.5. Le diagnostic .....	6
I.5.1. Apport de l'imagerie .....	6
I.5.1.1. Radiologie conventionnelle.....	6
I.5.1.2. L'échographie.....	6
I.5.1.3. L'Imagerie par Résonance Magnétique .....	7
I.6. Le traitement de la goutte.....	8
I.6.1. Traitement de la crise aigüe .....	8
I.6.1.1. Anti-inflammatoire non stéroïdienne .....	8
I.6.1.2. Colchicine .....	8
a. Effets Secondaires.....	8

I.6.2. Traitements Hypouricémiants .....	9
I.6.2.1. Allopurinol .....	9
a. Effets secondaires .....	9
II. La xanthine oxydase	
II.1. Définition de l'enzyme xanthine oxydase.....	11
II.2. Structure de la Xanthine Oxydase .....	12
II.3. Distribution et localisation de la Xanthine Oxydase .....	13
II.3. Mode d'action de Xanthine Oxydase .....	13

### CHAPITRE II : DOCKING MOLECULAIRE

I. La bioinformatique.....	15
I.1. Criblage virtuel « <i>Virtual Screening</i> » .....	15
I.2. Etude <i>in silico</i> .....	16
I.3. Docking moléculaire .....	16

## PARTIE PRATIQUE

### CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

I. Matériel .....	18
I.1. Hardwares.....	18
I.2. Softwares .....	18
I.2.1. Les bases de données.....	18
I.2.1.1. Protein Data Bank .....	18
I.2.1.2. Zinc DATABASE .....	19
I.2.2. Programmes.....	20
I.2.2.1. Pymol .....	20
I.2.2.2. Openbabel .....	21
I.2.2.3. AutoDock .....	22
I.3. Le récepteur.....	22
I.4. Les ligands .....	23

## TABLE DES MATIERES

---

II. Méthodes.....	29
II.1. Préparation du récepteur .....	29
II.2. Préparation des ligands .....	29
II.3. Criblage virtuel avec AutoDock vina .....	29
II.4. Analyse des résultats.....	30

### CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Résultats .....	32
I.1. Etude des interactions entre les inhibiteurs et la Xanthine Oxydase .....	32
I.2. Analyse visuelle .....	34
I.3. Les cinq meilleurs inhibiteurs sélectionnés.....	37
I.3.1. Interactions entre le composé A38 et le site actif.....	37
I.3.2. Interactions entre le composé A61 et le site actif.....	38
I.3.3. Interactions entre le composé A49 et le site actif.....	39
I.3.4. Interactions entre le composé A51 et le site actif.....	39
I.3.5. Interactions entre le composé A52 et le site actif.....	40
II. Discussions .....	41
<b>CONCLUSION</b> .....	42
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	43
<b>ANNEXES</b>	

### LISTE DES ABREVIATIONS

<b>3-D</b>	Structures tridimensionnelles
<b>Å</b>	Angstrom
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AINS</b>	Anti-inflammatoire non stéroïdienne
<b>APL</b>	Allopurinol
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>BD</b>	Base de données
<b>DRESS</b>	Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms
<b>EMBL</b>	European Molecular Biology Laboratory
<b>EULAR</b>	European League Against Rheumatism
<b>FAD</b>	Flavine adenine dinucléotide
<b>GHz</b>	Gigahertz
<b>GO</b>	Gigaoctet
<b>HTA</b>	Hypertension artérielle
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>IRM</b>	Imagerie par Résonance Magnétique
<b>KDa</b>	Kilodalton
<b>Mo</b>	Molybdène
<b>NAD</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide
<b>NIH</b>	National Institute of Health
<b>OH</b>	Hydroxyle
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène moléculaire
<b>PDB</b>	Protein Data Bank
<b>PDBQT</b>	Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)
<b>SDF</b>	Spatial Data File
<b>XDH</b>	Xanthine déshydrogénase
<b>XO</b>	Xanthine Oxydase
<b>ZDB</b>	Zinc DATABASE

### LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Accès goutteux du pied.....	5
<b>Figure 2</b> : Goutte tophacée chronique .....	5
<b>Figure 3</b> : Tophus intra-osseux dans une goutte féminine.....	6
<b>Figure 4</b> : Echographie double contour d'un genou attient la goutte .....	7
<b>Figure 5</b> : Echographie avec des points hyperéchogènes en tempête de neige .....	7
<b>Figure 6</b> : structure de l'allopurinol (A) et de l'hypoxanthine (B) .....	9
<b>Figure 7</b> : Processus enzymatique de catabolise des purines .....	11
<b>Figure 8</b> : Structure cristalline de la xanthine oxydase bovin (1fiq) .....	12
<b>Figure 9</b> : Métabolisme de l'acide urique.....	13
<b>Figure 10</b> : Représentation du mécanisme réactionnel de la Xanthine Oxydase .....	14
<b>Figure 11</b> : Criblage Virtuel <i>in-silico</i> .....	15
<b>Figure 12</b> : Interface de base de données Protein Data Bank (PDB).....	18
<b>Figure 13</b> : Graphique représentant le nombre de structures recherchées par an.....	19
<b>Figure 14</b> : Interface de base de données Zinc DATABASE.....	20
<b>Figure 15</b> : Capture d'écran de logiciel Pymol.....	21
<b>Figure 16</b> : Capture d'écran de logiciel Openbabel.....	21
<b>Figure 17</b> : Capture d'écran du logiciel AutoDock vina .....	22
<b>Figure 18</b> : Représentation de la Xanthine Oxydase avec le style ball & stick (A) et le style cartoon (B) par Pymol.....	23
<b>Figure 19</b> : Représentation de la Xanthine Oxydase avec le style surface (C) et le style simple (D) par Pymol .....	23
<b>Figure 20</b> : Position de la boîte d'amarrage dans le site actif de la Xanthine Oxydase .	30

<b>Figure 21</b> : Étapes du Docking moléculaire .....	31
<b>Figure 22</b> : Représentation des énergies de liaison des 10 premiers inhibiteurs contre le récepteur Xanthine Oxydase.....	33
<b>Figure 23</b> : Le ligand A38 est visualisé avec le style stick (A) et le style Lines (B) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	34
<b>Figure 24</b> : Le ligand A36 est visualisé avec le style stick (C) et le style lines (D) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	34
<b>Figure 25</b> : Le ligand A37 est visualisé avec le style stick (E) et le style lines (F) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	35
<b>Figure 26</b> : Le ligand A39 est visualisé avec le style stick (G) et le style lines (H) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	35
<b>Figure 27</b> : Le ligand A49 est visualisé avec le style stick (I) et le style lines (J) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	35
<b>Figure 28</b> : Le ligand A50 est visualisé avec le style stick (K) et le style lines (L) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	36
<b>Figure 29</b> : Le ligand A51 est visualisé avec le style stick (M) et le style lines (N) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	36
<b>Figure 30</b> : Le ligand A52 est visualisé avec le style stick (O) et le style lines (P) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	36
<b>Figure 31</b> : Le ligand A56 est visualisé avec le style stick (Q) et le style lines (R) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	37
<b>Figure 32</b> : Le ligand A61 est visualisé avec le style stick (S) et le style lines (T) dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	37
<b>Figure 33</b> : Mode d'interaction du composé A38 dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	38
<b>Figure 34</b> : Mode d'interaction du composé A61 dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	38

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 35 :</b> Mode d'interaction du composé A49 dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	39
<b>Figure 36 :</b> Mode d'interaction du composé A51 dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	40
<b>Figure 37 :</b> Mode d'interaction du composé A52 dans le site actif de la Xanthine Oxydase .....	40
<b>Figure 38:</b> Comparaison entre l'inhibiteur 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) (A) et l'allopurinol (B) dans le site actif de la Xanthine Oxydase	41

### LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I :</b> Principaux programmes de docking moléculaire .....	17
<b>Tableau II :</b> Les 22 ligands représentés avec le style stick & ball réalisé par Pymol .....	24
<b>Tableau III :</b> Les analogues des inhibiteurs précédents obtenus par Zinc DATABASE.....	27
<b>Tableau IV :</b> Résultats des énergies d'interactions des 10 meilleurs inhibiteurs de la Xanthine Oxydase .....	32



# INTRODUCTION

## Introduction

Le mot médical «rhumatismal» est utilisé dans un sens très général pour désigner un groupe de maladies douloureuses invalidantes affectant avant tout le système locomoteur.

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

La goutte est l'une des maladies métaboliques les plus anciennes [2], frappant surtout les sujets de sexe masculin, âgés de plus de trente ans et de poids supérieur au poids normal [3]. Historiquement connu sous le nom de "maladie des rois" de l'homme riche, la goutte est une arthrite inflammatoire cela a été identifié depuis des périodes antiques. La première description écrite de la goutte remonte à 2600 AVANT JÉSUS CHRIST [4].

Elle est caractérisée par un dépôt de cristaux d'urate monosodique aigue et récidivante susceptible de passer à la longue terme à la chronicité [3]. L'hyperuricémie est identifiée comme le facteur de risque le plus important dans la survenue d'une goutte dont l'acide urique est le produit final du métabolisme des purines [5]. Ces purines sont dégradées par une série de réactions enzymatiques par l'enzyme xanthine oxydase (XO) [6].

L'axe principal de ce travail se situe dans le domaine de bioinformatique. Plus précisément dans la recherche et la découverte de nouveaux médicaments pour les maladies dangereuses comme la goutte, par des techniques informatiques. Le défi se situe au niveau de la conception de nouveaux médicaments, qui est un processus long et très onéreux, et au niveau du déploiement d'un grand nombre de docking sur la grille de calcul. Cependant, les outils existants sont limités pour fournir des procédures concises pour les utilisateurs réguliers (biologistes, chimistes, etc) afin d'arranger les ressources pour mener un amarrage moléculaires massif. Par conséquent, ces derniers rencontrent plusieurs difficultés et problèmes lors de l'utilisation de ces applications, ce qui entraîne une grande perte de temps et d'argent afin d'accélérer la recherche de nouveaux traitements pour les maladies rare.

# PARTIE THEORIQUE

**I. La goutte****I.1. Définition de la goutte**

La goutte est le rhumatisme inflammatoire le plus fréquent à l'échelle mondiale, elle est liée à des dépôts d'acide urique dans les tissus. La goutte est la conséquence d'une hyperuricémie prolongée, mais l'hyperuricémie ne s'accompagne que rarement de la goutte [5]. Elle touche une ou plusieurs articulations ; l'articulation de l'orteil est la plus atteinte, mais celle de la cheville, du poignet, du genou, du coude ou de la main peuvent être concernées [7].

**I.2. Etude épidémiologique**

La goutte est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires de l'homme adulte et cette fréquence semble avoir encore augmenté dans les dernières décennies dans les pays occidentaux et en voie de développement. Les principaux facteurs expliquant cette augmentation sont [8] :

- La goutte est plus fréquente chez l'homme que chez la femme, mais la différence de prévalence entre les deux sexes s'atténue avec l'âge à partir de la ménopause [9] ;
- Le vieillissement des populations ;
- l'augmentation de l'utilisation des diurétiques en particulier comme traitement de l'hypertension artérielle (HTA) ;
- Et surtout les changements alimentaires (mauvaises habitudes diététiques, sodas sucrés, régime occidental) et « l'épidémie d'obésité » [8].

**I.3. Les causes de la goutte**

Parmi les facteurs de risque de développer une goutte, on retient essentiellement [10] :

**I.3.1. Facteur génétique**

Les études d'association à l'échelle du génome entier pour les gènes régulant les concentrations sériques d'urates ont identifié deux gènes régulateurs majeurs de l'hyperuricémie ; les transporteurs rénaux d'acide urique SLC2A9 et ABCG2 [11].

**I.3.2. Hyperuricémie**

L'hyperuricémie est le principal facteur de risque de la goutte, mais il n'engendre pas nécessairement des crises chez les patients [12].

Deux mécanismes principaux mènent à l'hyperuricémie ; un excès de production d'acide urique et surtout un défaut d'élimination rénale. Chez l'Homme, l'acide urique n'est pas ingéré, produit par le foie, il constitue le produit final du métabolisme des bases puriques qui peut être d'origine endogène (du cycle de vie d'une cellule et des acides nucléiques) ou exogène (alimentation). Ces purines sont dégradées par une série de réactions enzymatiques par l'enzyme xanthine oxydase (XO) qui agit de façon irréversible [6].

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

L'acide urique est éliminé principalement par les reins (70–80 %), le reste par l'intestin [14]. Pour qu'il y ait hyperuricémie, l'équilibre entre la production et l'excrétion doit être brisé. Ainsi, certains patients présenteront une excrétion déficitaire et d'autres, une production accrue. Dans les deux cas, la résultante est une augmentation des réserves et des concentrations plasmatiques d'acide urique [13].

### **I.3.3. Alimentation**

Plusieurs études ont démontré que l'alimentation est un facteur de risque de la goutte [11]. Parmi les sources d'acide urique exogènes, certains aliments renferment de grandes quantités de purines (viande, bière, levures...), qui devront être métabolisées et qui entraîneront une production plus importante d'acide urique [12].

Par ailleurs, certains aliments semblent avoir un effet protecteur. Une consommation accrue de produits laitiers a entraîné une diminution des cas de la goutte [13], le lait est riche en acide orotique, un uricosurique naturel [15].

L'obésité est un facteur de risque connu d'hyperuricémie, elle augmente les taux d'acide urique en diminuant l'excrétion rénale avec une production renforcée. L'inverse est aussi vrai, car une perte de poids significative entraîne une baisse des taux d'acide urique [16].

**I.3.4. Médicaments**

Plusieurs médicaments couramment prescrits influencent positivement ou négativement la concentration plasmatique d'acide urique. Ils agissent plus souvent qu'autrement au niveau rénal en freinant ou en stimulant l'excrétion de l'acide urique. Par exemple, l'utilisation régulière de diurétiques provoque une augmentation de la concentration d'acide urique dans le sang. Tel que les diurétiques de l'anse que les thiazidiques réduisent l'excrétion d'urate, probablement par déplétion volumique, ce qui entraînerait une réabsorption au tubule proximal [13].

**I.3.5. Autres facteurs**

Plusieurs types de cancers se manifestent par une augmentation d'acide urique, comme le myélome multiple et plusieurs autres cancers des cellules de la moelle osseuse. Ces cancers répondent habituellement bien à la chimiothérapie et à la radiothérapie. Cependant, la mort d'une grande quantité de cellules cancéreuses en rapport avec l'efficacité du traitement provoque un largage rapide dans le sang de produits intracellulaires, dont l'acide urique. Par conséquent, on observe une augmentation marquée des taux d'acide urique en l'espace de quelques jours suivant le traitement oncologique.

Les patients souffrant d'insuffisance rénale courent également le risque de présenter des crises de la goutte. À défaut de pouvoir excréter convenablement, l'organisme accumule des déchets métaboliques, dont l'acide urique [12,8].

**I.4. les symptômes**

La goutte se manifeste sous deux formes cliniques, l'accès aigu, et la goutte chronique [17] :

**I.4.1. L'accès goutteux ou "la crise de la goutte" typique**

Consiste en une inflammation très douloureuse d'une seule articulation du membre inférieur. La première articulation du gros orteil est la plus fréquemment touchée, mais la crise peut concerner celles du pied, de la cheville ou du genou [18]. Elle survient généralement de façon brutale. Les manifestations sont caractérisées par de très fortes douleurs articulaires, rendant insupportable jusqu'au poids d'un drap. L'articulation apparaît tuméfiée, gonflée, rouge-violine. Avec la résolution de la crise, en quelques jours, la peau de l'orteil desquamé et peut se détacher comme une pelure d'oignon [19].



**Figure 1 : Accès goutteux du pied [18].**

#### **I.4.2. La goutte tophacée chronique**

Elle est de survenue tardive puisqu'elle se manifeste habituellement huit à dix ans après le premier accès goutteux [17]. À plus ou moins long terme et en l'absence de traitement, cela entraînant l'apparition des arthropathies chroniques, avec douleurs mécaniques chroniques, particulières par la présence de dépôts uratiques visibles sous la peau, les tophus. Une destruction articulaire, un handicap fonctionnel important ainsi que, chez certaines personnes, des calculs rénaux révélés par une crise de colique néphrétique, voire une insuffisance rénale [20].



**Figure 2 : Goutte tophacée chronique [17].**

### I.5. Le diagnostic

Le diagnostic de la goutte repose sur un ensemble de critères cliniques selon la recommandation de l'European League Against Rheumatism (EULAR), et apport de l'imagerie. En effet plusieurs classifications de critères cliniques ont été établie afin d'aider au diagnostic de la goutte [21].

#### I.5.1. Apport de l'imagerie

##### I.5.1.1. Radiologie conventionnelle

La radiologie conventionnelle n'est d'aucune aide dans les accès aigus puisqu'elle ne trouve au mieux qu'une sémiologie aspécifique d'épaississement des parties molles périarticulaires [22], en revanche, la radiologie prend toute sa place dans le diagnostic de la goutte chronique notamment lorsqu'elle est tophacée [23].

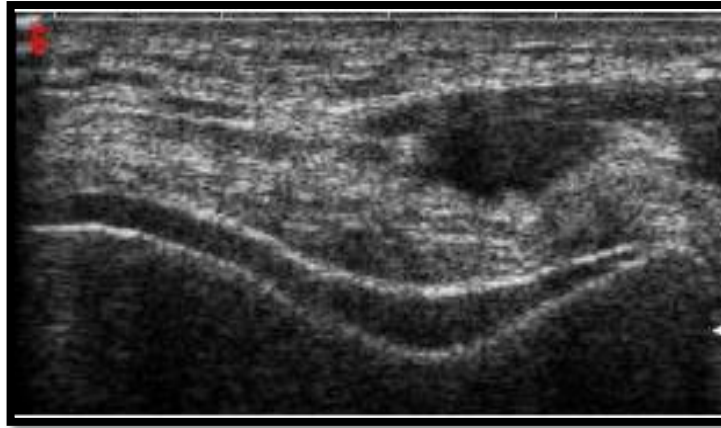


**Figure 3 : Tophus intra-osseux dans une goutte [23].**

##### I.5.1.2. L'échographie

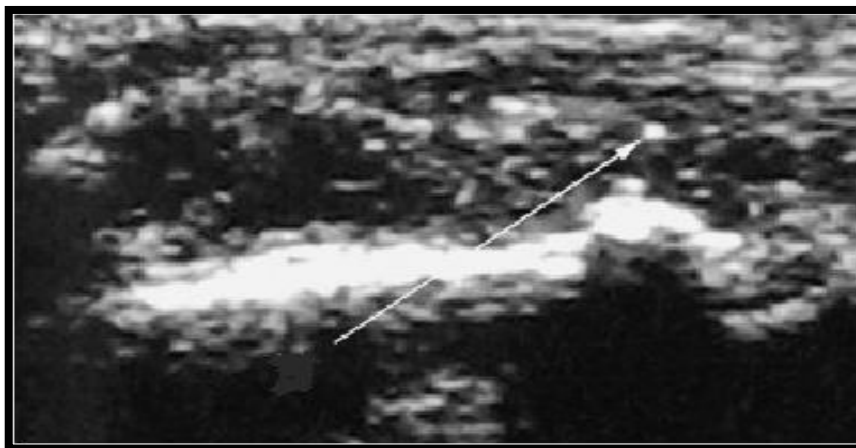
Contrairement à la radiologie conventionnelle, l'échographie peut être particulièrement contributive dans le diagnostic de l'accès goutteux. Certains signes échographiques sont ainsi très spécifiques. Le premier signe est l'image en « double contour » caractérisée par un épais liseré hyperéchogène à la surface du cartilage, ce signe, d'une faible sensibilité est pourtant d'une très bonne spécificité [21].





**Figure 4 : Echographie double contour d'un genou atteint de la goutte [22].**

Un autre signe échographique évocateur de la goutte est l'aspect en «tempête de neige» au sein des épanchements articulaires, qui se traduit par un aspect hétérogène du liquide articulaire avec des agrégats hyperéchogènes de taille et de formes différentes [22].



**Figure 5 : Echographie avec des points hyperéchogènes en tempête de neige [22].**

### I.5.1.3. L'Imagerie par Résonance Magnétique

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) pratiquée au cours d'un accès aigu trouve essentiellement les signes aspécifiques d'inflammation articulaire aiguë [23].

Le principal intérêt de L'IRM dans la goutte chronique est de visualiser précocement des lésions cartilagineuses afin de prévoir l'importance de la destruction articulaire ultérieure [23].

**I.6. Le traitement de la goutte**

Les médicaments antigoutteux agissent soit en inhibant les réactions inflammatoires, c'est ce que fait la colchicine et les anti-inflammatoire non stéroïdienne (AINS), soit en réduisant la concentration d'acide urique en diminuant sa formation par inhibition de la xanthine oxydase [25].

**I.6.1. Traitement de la crise aiguë**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens constituent habituellement le traitement de première intention de la crise de la goutte et la colchicine orale un traitement de deuxième intention [26].

**I.6.1.1. Anti-inflammatoire non stéroïdienne**

Un AINS est une option simple et bien tolérée [27]. Il est utilisé pour traiter les manifestations douloureuses associées à la crise aiguë, si pas de contre-indications digestives, rénales et cardiovasculaires [28].

**I.6.1.2. Colchicine**

La colchicine est un alcaloïde extrait du colchique. Son utilisation thérapeutique est essentiellement liée à ses propriétés anti-inflammatoires, justifiant ses indications en prophylaxie et traitement de l'accès aigu de la goutte [28]. Elle inhibe la motilité des leucocytes, ce qui les empêche d'affluer autour des cristaux d'acide urique [29]. Son utilisation est délicate en raison de ses effets indésirables et graves [26] :

**a. Effets Secondaires**

Les premiers signes d'intoxication sont des troubles digestifs, surtout diarrhée, nausées et vomissements [27], et aussi :

- Troubles hématologiques parfois mortels (agranulocytose, leucopénie, thrombopénie, anémie) [26];
- Neuromyopathies réversibles à l'arrêt du traitement [26];
- Ces troubles sont favorisés par une insuffisance rénale, notamment chez les personnes âgées, ainsi que par l'association à certains médicaments [25];
- Produit toxique qui pouvant entraîner la mort en cas de surdosage important (dose supérieure à 40 mg/ 50 kg pour une femme, ou à 50 mg/ 60 kg pour un homme) [30].

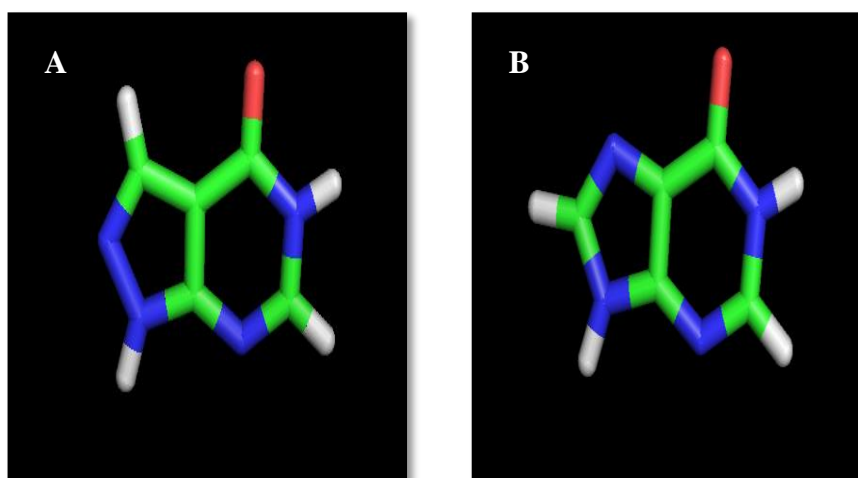
### I.6.2. Traitements Hypouricémiants

Un traitement hypouricémiant efficace entraîne la diminution puis la disparition des crises aiguës de la goutte, des cristaux d'urate de sodium dans le liquide synovial et des tophus. Le principale traitement hypouricémiants ces dernières années, c'est l'allopurinol [31].

#### I.6.2.1. Allopurinol

L'allopurinol (ALP) (4-hydroxypyrazolo [3, 4-d] pyrimidine) [32], est un substrat pour la xanthine oxydase qui le métabolise en oxypurinol ou alloxanthine, lui-même inhibiteur de cette enzyme, il est responsable, en grande partie, de l'effet thérapeutique de l'allopurinol [33]. Il reste le traitement de référence de la goutte chronique [34]. Cependant, l'allopurinol peut être mis en défaut parce qu'il est mal toléré ou parce qu'il n'est pas assez efficace [27].

L'allopurinol a une structure analogue à l'hypoxanthine [35].



**Figure 6 : Structure de l'allopurinol (A) et de l'hypoxanthine (B).**

#### a. Effets secondaires

Comme tous les médicaments, l'allopurinol peut provoquer des effets indésirables :

- L'allopurinol peut provoquer de la diarrhée, des douleurs abdominales, des nausées et des vomissements [27];

- L'allopurinol peut provoquer des toxidermies graves, incluant des syndromes de Lyell (appelé aussi nécrolyse épidermique toxique [36]); et des syndromes d'hypersensibilité médicamenteuse (DRESS : Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms [37]).
- Hypersensibilité généralisée (degrés fièvre, atteinte de l'état général, éruption cutanée, polyadénopathie, atteinte hépatique, atteinte rénale, hyperéosinophilie...) [38];
- La conversion de l'allopurinol en oxypurinol permet la production des radicaux superoxydes [39].
- Interactions médicamenteuses: l'allopurinol diminue le métabolisme de certains médicaments ce qui potentialise leurs effets secondaires [40], comme :
  - Pénicillines du groupe A : augmentation des réactions cutanées [41];
  - Anticoagulants oraux: potentialisation du risque hémorragique [38].
- En cas de survenue de ces effets indésirables, le médicament doit être immédiatement interrompu, et ce, de façon définitive, compte tenu du risque de syndrome de DRESS, pouvant être fatal [29].

## II. La xanthine oxydase

### II.1. Définition de l'enzyme xanthine oxydase

La xanthine oxydase (XO) est une molybdo-enzyme présente chez toutes les espèces, notamment aux niveaux intestinal et hépatique chez les mammifères, XO est nommé ainsi parce que la xanthine était considérée comme son substrat physiologique. Plus tard il a été trouvé que XO a une faible spécificité de substrat et il oxyde beaucoup de composés aromatiques des hétérocycles, des aldéhydes et des alcools, et les purines qui sont l'adénine et la guanine [42].

Elle catalyse les deux étapes terminales du catabolisme des bases puriques, à savoir la conversion de l'hypoxanthine en xanthine et celle de la xanthine en acide urique [43]. Ce dernier joue un grand rôle dans la goutte et l'hyperuricémie [44].

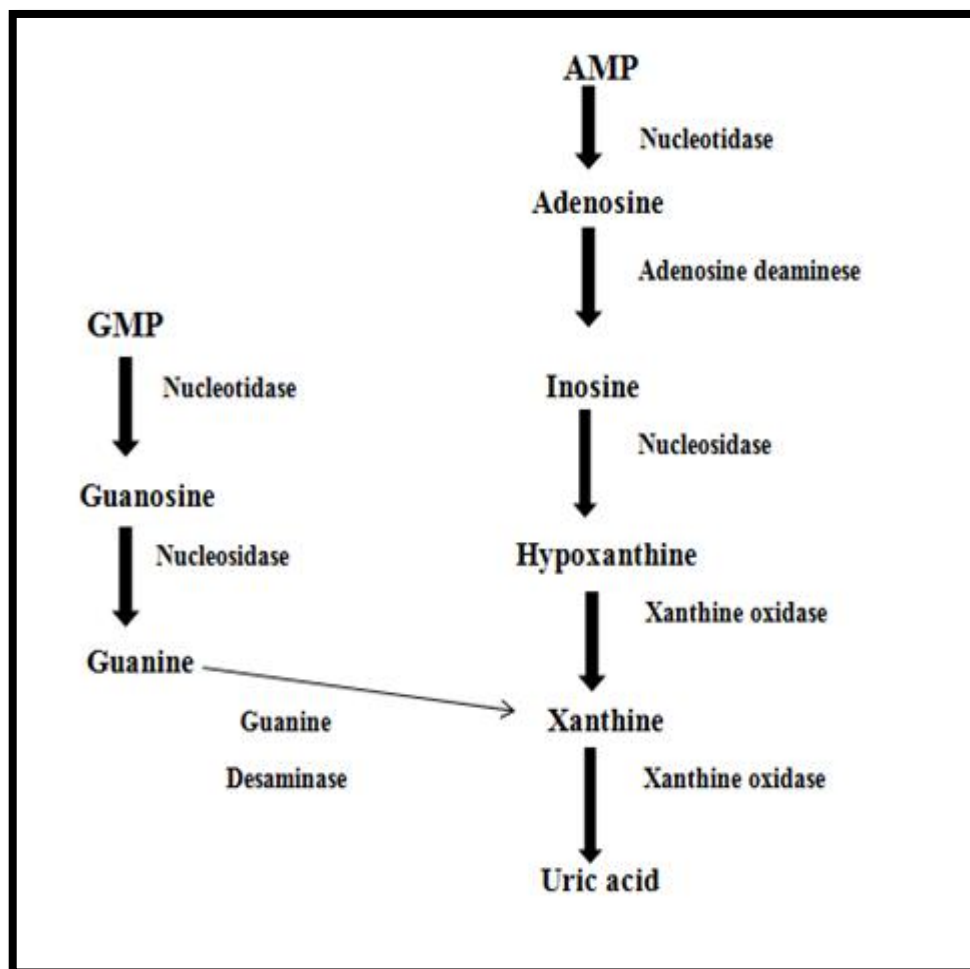
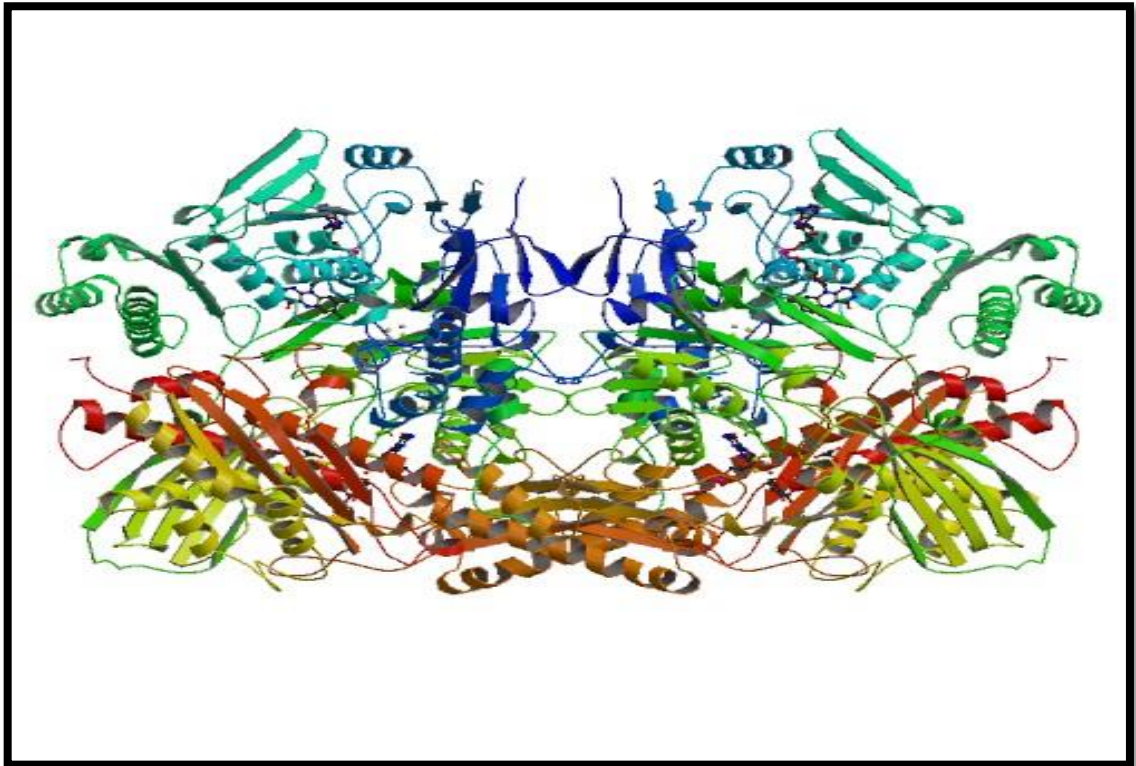


Figure 7: Processus enzymatique de catabolisme des purines [45].

## II.2. Structure de Xanthine Oxydase

La xanthine oxydase (XO) de mammifère existe comme homodimère de sous-unités de 150 kDa [46], l'interface entre les sous-unités se produit de telle sorte que le complexe global a une forme de papillon. Chaque sous-unité est organisée en trois domaines associés à un cofacteur spécifique. Le domaine N-terminal (acides aminés 1-165) se compose de deux sous-domaines, chacun avec un centre fer-soufre ( $\text{Fe}_2\text{-S}_2$ ) coordonné à quatre résidus de cystéine. Un peptide de liaison le relie au domaine intermédiaire (acides aminés 226-531), qui contient une poche de liaison profonde pour flavine adénine dinucléotide (FAD) qui positionne l'anneau de flavine à proximité immédiate d'un centre  $\text{Fe}_2\text{-S}_2$ . Un autre peptide attaché rejoint le domaine FAD avec le domaine C-terminal (acides aminés 590-1332), qui est le plus grand domaine et l'emplacement de la liaison molybdène-Cterminale (Mo-Co) [45].



**Figure 8 : Structure cristalline de la xanthine oxydase (1fiq) du bovin**

(<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1fiq>).

Le gène qui code pour la xanthine oxydase (XO) humaine est localisé dans le chromosome 2 bande p22; il est formé de 36 exons et 35 introns. Sa séquence, est de 1333 acides aminés ; elle est quasi homologue à celle de la XO de la souris et du rat [47].

### II.3. Distribution et localisation de la Xanthine Oxydase

La XO est largement distribuée dans la plus part des êtres vivants [44], comme les bactéries, l'homme, les levures, les insectes, certain nombre d'espèces des plantes [44,48]. Chez les mammifères notamment l'homme, la quantité de XO varie suivant les organes : elle est localisée au niveau de la glande mammaire, très abondant dans le lait, le cytoplasme et la membrane cellulaire et surtout dans les cellules hépatiques et intestinale (l'intestin grêle) où elle possède une activité très élevée [49,50].

Selon JARASCH a pu localiser cette enzyme grâce à de techniques d'immunofluorescence dans le cytoplasme des cellules endothéliales des capillaires sanguins [51].

### II.4. Mode d'action de Xanthine Oxydase

L'acide urique est le produit de dégradation des purines ingérées et synthétisées comme endogène. L'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN) sont dégradés en nucléotides et bases de purine, qui sont ensuite métabolisés par l'action de la xanthine oxydase en xanthine et en acide urique. Ces étapes ultérieures sont irréversibles [52].

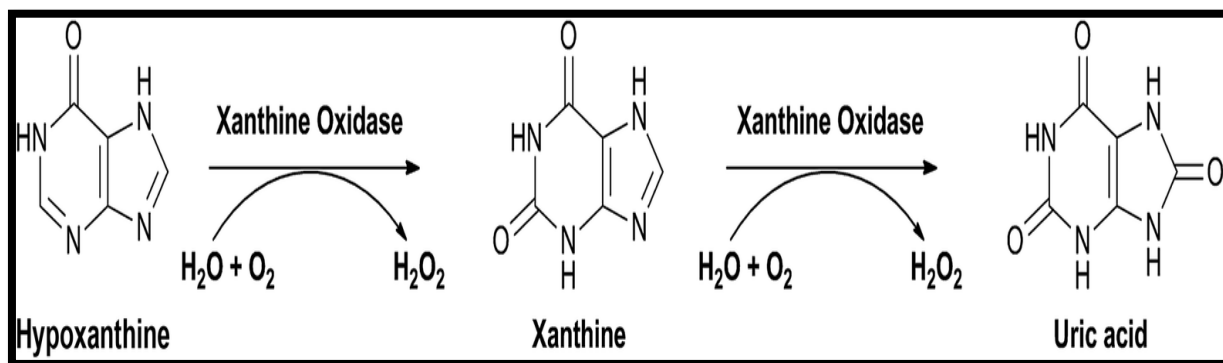


Figure 9 : Métabolisme de l'acide urique [3].

La réaction de XO suit un mécanisme bi-bi typique de ping-pong peut être présenté comme deux demi-réactions indépendantes, montrées dans les deux étapes suivant [53] :

- ❖ La première étape est une demi-réaction de réduction qui a lieu au niveau du centre Mo. Elle est caractérisée par la réduction de Mo(VI) en Mo(IV) et l'oxydation de la xanthine en acide urique. Pour continuer sa fonction catalytique, le molybdène perd les deux électrons [54]. Ces derniers sont transférés au centre FAD par l'intermédiaire

des clusters  $Fe_2/S_2$ . Sachant que les centres  $Fe_2/S_2$  peuvent être considérés comme des pompes d'électrons [55].

- ❖ La deuxième est une demi-réaction d'oxydation qui se déroule au centre FAD. Dans cette étape, si la réaction est catalysée par la xanthine déshydrogénase (XDH), FADH<sub>2</sub> transfère les deux électrons au nicotinamide adénine dinucléotide NAD<sup>+</sup> pour donner NADH. Si elle est catalysée par la XO, les électrons seront transférés à l'oxygène moléculaire O<sub>2</sub> pour produire le radical superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) d'une manière univalente, ou d'une manière bivalente en donnant le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ce dernier forme, par les réactions de Fenton et/ou Haber- Weiss, le radical hydroxyle (OH) [56].

La xanthine se fixe sur l'enzyme et donne le premier produit qui est l'acide urique ; ensuite l'oxygène se fixe comme un second substrat et produit le radical superoxyde, sachant que la xanthine oxydase utilise l'eau comme source d'oxygène, plutôt que l'oxygène moléculaire [53].

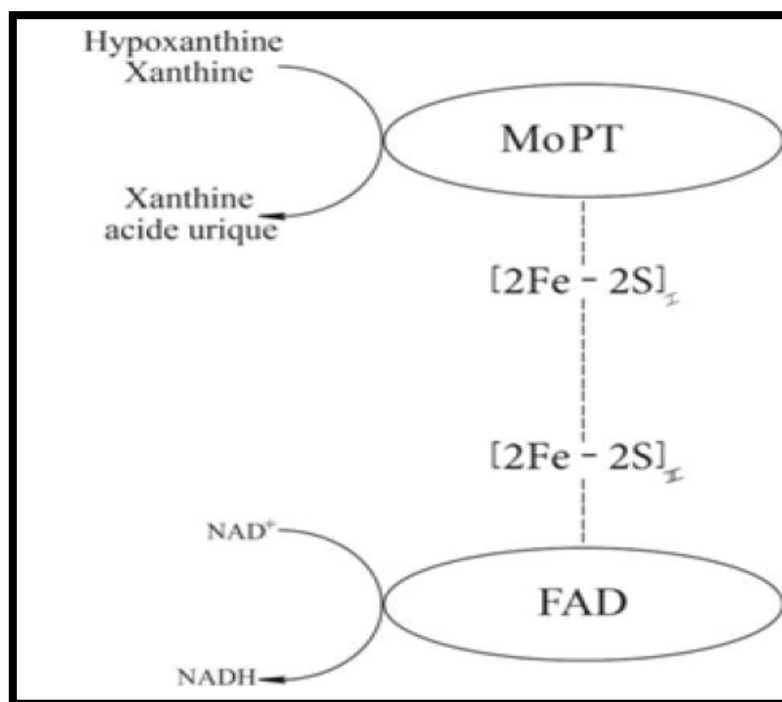


Figure 10 : Représentation du mécanisme réactionnel de la Xanthine Oxydase [53].



## I. La bioinformatique

La biologie computationnelle ou bio-informatique [57] est un domaine scientifique interdisciplinaire de sciences informatiques et de la biologie [58]. Elle s'intéresse particulièrement au rapport entre la structure, la dynamique des macromolécules et leur fonction biologique [57], qui recouvre l'ensemble des technologies et des méthodes permettant de collecter, de stocker, d'analyser et d'interpréter les données biologiques [59].

La bioinformatique actuelle se concentre surtout sur l'étude des séquences d'ADN et sur le repliement des protéines, donc travaille surtout au niveau moléculaire [60]. Il s'agit d'une discipline récente, qui prend ses origines au début des années 1980 lorsque le laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL : European Molecular Biology Laboratory) et le département américain de la santé (NIH : National Institute of Health) ont créé les banques de données EMBL et GENBANK pour répertorier les séquences d'ADN découvertes par les biologistes. La bioinformatique donc rend plus simple le tri des molécules à tester et réduit fortement le temps de recherche et de mise au point des nouveaux médicaments [61].

### I.1. Criblage virtuel « *Virtual Screening* »

Le terme criblage virtuel «*Virtual Screening*» regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'exploration de bases de composés à la recherche de nouvelles molécules. Une analogie souvent utilisée compare ces techniques à des filtres qui permettraient de constituer des ensembles de molécules partageant certaines propriétés et de sélectionner les plus susceptibles d'interagir avec une cible donnée [62].

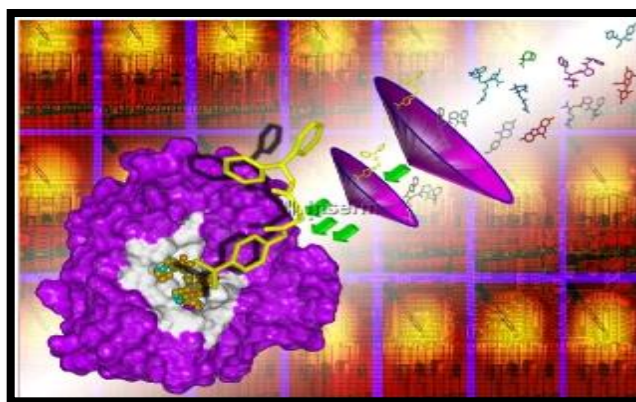


Figure 11: Criblage Virtuel *in-silico* (<http://serimedis.inserm.fr>).

Aujourd'hui, le criblage virtuel est largement utilisé pour identifier de nouvelles substances bioactive et pour prédire la liaison d'une grande base de données de ligands à une cible particulière, dans le but d'identifier les composés les plus prometteurs. Il s'agit d'une méthode qui vise à identifier les petites molécules pour l'interaction avec les sites de protéines cibles afin de faire des analyses et des traitements ultérieures. Plus précisément, le criblage virtuel est défini comme l'évaluation automatique de très grandes banques de composés à l'aide de programmes informatiques, il se réfère à une série *in-silico*, qui est une technique effectuée à base d'ordinateur ou par l'intermédiaire des modèles mathématiques et des simulations informatiques. Il aide à la découverte de nouveaux médicaments et de déterminer de nouveaux composés les plus susceptibles pour se lier à une molécule cible présentant d'une structure 3D connue [63].

### **I.2. Etude *in silico***

Par analogie avec les expressions *in vivo* et *in vitro*, le terme « *in silico* » a été introduit pour qualifier les méthodes numériques mises en œuvre pour traiter de tels systèmes. De par son nom, ce terme fait référence au silicium, matériel principal retrouvé dans les puces informatiques de tous les ordinateurs. *In silico* c'est un modèle biomathématique utilisant des bases de données issues d'expérimentation *in vivo* ou *in vitro*, permettant d'analyser, grâce à des logiciels informatiques, les propriétés recherchées ou indésirables d'une substance en fonction de sa structure ou de sa réactivité, et de raccourcir les temps de recherche [64].

### **I.3. Docking moléculaire**

Le docking ou amarrage protéine-protéine [65] est une technique informatique [66] qui permet de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure d'une protéine, et optimiser aussi des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur [67]. Il se déroule en deux étapes distinctes :

- ✓ Dans un premier temps une étape de positionnement du ligand dans le site choisi de la protéine,
- ✓ Puis dans un second temps, une étape d'évaluation des interactions énergétiques potentielles entre le ligand et la protéine [68].

Les méthodes utilisées pour ces deux étapes diffèrent en fonction du programme de docking utilisé, plus de 30 logiciels de docking sont actuellement disponibles [67].

Tableau I : Principaux programmes de docking moléculaire [67].

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

Le docking moléculaire est une technologie difficile à mettre en œuvre car elle doit être appliquée et constamment adaptée en fonction du contexte dans lequel le projet se place. Il est néanmoins possible de fournir des guides en fonction du type de protéine, site actif et ligand(s) à ancrer [67].

Les principales causes d'erreurs sont :

- Site actif dénué de cavité ;
- Flexibilité de la protéine ;
- Influence de l'eau ;
- Imprécision des fonctions d'évaluations ;
- Interactions non usuelles ;
- Flexibilité du ligand ;
- Pseudosymétrie du ligand ;
- Mauvais jeux de coordonnées (protéine) ;
- Mauvais types atomiques (ligand, protéine) [69].

# PARTIE PRATIQUE

## I. Matériels

### I.1. Hardwares

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur ayant une mémoire de 2,00 GO et un processeur Intel(R) celeron(R) CPU N2840 @ 2.16GHz, sous le système d'exploitation 32 bits, processeur x64 versions 2013.

### I.2. Softwares

#### I.2.1. Les bases de données

##### I.2.1.1. Protein Data Bank

Protein Data Bank (PDB) ou Banque de Données sur les Protéines (APB) [<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>] est une base de données contenant des expériences qui déterminent la structure tridimensionnelle (3D) des protéines, des acides nucléiques et d'autres macromolécules [70].



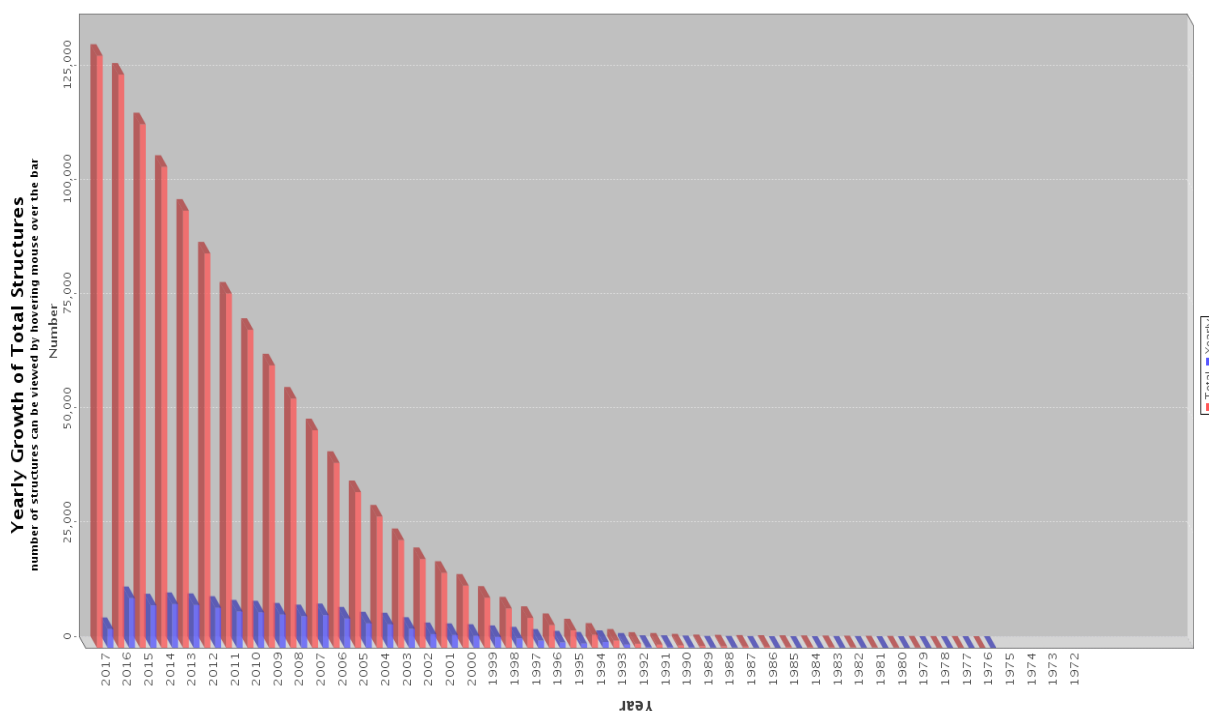
The image shows a screenshot of the Protein Data Bank (PDB) website. The top navigation bar includes links for Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, and More. The main header features the PDB logo and a search bar. Below the header, there are tabs for Structure Summary, 3D View, Annotations, Sequence, Sequence Similarity, Structure Similarity, Experiment, and Literature. The main content area displays the entry for 1FIQ, titled "CRYSTAL STRUCTURE OF XANTHINE OXIDASE FROM BOVINE MILK". It includes the DOI, classification as OXIDOREDUCTASE, deposition and release dates, authors (Enroth, C., Eger, B.T., Okamoto, K., Nishino, T., Nishino, T., Pai, E.F.), and organism (Bos taurus). There is also a section for Experimental Data Snapshot and wwPDB Validation metrics.

Metric	Percentile Ranks	Value
Clashscore	0	19
Ramachandran outliers	0	1.5%

Figure 12 : Interface de Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>).

Elle a été établie en 1971 en comportant uniquement 7 structures. Depuis cette époque, le nombre de structures 3D de macromolécules ne cesse à croître arrivant au juin 2017 à environ 130 599 macromolécules.

Le graphique suivant affiche le nombre de structures recherchées par an.



**Figure 13** : Graphique représentant le nombre de structures recherchées par an (<http://www.rcsb.org/pdb/statistics/contentGrowthChart.do?content=total&seqid=100>).

**Remarque** : les structures consultables varient avec le temps car certains deviennent obsolètes et sont supprimés de la base de données.

#### I.2.1.2. Zinc DATABASE

Zinc DATABASE [<http://zinc.docking.org/>] est une base de données à accès libre de petites molécules organiques disponibles dans le commerce pour la découverte de médicaments et contient actuellement 95612850 de composés uniques [71].

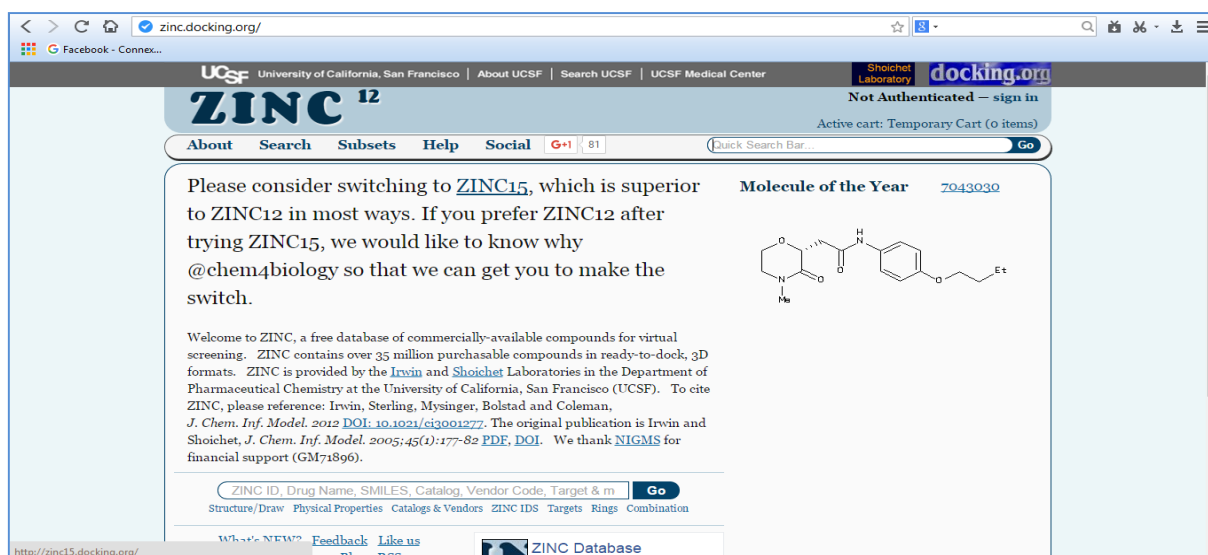


Figure 14 : Interface de Zinc DATABASE (<http://zinc.docking.org/>).

### I.2.2. Programmes

Pour les calculs de docking moléculaire, nous avons utilisé la version la plus récente du programme AutoDock Vina intégrée dans PyRx 0.8. Ce dernier est une interface graphique regroupant les programmes AutoDock wizard, AutoDock Vina et OpenBabel facilitant ainsi le criblage virtuel. Le deuxième programme utilisé dans cette étude est Pymol (1 ; leval). Il permet la construction moléculaire tridimensionnelle des ligands et de visualiser les interactions XO-ligands. Open Babel (2.4.1) est le dernier logiciel utilisé dans cette étude. C'est un programme libre visant à faciliter l'interconversion des données chimiques d'un format à un autre de fichiers de divers types (pdb, mol, mol2...etc.).

#### I.2.2.1. Pymol

PyMOL [<http://www.pymol.org>] est un logiciel de visualisation moléculaire, édité par la société DeLano Scientific. Il s'agit d'un logiciel libre et gratuit [72].

Ce logiciel a de nombreuses fonctionnalités, telles que :

- Visualisation de structures moléculaires et d'objets géométriques en 3D ;
- Support de nombreux formats de fichier ;
- Animation dynamique des molécules ;
- Outil pour le chargement de structures depuis le site de la Protein Data Bank ;
- Manipulation de plusieurs molécules d'une manière conjointe ou indépendante ;

- Nombreux styles de visualisation moléculaire, avec la possibilité d'avoir des effets d'ombre, des vues stéréoscopiques, de modifier la perspective...

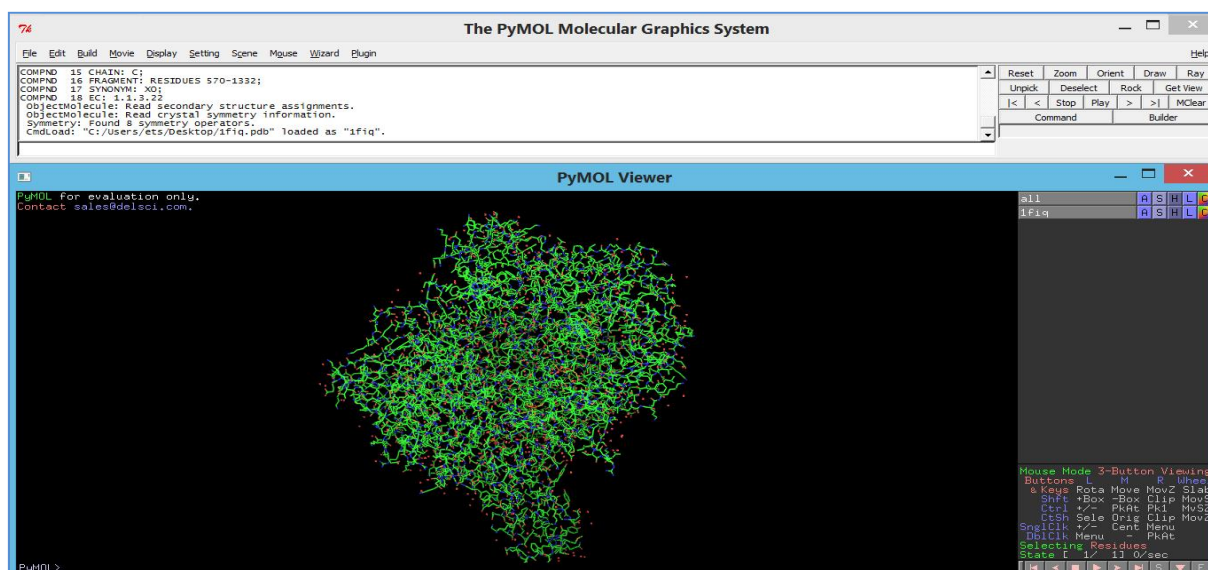


Figure 15 : Capture d'écran de logiciel Pymol.

#### I.2.2.2. Openbabel

Open Babel [[http://openbabel.org/wiki/Main\\_Page](http://openbabel.org/wiki/Main_Page)] est une boîte à outils chimique conçue pour parler les nombreuses langues de données chimiques. C'est une boîte à accès libre permettant à quiconque de rechercher, convertir, analyser ou stocker des données à partir de modélisation moléculaire, chimie, état solide matériaux, biochimie ou domaines connexes [73].

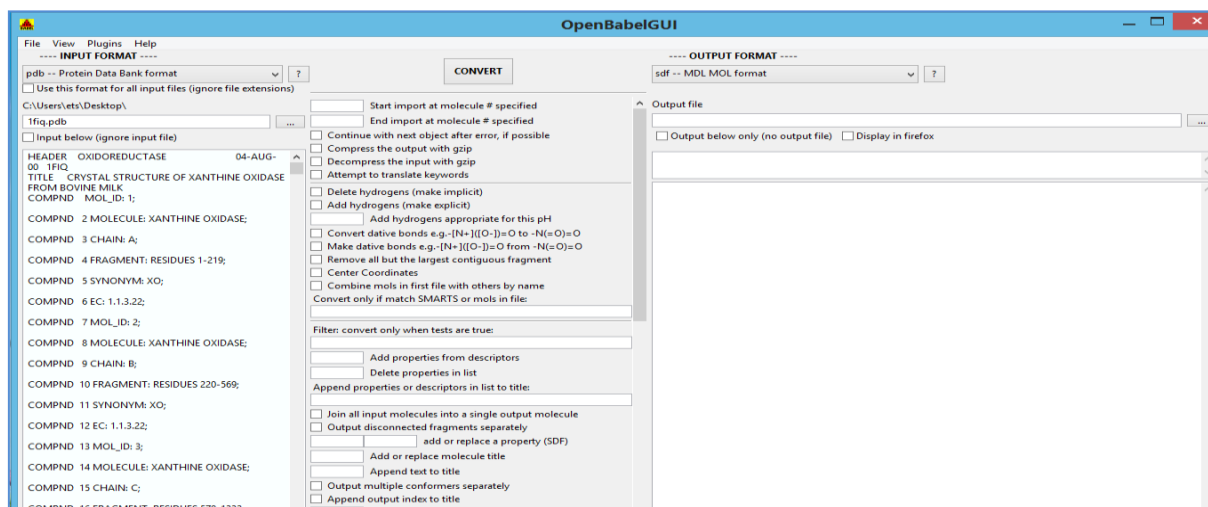
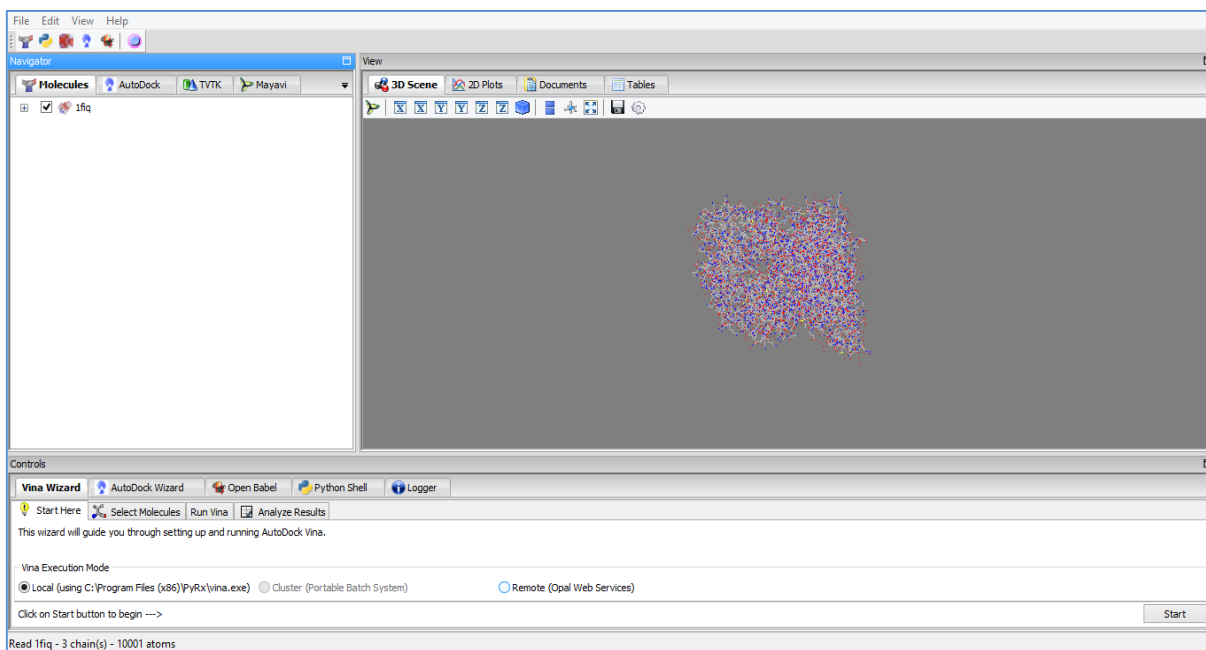


Figure 16 : Capture d'écran de logiciel Openbabel.



## I.2.2.3. AutoDock

L'AutoDock est un programme de docking moléculaire destinés à prédire la conformation la plus favorable d'un ligand au sien de son récepteur [74]. Ce logiciel est distribué avec une suite d'outils graphiques pour préparer les expériences de criblage virtuel, ainsi que plusieurs tutoriels, améliorant ainsi son accessibilité [75].



**Figure 17 : Capture d'écran du logiciel AutoDock vina.**

La conformation des ligands dockés peut être visualisée à l'aide des outils fournis sur le site d'Autodock, ou bien à l'aide d'un logiciel permettant de visualiser les fichiers au format PDB, tel que PyMOL [75].

### I.1.3. Le récepteur

La structure tridimensionnelle de la protéine cible (l'enzyme xanthine oxydase) utilisé dans ce travail provient de la banque de donnée PDB.

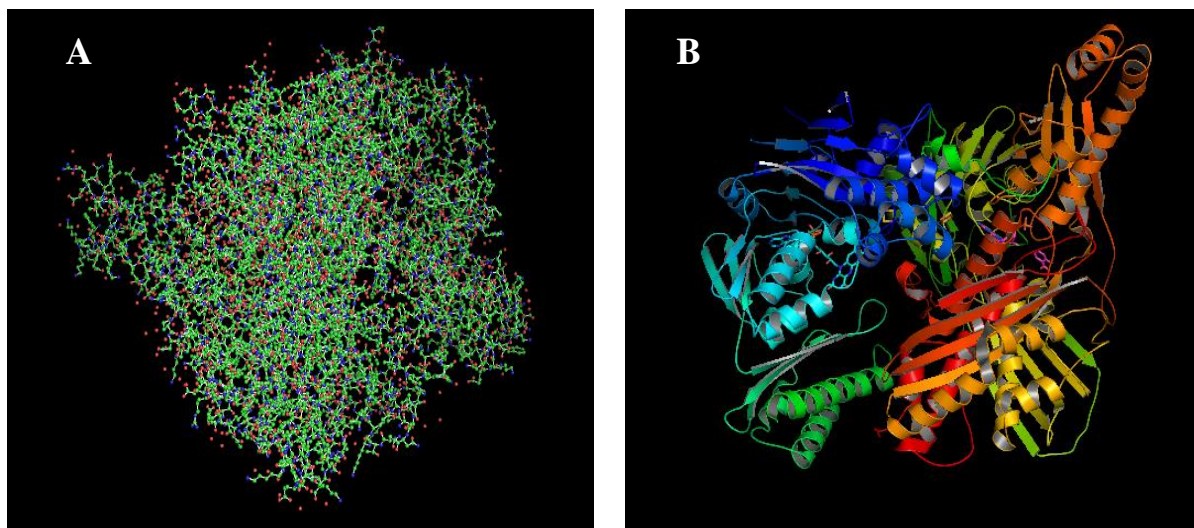


Figure 18 : Représentation de la XO avec le style ball & stick (A) et style cartoon (B) par Pymol.

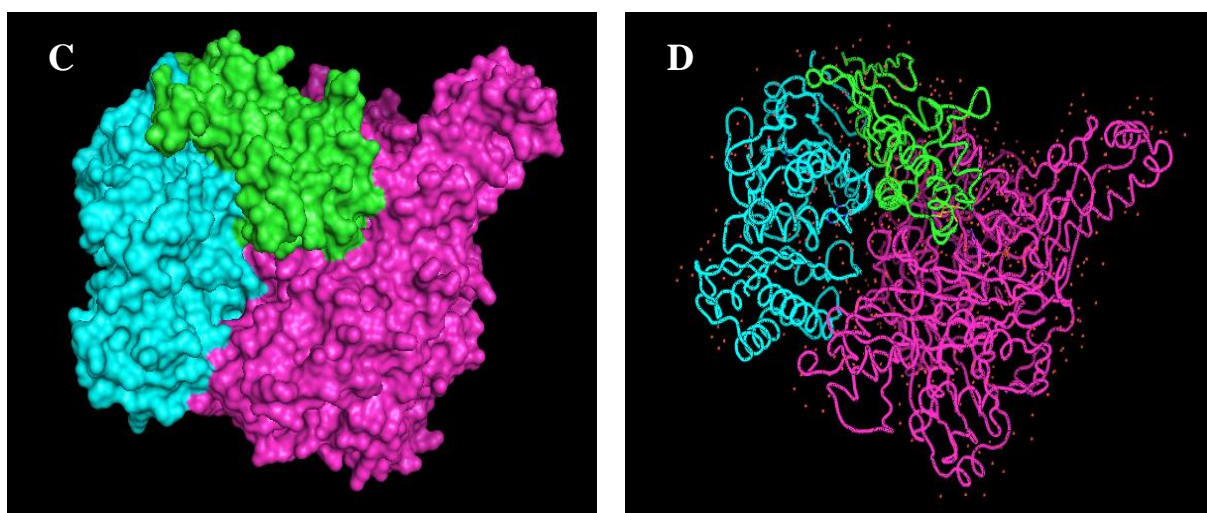
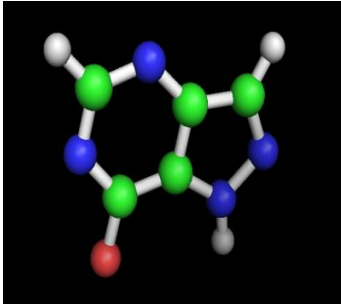
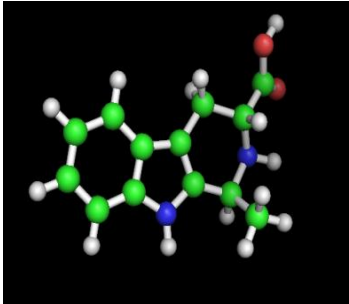
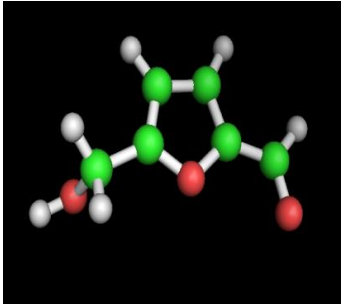
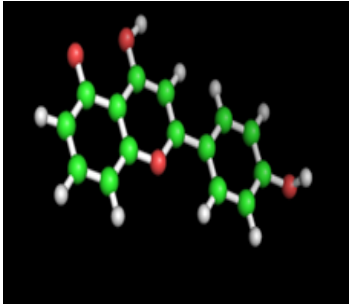
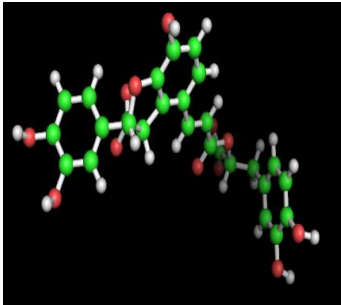
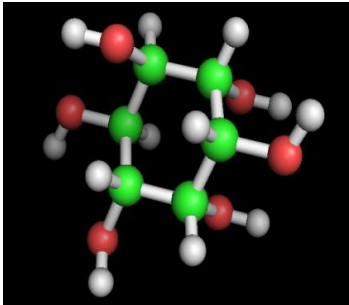
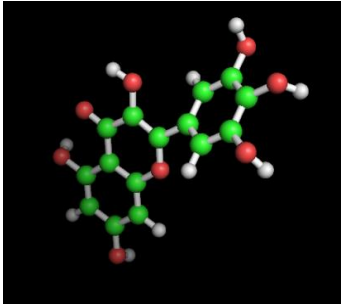
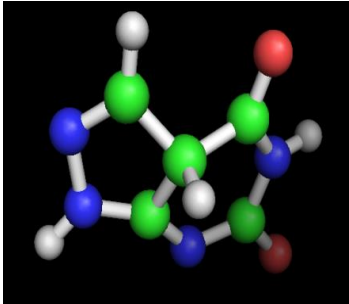


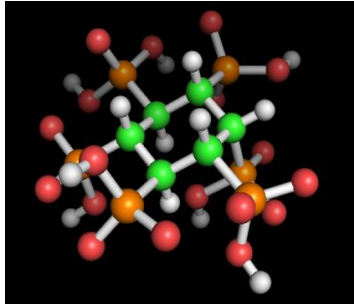
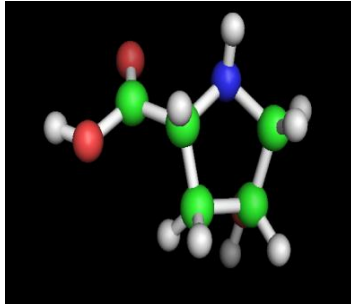
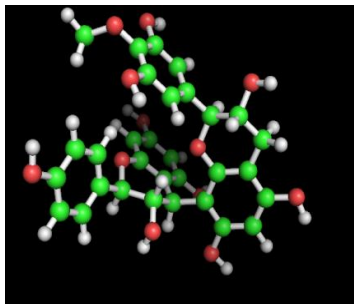
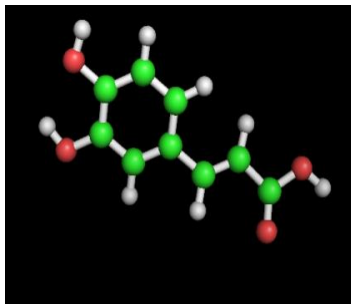
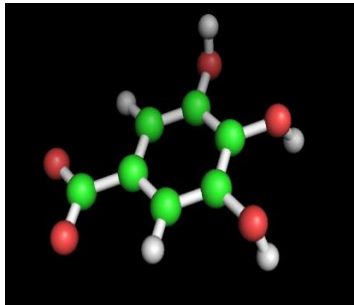
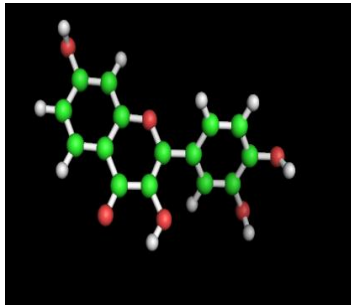
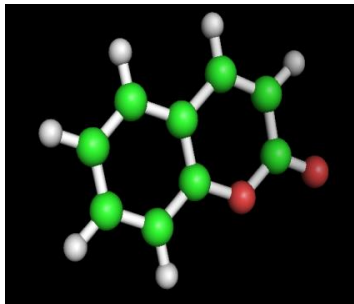
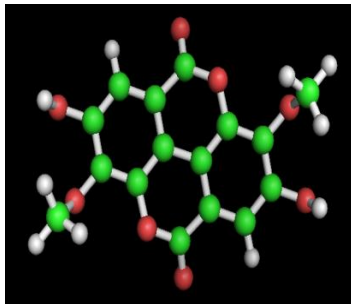
Figure 19 : Représentation de la XO avec le style surface (C) et style simple (D) par Pymol.

#### I.4. Les ligands

Nos ligands obtenus de la Zinc DATABASE ou de la littérature sont dessinés par le logiciel de construction moléculaire Pymol avec le style stick & ball.

Tableau II : Les 22 ligands représentés avec le style stick &amp; ball réalisé par Pymol.

Le nom	La structure 3D	Le nom	La structure 3D
Allopurinol		1,3,6,7-tetrahydroxypurine	
5-hydroxymethylfurfural		Apigenin derivatives	
Lithospermic acid		Myo-inositol	
Myricetin		Oxypurinol	

Phyticacid		Polyhydroxylated	
Proanthocyanidins		Caffeic acid	
Gallicacid		Kaempferol	
Coumarin		Ellagicacid	

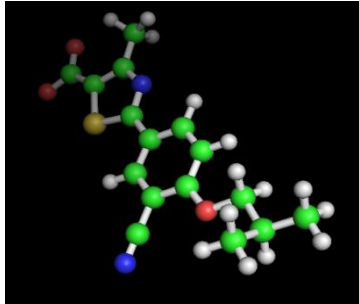
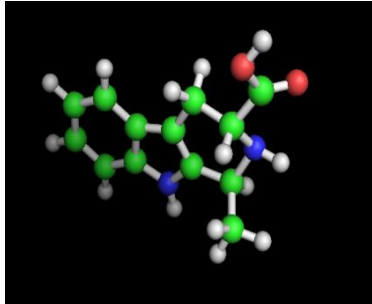
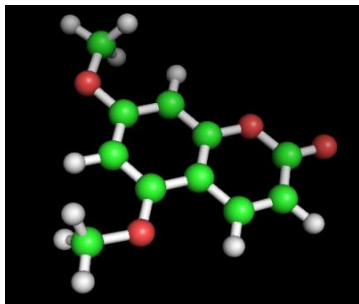
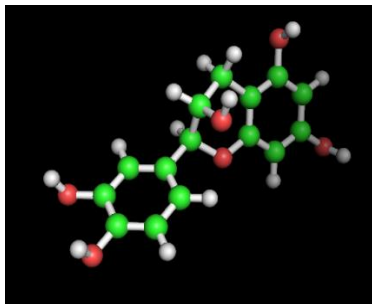

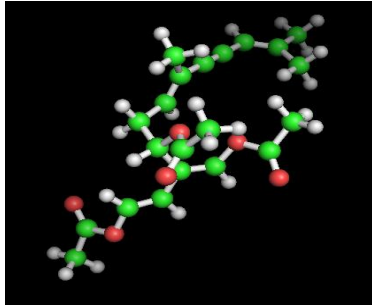
Febuxostat		1 methyl, 2, 3, 4 tetrahydro B carboline -3 carboxylic acid	
5-7- dimethoxycou marin		Catechin	
Quercetin		Caulerpényne	

Tableau III : Les analogues des inhibiteurs précédents obtenus par Zinc DATABASE.

Les inhibiteurs	Les analogus
1 methyl, 2, 3, 4 tetrahydro B carboline -3 carboxylicacid	0
1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone	0
5-7-dimethoxycoumarin	ID-134016 ID-391177 ID-898345 ID-2573884 ID -14443532
5-hydroxymethylfurfural	0
Allopurinol	ID -13298313 ID -13518519 ID -13545810
Apigeninderivatives	ID -57658 ID -57676 ID -57679 ID -57686 ID -338216
Caulerpenyne (CYN)	0
Caffeicacid	ID -58222 ID -155996 ID -1564653 ID -4482687 ID -12410372 ID -13549916
Catechin	ID -119983 ID -119985 ID -119988 ID -28974985

Coumarin	<b>ID -401218</b> <b>ID -2555614</b> <b>ID -6118510</b>
Ellagicacid	<b>ID -3872446</b> <b>ID -5784243</b> <b>ID -85664748</b> <b>ID -85664752</b> <b>ID -85664755</b>
Febuxostat	<b>0</b>
Gallicacid	<b>ID -13246</b> <b>ID -388546</b>
Kaempferol	<b>ID -57647</b> <b>ID -57750</b> <b>ID -57752</b> <b>ID -120273</b> <b>ID -3869685</b>
Lithospermicacid	<b>ID -4097773</b> <b>ID -4097774</b> <b>ID -4097775</b>
Myo-inositol	<b>ID -9970293</b>
Myricetin	<b>ID -14436449</b>
Oxypurinol	<b>ID -84462581</b>
Phyticacid	<b>0</b>
Polyhydroxylated	<b>0</b>
Proanthocyanidins	<b>0</b>
Quercetin	<b>ID -39111</b> <b>ID -39321</b> <b>ID -517261</b>

## II. Méthodes

La procédure de docking avec AutoDock se décompose en 4 étapes :

### II.1. Préparation du récepteur

La structure 3 D de XO, objet de notre étude, a été téléchargée sous format PDB via la banque de donnée Protein Data Bank sous le code 1fiq. Il s'agit d'une structure correctement définie par cristallographie aux rayons X avec une résolution égale à 2.5 Å. Enfin, le fichier de la protéine ainsi préparée a été enregistré.

### II.2. Préparation des ligands

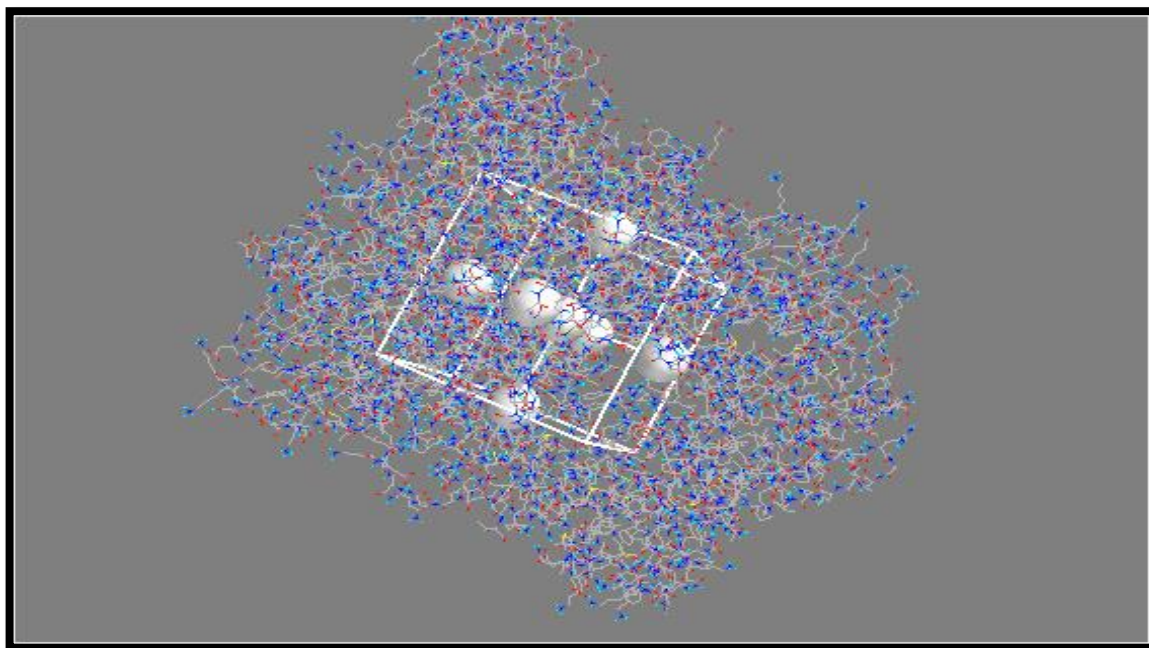
Les 22 inhibiteurs utilisés pour l'étude de visualisation moléculaire proviennent de la littérature. Il était indispensable de faire appel au programme Pymol afin de construire manuellement les structures 3D de ces ligands.

Parallèlement, on va télécharger les analogues de structure de ces 22 inhibiteurs à partir de Zinc DATABASE, et on obtient au totales 64 ligands sous forme SDF, puis convertis en PDB à l'aide du programme OpenBabel.

### II.3. Criblage virtuel avec AutoDock vina

Le criblage virtuel a été réalisé avec le programme Autodock Vina. La protéine a été gardée rigide pendant le docking tandis que les ligands ont été considérés comme flexibles. Les torsions sur les ligands sont attribuées automatiquement lors de la conversion du PDB au PDBQT. Par la suite, le site actif a été défini manuellement de manière à englober la totalité de l'espace couvert par le ligand de référence dans la structure d'origine (1fiq). Le centre de la boîte de recherche conformationnelle résultante a été déterminé par les coordonnées X : 28,6877 Y : 29,8538 et Z : 101,4169 avec les dimensions 28,7221 Å pour chaque une (Voire Figure N°20). La boîte qui en résulte englobe largement le site actif de l'enzyme en permettant la libre rotation des ligands étudiés dans cet éventuel site.





**Figure 20 : Position de la boîte d’amarrage dans le site actif de la 1fiq.**

#### **II.4. Analyse des résultats**

L’interface graphique du programme Autodock a été utilisée pour classer les inhibiteurs en fonction de leur énergie d’interaction (Kcal/mol) vis-à-vis le site actif de l’enzyme. Par la suite, nous avons utilisé le programme Pymol afin de visualiser les interactions mis en jeu dans la formation des meilleurs complexes.

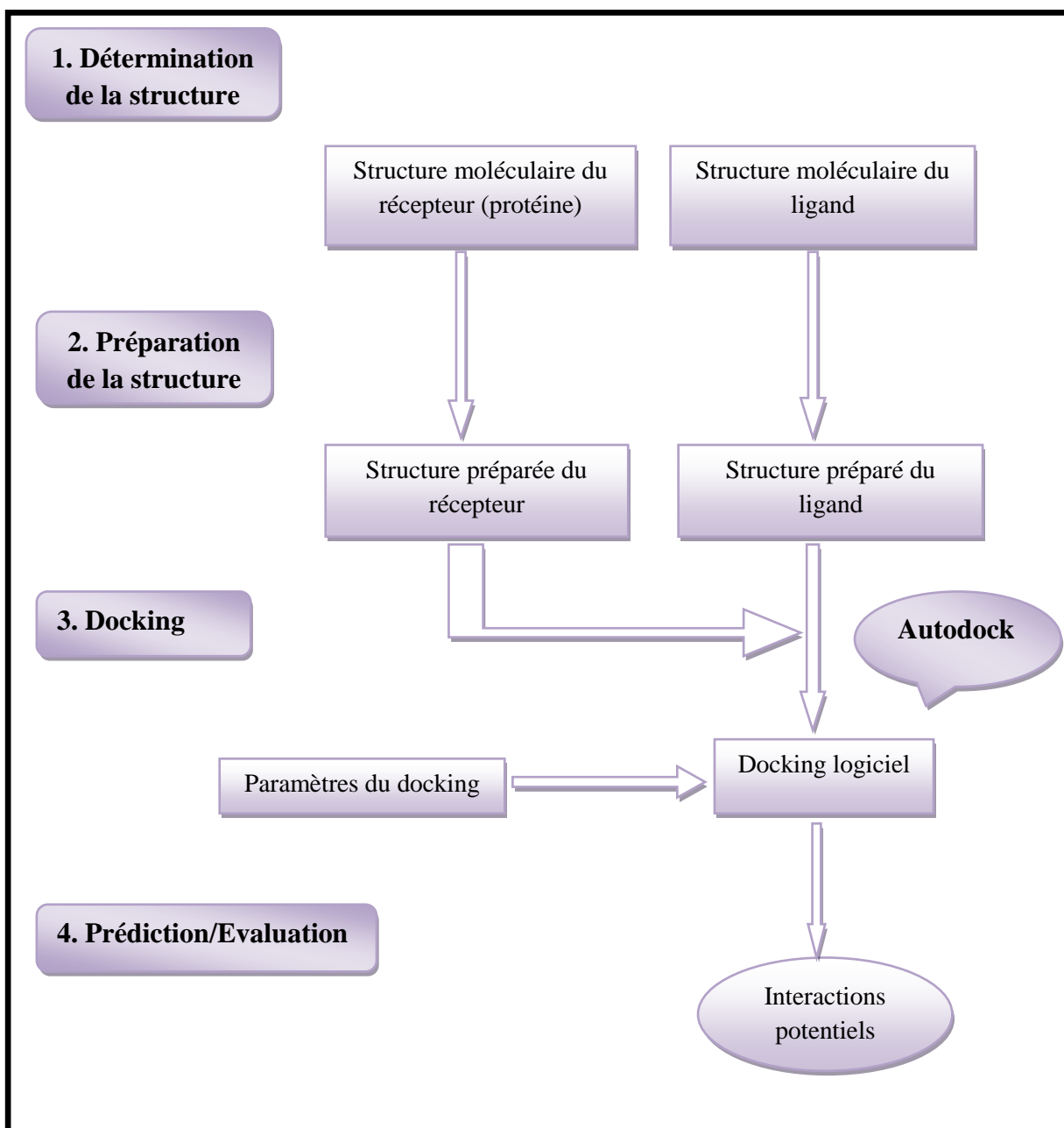


Figure 21 : Étapes du Docking moléculaire [76].

## I. Résultats

Dans cette étude, nous avons exploré plusieurs outils de docking moléculaire pour leur application *in silico* dans le cadre de la découverte de nouveaux inhibiteurs de la XO.

Nous avons étudié les modes d'interactions des inhibiteurs de la XO par le logiciel Autodock puis dans un deuxième temps nous avons analysée visuellement ces inhibiteurs par le logiciel Pymol.

### I.1. Etude des interactions entre les inhibiteurs et la Xanthine Oxydase

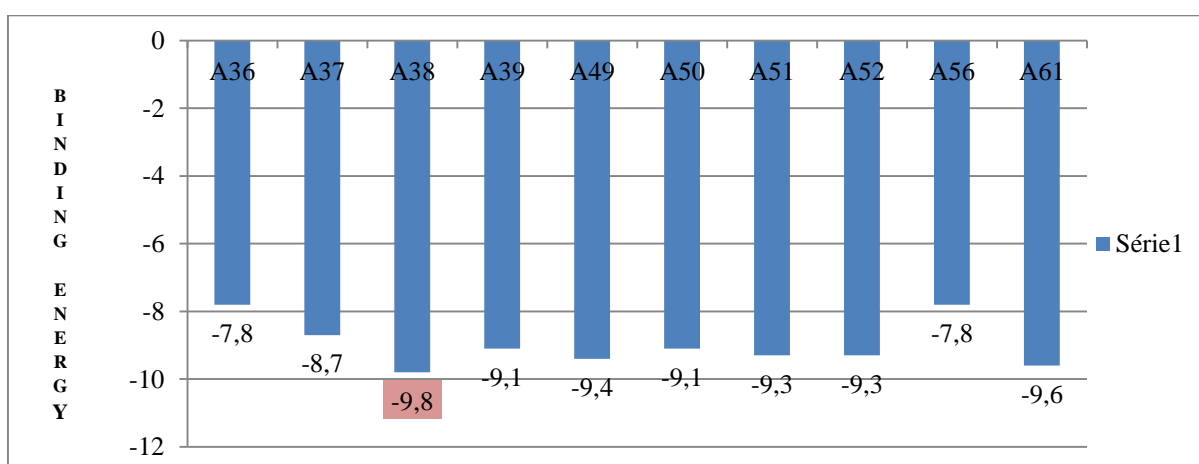
Dans le but d'étudier l'interaction des ligands dans le site actif de la XO, nous avons choisi les 10 meilleurs inhibiteurs portant les codes A36, A37, A38, A39, A49, A50, A51, A52, A56, A61 parmi 64 inhibiteurs dont l'énergie d'interaction calculée par le logiciel Autodock (kcal/mole), comme montre le tableau si dissous :

**Tableau IV : Résultats des énergies d'interactions des 10 meilleurs inhibiteurs de la Xanthine Oxydase.**

code	Inhibiteurs	Structure des ligands	Energies des liaisons kcal/mole	Intermolecular hydrogenes no of bonds
<b>A36</b>	2-hydroxy-4-nitro-benzoic	zinc_5784243	-7,8	5 (GLN144, TRP336, PHE337, ALA338, LYS1202)
<b>A37</b>	3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside)	zinc_85664748	-8,7	5 (TRP336, PHE337, ALA3398, PRO1224, LYS1202)
<b>A38</b>	3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside)	zinc_85664752	-9,8	5 (ARG426, ALA338, HIS1171, LYS433, ASP1166)
<b>A39</b>	3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside)	zinc_85664755	-9,1	8 (ALA338, GLY1233, ARG426, TRP336, ALA338, ALA424, SER1225, LYS1202)

<b>A49</b>	Lithospermicacid	zinc_4097772	-9,4	5 (GLN144, ASN1149, TRP336, PHE337, ILE1229)
<b>A50</b>	28831-65-4	zinc_4097773	-9,1	5 (ALA338, TRP336, SER1225, ILE1229, LYS1202)
<b>A51</b>	DNC014243	zinc_4097774	-9,3	3 (ALA338, ILE1229, ALA338)
<b>A52</b>	C08745	zinc_4097775	-9,3	6 (ILE1229, TRP336, ILE1229, GLY46, GLY47, LYS433)
<b>A56</b>	3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl) MFCD00006827	zinc_14436449	-7,8	3 (SER425, GLN144, ALA338, LYS433)
<b>A61</b>	Proanthocyanidins	CID_21881649	-9,6	6 (GLN144, ALA338, ALA338, PRO1224, SER1226, ASP1266)

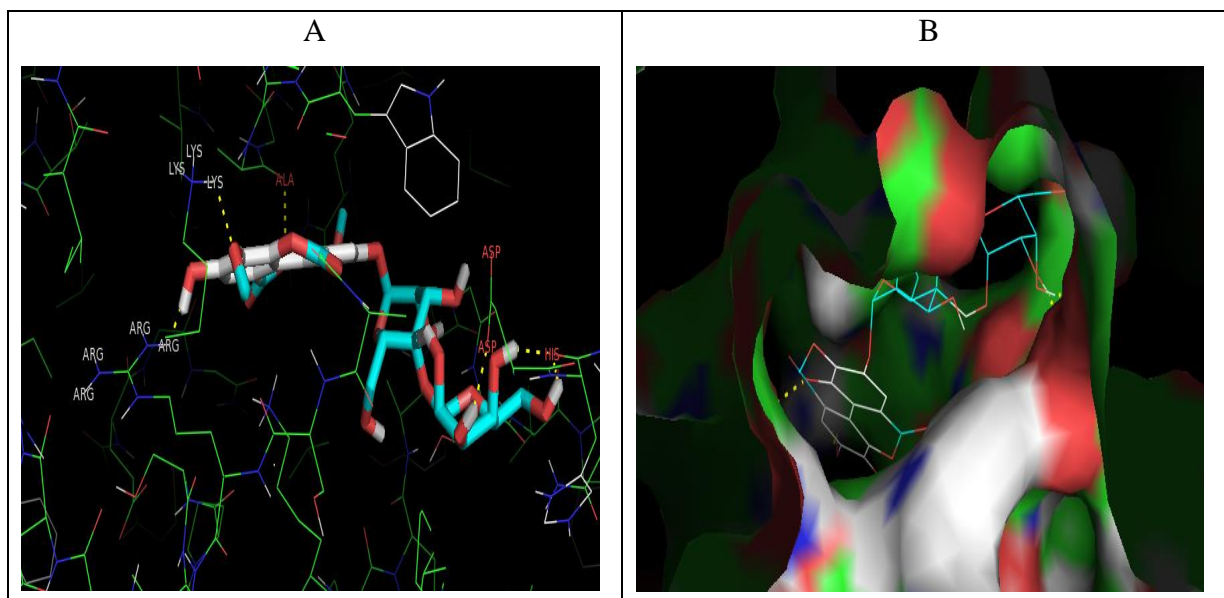
L'énergie de liaison des ligands choisis a été observée dans la gamme de -7,8 à -9,8 Kcal/mol qui ont été tracées dans le graphique ci-dessous :



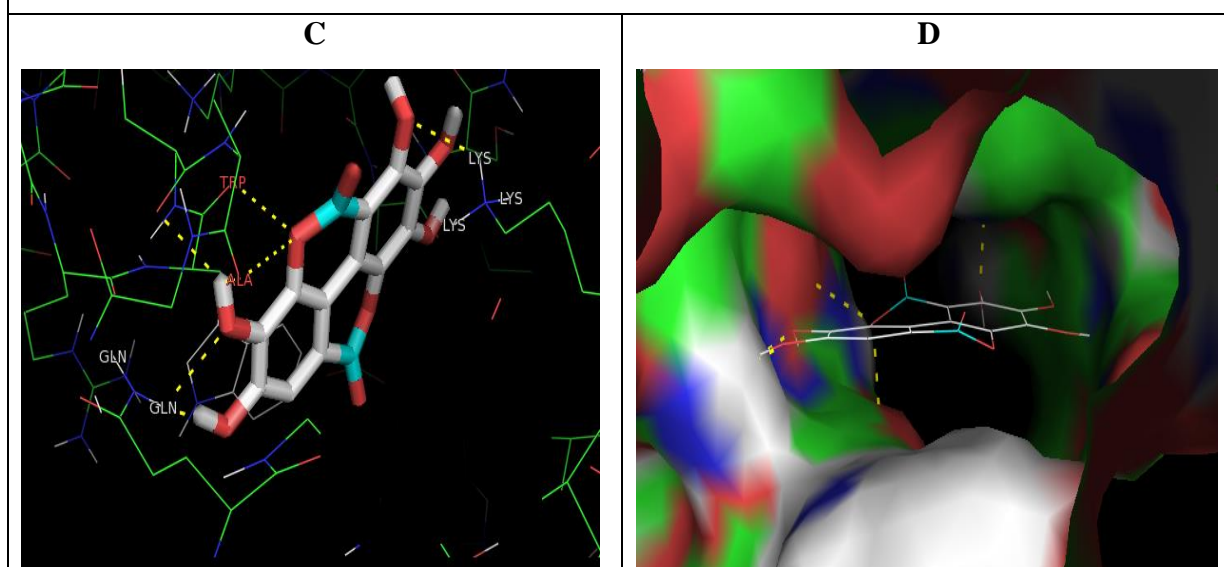
**Figure 22 : Représentation des énergies de liaison des 10 premiers inhibiteurs contre le récepteur Xanthine Oxydase.**

## I.2. Analyse visuelle

La conformation des ligands dockés est visualisée à l'aide de logiciel Pymol qui permet de visualiser les fichiers au format PDB, dans l'analyse visuelle nous avons basé sur deux paramètres ; le nombre de liaison, et le nombre d'acide aminé entre le site actif de récepteur (XO) et les inhibiteurs.

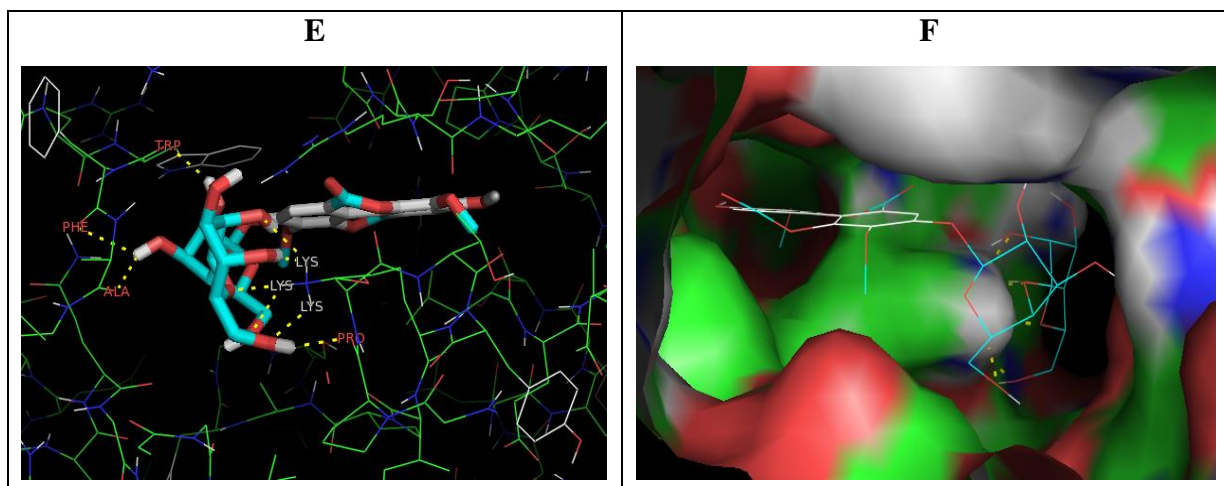


**Figure 23 : Le ligand A38 est visualisé avec le style stick (A) et le style lines (B) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

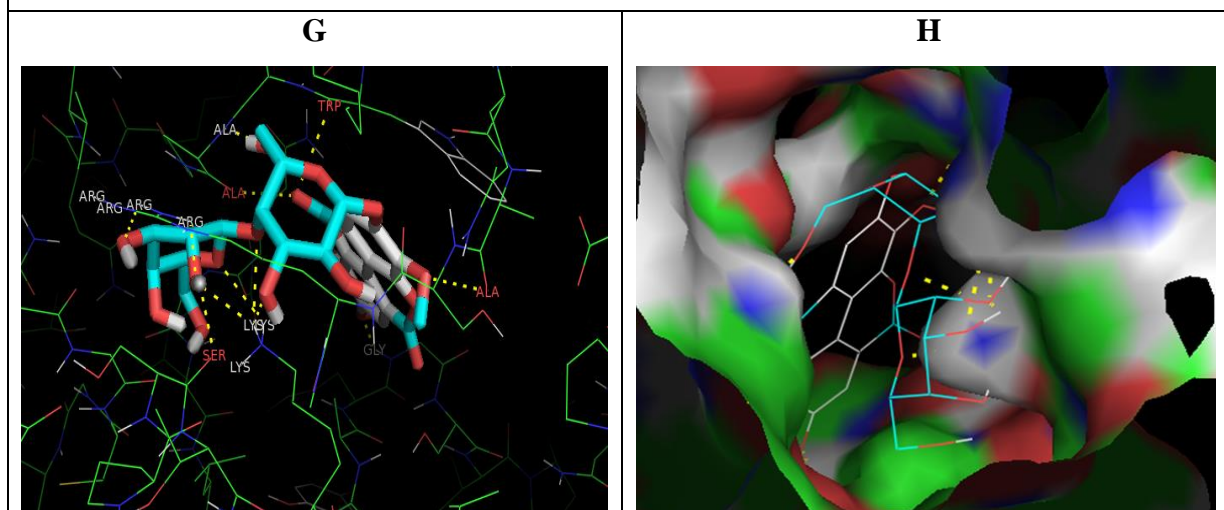


**Figure 24 : Le ligand A36 est visualisé avec le style stick (C) et le style lines (D) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

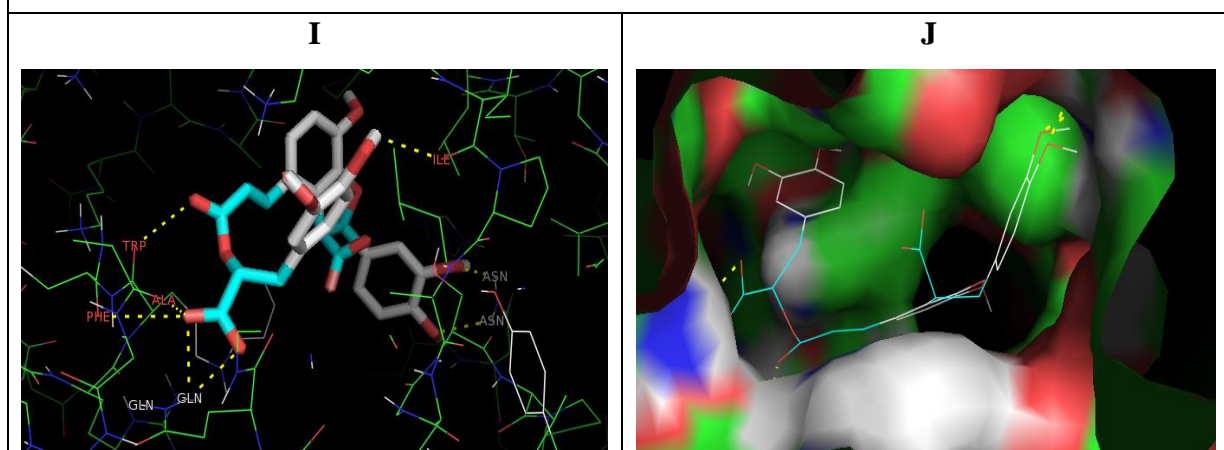




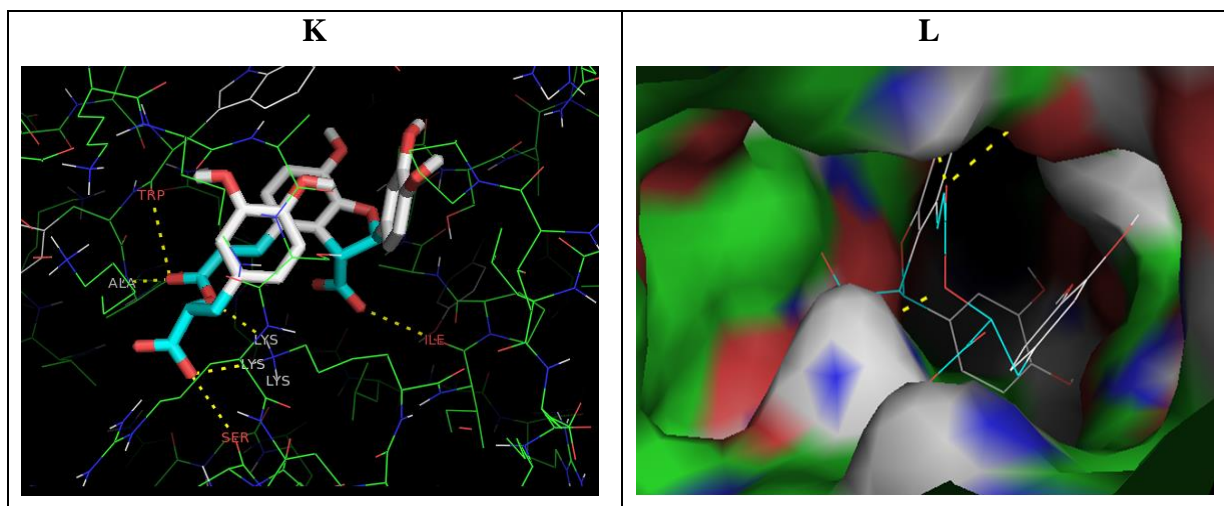
**Figure 25 : Le ligand A37 est visualisé avec le style stick (E) et le style lines (F) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**



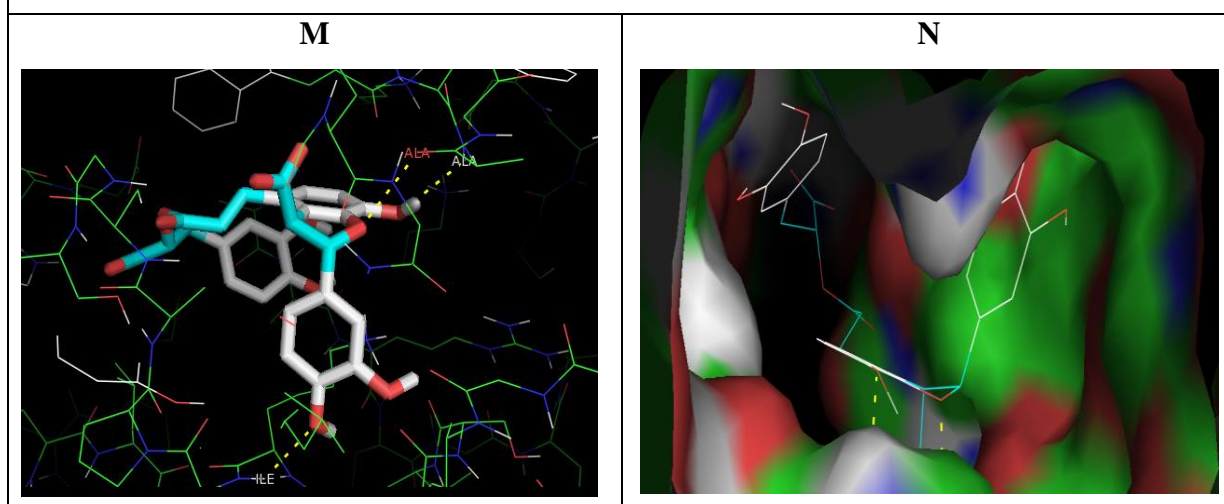
**Figure 26 : Le ligand A39 est visualisé avec le style stick (G) et le style lines (H) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**



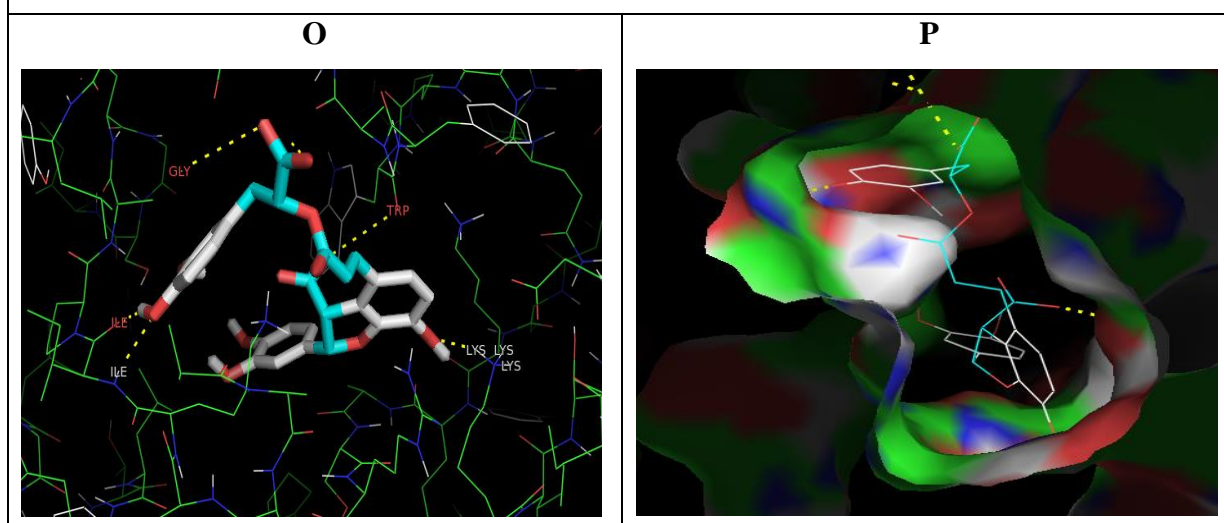
**Figure 27 : Le ligand A49 est visualisé avec le style stick (I) et le style lines (J) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**



**Figure 28 : Le ligand A50 est visualisé avec le style stick (K) et le style lines (L) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

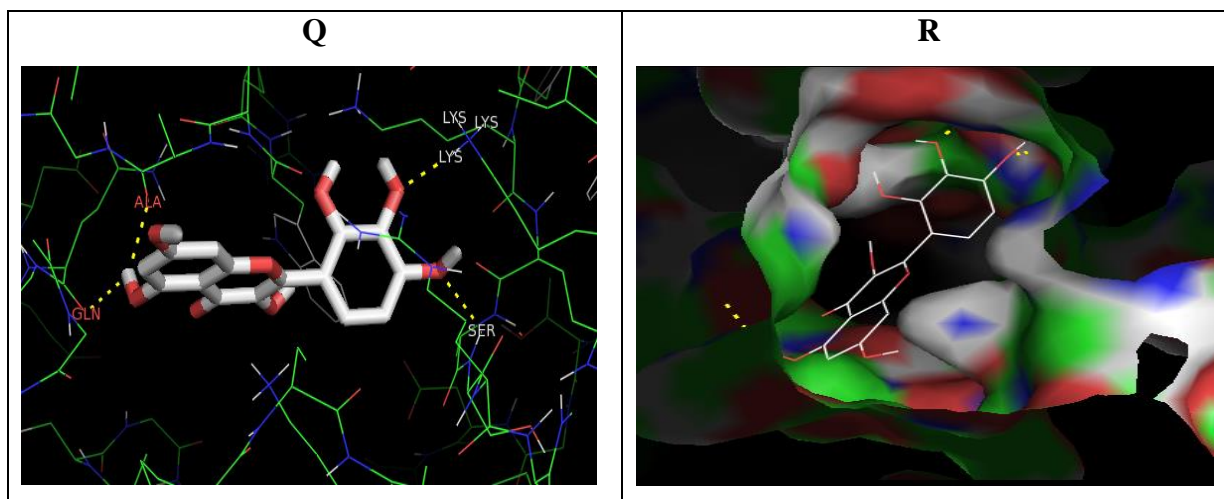


**Figure 29 : Le ligand A51 est visualisé avec le style stick (M) et le style lines (N) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

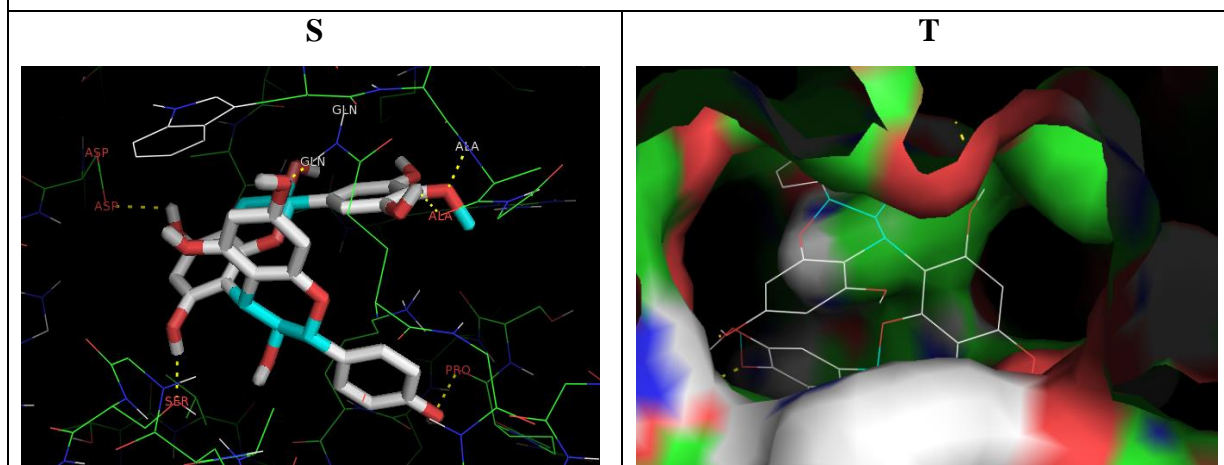


**Figure 30 : Le ligand A52 est visualisé avec le style stick (O) et le style lines (P) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**





**Figure 31 : Le ligand A56 est visualisé avec le style stick (Q) et le style lines (R) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**



**Figure 32 : Le ligand A61 est visualisé avec le style stick (S) et le style lines (T) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

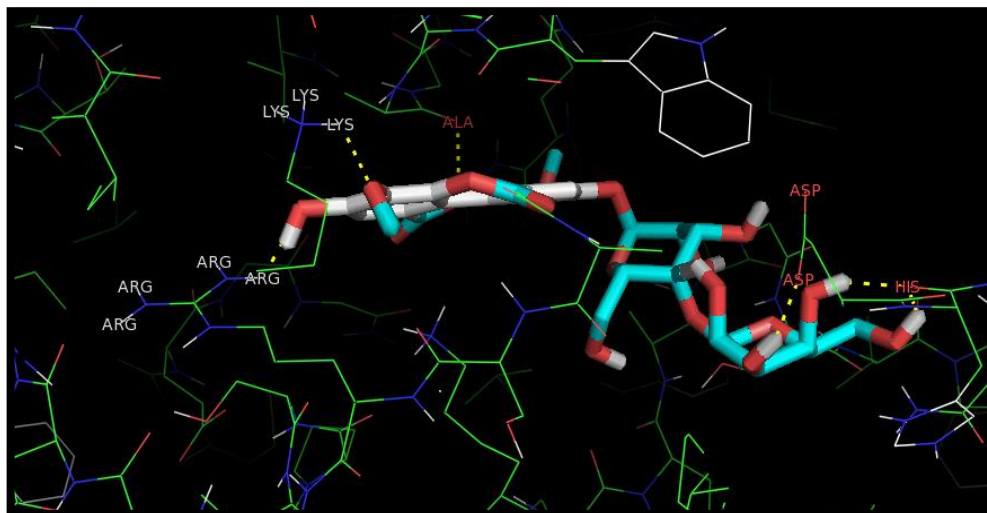
### I.3. Les cinq meilleurs inhibiteurs sélectionnés

#### I.3.1. Interactions entre l'inhibiteur A38 et le site actif

Le 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) est un composé de polyphénol trouvé dans de nombreux fruits comprenant des framboises, des fraises, des noix, des grenades. Il est souvent considéré comme un antioxydant [77].

L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à **-9,8 kcal/mole**, l'analyse visuelle réalisée par Pymol montre que l'inhibiteur A38 est bien placée dans le site actif de la XO où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 5 acides aminés suivant : ARG426, ALA338, HIS1171, LYS433, ASP1166.

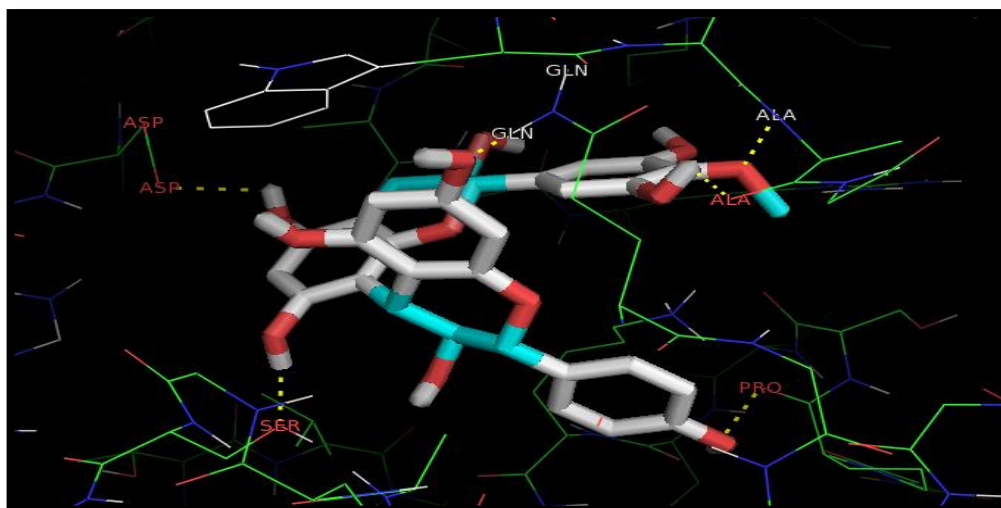




**Figure 33: Mode d'interaction du l'inhibiteur A38 dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

### I.3.2. Interactions entre l'inhibiteur A61 et le site actif

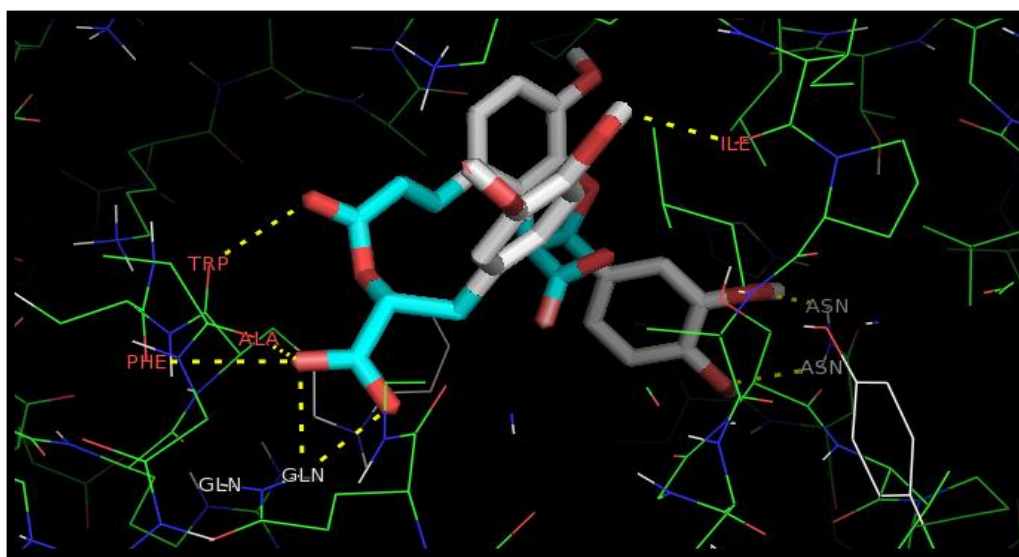
L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à **-9,6 kcal/mole**, l'analyse visuelle réalisée par Pymol montre que l'inhibiteur A61 (Proanthocyanidins) est placée dans le site actif de la XO où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 6 acides aminés suivant : GLN144, ALA338, ALA338, PRO1224, SER1226, ASP1266.



**Figure 34: Mode d'interaction du l'inhibiteur A61 dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

### I.3.3. Interactions entre l'inhibiteur A49 et le site actif

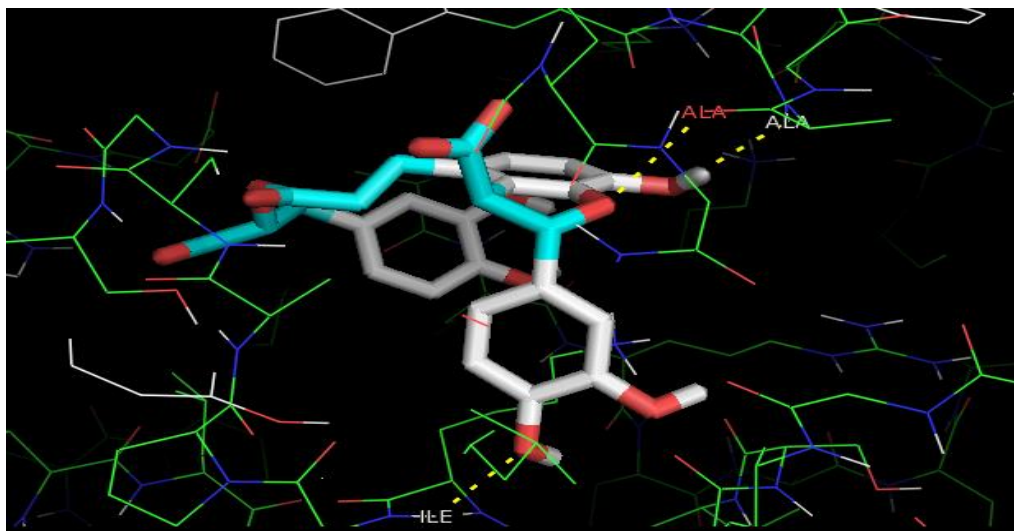
L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à **-9,4 kcal/mole**, l'analyse visuelle réalisée par Pymol montre que l'inhibiteur A49 (Lithospermicacid) est placée dans le site actif de la XO où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 5 acides aminés suivant : GLN144, ASN1149, TRP336, PHE337, ILE1229.



**Figure 35: Mode d'interaction du l'inhibiteur A49 dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

### I.3.4. Interactions entre l'inhibiteur A51 et le site actif

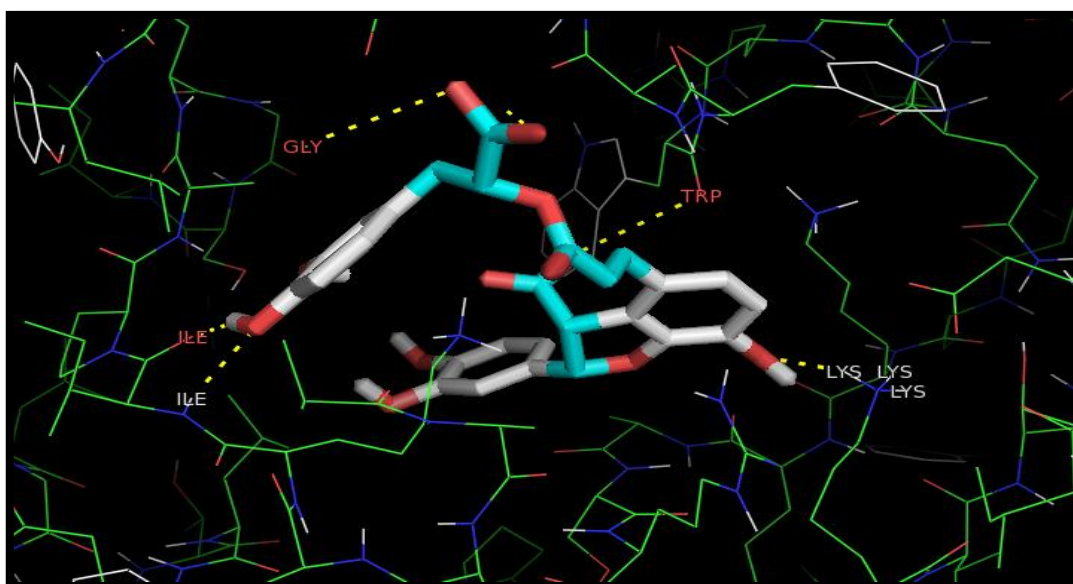
L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à **-9,3 kcal/mole**, l'analyse visuelle réalisée par Pymol montre que l'inhibiteur A51(DNC014243) est placée dans le site actif de la XO où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 3 acides aminés suivant : ALA338, ILE1229, ALA338.



**Figure 36: Mode d'interaction du l'inhibiteur A51 dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

### I.3.5. Interactions entre l'inhibiteur A52 et le site actif

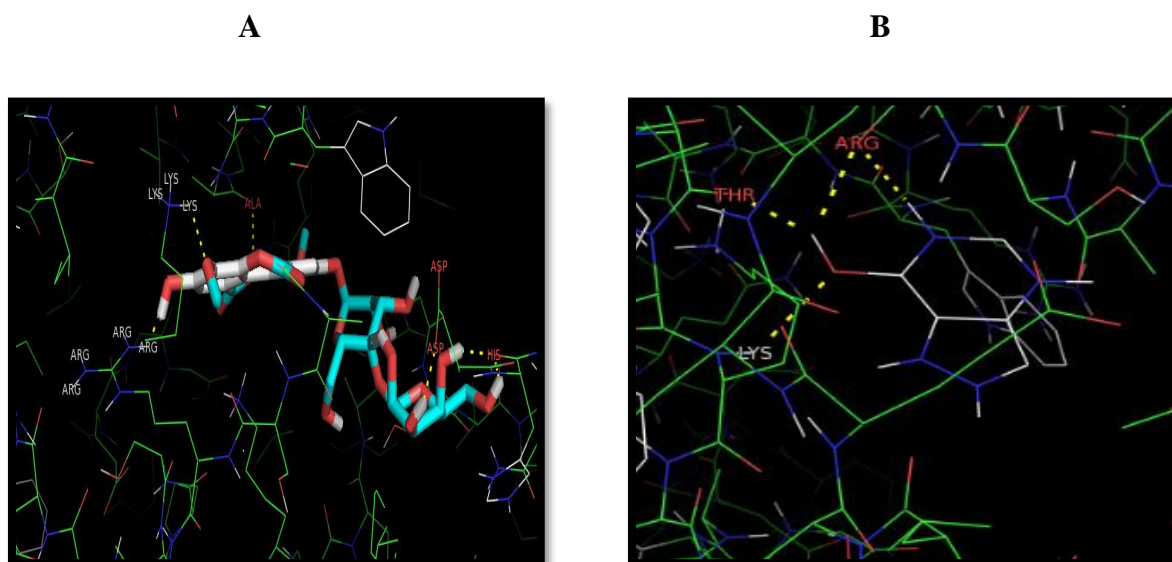
L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à **-9,3 kcal/mole**, l'analyse visuelle réalisée par Pymol montre que l'inhibiteur A52 (C08745) est placée dans le site actif de la XO où il est stabilisé par de nombreuses liaison grâce à 6 acides aminés suivant : ILE1229, TRP336, ILE1229, GLY46, GLY47, LYS433.



**Figure 37: Mode d'interaction du l'inhibiteur A52 dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

## II. Discussion

Les résultats précédents ont également montré que l'inhibiteur 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) possède une énergie d'interaction qui est égale à -9,8 kcal/mol, moins que le médicament de référence de la maladie de la goutte qui est l'allopurinol dont son énergie est égale à -5,1 kcal/mol.



**Figure 38: Comparaison entre l'inhibiteur 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) (A) et l'allopurinol (B) dans le site actif de la Xanthine Oxydase.**

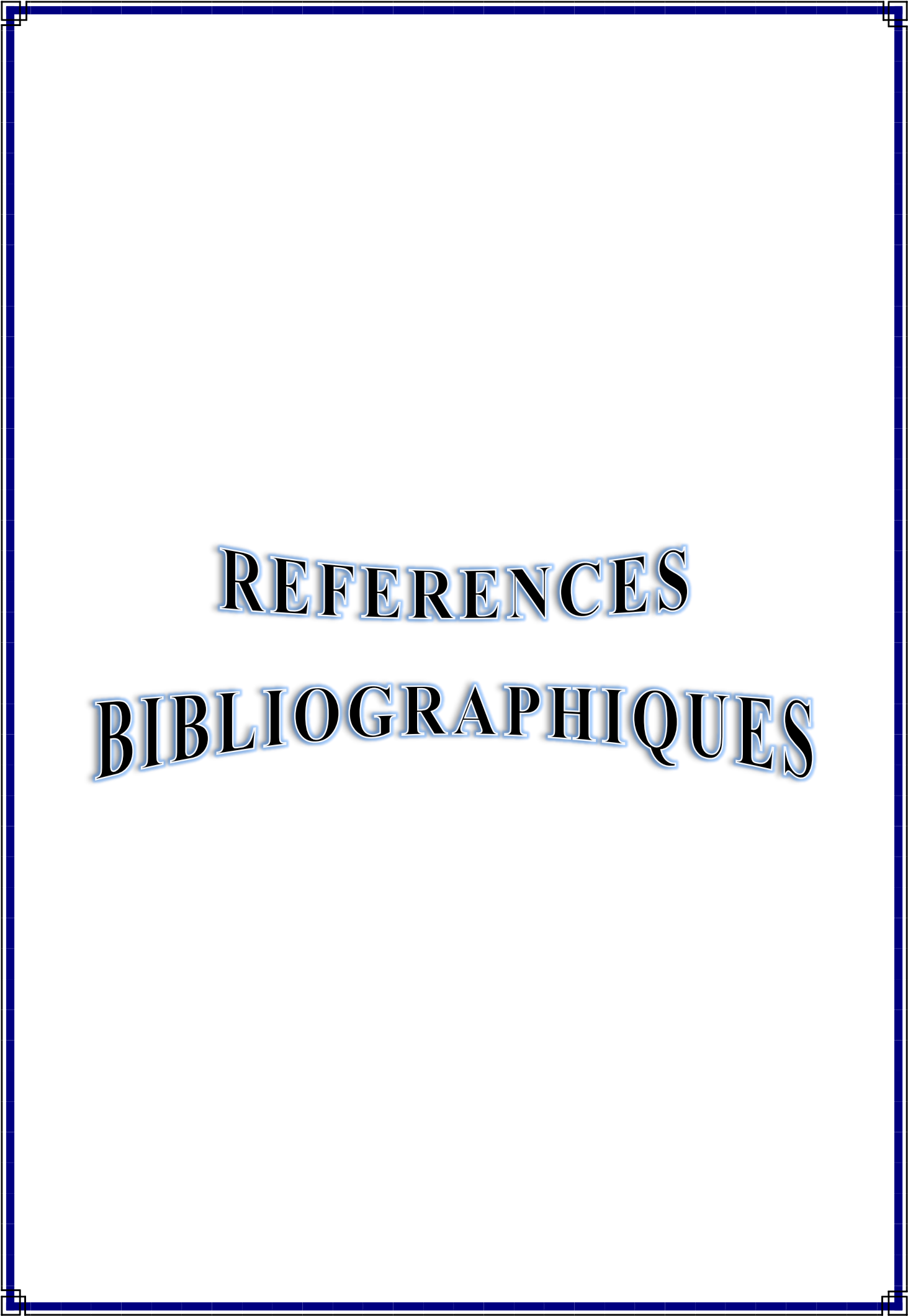
# CONCLUSION

**Conclusion**

La découverte de nouveaux médicaments «*in-silico*» est l'une des stratégies les plus prometteuses visant à accélérer le processus de développement de médicaments. Le criblage virtuel «*Virtual Screening*», est l'une des premières étapes du processus de découverte de médicaments, il repose sur la sélection «*in-silico*» des meilleurs médicaments potentiels qui agissent sur une protéine cible donnée, il peut se faire «*in-vitro*», mais il est très onéreux. Le criblage virtuel nécessite une analyse complexe avec plusieurs étapes telles que le docking. L'un des principaux avantages conférés par le docking est qu'il permet aux chercheurs de trier (screen) rapidement les grandes bases de données de médicaments potentiels qui nécessiteraient autrement un travail fastidieux et de longue durée dans le laboratoire selon les méthodes traditionnelles de découverte de médicaments.

Les résultats de docking basé sur l'énergie de liaison entre les 64 inhibiteurs et le XO ; montrent que les composés A38, A49, A51, A52, A61 sont les cinq meilleurs inhibiteurs de la XO et que l'inhibiteur 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) qui porte le code A38 présente la moindre énergie des liaisons qui égale à -9,8 kcal/mole par rapport aux autres inhibiteurs.

A l'avenir et comme perspectives, il conviendrait de consacrer de cette étude, de tester l'activité biologique du l'inhibiteur 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) nouvellement proposé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* pour confirmer les résultats théoriques réalisés *in silico*.



**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**



### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. IOMS Gsd. Maladies rhumatismales. 2 ed 1992. 66 p.
2. SCHLIENGER J. L'histoire des tourments de la podagre (goutte). Médecine des Maladies Métaboliques. 2014;8(2):230-4.
3. FLORKIN M. Rôle de la recherche biochimique fondamentale en médecine, illustré par l'exemple de la goutte. Bulletin of the World Health Organization. 1969;41(6):961.
4. ASHTIYANI S, GOLESTANPOUR A, SHAMSI M, TABATABAEI S, RAMAZANI M. Rhazes' prescriptions in treatment of gout. Iranian Red Crescent Medical Journal. 2012;14(2):108.
5. KAYSER F. *Etude descriptive de la prise en charge de la goutte en pratique de médecine générale dans le bassin annécien* [thèse du doctorat]: universite JosephFourier; 2015.
6. SADERNE S. *L'acide urique : une molécule physiologique pouvant être pathologique* [thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie]: universite de limoges; 2013.
7. JOYEUX H. l'alimentation ou la troisième médecine. 5ème ed2004. 617 p.
8. LOIT F. Epidémiologie de la goutte RéfleXions N°132 - Tome 14 octobre 2010.
9. FERRARI A, SGOBBA M, GAMBERINI M, RASTELLI G. Relationship between quantum-chemical descriptors of proton dissociation and experimental acidity constants of various hydroxylated coumarins. Identification of the biologically active species for xanthine oxidase inhibition. European journal of medicinal chemistry. 2007;42(7):1028-31. Epub 2007/02/24.
10. LECLERCQ P, MALAISE M. La goutte. Revue Médicale de Liège. 2004;59(5):274-80.
11. CHALES G. De l'hyperuricémie à la goutte : épidémiologie de la goutte. Revue du Rhumatisme. 2011;78:S109-S15.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

12. RICHETTE P, BARDIN T. Épidémiologie de la goutte. *La Lettre du rhumatologue*. 2012(384):6-9.
13. BOILEAU J. Le traitement de la goutte. *Québec Pharmacie* 2007 54 (11) 27-34.
14. DESCAMPS E, GELE P, BORDET R, VAMECQ J. Modulation pharmacologique du stress oxydatif. *La Lettre du pharmacologue*. 2006;20(4):107-18.
15. PHAM T. Goutte et hyperuricémie. *La Lettre du rhumatologue*. 2010(358):50-4.
16. CHALES G, RICHETTE P. Obésité, hyperuricémie et goutte. *Revue du Rhumatisme monographies*. 2016;83(1):44-9.
17. BOUTRY N, CHASTANET P, COTTEN A, DELFAUT E, DEMONDION X, FLIPO R M, et al. Goutte. *Encycl Méd Chir (Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés)*. 2001:10p.
18. VALEIX N, GUILLOT X. La goutte, une complication des hyperuricémies. *Actualités Pharmaceutiques*. 2013;52(524):18-20.
19. BERTHELEMY S. Un patient se plaignant d'une crise de goutte. *Actualités Pharmaceutiques*. 2014;53(532):44-7.
20. BATTU C. L'accompagnement nutritionnel d'un patient présentant une goutte. *Actualités Pharmaceutiques*. 2017;56(563):53-6.
21. ASKALI B. *La goutte et le rôle du pharmacien d'officine dans sa prise en charge* [these pour l'obtention du doctorat en pharmacie]: université mohammed v-rabat; 2016.
22. CHAFIK A. *Enquete sur la prise en charge de la goutte par le medecin generaliste* [these du doctorat en medecine]: universite cadi ayyad faculte de medecine et de pharmacie marrakech; 2011.
23. PASCART T, FLIPO R. La goutte: présentations cliniques et diagnostic. *Revue du Rhumatisme*. 2011;78:S116-S21.

24. PACHER P, NIVOROZHKIN A, SZABO C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacological reviews*. 2006;58(1):87-114. Epub 2006/03/02.
25. LE GALLOU T, COIFFIER G. La goutte: mise au point 2015. Seconde partie: traitement. *Médecine*. 2015;11(7):298-303.
26. GERSON M. La prescription de galantamine est-elle encore justifiée dans la maladie d'Alzheimer? *Médecine*. 2006;2(1):19-.
27. LIOTÉ F, BARDIN T. Treatment of gout. *Rev Rhum*. 2007;74:160-7.
28. LE BELLEC M, de la Gastine B, Mosquet B, Godde F, Ze Bekolo R, Gloro R, et al. [Colchicine intoxication in four elderly patients: how to prevent it?]. *La Revue de medecine interne*. 2009;30(9):783-8. Epub 2009/04/14. Risque d'intoxication a la colchicine chez les personnes agees et moyens de prevention: a propos de quatre observations.
29. ZIMNER-RAPUCH S, JANUS N, AMET S, DERAY G, LAUNAY-VACHER V. Les traitements de l'hyperuricémie et du syndrome de lyse tumorale. *Journal de Pharmacie Clinique*. 2013;32(1):49-56.
30. SAVIUC P, PULCE C, de \$ C. Intoxications sévères par la colchicine d'après les données issues des Centres antipoison et de toxicovigilance français janvier 2000–juin 2011. 2014.
31. PEREZ-RUIZ F. Les nouveaux traitements de la goutte. *Revue du Rhumatisme*. 2007;74(7):624-6.
32. KLINENBERG JR, GOLDFINGER SE, SEEGMILLER JE. The effectiveness of the xanthine oxidase inhibitor allopurinol in the treatment of gout. *Annals of internal medicine*. 1965;62(4):639-47.
33. BOUCHERIT M. *Chronobiologie : Mise en place d'une base de données sur l'optimisation de prise des médicaments*[thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie]: universite angers; 2013.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

34. GAUDIN P, EI MAGHRAOUI A, ALLOUCHERY M. al. Goutte: rôles du clinicien et du biologiste en 2013. *Rev Mar Rhum.* 2013;24:26-31.
35. CHOUCHANA L. *Optimisation de la réponse aux thiopurines par la pharmacogénétique : approches in vitro et cliniques*[these de doctorat de pharmacologie]: universite paris descartes; 2014.
36. BOCQUET H, ROUJEAU J. Les réactions cutanées sévères induites par les médicaments. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique.* 1997;37(5):651-9.
37. ROUJEAU J. Toxidermies médicamenteuses: quelques nouveautés. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique.* 2002;42(1):71-4.
38. RICHETTE P. Goutte : mise en place et suivi du traitement hypo-uricémiant. *Revue du Rhumatisme.* 2011;78:S142-S7.
39. MIRIC D, KISIC B, ZORIC L, MITIC R, MIRIC BM, DRAGOJEVIC I. Xanthine oxidase and lens oxidative stress markers in diabetic and senile cataract patients. *Journal of diabetes and its complications.* 2013;27(2):171-6. Epub 2012/11/13.
40. RICHETTE P. [Gout: an overview of available urate lowering therapies]. *Annales pharmaceutiques francaises.* 2012;70(3):133-8. Epub 2012/06/05. Les traitements hypo-uricémiants disponibles dans la goutte.
41. EPOTE EWANE J. *Analyse pharmaceutique de la prescription des antibiotiques a la pharmacie hospitaliere du chu point. G*[thèse de pharmacie]: université des sciences , des techniques, et des technologies de bamako; 2014.
42. TORRE ADL. *Synthèses totales de neurofuranes et dihomoisofuranes* [THESE POUR OBTENIR LE GRADE DU DOCTEUR ]: l'Université Montpellier 1; 2014.
43. GARAT A. *Pharmacogenetique des médicaments thiopuriniques Implication des enzymes TPMT et IMPDH2 et de la RhoGTPase RAC1* [Thèse pour l'obtention du grade de docteur de l'universite de lille 2 ]: UNIVERSITE de LILLE 2 - DROIT ET SANTE; 2009.
44. ADJADJ M. propriétés antioxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Ajuga iva* (L.) Schreber. 2009. p. 96.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

45. BERRY C, HARE J. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *The Journal of physiology*. 2004;555(Pt 3):589-606. Epub 2003/12/25.
46. OKAMOTO K, KUSANO T, NISHINO T. Chemical nature and reaction mechanisms of the molybdenum cofactor of xanthine oxidoreductase. *Current pharmaceutical design*. 2013;19(14):2606-14.
47. ICHIDA K, AMAYA Y, KAMATANI N, NISHINO T, HOSOYA T, SAKAI O. Identification of two mutations in human xanthine dehydrogenase gene responsible for classical type I xanthinuria. *Journal of Clinical Investigation*. 1997;99(10):2391.
48. KESKAS N. *Effet scavenger des radicaux oxygénés et inhibiteur de la xanthine Oxydoreductase des extraits de Cachrys libanotis .L* [memoire de master]: Université Ferhat ABBAS-Setif; 2011.
49. HARRISON R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radical Biology and Medicine*. 2002;33(6):774-97.
50. POWELL D, BENBOUBETRA M, NEWEY S, HARRISON R. Xanthine oxidase activity and subcellular localisation in human mammary epithelial cells. Portland Press Limited; 1995.
51. MARCEL J. *Les troubles de la reperfusion.perspectives therapeutique:les lazaroides* [these pour obtenir le grade de docteur veterinaire ]: universire claud-bernarde-lyon 1; 2002.
52. KOSTIC D, DIMITRIJEVIC D, STOJANOVIC G, PALIC I, ĐORDEVIC A, ICKOVSKI J. Xanthine Oxidase: Isolation, Assays of Activity, and Inhibition. *Journal of Chemistry*. 2015;2015:1-8.
53. HAMLAOUI I. *Etude théorique des réactions enzymatiques : Cas de l'inhibition de la xanthine oxydase par de nouvelles chalcones* [THÈSE DU Doctorat en Sciences]: Université Constantine1; 2014.
54. HILLE R, Anderson RF. Electron transfer in milk xanthine oxidase as studied by pulse radiolysis. *Journal of Biological Chemistry*. 1991;266(9):5608-15.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

55. DALTON H, LOWE D, PAWLIK R, BRAY R. Studies by electron-paramagnetic-resonance spectroscopy on the mechanism of action of xanthine dehydrogenase from *Veillonella alcalescens*. *Biochemical Journal*. 1976;153(2):287-95.
56. TRABSA H. *Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : Sedum sediforme et Lycium arabicum* [ these pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences]: Université Ferhat Abbas Sétif 1; 2015.
57. BILAMI Y, BOUKAHIL M. *Etude in silico de l'inhibition de la butyrylcholinesterase*[Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master]: Université des Frères Mentouri Constantine; 2015.
58. YANG B. *Analyses bioinformatiques et classements consensus pour les données biologiques à haut débit* [THÈSE DE DOCTORAT INFORMATIQUE]: UNIVERSITÉ PARIS-SUD; 2014.
59. VERT J, editor. Les applications industrielles de la bioinformatique. *Annales des Mines-Réalités industrielles*; 2013: ESKA.
60. IMBS D, Hassan S. Travail d'étude.
61. DELGRANGE O. Bioinformatique: Un domaine pluridisciplinaire. *Element: le Magazine de l'Université de Mons*. 2009(03):27-30.
62. DOAN T, BRETON V, NGUYEN H, PHAM Q, Le M, editors. Criblage virtuel sur grille de composés isolés au Vietnam. *Rencontres Scientifiques France Grilles 2011*; 2011.
63. PARIDA P, YADAV R, SHANKAR B, CHAKRABORTY D, DAS A, SINGH N. In-silico protein ligand interaction study of typical antipsychotic drugs against dopaminergic D2 receptor. *Int J Pharm and pharmceusci*. 2012;5:183-9.
64. GALLEZOT G. *La recherche in silico*. Editions du cercle de la librairie; 2002.
65. FEREY N, BOUYER G, MARTIN C, DRIF A, BOURDOT P, AMMI M, et al. Docking de protéines en réalité virtuelle Une approche hybride et multimodale. *Technique et science informatiques*. 2009;28(8):983-1015.

66. FRANÇOIS M. *Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques* [these de doctorat de l'universite paris sud]: l'universite paris sud; 2012.
67. MERZOUG A. *Étude in silico de l'inhibition de la peptide déformylase* [MAGISTERE EN BIOCHIMIE]: Université Mentouri Constantine; 2012.
68. CHIKHI A. *Calculs et modelisations des interactions peptide deformylase – substances antibacteriennes a l'aide de techniques de "docking"(arrimage) moleculaire* [these en vue de l'obtention du diplôme dedoctorat d'etat en microbiologie]: universiteMentouri Constantine; 2007.
69. ROGNAN D. Criblage virtuel par docking moléculaire.
70. SUSSMAN JL, LIN D, JIANG J, MANNING NO, PRILUSKY J, RITTER O, et al. Protein Data Bank (PDB): database of three-dimensional structural information of biological macromolecules. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. 1998;54(6):1078-84.
71. AWALE M, REYMOND J. A multi-fingerprint browser for the ZINC database. *Nucleic acids research*. 2014;42(Web Server issue):W234-9. Epub 2014/05/02.
72. SCHRODINGER LTPMGS, Version 1.3r1. August 2010.
73. Open Babel: An open chemical toolbox NM O'Boyle MB, CA James, C Morley, T Vandermeersch, *Journal of cheminformatics* 3 (1), 33.
74. BOUTRIF C, MERDASSI A. *Etude in silico de la 5-lipoxygénase en tant qu'enzyme impliquée dans les maladies inflammatoires* [mémoire ]: constantine 1; 2014.
75. PANSANEL J, PLESSY C. Logiciels libres pour le criblage moléculaire.
76. LOUACHENI F. Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul 2014.

77. Disponiblesur <http://www.hmdb.ca/unearth/q?utf8=%E2%9C%93&query=3-Methylellagic+acid+2-%284galactosylglucoside%29&searcher=metabolites&button=>.  
(Consulté le 18/06/2017)

### LES SITES WEB

<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1fiq>

<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

<http://www.rcsb.org/pdb/statistics/contentGrowthChart.do?content=total&seqid=100>

<http://zinc.docking.org/>

<http://www.pymol.org>

[http://openbabel.org/wiki/Main\\_Page](http://openbabel.org/wiki/Main_Page)

# ANNEXES



## Annexe 1

**Tableau I :** Résultats des énergies d'interactions des 64 inhibiteurs avec le site actif de la xanthine oxydase.

Codes	Inhibiteurs	Structure des ligands	Energies des liaisons kcal/mole	Les acides aminés
A1	1 methyl, 2, 3, 4 tetrahydro B carboline -3 carboxylicacid	CID_73530	-7,2	2 (ASN1149, SER1234)
A2	1,3,6,7-tetrahydroxanthone	CID_5479774	-7,2	1 (ASN1149)
A3	5-7-dimethoxycoumarin	zinc_57754	-5,9	4 (ILE1230, PRO1224, TRY1227, LYS1202)
A4	1,3-dimethoxybenzo[c]isochromen-6-one	zinc_134016	-6,8	1 (SER1226)
A5	7-Methoxycoumarin	zinc_391177	-5,6	4 (ILE1230, PRO1224, TYR1227, LYS1202)
A6	CHEBI:1993	zinc_898345	-5,8	3 (ASN1173, HIS1171, GLY1233)
A7	5,7-DIETHOXY COUMARIN	zinc_2573884	-6,0	3 (ASN1173, HIS1171, GLY1233)
A8	5-methoxychromen-2-one	zinc_14443532	-5,5	3 (ASN1173, HIS1171, GLY1233)
A9	5-hydroxymethylfurfural	zinc_900788	-4,5	4 (GLE1210, LEU1208, GLU1210, THR122)
A10	Allopurinol	zinc_11592630	-5 ,1	3 (LYS1228, ARG426, THR1226)
A11	1,5-Dihydro-4H-pyrazolo(3,4-d)pyrimidin-4-one, monosodium salt	zinc_13298313	-5,4	4 (ASN830, HIS1219, HIS1217, GLU45, ASP28429)
A12	QA-3064	zinc_13518519	-5,2	2 (LEU1208, GLU1210)
A13	1,5-Dihydro-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-one	zinc_13545810	-5,4	3 (LEU1208, GLU1210, GLU1210)
A14	Apigeninderivatives	zinc_57652	-7,4	4 (GLN144, ILE1229, ALA338, TYR1227)
A15	7,4'-Dihydroxyflavone	zinc_57658	-7,4	4 (GLN144, ALA424,

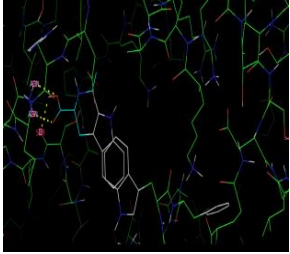
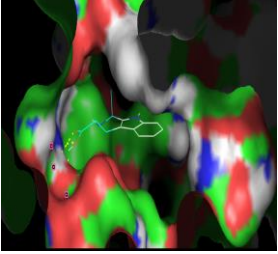
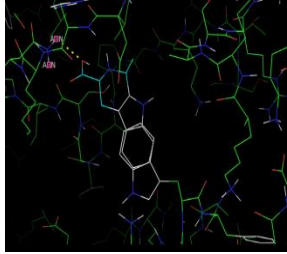
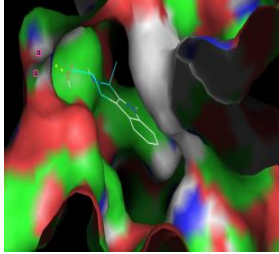
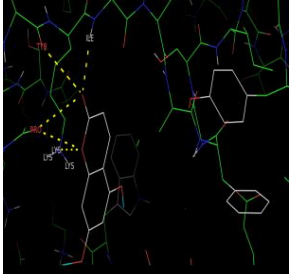
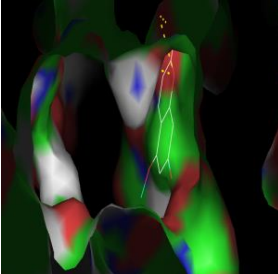
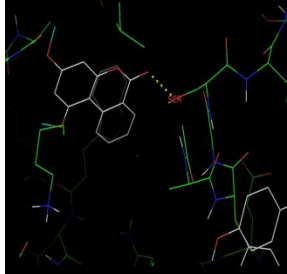
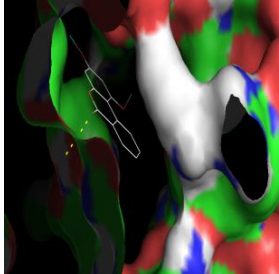
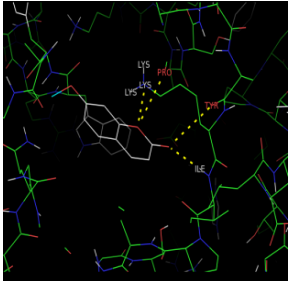
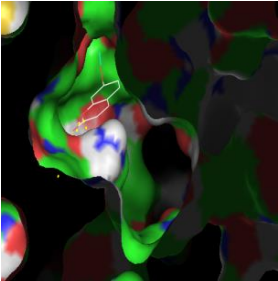
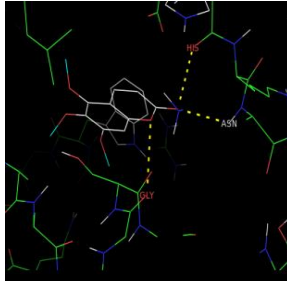
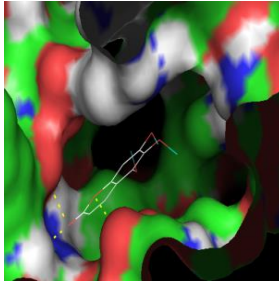
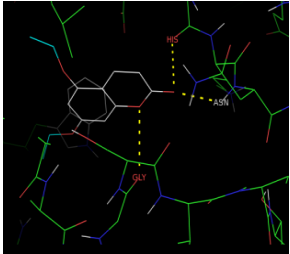
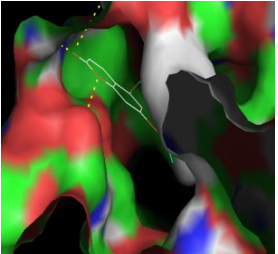
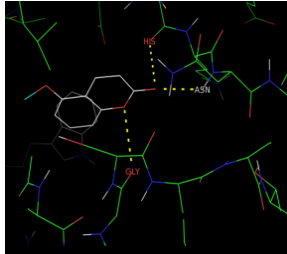
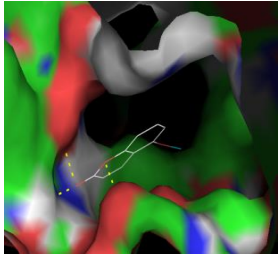
				GLY1233)
<b>A16</b>	5-Hydroxyflavone	zinc_57676	-7,2	1 (GLY1233)
<b>A17</b>	5-Hydroxy-4'-methoxyflavone	zinc_57686	-7,4	3 (GLN144, HIS1171, GLY1233)
<b>A18</b>	Cryptochrysin	zinc_338216	-7,7	2 (SER425, LYS1202)
<b>A19</b>	Caulerpenyne (CYN)	CID_5311436	-6,9	6 (GLN144, ALA338, ALA1231, SER1226, GLN144, ILE1229)
<b>A20</b>	Caffeicacid	zinc_58172	-5,6	2 (ALA424, THR1226)
<b>A21</b>	Methyl 3-(3,4-dihydroxyphenyl)acrylate	zinc_58222	-6,4	3 (GLU1210, LYS1228, GLU1210)
<b>A22</b>	3-HYDROXYCINNAMIC ACID	zinc_155996	-5,8	2 (GLU1210, LYS1228)
<b>A23</b>	3-(3,4,5-trihydroxyphenyl)acrylic acid	zinc_1564653	-5,8	4 (GLU1210, LYS1228, GLU1210, THR1226)
<b>A24</b>	(2Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acrylate	zinc_4482687	-5,5	4 (THR1227, GLY47, LYS1202)
<b>A25</b>	3-(3-hydroxyphenyl)prop-2-enoic acid	zinc_12410372	-5,0	1(GLY1233)
<b>A26</b>	Methyl caffeate	zinc_13549916	-5,4	2 (GLY47, LYS1202)
<b>A27</b>	Catechin	zinc_119978	-7,5	2 (HIS1171, ASP1166)
<b>A28</b>	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-chromantriol	zinc_119983	-7,5	6 (SER425, ARG426, GLN144, GLN423, LYS433, LYS1202)
<b>A29</b>	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)chroman-3,5,7-triol	zinc_119985	-7,5	1 (GLN144)
<b>A30</b>	Epicatechin	zinc_119988	-7,4	2 (GLY46, LYS433)
<b>A31</b>	DNC013887	zinc_28974985	-7,7	2 (HIS1171, ASP1166)
<b>A32</b>	Coumarin	zinc_74709	-5,2	1 (SER1234)
<b>A33</b>	BLAHone	zinc_6118510	-6,9	2 (GLN144, ALA338)
<b>A34</b>	Ellagicacid	zinc_1280637	-7,4	3 (TRP336, ALA424, GLY1233)
<b>A35</b>	2,3,7,8-Tetrahydroxy(1)benzopyrano(5,4,3-cde)(1)benzopyran-5,10-dione;	zinc_3872446	-7,6	3 (GLN144, TRP336, ALA338)
<b>A36</b>	2-hydroxy-4-nitro-benzoic	zinc_5784243	-7,8	5 (GLN144, TRP336, PHE337, ALA338, LYS1202)

<b>A37</b>	3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside)	zinc_85664748	-8,7	5 (TRP336, PHE337,ALA3398, PRO1224, LYS1202)
<b>A38</b>	3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside)	zinc_85664752	-9,8	5 (ARG426, ALA338, HIS1171, LYS433, ASP1166)
<b>A39</b>	3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside)	zinc_85664755	-9,1	8 (ALA338, GLY1233, ARG426, TRP336, ALA338, ALA424, SER1225, LYS1202)
<b>A40</b>	Febuxostat	zinc_5423	-7,1	3 (LYS422, LYS433, ASP360)
<b>A41</b>	Gallicacid	zinc_1504	-5,7	3 (ASN830, ARG1222, HIS1219)
<b>A42</b>	1,2-Dihydroxybenzene-4-carboxylic Acid	zinc_13246	-5,0	6 (SER425, GLN423, SER425, SER1225, LYS433, LYS1202)
<b>A43</b>	$\alpha$ -resorcylic acid	zinc_388546	-5,1	4 (ASN830, ARG1222, SER1225, GLU45)
<b>A44</b>	Kaempferol	zinc_39111	-7,5	4 (GLN 144, ASN 1173, GLY 1233, GLY 1233)
<b>A45</b>	3,5-Dihydroxyflavone [6665-69-6]	zinc_57647	-7,2	2 (GLN144, ALA338)
<b>A46</b>	3,6,4'-Trihydroxyflavone	zinc_57752	-7,3	2 (GLN144, LYS1202)
<b>A47</b>	Galangin	zinc_120273	-6,7	3 (ILE1229, GLN144, ALA338)
<b>A48</b>	Quercetin	zinc_3869685	-7,7	6 (SER425, ARG426, SER425, LYS433, LYS1202, ASP360)
<b>A49</b>	Lithospermicacid	zinc_4097772	-9,4	5 (GLN144, ASN1149, TRP336, PHE337, ILE1229)
<b>A50</b>	28831-65-4	zinc_4097773	-9,1	5 (ALA338, TRP336, SER1225, ILE1229, LYS1202)
<b>A51</b>	DNC014243	zinc_4097774	-9,3	3 (ALA 338, ILE 1229, ALA 338)
<b>A52</b>	C08745	zinc_4097775	-9,3	6 (ILE1229, TRP336, ILE1229, GLY46, GLY47, LYS433)
<b>A53</b>	Myo-inositol	zinc_1530357	-5,4	4 (ASN1149, SER1234, GLY1233,

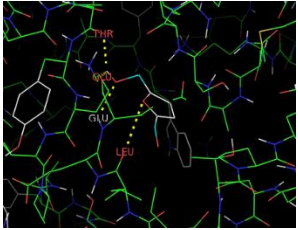
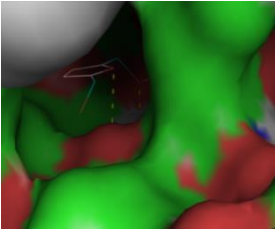
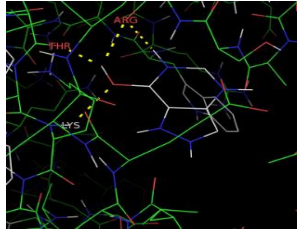
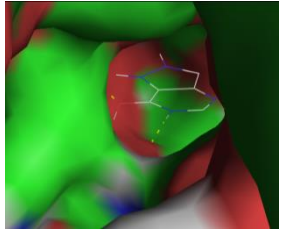
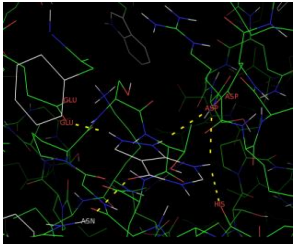
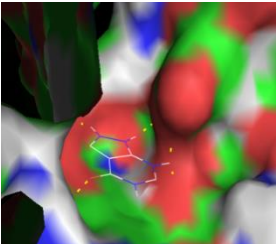
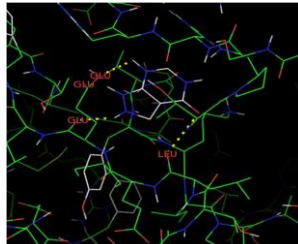
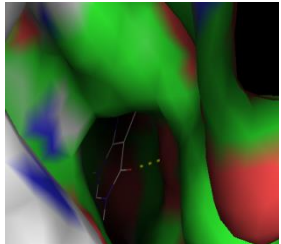
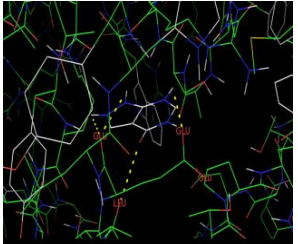
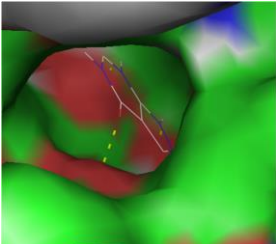
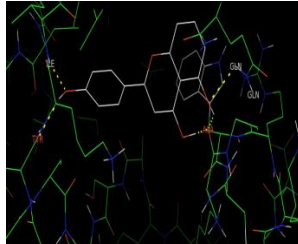
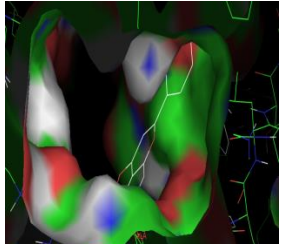
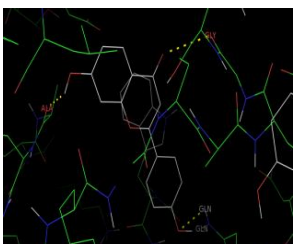
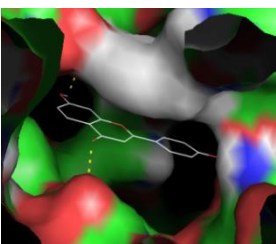
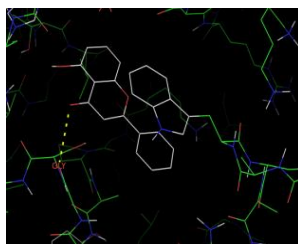
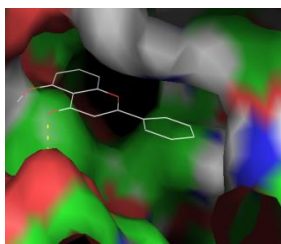
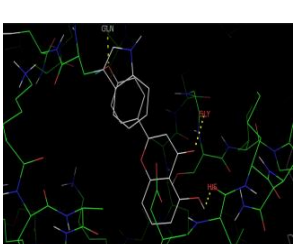
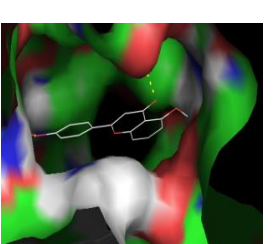
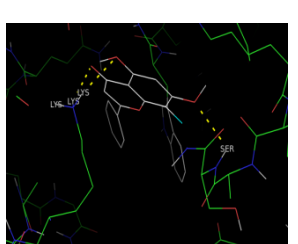
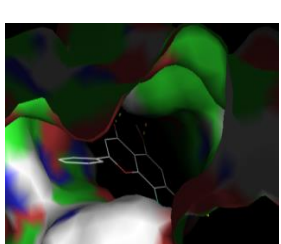
				ASP1166)
<b>A54</b>	I-Inositol	zinc_9970293	-5,7	4 (TRP336, SER425, LYS433, LYS1202)
<b>A55</b>	Myricetin	zinc_3874317	-7,7	3 (GLY1233, ALA424, SER1226)
<b>A56</b>	3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-MFC00006827	zinc_14436449	-7,8	3 (SER425, GLN144, ALA338, LYS433)
<b>A57</b>	Oxypurinol	zinc_13542567	-5,4	3 (ALA424, SER1226, ASP1166)
<b>A58</b>	1H-Pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4,6-diol	zinc_84462581	-6,2	5 (GLY797, PHE798, MET1038, GLY1039, GLN1188)
<b>A59</b>	Phyticacid	zinc_98230514	-6,8	3 (GLN144, TRP336, ALA338, LYS1202)
<b>A60</b>	Polyhydroxylated	CID_825	-4,6	5 (GLU1210, LEU1208, GLU1210, LYS1224, GLU1210)
<b>A61</b>	Proanthocyanidins	CID_21881649	-9,6	6 (GLN144, ALA338, ALA338, PRO1224, SER1226, ASP1266)
<b>A62</b>	Quercetin	zinc_8662	-7,4	5 (SER425, AEG426, LYS433, LYS1202, ASP360)
<b>A63</b>	3,3',4'-Trihydroxyflavone	zinc_39321	-7,2	3 (GLN144, GLN144, SER1226)
<b>A64</b>	Isorhamnetin	zinc_517261	-7,5	4 (SER425, GLN423, LYS1202)

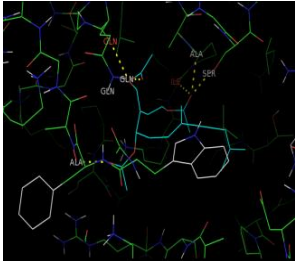
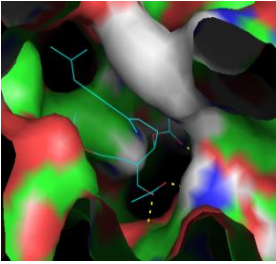
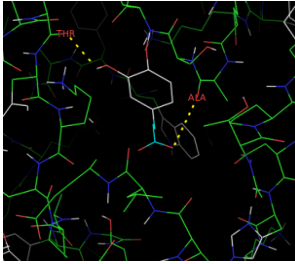
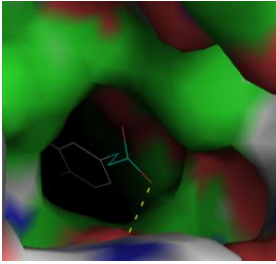
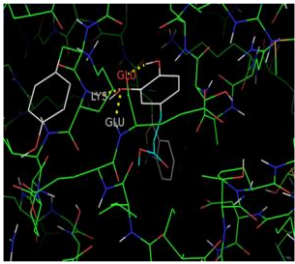
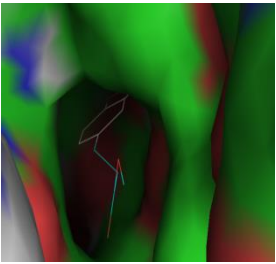
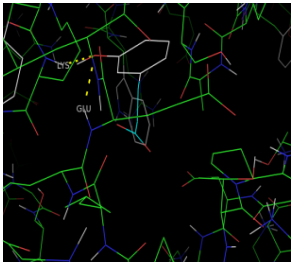
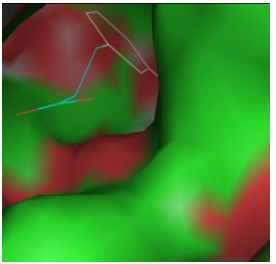
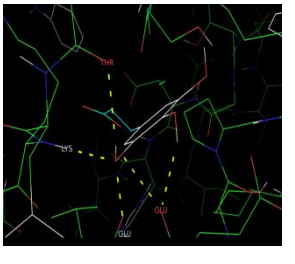
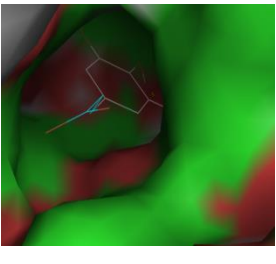
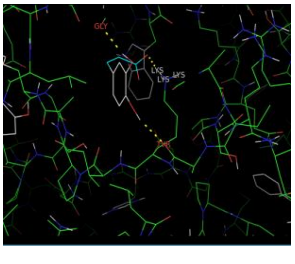
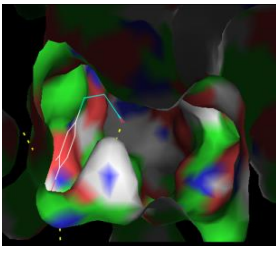
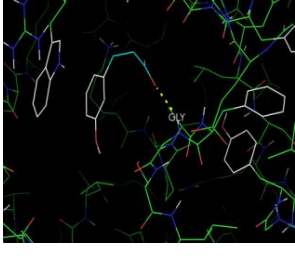
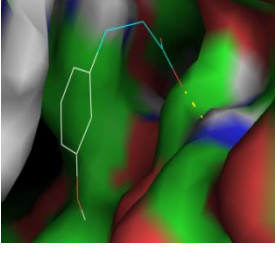
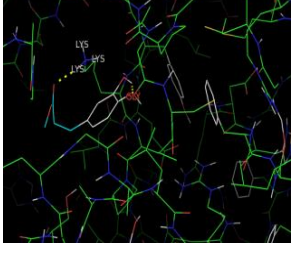
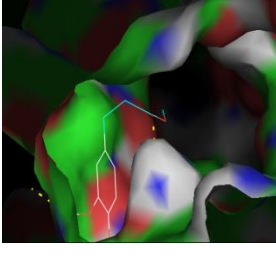
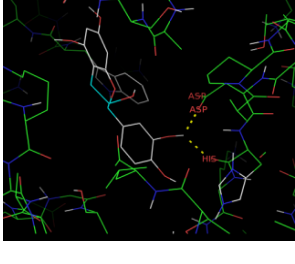
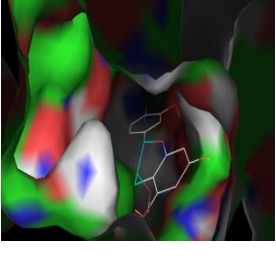
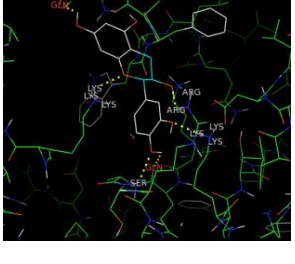
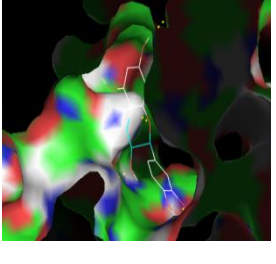
## Annexe 2

**Tableau II** : Les 64 ligands représentés avec le style lines et stick dans le site actif de XO réalisé par Pymol.

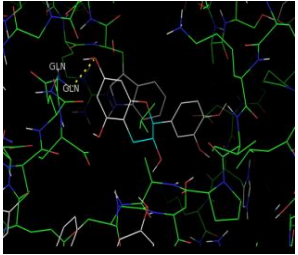
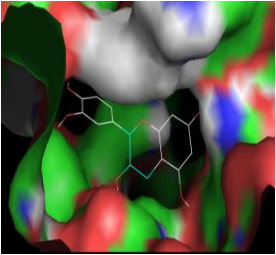
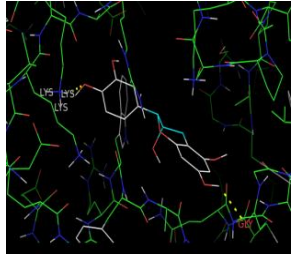
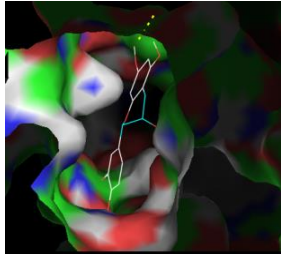
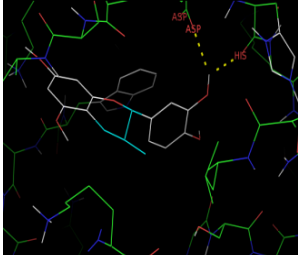
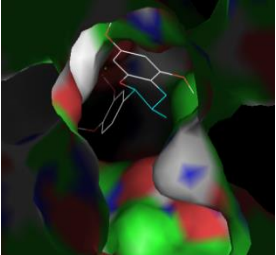

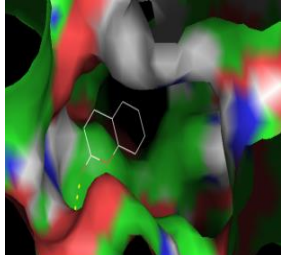
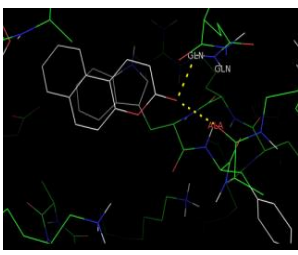
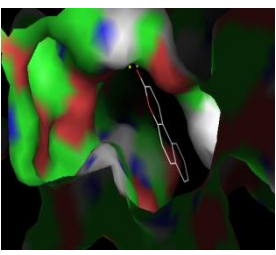
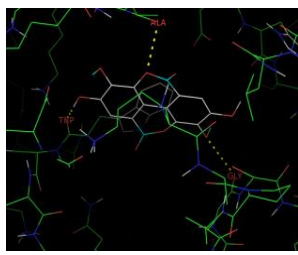
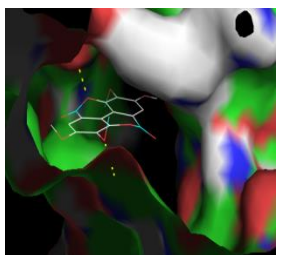
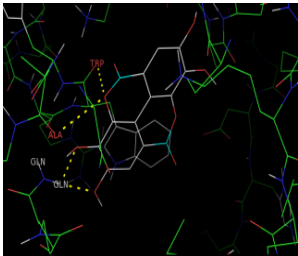
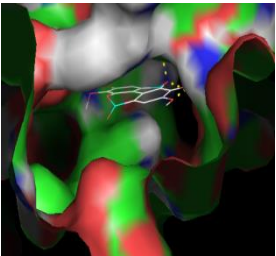
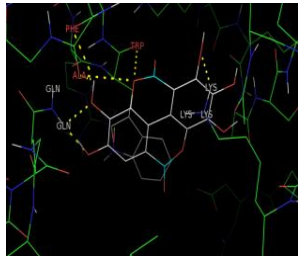
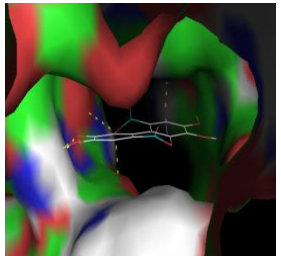
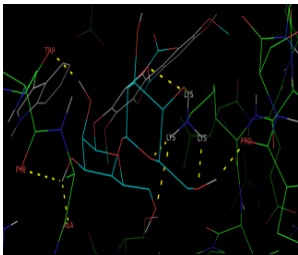
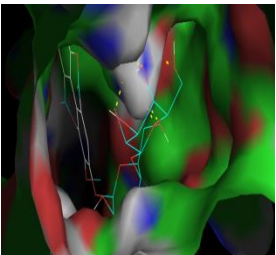
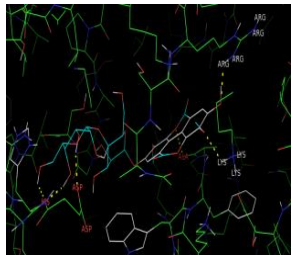
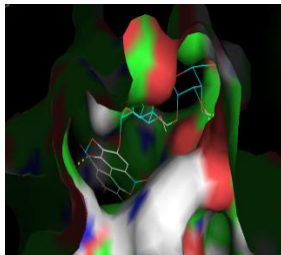
Style lines	Style stick	Style lines	Style stick
			
<b>A1 : CID_73530</b>		<b>A2 : CID_5479774</b>	
			
<b>A3 : zinc_57754</b>		<b>A4 : zinc_134016</b>	
			
<b>A5 : zinc_391177</b>		<b>A6 : zinc_898345</b>	
			
<b>A7 : zinc_2573884</b>		<b>A8 : zinc_14443532</b>	



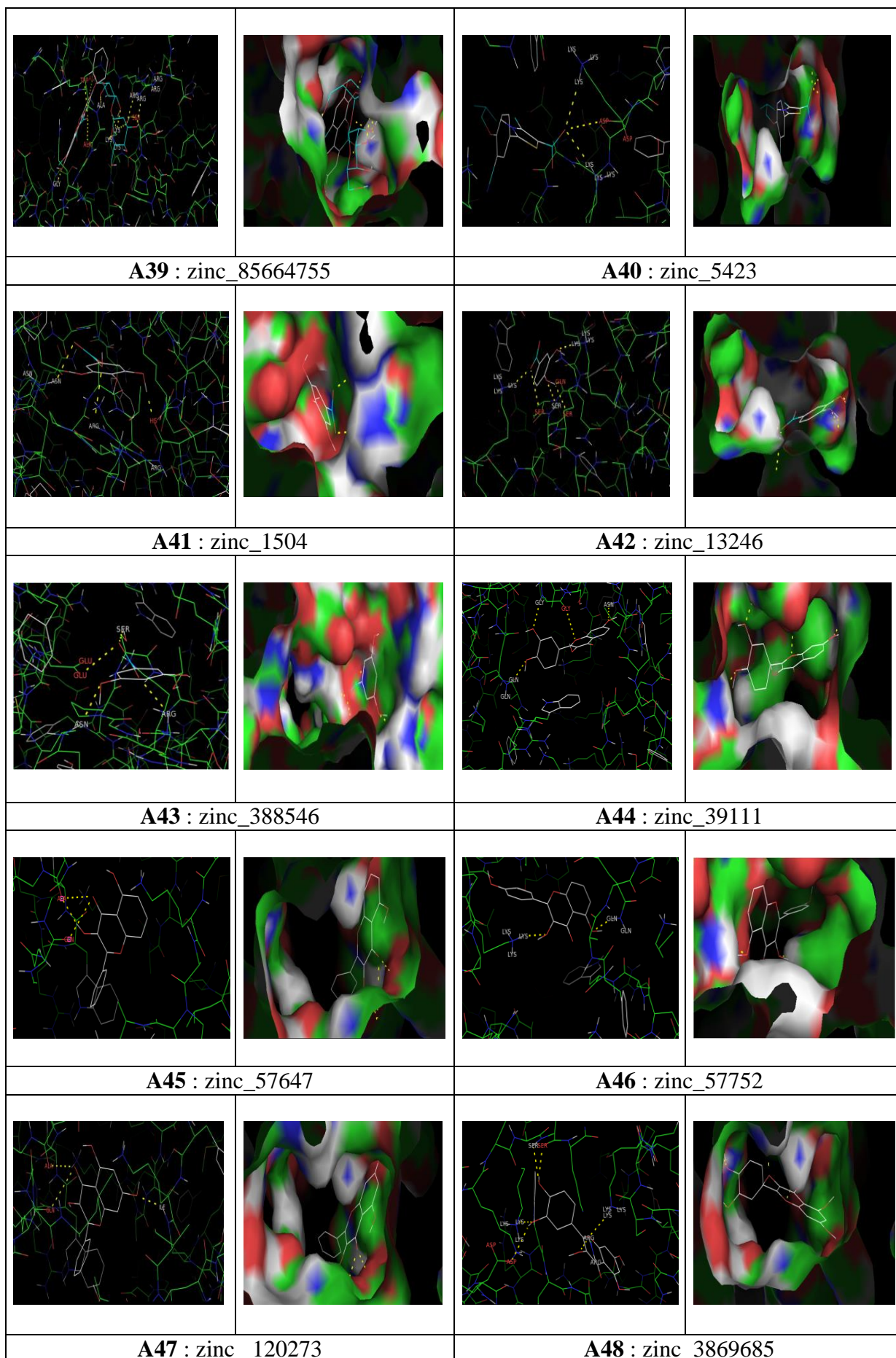
			
<b>A9</b> : zinc_900788		<b>A10</b> : zinc_11592630	
			
<b>A11</b> : zinc_13298313		<b>A12</b> : zinc_13518519	
			
<b>A13</b> : zinc_13545810		<b>A14</b> : zinc_57652	
			
<b>A15</b> : zinc_57658		<b>A16</b> : zinc_57676	
			
<b>A17</b> : zinc_57686		<b>A18</b> : zinc_338216	

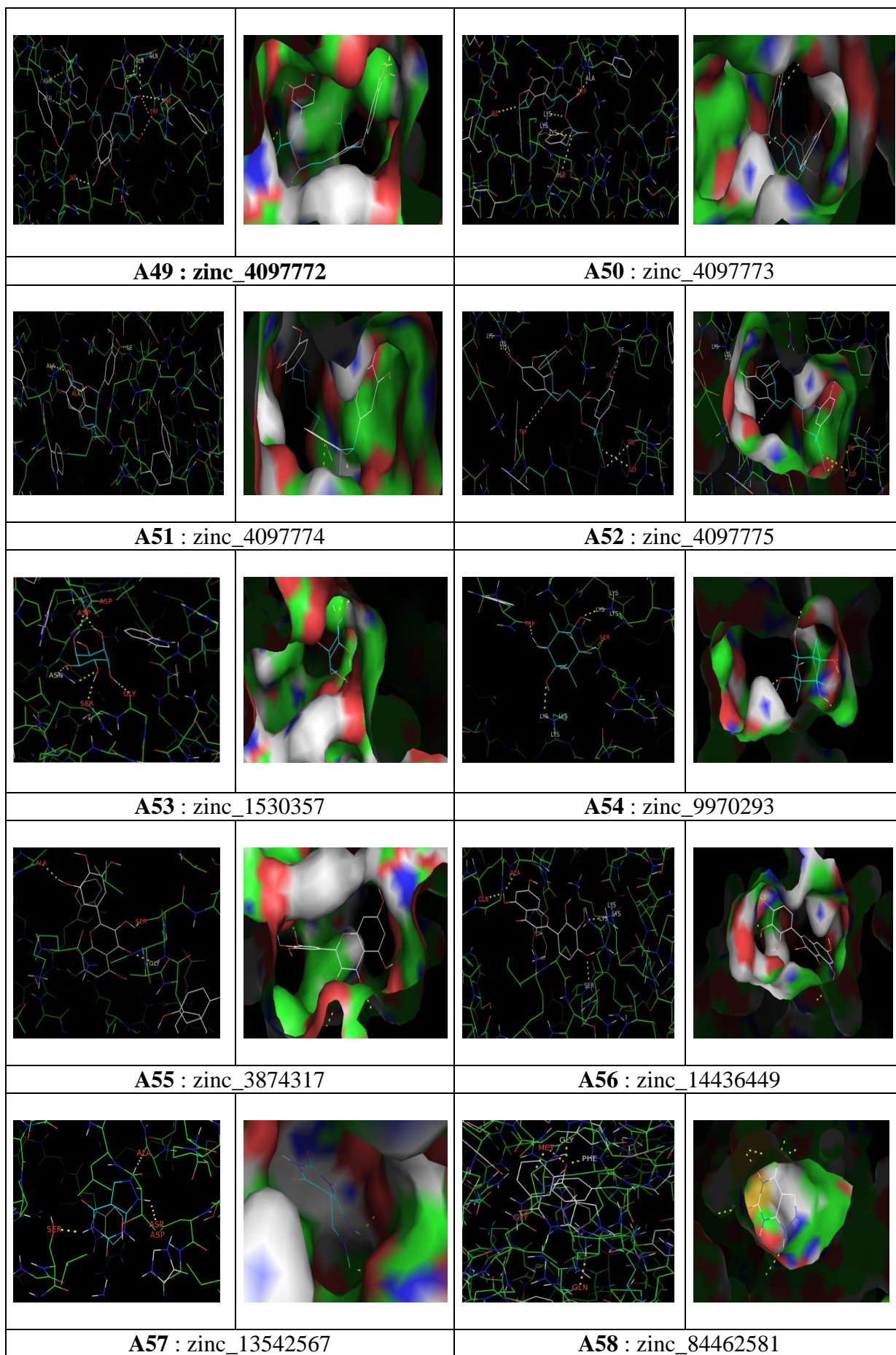
			
<b>A19 : zinc_5311436</b>		<b>A20 : CID_58172</b>	
			
<b>A21 : zinc_58222</b>		<b>A22 : zinc_155996</b>	
			
<b>A23 :zinc_1564653</b>		<b>A24 :zinc_4482687</b>	
			
<b>A25 : zinc_12410372</b>		<b>A26 : zinc_13549916</b>	
			
<b>A27 : zinc_119978</b>		<b>A28 : zinc_119983</b>	



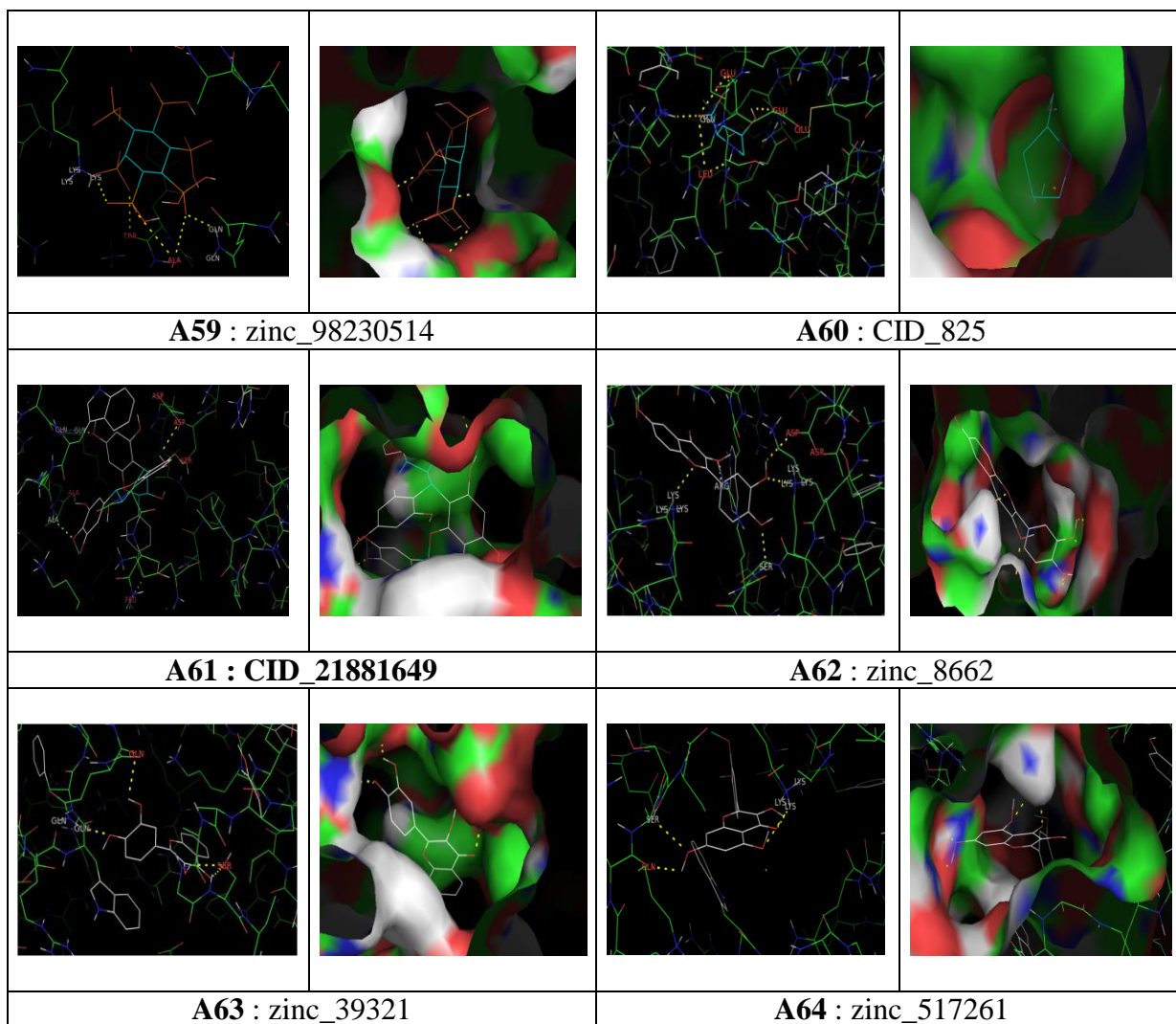
			
<b>A29</b> : zinc_119985		<b>A30</b> : zinc_119988	
			
<b>A31</b> : zinc_28974985		<b>A32</b> : zinc_74709	
			
<b>A33</b> : zinc_6118510		<b>A34</b> : zinc_1280637	
			
<b>A35</b> : zinc_3872446		<b>A36</b> : zinc_5784243	
			
<b>A37</b> : zinc_85664748		<b>A38</b> : zinc_85664752	











## Résumé

Notre travail, qui entre dans le cadre du mémoire de master, s'inscrit dans le courant de la recherche de nouveaux inhibiteurs de la Xanthine Oxydase; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie de la goutte. Pour ce faire, nous avons fait appel aux approches par criblage virtuel «*in silico*» avec AutoDock vina. En effet, une collection de 64 molécules issues de la Zinc DATABASE a été testée envers le site actif de XO. A l'issue de ce criblage, le composé A38 (zinc\_85664752) 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) avec la plus faible valeur de leur énergie d'interaction soit -9,8 Kcal/mol, se présente comme nouveau inhibiteur théoriquement plus sélectif et affiné envers XO.

**Mots clés :** Goutte, xanthine oxydase, criblage virtuel, AutoDock Vina, Energie d'interaction.

## الملخص

عملنا الذي هو أطروحة الماستر هدفه إيجاد مثبطات طبيعية جديدة لإنزيم الكزونتين أوكسيداز، وذلك بغية علاج مرض النقرس. للقيام بذلك، قمنا باستعمال طريقة غربلة الجزيئات نظريا «*in silico*» اتجاه الإنزيم المدروس باستعمال AutoDock vina. سمحت لنا بغربلة 64 مركب اتجاه هذا الإنزيم باقتراح: المركب A38 (zinc\_85664752) 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) كمثبط جديد محتمل لإنزيم كزنتين أوكسيداز. مع تسجيل طاقة ارتباط تقدر ب: 9,8-ك كال/مول.

**الكلمات المفتاحية:** النقرس، كزنتين أوكسيداز، غربلة افتراضية، AutoDock vina، طاقة الربط.

## Abstract

Our work, which is part of the master's thesis, is part of the search for new xanthine oxidase inhibitors; Validated therapeutic target for the treatment of gout disease. To do this, we have used "*In silico*" virtual screening with AutoDock vina. Indeed, a collection of 64 molecules from Zinc DATABASE was tested against the active site of XO. At the end of this screening, compound A38 (zinc-85664752) 3-Methylellagic acid 2-(4-galactosylglucoside) with the lowest value of their interaction energy is -9.8 Kcal / mol, presents itself as a new inhibitor theoretically more selective and affinity with XO.

**Keywords:** Gout, xanthine oxidase, virtual screening, AutoDock Vina, Interaction energy.